

PATRICIA WECKERLIN E SILVA

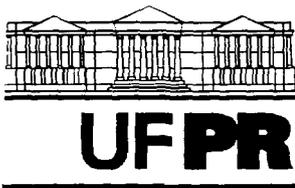
**USO DE SULFATO DE COBRE E DE ZINCO NA BIODETERIORAÇÃO DA
CATEDRAL DE SAN FRANCISCO DE ASIS DE AYAVIRI - PERU**

Dissertação de Mestrado apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciência do Solo, no Curso de Pós-Graduação em Agronomia do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.

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

CURITIBA

2002

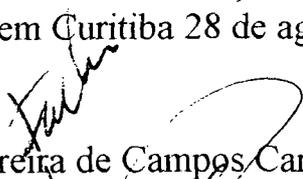


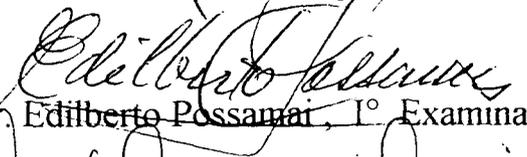
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E DO DESPORTO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE SOLOS E ENGENHARIA AGRÍCOLA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA: CIÊNCIA DO SOLO (MESTRADO) e
MONITORAMENTO, MODELAGEM E GESTÃO AMBIENTAL (DOUTORADO)
Rua dos Funcionários, 1540-Curitiba/PR-80035-050-Fone/Fax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

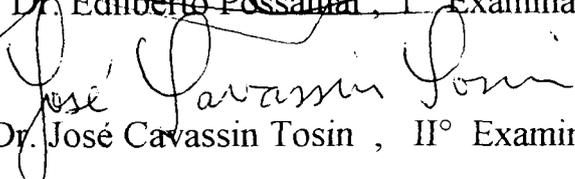
P A R E C E R

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 **PATRÍCIA WECKERLIN E SILVA**, com o título: "Uso de sulfato de cobre e de zinco no controle da Biodeterioração da Catedral San Francisco de Assis de Ayaviri - Peru", 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 agosto de 2002.


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


Prof. Dr. Edilberto Possamai, I° Examinador.


Prof. Dr. José Cavassin Tosin, II° Examinador.



DEDICO

*Aos meus pais **VENICIO** e **MARIA RITA**,
e à **DEUS** pela graça dos caminhos venturosos
pelos quais tem me conduzido ontem, hoje e
sempre.*

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Venício e Maria Rita, *pela oportunidade, pela confiança, pela compreensão, pelo afeto, pelo carinho e principalmente pelo amor.*

Ao meu avô Geraldo Weckerlin e irmãos Debora e Cristiano, à minha cunhada Reina, *pelo estímulo, compreensão, pelo carinho e pelo amor.*

Agradeço ao professor Francisco José Pereira de Campos Carvalho pelo apoio e orientação no desenvolvimento do trabalho.

Agradeço ao grande amigo, Adonai Pinheiro de Ulhôa Cintra pelo auxílio, conselhos e sugestões, pela atenção, pela disponibilidade, pelo incentivo, pelo carinho, enfim por tudo!

Aos biólogos Durval Nascimento Neto, Juliana Ramos Vieira e Cassiana Solange Moreira, *pelo auxílio e pela amizade.*

À bióloga Juliana Ramos Gouvêa, que pelo extremo companheirismo e amizade auxiliou-me na difícil etapa de realização dos experimentos em campo e laboratório e Marcelo Rodrigues pela instalação do experimento.

Às grandes amigas Danielle Teixeira Tortato, Michele Cristine Krenczynski e Claudia Martins Gonçalves, Ana Bazan, Simone Bortoloto que sempre estiveram ao meu lado, pela compreensão, pelo incentivo, pelo afeto, pelo carinho, pela disponibilidade e pela amizade.

Ao Acerbispado de Ayaviri pela estadia e apoio na execução do trabalho.

À Nelson de Paula Junior pelo incentivo e ajuda na lavagem das vidrarias.

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

À Claudemira Lopes pelo empréstimo do material e Kátia Bradasch pela ajuda na elaboração dos gráficos.

Enfim, a todos os técnicos, amigos e professores que contribuíram direta ou indiretamente para a elaboração deste trabalho, muito obrigado e que Deus lhes abençoe.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1 BIODETERIORAÇÃO	2
2.2 CONTROLE DE BIODETERIORAÇÃO EM ROCHAS	9
3 MATERIAL E MÉTODOS	12
3.1 LOCALIZAÇÃO GEOGRÁFICA.....	12
3.2 CLIMA	12
3.3 CIDADE DE AYAVIRI	12
3.4 A CATEDRAL SAN FRANCISCO DE ASIS	14
3.5 ESCOLHA, AMOSTRAGEM E TRATAMENTO DAS PAREDES.....	16
3.6 ANÁLISE DOS EFEITOS DO TRATAMENTO.....	18
3.6.1 Análise dos Aspectos Visuais	18
3.6.2 Análises Microbiológicas.....	19
3.6.3 Isolamento e Identificação dos Fungos	21
3.6.4 Antibiograma.....	22
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
4.1 SOBRE AS PAREDES ESCOLHIDAS.....	23
4.2 AVALIAÇÃO VISUAL DAS PAREDES TRATADAS.....	26
4.2.1 Avaliação dos Aspectos Visuais da Parede X.....	27
4.2.2 Avaliação dos Aspectos Visuais da Parede Y.....	29
4.2.3 Avaliação dos Aspectos Visuais da Parede Z	30
4.3 CONTROLE DE FUNGOS E BACTÉRIAS	33
4.3.1 Avaliação dos Tratamentos Sulfato de Cobre e Sulfato de Zinco sobre a População dos Fungos	34
4.3.2 Avaliação dos Tratamentos Sulfato de Cobre e Sulfato De Zinco sobre a População das Bactérias.....	37
4.4 ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DOS FUNGOS BIODETERIORADORES ...	40

4.5 ANTIBIOGRAMA NA POPULAÇÃO DE FUNGOS	43
4.6 COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS DO ANTIBIOGRAMA DOS MICRORGANISMOS.....	49
5 CONCLUSÕES	50
REFERÊNCIAS.....	51

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - TRATAMENTOS APLICADOS NAS ROCHAS DA PAREDE X	18
TABELA 2 - TRATAMENTO APLICADO NAS ROCHAS DA PAREDE Y	18
TABELA 3 - TRATAMENTO APLICADO NAS ROCHAS DA PAREDE Z	18
TABELA 4 - PADRONIZAÇÃO PARA AVALIAÇÃO DOS ASPECTOS VISUAIS OBTIDOS APÓS A APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS.....	19
TABELA 5 - MEIO DE CULTURA MARTIN PARA FUNGOS/BACTÉRIAS.....	20
TABELA 6 - AVALIAÇÃO VISUAL DA PAREDE X	27
TABELA 7 - AVALIAÇÃO VISUAL DA PAREDE Y	29
TABELA 8 - AVALIAÇÃO VISUAL DA PAREDE Z	31
TABELA 9 – COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DAS DUAS ESPÉCIES ESTUDADAS	47

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - PROVÍNCIAS DE PUNO	13
FIGURA 2 - LOCALIZAÇÃO GEOGRÁFICA DE AYAVIRI.....	14
FIGURA 3 - CATEDRAL DE SAN FRANCISCO DE ASIS	15
FIGURA 4 - CROQUI DA PLANTA.....	16
FIGURA 5 – PAREDE X.....	24
FIGURA 6 - PAREDE Y.....	25
FIGURA 7 - PAREDE Z.....	26
FIGURA 8 - PAREDE X - ROCHA RIODACITO APÓS A RASPAGEM DA TESTEMUNHA.....	28
FIGURA 9 - APÓS A APLICAÇÃO DO TRATAMENTO SULFATO DE CO- BRE NA ROCHA RIODACITO PAREDE X.....	28
FIGURA 10 - PAREDE Y - ROCHA TRAQUITO - AMOSTRAGEM.....	29
FIGURA 11 - PAREDE Y - ROCHA TRAQUITO APÓS A RASPAGEM DA TESTEMUNHA.....	30
FIGURA 12 - APÓS A APLICAÇÃO DO TRATAMENTO SULFATO DE CO- BRE ROCHA RIODACITO PAREDE Y	30
FIGURA 13 - PAREDE Z - ROCHA TRAQUITO APÓS A RASPAGEM DA TESTEMUNHA.....	32
FIGURA 14 - APÓS A APLICAÇÃO DO TRATAMENTO SULFATO DE CO- BRE NA ROCHA TRAQUITO - PAREDE Z.....	32
FIGURA 15 - NÚMERO MAIS PROVÁVEL PARA FUNGOS–PAREDE X.....	34
FIGURA 16 - NÚMERO MAIS PROVÁVEL PARA FUNGOS –PAREDE Y.....	35
FIGURA 17 - NÚMERO MAIS PROVÁVEL PARA FUNGOS – PAREDE Z.....	36
FIGURA 18 - NÚMERO MAIS PROVÁVEL PARA FUNGOS – DE TODAS AS PAREDES PARA O TRATAMENTO SULFATO DE COBRE 5%+SULFATO DE ZINCO 5%	36
FIGURA 19 - NÚMERO MAIS PROVÁVEL PARA BACTÉRIAS – PAREDE X.....	38
FIGURA 20 - NÚMERO MAIS PROVÁVEL PARA BACTÉRIAS – PAREDE Y.....	39
FIGURA 21 - NÚMERO MAIS PROVÁVEL PARA BACTÉRIAS – PAREDE Z.....	39
FIGURA 22 - NÚMERO MAIS PROVÁVEL PARA BACTÉRIAS DO TRATA- MENTO SULFATO DE COBRE 5% + SULFATO DE ZINCO 5%	40

FIGURA 23 - ESPÉCIE <i>Aspergillus fumigatus</i>	42
FIGURA 24 - ESPÉCIE <i>Aspergillus versicolor</i>	42
FIGURA 25 - HALO INIBITÓRIO DO FUNGO <i>Aspergillus fumigatus</i>	44
FIGURA 26 - HALO INIBITÓRIO DO FUNGO <i>Aspergillus versicolor</i>	45
FIGURA 27-ANTIBIOGRAMA DOS FUNGOS <i>Aspergillus fumigatus</i> E <i>Aspergillus versicolor</i> NO SUBSTRATO COM O TRATAMENTO SULFATO DE COBRE.....	48
FIGURA 28 - HALO INIBITÓRIO EM <i>Aspergillus versicolor</i>	48

RESUMO

O presente trabalho estudou o efeito dos sulfatos de cobre e de zinco no controle da população de fungos e bactérias que causam biodeterioração em rochas traquitos e riodacitos da Catedral de San Francisco de Asis, cidade de Ayaviri, província de Melgar, Peru. Os objetivos propostos foram 1) estudar os efeitos do tratamento das rochas da Catedral por meio do uso de diferentes concentrações de sulfato de cobre e zinco, 2) estudos de isolamento, determinação e antibiograma de fungos biodegradadores. Este trabalho destina-se a contribuir com os profissionais que atuam na área da preservação de patrimônios históricos. O experimento foi conduzido em três paredes da Catedral de Ayaviri construídas em rochas magmáticas traquitos e riodacitos. Foram retiradas amostras após 24 horas e 7 dias da aplicação dos tratamentos à base de sulfato de cobre e zinco em diferentes concentrações, procedeu-se à tomada de amostras da rocha 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), para verificação do efeito dos tratamentos na população de microrganismos. Não houve diferença da testemunha para as amostras em que foram aplicados os tratamentos, após 24 horas e 7 dias. Para complementação dos dados foi realizado um antibiograma que apresentou controle fungistático para microrganismos estudados e foram repicados em placas contendo meio de martin sólido. As colônias foram isoladas e repicadas em tubos de ensaio 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 determinação. Os fungos oriundos da Catedral de Ayaviri foram determinadas como *Aspergillus fumigatus* e *Aspergillus versicolor*. Mesmo com diferente eficácia, todos os tratamentos apresentaram-se viáveis na avaliação visual, já que não provocaram alteração da coloração original da rocha. Os resultados do antibiograma indicaram que os tratamentos com solução de sulfato de cobre a 3%, 5% e sulfato de cobre a 5% mais sulfato de zinco a 5% apresentaram valores estatisticamente iguais e ação fungistática para a preservação das rochas da Catedral, com exceção do tratamento sulfato de cobre 0,5%.

ABSTRACT

The present work evaluates the study of the effects of the copper and zinc sulfates in the control of the population of fungi and bacteria which causes weathering in traquite and riodacite stones of the Cathedral of Asis - Ayaviri – Peru. The proposed specific objectives were to identify at the monuments, the weathering areas; to characterize the rock for physical methods; to identify through microbiologic methods the fungi and the bacteria present in the rock that potentially can contribute for the weathering. This work is destined to contribute technically with the professionals that act in the area of the preservation of historical patrimonies. The experiment was conducted in three walls of the Cathedral of Ayaviri built with magma traquite and riodacite stones. Twenty four and 7 days after the application of the treatments with solutions of copper sulfate and zinc in different concentrations, it was proceeded the collection of samples of the rock inoculated in middle of liquid martin. Seven days after the incubation, it was preceded to the counting of the microorganisms using the technique of the most probable number (MPN). For additional and complementary studies it was implemented the evaluation of the said analysis under antibiogram method which, 24 hours and 7 days after the application had fungi control. The microorganism, which has developed, was pealed in plates containing solid martin culture. The colonies were isolated and pealed in sloping tubes containing the middle of culture Potato Dextrose Agar (PDA). Later, the sloping tubes were sent to the Laboratory of the Instituto Oswaldo Cruz (RJ) for identification, the stumps originating from of the Cathedral of Ayaviri were identified like *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus versicolor*. Although with different degree of effectiveness, all the treatments were regarded good for visual evaluation because they did not cause alteration in the original rock's tone. The antibiogram results indicated that the treatment with copper sulphate solution at 3%, 5% and copper sulphate at 5% plus zinc sulphate at 5% presented statistically similar values regarding the elimination of fungi in order to preserve the Cathedral rocks, with the exception of 0.5% copper sulphate.

1 INTRODUÇÃO

Os bens culturais expressam a história e a identidade de um povo e sua preservação constitui um legado às gerações futuras. A conscientização da sociedade tem crescido, gradativamente, no sentido da preservação desses bens, os quais vem passando, nas últimas décadas, por um processo de desgaste e degradação, decorrente do declínio da qualidade ambiental, o que compromete a sua integridade (DI BENEDETTI, 2001).

Esse desgaste e degradação é resultado de intempéries, físicas, químicas e biológicas, isoladamente ou em conjunto. Porém, muitos restauradores não consideram os agentes biológicos no processo de intemperização dos monumentos históricos. Os principais agentes biológicos são as algas, bactérias, fungos e líquens.

A Catedral de São Francisco de Asis – Ayaviri - Peru, construção do século XVI, apresenta uma estrutura marcada pela tendência barroca e constitui um exemplo da arquitetura mestiça do local (BRUÑO, 2000) constituída de rochas riodacito e traquito. Atualmente encontra-se em péssimo estado de conservação, devido ao intemperismo e influência e ações antrópicas, necessitando uma recuperação que envolva a restauração parcial e preservação do estado de biodeterioração da rocha. A restauração envolve uma equipe multidisciplinar como biólogos, arquitetos, geólogos, químicos, historiadores e engenheiros. Considerando que o principal agente da deterioração da rocha é a biodeterioração, para esse fim foi firmado um convênio entre a Escuela de Belas Artes “Diego Quispe Tito” de Cusco, Cusco, Perú, Arcebispado e o Instituto para o Desenvolvimento do Meio Ambiente - ANTROPOSPHERA, para estudos microbiológicos de deterioração entre outros que promove contra microorganismos biodegradadores usando produtos de baixa toxicidade e pouca agressão ao meio ambiente.

O presente estudo teve como objetivos: 1) estudar os efeitos do tratamento das rochas da Catedral por meio do uso de diferentes concentrações de sulfato de cobre e zinco, 2) estudos de isolamento, determinação e antibiograma de fungos biodegradadores

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 BIODETERIORAÇÃO

A biodeterioração das rochas é um processo *natural* e que em determinadas situações pode ser acelerada por processos antropogênicos ou conseqüências desses processos. O manto de intemperismo alivia a pressão do solo sobre a superfície rochosa e a expõe aos agentes de intemperismo (POPP, 1998).

No século passado no início da era industrial, grandes quantidades de combustíveis fósseis foram queimados, aumentando assim de maneira alarmante a deterioração do meio ambiente e a contaminação atmosférica, atacando tanto o mundo orgânico como o inorgânico, e templos e monumentos mantidos intocados por séculos começam a deteriorar-se rapidamente (CANO, 1999). Para que isso não ocorra é de fundamental importância a preservação do nosso patrimônio artístico, pois o que os nossos antepassados criaram pelos séculos afora reflete uma evolução histórica sobre a qual nos baseamos para construir nosso futuro (RIEDERER, 1987).

O uso da pedra como expressão artística tem aumentado desde a construção de monumentos antigos, prédios históricos à estátua de pequena escala. Enquanto a resistência de rochas para formação do solo é essencialmente inquestionável para evolução da vida na terra. E a destruição dos artefatos de pedra de importância cultural, representam uma perda irreparável para nossa herança e história (RESENDE 1997). Os processos de biodeterioração em pedras, causados por efeitos da deterioração da microflora colonizadora de rocha nos monumentos históricos e esculturas alcançam, desde prejuízos na aparência estética, a mudança nas características físicas e químicas na natureza das pedras, tornando difícil senão impossível separar as influências biológicas, atmosféricas, antropogênicas e a natureza da pedra (WARSCHEID; BRAAMS, 2000).

A biodeterioração não pode ser considerada como um fenômeno isolado pois está intimamente relacionada a outros processos de deterioração, sejam físicos, químicos ou físico-químicos, na rocha. Deve-se ter sempre presente a inter-relação desses vários processos na diminuição da resistência da rocha (CANEVA, 1991).

A biodeterioração é definida como qualquer troca indesejável nas propriedades de um material, causada pela atividade vital dos microorganismos e ou

organismos pertencentes a vários grupos sistemáticos. Em alguns casos esse material apresenta uma importância econômica, como monumentos históricos, e sua deterioração implicam numa perda de material e, de certa maneira, do ponto de vista humano é uma ação negativa, já que acelera sua degradação (WARSCHEID; BRAAMS, 2000).

O fenômeno da biodeterioração é um dos maiores inimigos da memória e do patrimônio cultural em praticamente todos os países: "A degradação de ecossistemas traz situações novas nas metrópoles, do ponto de vista do risco para o patrimônio histórico e cultural. Por isso busca-se novas técnicas e conceitos que aumentem a probabilidade de se obter sucesso na conservação desse patrimônio" (RESENDE, 1997).

As transformações que sofrem os materiais de um monumento exposto ao intemperismo, são a resposta de alterações físicas, químicas e biológicas (CANO, 1999).

A degradação biológica das rochas inclui esses fenômenos e é associada a processos químicos e físicos. Os processos bioquímicos e biofísicos de degradação das pedras incluem a ação direta e indireta de organismos que modificam as propriedades e estabilidade das rochas e construções de pedras (RESENDE, 1997).

A atividade metabólica desenvolvida pelos microrganismos, exerce comprovada influência no intemperismo das rochas, na formação e transformação de sedimentos do solo, na gênese e degradação de minerais e de combustíveis fósseis (GARCIA, 1996).

A caracterização microbiana e sua atividade de deterioração contribuem significativamente para aceleração e processo de intemperismo. Apesar da sua importância para desagregação de rochas, também tem sido considerado como para materiais mais sensíveis como papel, como têxteis ou madeira, para preservação desses bens, é necessário um reconhecimento logo no início de qualquer processo de biodeterioração que irá ajudar a prevenir danos futuros (WARSCHEID; BRAAMS, 2000).

A deterioração das rochas dos monumentos é causada por combinação dos fatores físicos, químicos e biológicos, junto com as condições ambientais, tais como, os tipos de rochas, a localização do monumento, seu estado de preservação e poluição (TIANO, *et al.*, 1999; PAPIDA *et al.*, 2000).

O clima e as condições de poluição atmosférica também influenciam os processos biológicos de degradação das rochas. Assim é a que a situação e ecologia dos microorganismos e sua conexão relativa com o tipo de pedra e muitos fatores ambientais têm importante papel de intemperização das rochas (RESENDE, 1997).

Segundo CANO (1999) a água é um principal agente químico, na deterioração dos monumentos, atuando como solvente dos componentes da rocha, ou agindo por capilaridade ou condensação. Outros fatores que devem ser considerados como agentes deterioradores de rochas são a variação de temperatura, o vento, a tensão/choques mecânicos, a radiação eletromagnética (agentes físicos), os organismos biológicos, os poluentes atmosféricos e a manutenção inadequada (CANEVA, 1991).

Os sais higroscópicos existentes nos objetos recuperados de pedras e de cerâmica, nas pinturas murais e nas paredes de edifícios históricos, cristalizam-se e dissolvem-se, segundo o coeficiente de umidade do ar, hidratando-se até que a pressão de cristalização ou o aumento de volume contribua para alterar a textura do material (RIEDERER, 1987; CANO, 1999). A umidade é base para o crescimento de microorganismos, que não só atacam materiais orgânicos, tais como papel, couro, têxteis e madeira, como também a pedra, o vidro e até mesmo o bronze (CANEVA, 1991). A temperatura e as mudanças relativas da umidade podem também fazer com que as pedras degradem mecanicamente através das diferenças térmicas de expansão /contração dos minerais, da cristalização de sal e o de congelar-se da água dos poros (CANO, 1999).

As rochas são constituídas por diferentes minerais, que muitas vezes apresentam comportamentos diferenciados em relação às variações de temperatura. Uma vez que o monumento sofre choques térmicos, estes minerais apresentam reações diferentes quanto a dilatação e a contração o que acaba por provocar fraturas e rupturas chegando a haver destacamento do material (POPP, 1998). Nos climas desérticos a extrema variação diurna de temperatura afeta a superfície de edifícios, podendo em casos extremos pode chegar a 80 % de variação da temperatura, provocando dilatação nos minerais que compões as pedras naturais. Assim, no Egito muitas superfícies com hieróglifos ficaram arruinadas permanentemente (RIEDERER 1987). Isto ratifica o fator principal da desintegração

de rochas que é a variação de temperatura, provocando dilatação e contração heterogêneas, ativadas em presença de água e temperaturas inferiores a zero grau (LEINZ & LEONARDOS, 1997). A pressão causada pela formação de sais ou de 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-químico que provocam danos nas construções em pedra (RESENDE, 1997). A oscilação de temperatura e umidade, através da ocorrência do aquecimento e resfriamento e também o ciclo de umidificação e secagem, podem causar stress à pedra causando sua deterioração (HALSEY *et al.*, 1994).

Nas últimas décadas a poluição do ar tem aumentado, como consequência da crescente contaminação ambiental, especialmente em zonas urbanas e industriais. Os processos industriais, o funcionamento de ar condicionado e veículos a combustão expõem, constantemente à atmosfera, substâncias que, com o decorrer do próprio tempo sujam as fachadas de edifícios e deterioram seus materiais mais tradicionais (CANO, 1999). Sabe-se que a poluição atmosférica tem contribuído para acelerar a corrosão dos monumentos históricos de pedra nos últimos 100 anos (RESENDE, 1997). Muitos poluentes envolvidos no complexo processo de deterioração, são ácidos unicamente derivados de dióxido de enxofre (SO₂) e dióxido de nitrogênio (NO₂). A concentração de amônia tem aumentado significativamente na última década. A origem da amônia atmosférica provém da decomposição material orgânica por microorganismos, da emissão de combustíveis fósseis, e do uso de fertilizantes na agricultura (MEINCKE *et al.*, 1989).

Os gases emitidos pela indústria, a fuligem proveniente do aquecimento a carvão das grandes cidades e os gases de combustão dos veículos reagem com a chuva e a umidade do ar formando compostos ácidos que danificam consideravelmente o metal e a pedra ao ar livre. A par da poluição gasosa do ar, também o pó e a fuligem contribuem para alterar tanto os objetos expostos ao ar livre com os dispostos em recintos fechados (RIEDERER, 1987).

O dióxido de carbono (CO₂) está presente na atmosfera e ao contato com a água das chuvas formará o ácido carbônico que se deposita nos monumentos e seu contato com rochas como o quartzito, o mármore e a pedra sabão pode aumentar o poder de dissolução dos sais, principalmente carbonato de cálcio e magnésio, ocasionando uma carbonatação principal causa da degradação das rochas

sedimentares e metamórficas, uma vez que o cálcio migra para o exterior da rocha deixando-a mais porosa (KRUMBEIN, 1988).

Ainda, segundo RIEDERER (1987), quando o agente deste processo é o dióxido de enxofre (SO₂) o fenômeno recebe o nome de sulfatação, acarretando a desagregação do material rochoso. Outros poluentes atacam as rochas como o monóxido de carbono e o dióxido de carbono e que são originados principalmente pela emissão dos gases de exaustão dos automóveis (60 %) e do manejo do solo (RESENDE, 1997).

Os microrganismos, de uma maneira geral, estão largamente distribuídos em nosso planeta e mesmo em ambientes de características extremas e presumivelmente adversas, representantes desses seres vivos são muitas vezes encontrados (RESENDE, 1997).

Os diversos exemplos de deterioração microbiológica até agora apresentados, são indícios do tremendo potencial dos microrganismos no processo de deterioração de produtos manufaturados (PELCZAR, 1980).

Segundo SAND (1997), microorganismos como bactérias, cianobactérias, algas, fungos e líquens são capazes de atacar e degradar os materiais. O intemperismo de materiais e de construções é acelerado pela presença de uma camada, de microorganismos, denominada biofilme (GAYLARD, 1997). Os filmes microbianos ou biofilmes, constituídos de algas, líquens, fungos e bactérias, que crescem praticamente em todas as pedras expostas à condições atmosféricas variadas, também podem modificar a composição química e mineralógica da pedra original (RESENDE, 1997).

Vários autores relatam a presença de microorganismos em diferentes substratos causando a deterioração de rochas em monumentos históricos, concreto, madeira, papel, vidro, plástico, superfícies de pintura, metal, cerâmica e chips de computador (pela presença física das células microbianas) (PARKER, 1945; CANEVA, 1991; SAND, e BOCK, 1991; RESENDE, 1997; SAND, 1997; GAYLARD, 1997).

Conforme, VIDELA (2000), muitos dos monumentos relatados da Civilização Maia na Península de Yucatan no México, estão sofrendo deterioração decorrente de fatores ambientais (alta temperatura e alta umidade) , fontes antrópicas e por ação de micro e macro comunidades biológicas.

Os microorganismos são capazes da obtenção de vários elementos que são necessários e para seu metabolismo (cálcio, alumínio, silício, ferro e potássio). Este processo de biosolubilização, geralmente, envolve a ação de vários ácidos orgânicos e inorgânicos produzido por algas, líquens, fungos e bactérias (VIDELA, 2000).

Segundo BERTHELIN e TOUTAIN (1979), os microorganismos podem apresentar dois mecanismos de degradação das rochas: solubilização e insolubilização.

No mecanismo da solubilização inclui-se os processos de acidólise, complexólise e alcalinólise, assim como outros enzimáticos e não enzimáticos.

A acidólise é definida como o processo de ação do próton de complexação fraca de ácidos com metais da rocha. A complexólise leva à constituição de complexos organo-metálicos ou quelatos. Cátions monovalentes são trocados por prótons (H^+) dos ácidos biogênicos e, dessa maneira são facilmente lavados. O mesmo acontece com os cátions di e trivalentes, que após processo de redução podem ser incorporados em complexos-quelatos e assim lavados pela água.

A alcalinólise ocorre quando grande número de microorganismos toma parte na degradação de compostos nitrogenados e em alguns casos o produto dessas reações pode ser a amônia a qual aumenta o pH e induz à solubilização da sílica.

O processo de insolubilização se faz presente quando os microorganismos podem absorver elementos minerais, precipitá-los fora de suas células ou incorporá-los em seu interior. A liberação de ácidos agressivos é um dos melhores exemplos de mecanismos destrutivos biogeoquímicos em superfícies de rochas (RESENDE, 1997).

SAND, (1997) resume nove categorias da ação desses microorganismos, podendo ocorrer somente pela presença física de células microbianas, ou deterioração pela excreção de produtos metabólicos intermediários ou finais, exemplificados a seguir:

- 1) presença física de células microbianas, ou deterioração pela excreção de produtos metabólicos intermediários ou finais, como as exoenzimas e exemplificadas como a presença física de células microbianas; conexão de contatos elétricos (chips)
- 2) ataque por ácidos inorgânicos como ácido sulfúrico, nítrico e carbônico;

- 3) ataque por ácidos orgânicos como ácido acético, cítrico, oxálico, glucônico e conforme CANEVA (1991) podem produzir também ácidos láctico e fumárico, além de exoenzimas que lançam ao meio como pectinases, amilases, proteinases, ligninases
- 4) ataques por solventes orgânicos como ácido acético ou butírico, ou álcool como etanol, propanol ou acetonas;
- 5) stress salino provocado pela reação dos ácidos orgânicos com inorgânicos, aumentando a suscetibilidade dos ciclos de congelamento e descongelamento e posterior cristalização, ocorrendo o aumento de volume;
- 6) produção de compostos nocivos como óxidos de nitrogênio, produção de ácidos inorgânicos, ou a precipitação de sulfúricos metálicos e oxidantes/ redutores;
- 7) efeitos de biofilmes, os exopolímeros causam corrosão localizada; retenção de água em materiais porosos; efeitos *hidrofóbicos sobre as superfícies* com redução da eficiência de transmissão de calor, redução da velocidade (fluxo) e aumento de pressão;
- 8) ataque por exoenzimas, causando ruptura de compostos insolúveis nas pequenas moléculas solúveis em água;
- 9) produção de agentes quelantes de compostos emulsionados, aumento da solubilidade de substâncias insolúveis ou hidrofóbicas;

De acordo com ORTEGA-MORALES (1995), os microorganismos normalmente habitam monumentos e, URZI (1998) que realizou análises em alguns arenitos e constatou algas colonizadoras ocorrendo em 95,5% dos casos em todas as amostras.

Segundo VIDELA (2000), a presença de algas e cianobactérias formadoras dos biofilmes, juntamente com organismos heterotróficos, causam biodeterioração de monumentos históricos. Em algumas vezes a presença de cianobactérias oferece suporte primário para biofilme heterotrófico, disponibilizando a matéria orgânica para crescimento deste último através da fotossíntese. Estes organismos fotossintéticos podem secretar certas substâncias como aminoácidos, açúcares, antibióticos e outras substâncias estimuladoras do crescimento, que *criam condições*

propícias para o desenvolvimento de algumas bactérias quimiorganotróficas, que se desenvolvem na superfície das pedras (RESENDE, 1997).

As bactérias indicadas como causadoras de biodeterioração de rochas podem ser bactérias quimiorganotróficas e assim como os fungos, obtêm energia através da oxidação de substratos orgânicos. Em alguns casos, as bactérias são capazes de produzir energia, através da oxidação de cátions metálicos, tais como Fe^{2+} e Mn^{2+} , ou podem ser quimiolitotróficas utilizando doadores inorgânicos de hidrogênio, tais como NH_4 , NO_2 , H_2S , tiosulfato ou enxofre e são capazes de produzir energia a partir da oxidação desses compostos e também pode utilizar o dióxido de carbono, como fonte de carbono (RESENDE, 1997).

Conforme PARKER (1945), verificou-se a deterioração em canalizações de bueiros de esgotos causada por bactérias da espécie, *Thiobacillus concretivorus* por reações de auto-oxidação e SAND (1987), também constatou ácido sulfúrico corrosivo em superfícies de concreto causado por *Thiobacillus sp.*

Segundo MEINCKE (1989) em construções de rochas, bactéria do gênero *Nitrosovibrio* foi encontrada em maior abundância como organismo oxidante de amônia. Bactérias do tipo sulfúrico-oxidantes foram encontradas em 50% das amostras, independentemente de sua cor, de superfície e localização, enquanto bactérias nitrificantes são ocasionalmente encontradas em amostras provenientes de estruturas antigas de monumentos urbanos. A corrosão do arenito é causada pela produção de ácido nítrico e a forma de corrosão é correlacionada com a presença de bactérias amonio-oxidativas.

O crescimento de fungos biodeterioradores é influenciado pela disponibilidade de água, oxigênio e compostos orgânicos. RESENDE, (1997) isolou fungos dos gêneros como *Penicillium*, *Aspergillus*, *Phoma*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Chaetomium*, *Botrytis*, *Aureobasidium* e *Torula*, encontrados em diferentes locais como rochas, afrescos e monumentos. Em mármore encontrou-se fungos biodegradadores do gênero *Phoma* e *Alternaria* (DIAKUMAKU *et al*, 1995).

2.2 CONTROLE DE BIODETERIORAÇÃO EM ROCHAS

Para escolha do melhor método de controle da biodeterioração é necessário avaliar, influências biogênicas os aspectos físicos como temperatura, umidade, radiação solar, presença de sais transportados pela água em circulação, condições

de poluição atmosférica, tais como o dióxido, compostos nitrogenados capazes de interagirem com os componentes rochosos e promover processos de restauração sem que haja alteração na rocha da ação dos microrganismos (RODRIGUES, 1994).

É necessária a observação visual, após aplicação do produto (substâncias hidrofóbicas, fixativos), pois pode haver efeitos colaterais, como mudança da cor do objeto a ser protegido, corrosão ou cristalização interna, devem ser evitadas. Para tanto, são necessários métodos confiáveis e adequados de biodeterioração nas pedras tais como análises bioquímicas e microbiológicas (WARSCHEID *et al.* 2000). Utiliza-se difratômetro de raios-X e a microscopia eletrônica de varredura para auxiliar nos diagnósticos do (RESENDE, 1997; TIANO *et al.*, 1999; VIDELA *et al.*, 2000; ZARDINI *et al.*, 2000). Além do mais é crítico o desenvolvimento de passos convenientes para métodos de restauração, e conservação os quais exige uma avaliação interdisciplinar, como engenheiros, geólogos, químicos e biólogos (WARSCHEID *et al.*, 2000).

Existem métodos naturais para inibir o crescimento microbiano em rochas carbonatadas, é um dos métodos utilizado é a carbonatogênese bacteriana, o qual utiliza-se da capacidade natural de algumas bactérias não patogênicas de fabricar o calcário. Tal método consiste em fabricar, utilizando bactérias calcificantes, uma camada de cálcio protetor à superfície das rochas calcárias (ORIAL *et al.*, 1997).

Várias substâncias são comumente empregadas na preservação de monumentos e construções em pedra: antibióticos; enzimas; biocidas; tensoativos e sabões; taninos e fenóis (naturais e sintéticos); gases (por exemplo, óxido de etileno) e irradiação (por exemplo, radiação UV) (KRUMBEIN, 1988). Para o controle de algas e líquens em materiais rochosos, utiliza-se o peróxido de hidrogênio e também o hipoclorito de sódio (CANEVA, 1991).

Em relação às medidas de controle e proteção contra ação microbiana é necessário, inicialmente, garantir as condições de umidade e temperatura adequadas da rocha. Após a eliminação de destruição da microflora, a aplicação de agentes protetores tem que levar em conta as condições dominantes do objeto. A escolha do agente protetor, como uso de consolidantes, substâncias hidrofóbicas, fixativos ou até mesmo a cobertura da superfície da pedra com lâminas, deve ser realizada com muito cuidado. Os biocidas podem ser utilizados, para aumentar a

eficácia, embora em alguns casos não apresentem resultados satisfatórios (RESENDE, 1997).

Por séculos tem sido conhecido que os traços de metais pesados afetam o crescimento e a viabilidade dos microorganismos. O óxido de zinco tem o efeito inibitório em todos os fungos e o cobre é conhecido como inativo de proteínas e de DNA na biodeterioração de rochas. (WARSCHEID *et al.*, 2000).

Segundo LOPES (2002) o sulfato de zinco e cobre apresentam a vantagem de serem baratos, serem solúveis em água (facilitando a aplicação) e controlarem em quantidades bem pequenas, tanto a população de fungos como a de bactérias, presentes em rochas sedimentares.

Conforme BECKER (1994), tem sido usado fungicidas para o controle de microorganismos em monumentos, como por exemplo em Minas Gerais no complexo do Caraça, da Igreja Bom Senhor Jesus de Matosinhos, Congonhas e da Catedral de Aachen na Alemanha, trabalho desenvolvido pelo projeto IDEAS .

LOPES (2002), cita a ação fungicida dos tratamentos à base de sulfato de cobre e de zinco em patrimônios históricos de arenitos na Lapa, PR. Nas rochas sedimentares, exemplo o arenito citado por Lopes (2002), o tratamento sulfato de cobre + sulfato de zinco apresentaram ação fungicida e bons resultados no aspecto visual. Segundo GAYLARD (1994), o cobre percolado vindo de placas de bronze presente no monumento de calcário pode reduzir população microbiana, não sendo preventivo. Talvez a reação química entre o cobre e a rocha produza uma camada na superfície impermeável, que retém sais, eventualmente ocorrendo o esfarelamento das rochas. Devido a isso pode-se observar a devida importância da avaliação visual, como também análises microbiológicas, pois os tratamentos sulfato de cobre e sulfato de zinco podem apresentar diferentes reações em rochas de diferentes origens.

Segundo PELCZAR (1980), muitos fungos como *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* e *Alternaria*, através de atividades metabólicas tem se apresentando como agentes de deterioração sobre superfícies pintadas, ocorrendo manchas ou descoloramentos por bolores, com exceções das tintas que contenham um eficiente ingrediente fungicida. A Nuodex Products Company Inc (PELCZAR, 1980), realizou um teste em placa de ágar que demonstra a eficácia do agente antifúngico incorporado à tinta.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCALIZAÇÃO GEOGRÁFICA

O presente estudo foi realizado na Catedral de San Francisco de Asis, cidade de Ayaviri, província de Melgar, Peru. Construída no século XVI esta catedral, possui rochas vulcânicas traquito e rochas riodacito e na sua lateral rochas sedimentares lutita –arenisca (CANO, 2001). A estrutura da catedral é marcada pela tendência barroca e constitui um exemplo da arquitetura mestiça do local (BRUÑO, 2000). A cidade de Ayaviri localiza-se na cordilheira dos Andes e apresenta uma extensão de aproximadamente 101.314 Km², com uma altitude de 3.907m, entre as coordenadas de 14°22' e 15°25'S; 72°15' e 73°25' W (HANCCO, 2000), apresentando um relevo completamente acidentado (MORALES, 2000). A vegetação típica é denominada de Pampas, constituída de pastos naturais, com nenhuma vegetação arbórea devido à altitude e baixa temperatura (HANCCO, 2000).

3.2 CLIMA

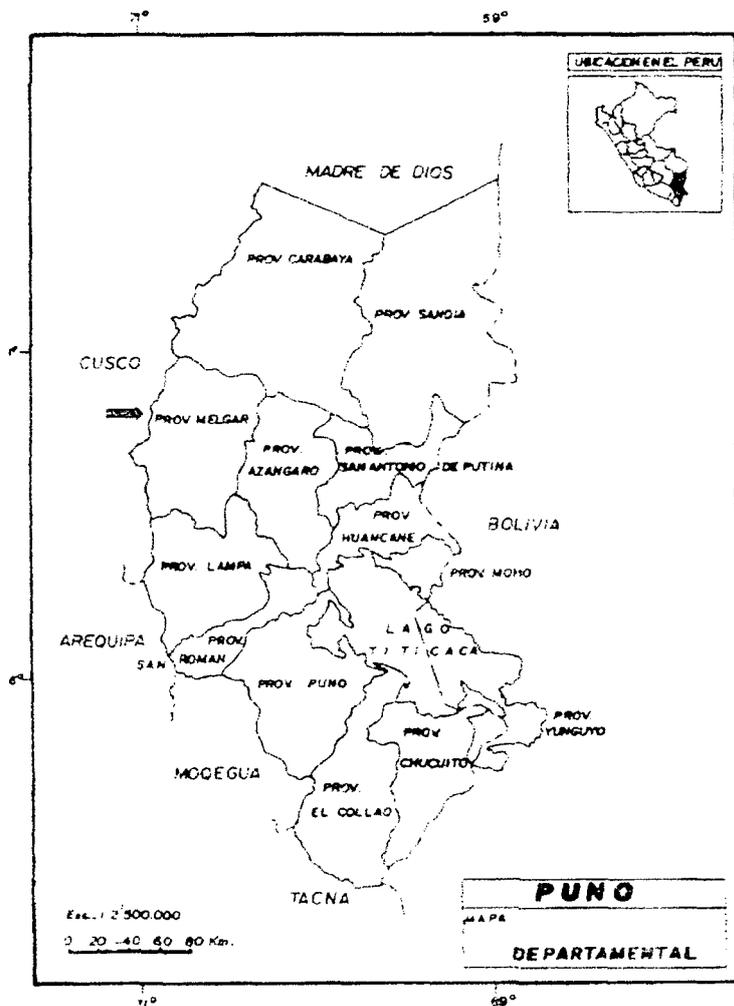
A climatologia da região é definida, como clima de tundra seca de alta montanha, caracterizado com um clima frio e muito frio, apresentando uma estação seca e outra úmida, com fortes diferenças de temperatura, ventos fortes e radiações solares (HANCCO, 2000). Devido a isto, o clima torna-se um dos fatores responsáveis pela deterioração do templo (CANO, 1999). Além do clima, a catedral encontra-se em avançado estado de deterioração devido à ação de fatores físico-químicos e biológicos (ação de microorganismos e grande quantidade de matéria orgânica) e ação antrópicas (depredação humana).

3.3 CIDADE DE AYAVIRI

A região de Melgar está localizada no noroeste do Estado de Puno e faz fronteira com nove distritos: Ayaviri, Antauta, Cupi, Llalli, Macarí, Nunoa, Orurillo, Santa Rosa y Umachiri. Sua principal cidade é AYAVIRI capital da província, fazendo parte do que se chama de Eixo Nacional Andino: Puno, Cusco, Abancay, Ayacucho, Huaráz y Cajamarca. Ademais, se encontra dentro do corredor turístico internacional: Cusco, La Paz e Buenos Aires. A população estimada, em junho de 1999, era de 78.570 habitantes, representando 6.6% da população estimada de

Puno. Sua superfície territorial engloba 6.44685 Km² o que representa 8.9% da superfície territorial de Puno (HANCCO, 2000). (Figuras 1 e 2).

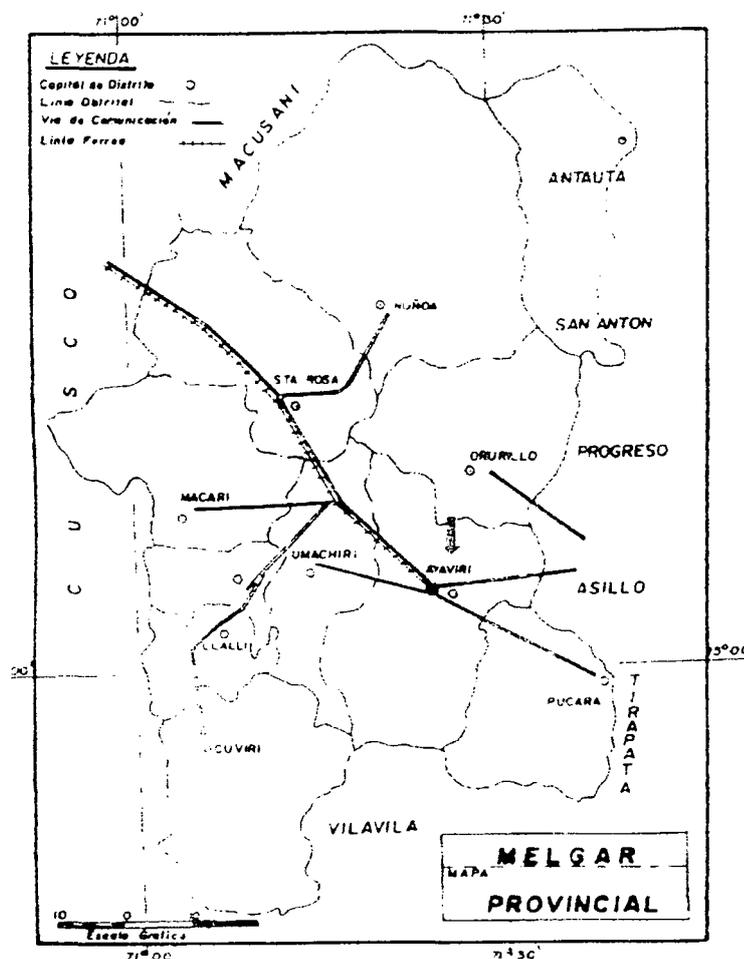
FIGURA 1 - PROVÍNCIAS DE PUNO



A cidade situa-se numa região predominantemente agrícola e a cultura da batata e da quina predominam ao lado de pastagens para alimentação do gado (bovinos, eqüinos, suínos, sobretudo ovino) das estepes. Em função do rigor do clima, a agricultura da região ocupa uma pequena parcela de sua área concentrando-se na área circunlacustre especialmente pelo microclima do Lago Titicaca. Em, Ayaviri, a atividade agrícola, mesmo incipiente, presta-se ao abastecimento familiar no melhor dos casos (HANCCO, 2000).

A província de Melgar está na cordilheira aurífera, a maior riqueza mineral da região. Existem ricas jazidas de estanho, cobre, chumbo, prata, antimônio, petróleo e carvão. Possui uma das maiores minas de estanho do país (MORALES; BUENO, 2000).

FIGURA 2 - LOCALIZAÇÃO GEOGRÁFICA DE AYAVIRI



FONTE: Instituto Superior Ayari (HANCCO, 2000)

3.4 A CATEDRAL SAN FRANCISCO DE ASIS

A catedral San Francisco de Asis (Figura 3) foi fundada no final do século XVI, no mesmo local onde a civilização inca levantou o Templo do Sol. Construído no apogeu da arquitetura de Cusco e, em meados do século XVIII, a mais de meio século de sua inauguração, passou por trabalho de restauração e, acrescentou-se em seu interior, decoração de prata trabalhada e outros ornamentos, fatos que a colocam entre uma das mais belas da região, pela arquitetura delicada e grande

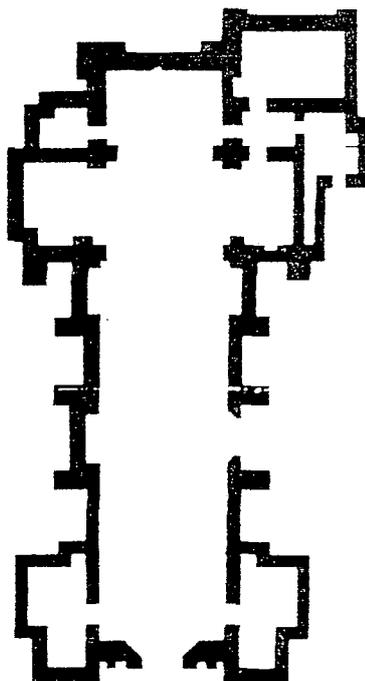
riqueza artística. Seu estilo é o andino barroco e sua planta, em forma de cruz latina, abriga uma única nave e um altar (Figura 4). Sua fachada possui três corpos superpostos com colunas coríntias (MORALES, 2000).

Fato importante é que a Catedral de Ayaviri está oficialmente reconhecida como Monumento Nacional pela Lei nº 9400 de 1941 (MORALES, 2000).

FIGURA 3 - CATEDRAL DE SAN FRANCISCO DE ASIS



FIGURA 4 - CROQUI DA PLANTA



3.5 ESCOLHA, AMOSTRAGEM E TRATAMENTO DAS PAREDES

O estudo foi realizado no período de 8 a 21 de janeiro de 2001. Foram escolhidas três paredes diferentes para a realização da amostragem na catedral, fachada frontal inferior direita denominada de parede X, torre direita do lado externo denominada parede Y e o lado interno da torre esquerda denominada de parede Z e diferentes aplicações dos tratamentos: 1-sulfato de cobre 5% (CuSo_4 5%), 2- sulfato de cobre 0,5% (CuSo_4 0,5%), 3-sulfato de cobre 3% (CuSo_4 3%) e 4-sulfato de cobre 5% +sulfato de zinco 5% (CuSo_4 5%+ ZnSo_4 5%). Em todas paredes as avaliações realizadas, para a escolha das rochas, foi somente visual levando em consideração o nível de degradação biológica, de exposição à iluminação solar, à precipitação e o fácil acesso à manipulação das rochas.

Em cada rocha escolhida demarcou-se, com uma broca de vidia de 5 mm (de diâmetro) um ou dois retângulos (dependendo do tamanho da rocha) de 20 cm x 10 cm, o qual foi dividido com grafite em 15 retângulos menores com dimensões aproximadas de 5 cm x 3,3 cm. Somente as rochas da parede X foram cobertas por uma lona plástica para proteger o experimento da chuva e de ações de vândalos.

O próximo passo foi mapear as paredes de forma a identificar as rochas que as compunham; tal mapeamento consistiu em demarcar cada rocha com fileiras horizontais numeradas e denominar cada fileira vertical por uma letra do alfabeto.

Amostrou-se, de cada rocha demarcada, o primeiro quadrante do retângulo; este quadrante foi denominado 0 ou Testemunha. As amostras foram coletadas em papel Kraft através de raspagem homogênea do retângulo com auxílio de bisturi, tomando o cuidado de flambar previamente as lâminas do bisturi. Quando se obtinha uma quantidade suficiente, a amostra foi transferida para um tubo de ensaio com tampa rosqueável, previamente autoclavado e identificado com o nome da parede, a data de coleta, o nº da rocha, e o tipo da amostra.

Após este processo, cada rocha recebeu um determinado tratamento que consistia na aplicação das seguintes soluções: sulfato de cobre 5% (CuSO_4 5%), sulfato de cobre 3% (CuSO_4 3%), sulfato de cobre 0,5% (CuSO_4 0,5%) e sulfato de cobre 5%+ sulfato de zinco 5% (CuSO_4 5% + ZnSO_4 5%). Os reagentes foram pesados no laboratório da Universidade de Cusco, separados e acondicionados em papel alumínio. As soluções foram elaboradas no local de estudo e após a elaboração das soluções foram aplicadas nas paredes e posteriormente acondicionadas em garrafas de vidro e armazenadas na escadaria da torre para preservá-las da luz.

Foi aplicado com um pincel, 10 ml da solução, tomando o cuidado para não deixar a solução escorrer. Após 24 horas da aplicação do tratamento, retirou-se o segundo quadrante do retângulo denominado T0, amostrando-se de maneira idêntica à da testemunha. Identificou-se o tubo, com o local e tipo de tratamento aplicado na rocha. Após sete dias, amostrou-se o último quadrante do retângulo, denominado de T1. As amostras foram submetidas a uma etapa experimental, realizada no laboratório de Biologia do Solo da Universidade Federal do Paraná do Departamento do Solo e Engenharia Agrícola.

Nas tabelas 1, 2 e 3 pode-se observar o tratamento aplicado em cada rocha

TABELA 1 - TRATAMENTOS APLICADOS NAS ROCHAS DA PAREDE X

Parede	Tratamento Aplicado	Mapeamento da Rocha
X1	Cu SO ₄ 5%,	E 11 b
X2	Cu SO ₄ 0,5%	E 8
X3	Cu SO ₄ 3%	E 6
X4	Zn SO ₄ 5%+ Cu SO ₄ 5%	B 7

E11b, E8, E6, B7 foram utilizados para o mapeamento das rochas, para facilitar a identificação das rochas amostradas e posteriores amostragens.

TABELA 2 - TRATAMENTO APLICADO NAS ROCHAS DA PAREDE Y

Parede	Tratamento Aplicado	Mapeamento da Rocha
Y1	Cu SO ₄ 5%	C 1
Y2	Cu SO ₄ 0,5%	C 2
Y3	Cu SO ₄ 3%	C 3
Y4	Zn SO ₄ 5%+ Cu SO ₄ 5%	B 4

C1, C2, C3, B4 foram utilizados para o mapeamento das rochas, para facilitar a identificação das rochas amostradas e posteriores amostragens.

TABELA 3 - TRATAMENTO APLICADO NAS ROCHAS DA PAREDE Z

Parede	Tratamento Aplicado	Mapeamento da Rocha
Z1	Cu SO ₄ 5%	B 2 b
Z2	Cu SO ₄ 0,5%	B 4
Z3	Cu SO ₄ 3%	A1 a
Z4	Zn SO ₄ 5%+ Cu SO ₄ 5%	A1 b

B 2 b, B 4, A 1 a, A 1 b foram utilizados para o mapeamento das rochas, para facilitar a identificação das rochas amostradas e posteriores amostragens.

3.6 ANÁLISE DOS EFEITOS DO TRATAMENTO

3.6.1 Análise dos Aspectos Visuais

Após a aplicação dos tratamentos verificou-se, visualmente, a mudança de cor das rochas, com diferentes variações de alteração, devido a isso foi padronizado um conceito de avaliação, definindo a mudança de cor e uma nota para análise estatística.

Os conceitos foram padronizados como: grande variação, pequena variação e grande variação. Como referência, atribuíram-se valores as variações: grande variação – 10,0, e média variação – 5,0, e pequena variação – 2,0. Sigla: grande variação - G.V., média variação – M.V. e, pequena variação – P.V.

TABELA 4 - PADRONIZAÇÃO PARA AVALIAÇÃO DOS ASPECTOS VISUAIS
OBTIDOS APÓS A APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS

Avaliação	ASPECTOS VISUAIS	Nota
Grande variação	Grande alteração na coloração original da rocha, que impede o uso do tratamento	10
Média variação	Alteração na rocha na coloração original da rocha porém sem impedir no uso	5
Pequena variação	Pouca ou nenhuma alteração na coloração da rocha	2

3.6.2 Análises Microbiológicas

A avaliação dos efeitos nos tratamentos foi realizada pela estimativa da população de fungos e bactérias heterotróficas da testemunha em relação as amostragem de 1 e 7 dias. A obtenção dos dados foi baseada na metodologia do Número Mais Provável – (NMP) conforme WOOMER (1994), CARTER (1993) e SCHINNER (1996). Foram realizadas, em tubos de ensaio diluições da amostragem de rocha estudada através da adição de alíquotas de 100 μ l em diluições 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} (água deionizada esterilizada) com agitação prévia de cada tubo. A seguir as inoculações, para fungos, foram realizadas nas diluições 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} em tubos de ensaio com tampa rosqueável contendo meio de cultura de Martin, na quantidade de 1000 μ l. Para bactérias utilizou-se tubos de ensaio com tampa rosqueável e a adição de alíquotas de 100 μ l das diluições 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} no meio de cultura de Martin, com 1000 μ l. Para a preparação do meio de cultura utilizou-se o meio de Martin (MENZIES, 1965), mas modificou-se o meio de cultura para bactérias adicionando-se Cicloheximida e retirou-se a rosa bengala e estreptomicina, para inibição de fungos, conforme a tabela 5.

TABELA 5 - MEIO DE CULTURA MARTIN PARA FUNGOS/BACTÉRIAS

REAGENTES	CONCENTRAÇÃO (gr)	
	Fungos	Bactérias
KH ₂ PO ₄	1	1
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.5	0.5
Peptona	5	5
Glicose	10.0	10.0
Rosa Bengala	0,06	-
Estreptomicina	0,2	-
Cicloheximida	-	0,04
Água Destilada	1000	1000
Para placas adicionar 15 g de agar para 1000L		

Todo o processo de inoculação foi realizado dentro da capela asséptica de fluxo laminar vertical. Após a inoculação os tubos foram fechados e incubados a 25° C durante 7 dias.

Após esse período foi realizada a leitura, e aqueles que apresentavam turvação do meio de cultura, foram considerados positivos e os contendo meio de cultura translúcido foram considerados negativos.

A tabela NMP, citada por SCHINNER (1996), é usada com diluição decimal utilizando-se cinco tubos de ensaio por diluição, com duas repetições. Os valores foram obtidos conforme os cálculos a seguir, com a função de determinar a população microbiana por grama de solo.

A umidade foi obtida a partir da equação n.º 1

$$U = (PU - PS)/PS * 100 \dots \dots \dots (1)$$

onde:

U = umidade de rocha

PU = peso úmido de rocha

PS = peso seco de rocha

A percentagem da umidade foi obtida por meio da seguinte equação

$$\% U = U \times 100$$

onde:

% U = percentagem da umidade de rocha

U = umidade de rocha

O fator de correção foi calculado a partir da equação n.º2:

$$FC = 100 / (100 - \% U) \dots \dots \dots (2)$$

onde:

FC = fator de correção

% U = percentagem da umidade de rocha

O valor da leitura final dos fungos foi obtida através da utilização da equação

n.º3:

$$F = 10 \times NMP \times FC \times 10^4 \dots\dots\dots(3)$$

onde:

L F = valor da leitura final para os fungos

NMP = média do número mais provável das duas repetições da amostra

FC = fator de correção

3.6.3 Isolamento e Identificação dos Fungos

Os fungos foram isolados e determinados seu pH a partir dos tubos com meio de cultura turvados, utilizados para contagem do número de propágulos que quando presentes, transferidos para placas em meio de Martin (MENZIES, 1965), acrescidos de 15 gramas de agar, meio sólido. As placas foram tampadas, invertidas e colocadas por sete dias na estufa a 25°C, para crescimento das colônias. Após o isolamento dos fungos nas placas os mesmos foram transferidos como pedaços de propágulos em tubos inclinados contendo potato dextrose agar (PDA) e encaminhados ao Laboratório de Coleção de Culturas de Fungos do Instituto Oswaldo Cruz para identificação das espécies. Os fragmentos das colônias, oriundas dos tubos de ensaio foram cultivados em Potato Dextrose Agar (PDA), Czapek Dox Agar (CZA) e Extract MALT (EMA) com posterior identificação, procedimento detalhado na metodologia de KENDRICK *et al* (1980). A identificação foi confirmada sob microscopia ótica ao corante azul de algodão com lactofenol, esta metodologia foi descrita por (HAWKSWORTH, 1977).

As características microscópicas para identificação das espécies foram observadas através da técnica de microcultivo entre lâmina e lamínula (RIVALIER, 1932). A identificação das espécies foi realizada consultando os seguintes autores: ELLIS (1971, 1976) para os gêneros *Alternaria*; RAPER (1965); CHRISTENSEN (1978, 1981, 1982) para as espécies do gênero *Aspergillus*.

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

3.6.4 Antibiograma

Conforme TRABULSI (1991), o antibiograma é o método utilizado em análises clínicas para agentes patogênicos. Esse método foi adaptado e utilizado para agentes biodeterioradores de rochas, com discos contendo os sais sulfato de cobre e zinco.

O antibiograma utilizado foi a técnica de difusão de discos conforme BAUER-KIRBY (pp.) Essa técnica consiste em repicar os fungos em placas com meio específico sólido e após a repicagem colocar os discos que contêm antibióticos ou soluções. Foram elaborados discos de papel filtro com diâmetro de 10 mm, que foram mergulhados por 24 horas nos tratamentos a base de sulfato de cobre e sulfato de cobre + zinco. O antibiograma foi realizado em placas com o meio de Martin tanto para fungos como bactérias, após a repicagem do microorganismo foi colocado o disco com o tratamento. Para cada tratamento foram realizadas cinco repetições das placas.

Todos os tratamentos receberam os devidos cuidados de assepsia e realizados na câmara de fluxo de ar vertical. Depois de colocados os discos, eram colocadas as tampas das placas, invertidas e incubadas a 25°C durante cinco dias. O mesmo procedimento foi usado tanto para fungos como bactérias. Após o período de 5 dias foram realizadas as leituras, baseadas na presença do halo em volta do disco, sendo considerado na presença do halo, positivo e na sua ausência, negativo. Os dados da leitura foram compilados, através dos valores das medidas do diâmetro dos halos e passados para planilha, posteriormente foram analisados segundo delineamento inteiramente casualizado com 5 repetições e a comparação das medias, conforme o teste de Tuckey.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 SOBRE AS PAREDES ESCOLHIDAS

Comparando-se as três paredes pode-se observar que somente a parede X é constituída por diferentes tipos de rochas vulcânicas de riodacito e traquito, e encontram-se com bastante sujeira e com variação da coloração original, devido ações humanas como excrementos (fezes e urina) e algumas rochas depredadas. Pode-se observar rochas desgastadas, mas não tanto como na parede Y, que estão expostas a uma maior incidência direta de agentes físicos, como luz, chuva, granizo, ventos e oscilação da temperatura, ocasionado um maior desgaste nas rochas e uma maior limpeza e também a presença de seres autótrofos que contribuem para biodeterioração.

A parede Z encontra-se protegida dos agentes físicos, apresentando rochas não desgastadas, mas sujeitas a grande quantidade de matéria orgânica, tornando um local propenso a desenvolvimento de microorganismos. As paredes Y e Z apresentam uma menor variação da coloração original das rochas, pois estão isoladas ao acesso de pessoas, devido a isso não estão sujeitas às ações antrópicas.

As paredes mais representativas das diferentes condições ambientais foram escolhidas a partir de avaliação visual, levando em conta os diferentes tipos de rochas, acessos de facilidade de manipulação, estado de conservação das rochas e incidência de luz e chuva. As características observadas em cada uma são descritas a seguir:

A parede X, (Figura 5) denominada de fachada frontal inferior direita, é constituída por dois tipos diferentes de rochas ígneas, riodacito e traquito (CANO, 2001)¹, predominando as rochas traquitos. As rochas riodacito apresentam uma pequena heterogeneidade em relação à coloração, algumas mais avermelhadas, devido a quantidades maiores de alguns minerais como ferro e outras apresentando uma coloração mais acinzentada, enquanto as rochas traquitos apresentam homogeneidade em relação a sua coloração amarelada.

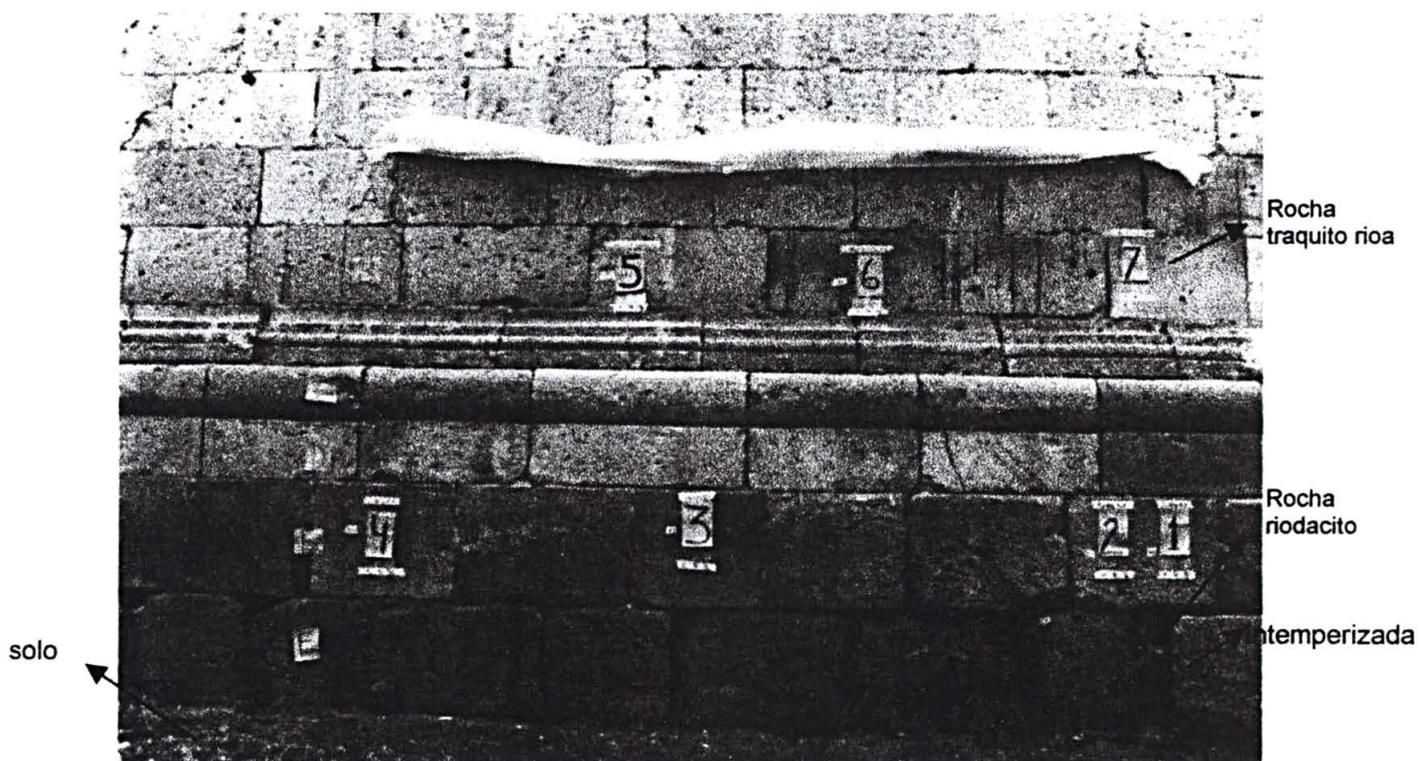
¹ Engenheiro executor da restauração lotado na Escuela de Belas Artes "Diego Quispe Tito" de Cusco, Cusco, Perú e intermediador do convênio com Instituto para o Desenvolvimento do Meio Ambiente -ANTROPOSPHERA.

Os diferentes tipos de rocha, apresentam uma homogeneidade ao estado de conservação, ambos estão desgastadas, devido à agentes físicos, como luz, chuva, granizo, ventos e oscilação de temperatura, embora não ocorra uma incidência direta desses agentes.

A parede X também encontra-se mais próxima do solo e ao homem, sendo assim sujeita a depredação, excrementos, como fezes e urina, ocasionando rochas com bastante sujeira e conseqüentemente variação da coloração original (Figura 5).

Diferenças de coloração, em algumas imagens do mesmo local, referem-se à películas de diferentes marcas e revelação em locais distintos ocasionando mudança de tonalidade nas fotografias.

FIGURA 5 – PAREDE X

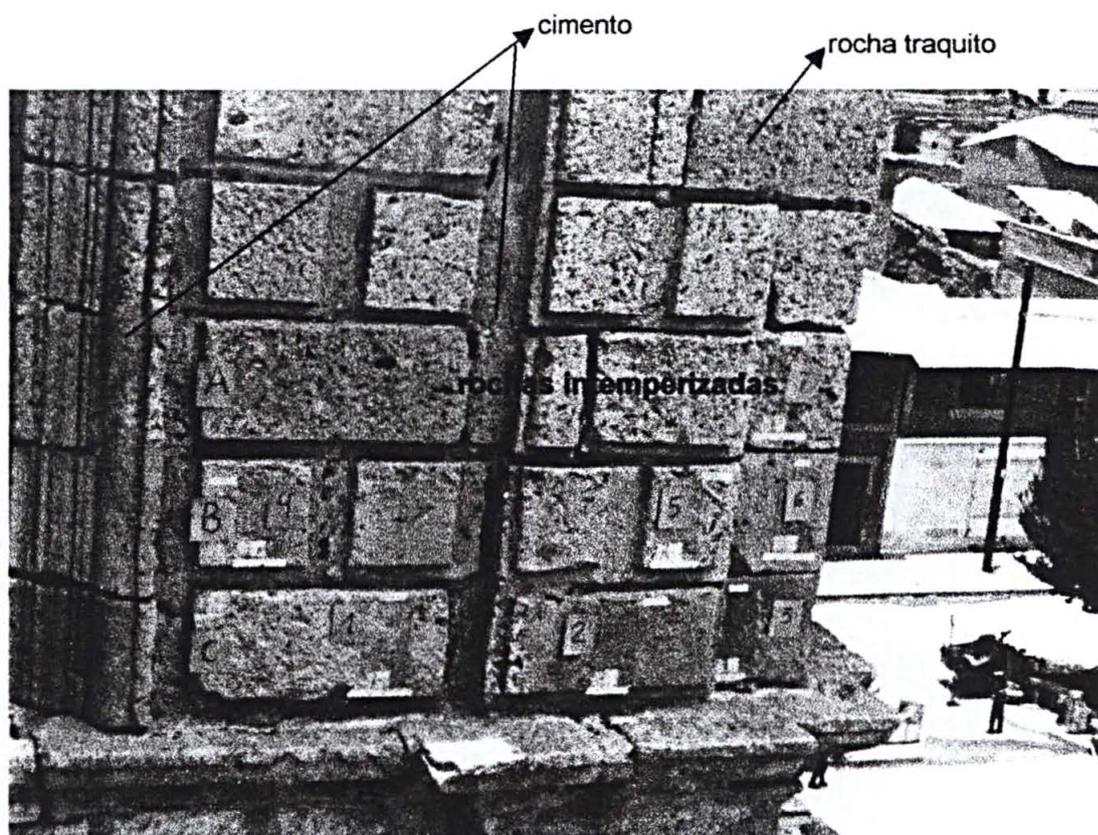


A parede Y (Figura 6), localiza-se na torre direita do lado externo e é constituída por rochas traquitos (CANO, 2001). As rochas traquitos apresentam homogeneidade em relação a sua coloração amarelada. Observa-se que as rochas, apresentam uma homogeneidade ao estado de conservação, ambos estão desgastados, devido a exposição direta de agentes físicos, como luz, chuva,

granizo, ventos e oscilação de temperatura, fazendo com que os minerais se contraíam e expandam ocasionando lesão na rocha.

As rochas não se apresentam sujas, pois não estão sujeitas as ações humanas, são lavadas pela chuva e conseqüentemente, mantêm uma menor variação da coloração original. Visualmente pode-se observar a presença de seres autotróficos alojados na rocha (Figura 6).

FIGURA 6 - PAREDE Y

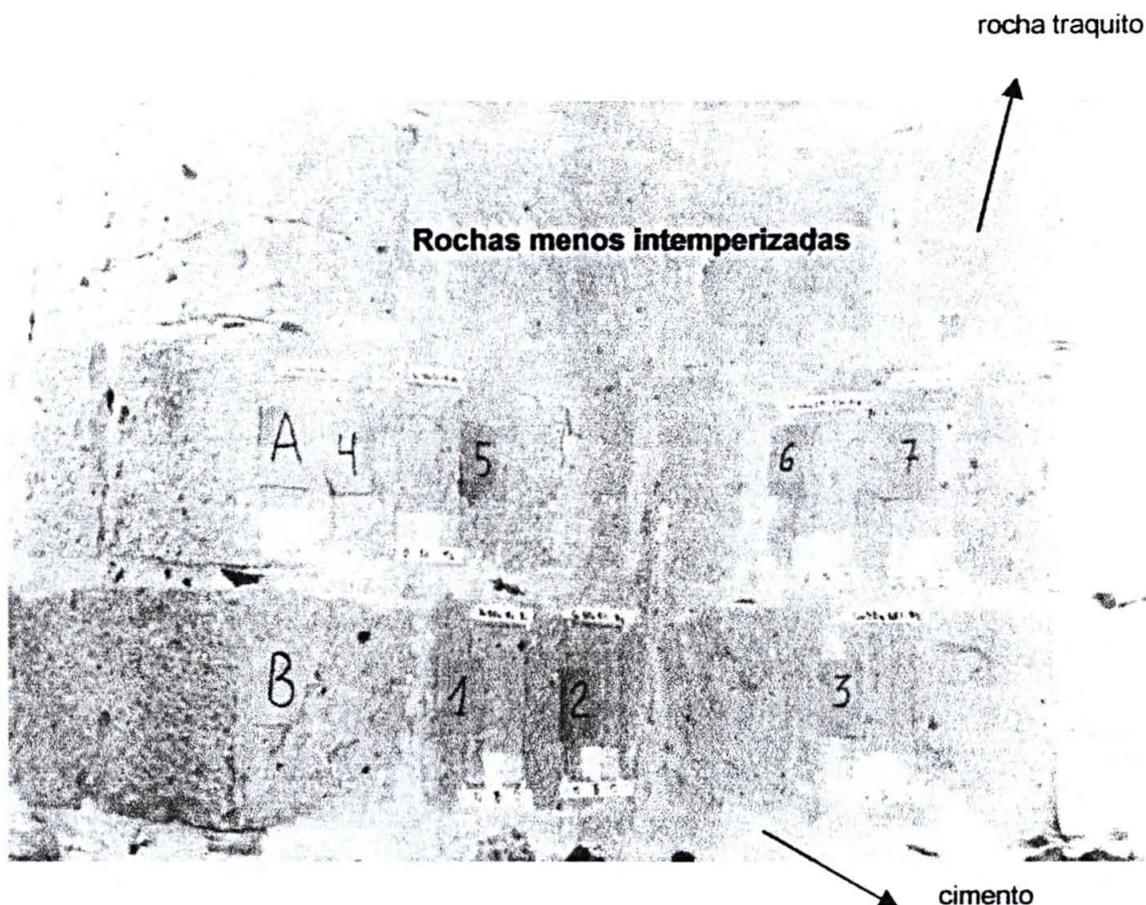


A parede Z (Figura 7), localiza-se no lado interno da torre esquerda, é constituída por rochas de traquitos (CANO, 2001). Observa-se que as rochas, apresentavam o mesmo estado de conservação, não se encontram desgastadas, pois estão localizadas no lado interno da torre, estando protegidas de agentes físicos e mantendo uma maior umidade.

As rochas não se apresentavam sujas, pois não estão sujeitas a ações humanas e conseqüentemente mantêm uma menor variação da coloração original.

Visualmente pode-se observar a presença de grande quantidade de matéria orgânica, devido a grande quantidade de excrementos de pombos (Figura 7).

FIGURA 7 - PAREDE Z



4.2 AVALIAÇÃO VISUAL DAS PAREDES TRATADAS

A partir da avaliação visual pode-se observar uma modificação da coloração atual das rochas após a aplicação de sulfato de cobre e sulfato de zinco. Para avaliação foi observada uma tabela de classificação com conceitos padronizados. Esses conceitos têm por finalidade avaliar as mudanças em função da viabilidade de uso do tratamento para recuperação da catedral, sem que haja danos visuais. Assim sendo, entende-se que grande variação não pode ser usada por ocasionar alteração da coloração original da rocha.

4.2.1 Avaliação dos Aspectos Visuais da Parede X

Através dos resultados obtidos observou-se, que as rochas vulcânicas riodacito apresentaram mudança de coloração após a aplicação dos sais, apresentando um tom semelhante à coloração original nos tratamentos CuSO_4 5% e CuSO_4 3%, padronizado como média variação (Tabela 6). Enquanto que no tratamento CuSO_4 0,5% quase não apresentou variação da coloração original, sendo tido como pequena variação (Tabela 6), podendo ser utilizado como tratamento .

Observou-se na rocha vulcânica traquito, alteração na coloração após à aplicação do tratamento, apresentando um tom semelhante a coloração original na solução Zn SO_4 5%+ Cu SO_4 5% padronizado como média variação (Tabela 6). Para proteção da chuva, a parede foi coberta por uma lona de plástico, logo após a aplicação do tratamento. Comparando-se as rochas vulcânicas riodacito e traquito notou-se que a rocha riodacito apresenta uma maior dureza e absorção, em relação a rocha traquito e que as duas rochas não apresentaram o conceito grande variação, sendo assim, viável o uso dos tratamentos, pois seu uso não causará danos na coloração original da rocha (Figuras 8 e 9).

TABELA 6 - AVALIAÇÃO VISUAL DA PAREDE X

Rochas	Tratamento Aplicado	Mapeamento da Rocha	Conceito
Riodacito	CuSO_4 5%,	E11 b	MV
Riodacito	CuSO_4 3%	E6	MV
Riodacito	CuSO_4 0,5%	E8	PV
Traquito	ZnSO_4 5% + CuSO_4 5%	B7	MV

FIGURA 8 - PAREDE X - ROCHA RIODACITO APÓS A RASPAGEM DA TESTEMUNHA

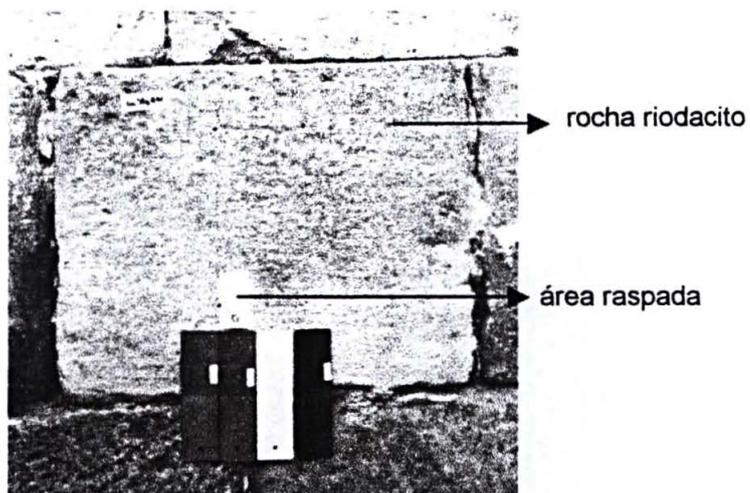
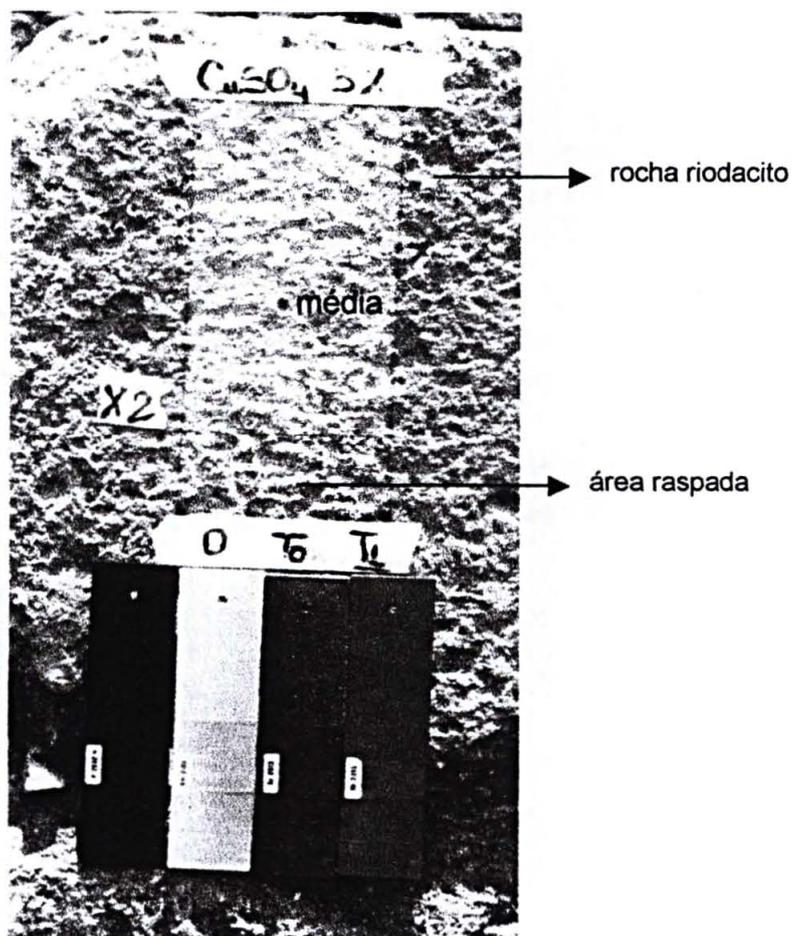


FIGURA 9 - APÓS A APLICAÇÃO DO TRATAMENTO SULFATO DE COBRE NA ROCHA RIODACITO PAREDE X



4.2.2 Avaliação dos Aspectos Visuais da Parede Y

Através dos resultados foi observado, que o traquito apresentou pouca mudança de coloração após a aplicação dos sais, nos tratamentos CuSO_4 5%, CuSO_4 3%, CuSO_4 0,5% e ZnSO_4 5%+ CuSO_4 5%, padronizado como pequena variação (Tabela 7). Após aplicação do tratamento pode-se observar uma boa absorção, mas aproximadamente depois de 3 horas, choveu lavando a parede Y, podendo influenciar no resultado. Devido a dificuldade de acesso (Figuras 10), não foi possível a instalação de uma lona plástica de proteção como na parede X, mas não houve problemas no mapeamento, raspagem e aplicação das soluções.

Observou-se que o traquito apresentou o conceito pequena variação, tornando-se viáveis os tratamentos, pois seu uso não causará, danos na coloração original da rocha (Figuras 11 e 12). Conclui-se que, neste particular, todos os tratamentos podem ser utilizados.

TABELA 7 - AVALIAÇÃO VISUAL DA PAREDE Y

Rocha	Tratamentos	Mapeamento da Rocha	Conceito
Traquito	Cu SO_4 5%	C1	PV
	Cu SO_4 3%	C3	PV
	Cu SO_4 0,5%	C2	PV
	Zn SO_4 5%+ Cu SO_4 5%	B4	PV

FIGURA 10 - PAREDE Y - ROCHA TRAQUITO - AMOSTRAGEM



FIGURA 11 - PAREDE Y - ROCHA TRAQUITO APÓS A RASPAGEM DA TESTEMUNHA

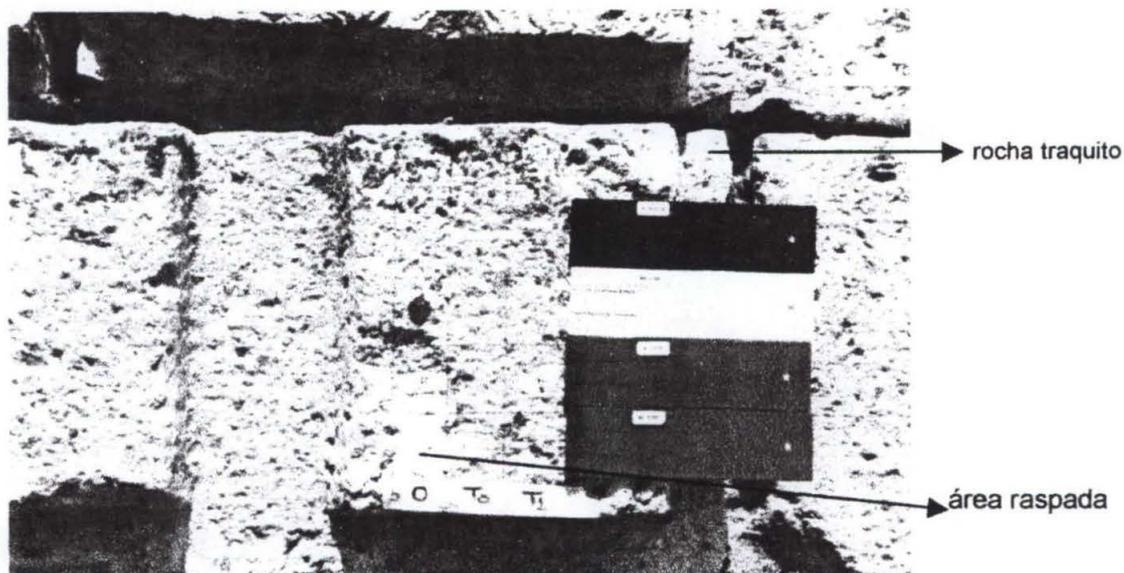
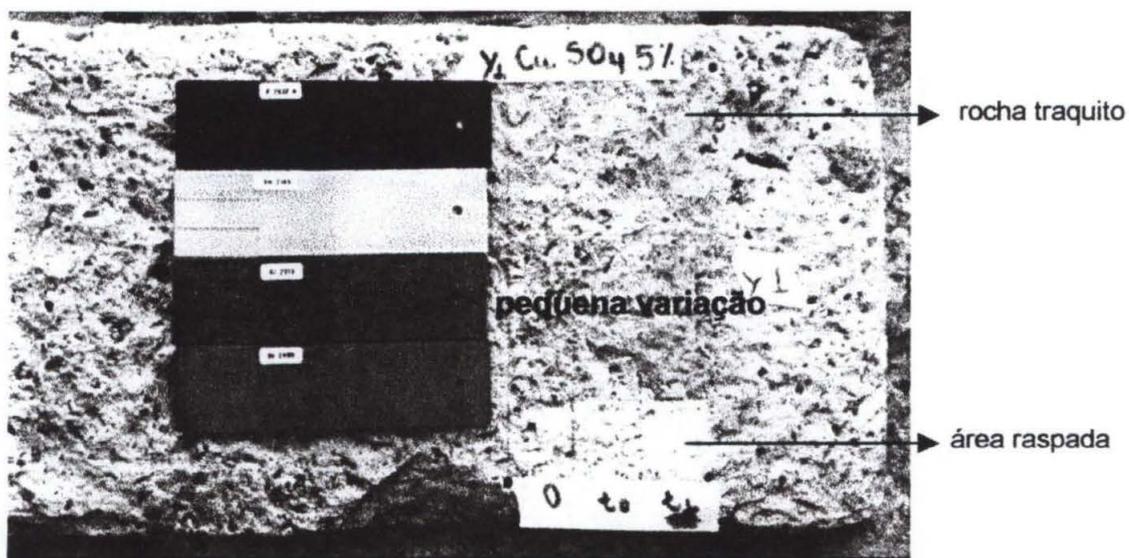


FIGURA 12 - APÓS A APLICAÇÃO DO TRATAMENTO SULFATO DE COBRE ROCHA RIODACITO PAREDE Y



4.2.3 Avaliação dos Aspectos Visuais da Parede Z

Através dos resultados obtidos foi observado, que o traquito apresentou pouca mudança de coloração após à aplicação dos sais, nos tratamentos CuSO_4 5%, CuSO_4 3%, CuSO_4 0,5% e ZnSO_4 5%+ CuSO_4 5% padronizado como pequena variação (Tabela 8). Não houve necessidade de nenhuma proteção, pois encontra-se em um local protegido de fácil acesso de manipulação.

Constatou-se que as rochas de traquito apresentam o conceito pequena variação, tornando-se viáveis os tratamentos, pois seu uso não causará, danos à coloração original da rocha (Figuras 13 e 14). Concluindo-se que todos os tratamentos podem ser utilizados.

TABELA 8 - AVALIAÇÃO VISUAL DA PAREDE Z

Rocha	Tratamento Aplicado	Mapeamento da Rocha	Conceitos
Traquito	CuSO ₄ 5%	B2 b	PV
	CuSO ₄ 3%	A1 a	PV
	CuSO ₄ 0,5%	B 4	PV
	ZnSO ₄ 5% + CuSO ₄ 5%	A1 b	PV

FIGURA 13 - PAREDE Z - ROCHA TRAQUITO APÓS A RASPAGEM DA TESTEMUNHA

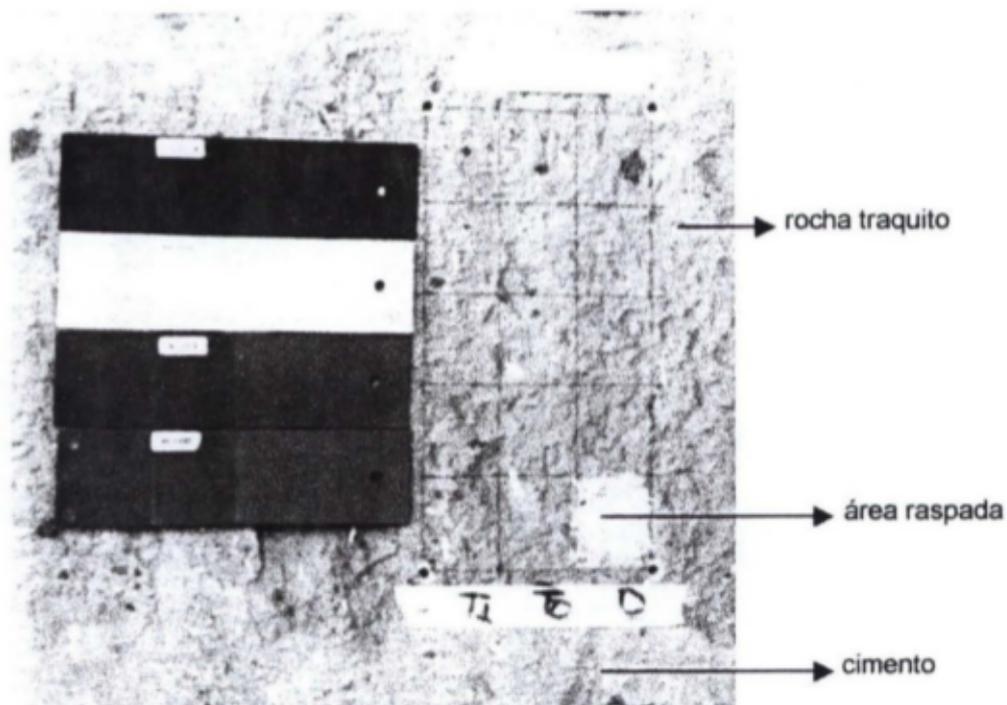
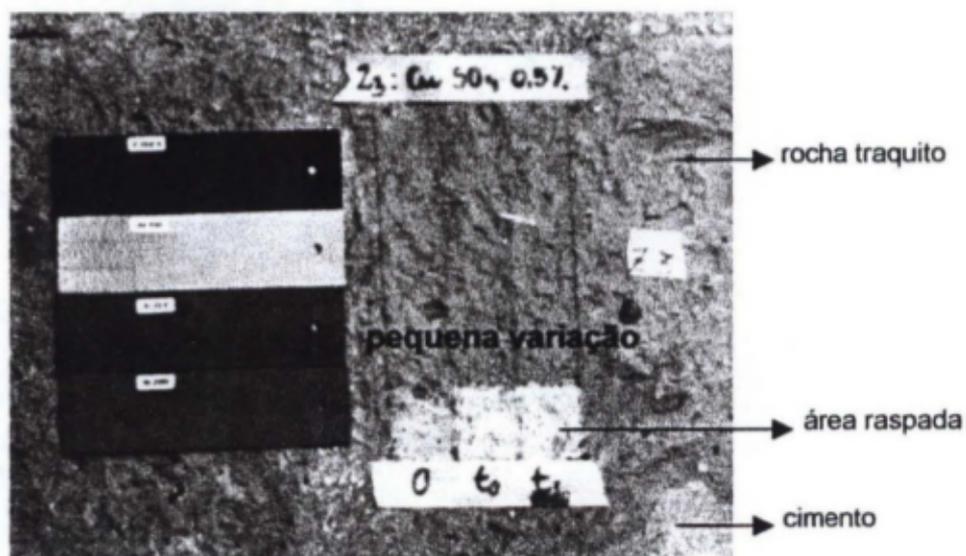


FIGURA 14 - APÓS A APLICAÇÃO DO TRATAMENTO SULFATO DE COBRE NA ROCHA TRAQUITO - PAREDE Z



Na comparação dos dados a parede X apresentou um melhor resultado visual, com o conceito média variação, em relação à aplicação das soluções sulfato de cobre 5%, 3% e sulfato de cobre 5% + sulfato de zinco 5%, com exceção do CuSO_4 0,5%, mesmo sendo rochas de natureza diferentes. A parede Y e Z

apresentaram resultados semelhantes em todos os tratamentos, como pequena variação (P.V.). A rocha riodacito apresenta uma dureza e porosidade maior do que as rochas traquitos. Na análise desses dados é necessário ressaltar que os resultados são obtidos visualmente e deve-se ainda observar que as rochas da parede X, apresentam-se bastante sujas devido sua localização e ações antrópicas, em relação às outras paredes.

Em relação aos resultados obtidos a partir da comparação dos aspectos visuais das paredes escolhidas, pode-se observar que em todos os tratamentos são viáveis, pois nenhuma das paredes apresenta como grande variação (G.V.), conseqüentemente podendo ser indicado o uso do tratamento, não causando alteração da coloração original.

Em vista disto, é viável a utilização de sulfato de cobre 5%, sulfato de cobre 3%, sulfato de cobre 0,5% e sulfato de zinco 5%+ sulfato de cobre 5%, para executar trabalhos de recuperação.

4.3 CONTROLE DE FUNGOS E BACTÉRIAS

Esta seção aborda o efeito dos tratamentos sulfato de cobre e sulfato de zinco sobre os microorganismos presentes na rocha, utilizando-se da metodologia do número mais provável (NMP), proposta por SCHINNER (1996), para fungos e bactérias que apresentam ação de biodeterioração em rochas. Nesta metodologia avalia-se o número mais provável de propágulos, através de seu crescimento de fungos e bactérias, após a aplicação do tratamento em diferentes amostragens de 1 dia e 7 dias em relação à testemunha.

O efeito dos tratamentos sobre os microorganismos através do número mais provável de propágulos oriundos de rochas magmáticas de riodacito e traquito, nas diferentes amostras de 1 dia e 7 dias e testemunha estão descritos nas Figuras 15 a 20.

A metodologia apresenta a vantagem que pode ser aplicada em microorganismos que não formam colônias em meio de cultura (ALEXANDER, 1980) e também pela rapidez, eficácia, e precisão dos resultados.

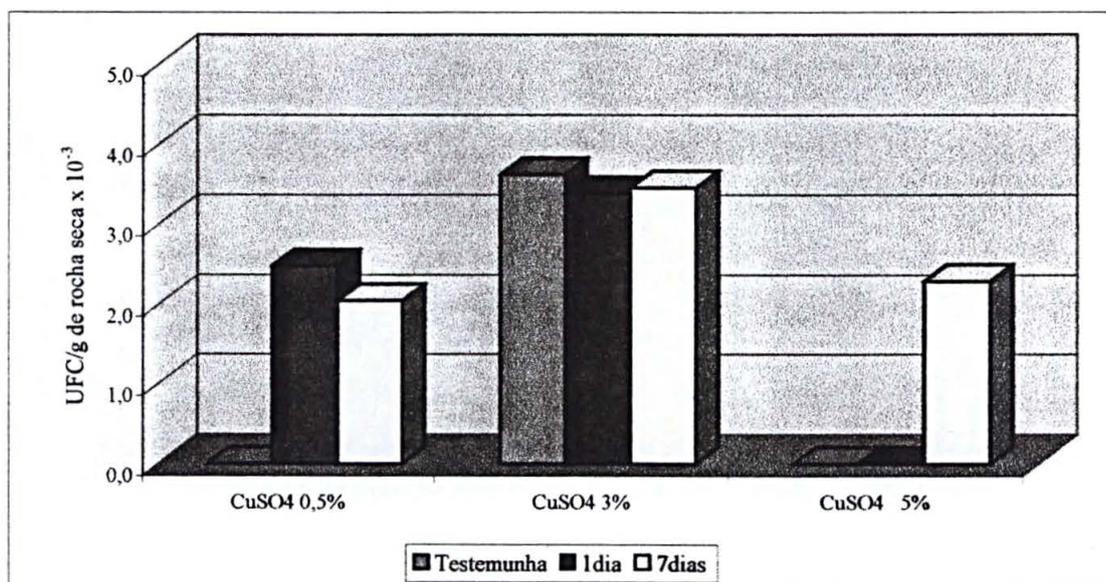
Não se encontrou diferença entre os resultados do controle de fungos e bactérias para os tratamentos de sulfato de cobre e zinco nas duas rochas estudadas para todas as concentrações.

4.3.1 Avaliação dos Tratamentos Sulfato de Cobre e Sulfato de Zinco sobre a População dos Fungos

O resultado do efeito dos diferentes tratamentos a base de sulfato de cobre e sulfato de cobre + sulfato de zinco, aplicados nas três paredes serão apresentados a seguir.

Em relação ao número de propágulos, observou-se que na parede X (Figura 15), o tratamento sulfato de cobre 0,5% não apresentou resultado na testemunha e valores aproximados da amostragem de 1 dia e de 7 dias (2,48 – 2,04), o tratamento sulfato de cobre 3% apresentou valores aproximados das amostragens testemunha, 1 dia e 7 dias (3,63 - 3,39 - 3,45). O tratamento sulfato de cobre 5% também não apresentou resultados nas amostragens testemunha e 1 dia, enquanto que na amostragem de 7 dias, apresentou um valor de 2,29 e no tratamento sulfato de cobre 5%+ sulfato de zinco 5% (Figura 18) apresentou valores aproximados das amostragens testemunha, 1 dia e 7 dias (5,36 – 5,36 – 5,55).

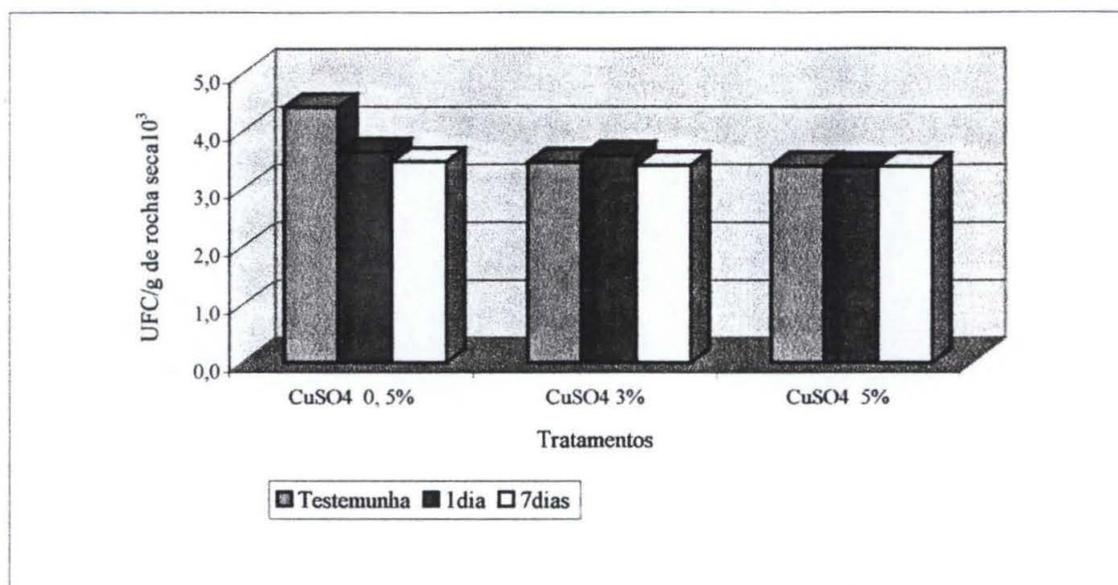
FIGURA 15 - NÚMERO MAIS PROVÁVEL PARA FUNGOS–PAREDE X



Em relação ao número de propágulos, observou-se que na parede Y (Figura 16), o tratamento sulfato de cobre 0,5% apresentou valor de maior grandeza da testemunha e valores aproximados da amostragem 1 dia e 7 dias (4,40 – 3,63 - 3,46), o tratamento sulfato de cobre 3% apresentou valores aproximados das amostragens testemunha, 1 dia e 7 dias (3,45 - 3,57 - 3,40) . O tratamento sulfato de

cobre 5% apresentou valores de igual grandeza nas amostragens testemunha, 1 dia e 7 dias (3,38) e no tratamento sulfato de cobre 5%+ sulfato de zinco 5% (Figura 18) apresentou valores aproximados das amostragens testemunha, 1 dia e 7 dias (5,37 – 5,37 – 5,36).

FIGURA 16 - NÚMERO MAIS PROVÁVEL PARA FUNGOS –PAREDE Y



Em relação ao número de propágulos, observou-se que na parede Z (Figura 17), o tratamento sulfato de cobre 0,5% apresentou valores aproximados das amostragens testemunha, 1 dia e 7 dias (2,20 – 2,15 - 2,07), o tratamento sulfato de cobre 3% apresentou valores aproximados das amostragens testemunha, 1 dia e 7 dias (3,36 - 3,38 - 3,61) . O tratamento sulfato de cobre 5% apresentou valores aproximados das amostragens testemunha, 1 dia e 7 dias (3,37 - 3,37 - 3,36) e no tratamento sulfato de cobre 5%+ sulfato de zinco 5% (Figura 20) não houve resultados nas três amostragens.

FIGURA 17 - NÚMERO MAIS PROVÁVEL PARA FUNGOS – PAREDE Z

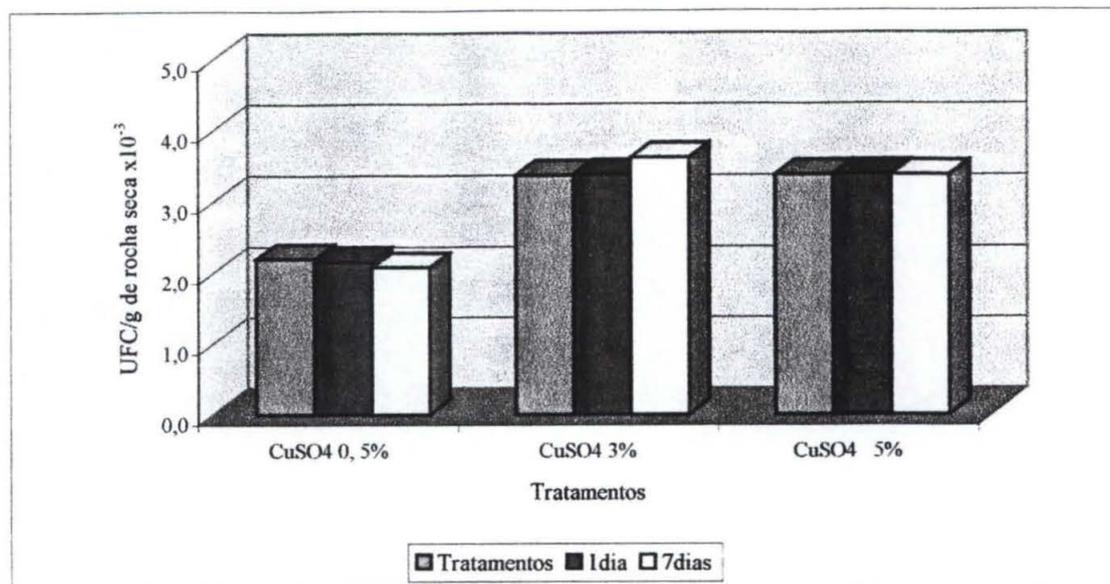
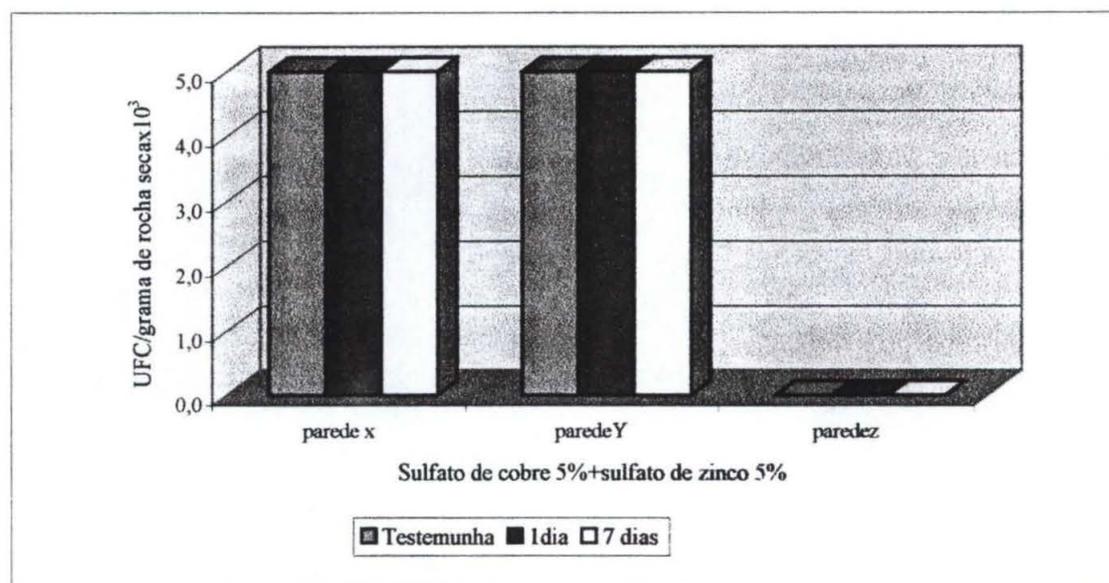


FIGURA 18 - NÚMERO MAIS PROVÁVEL PARA FUNGOS – DE TODAS AS PAREDES PARA O TRATAMENTO SULFATO DE COBRE 5%+SULFATO DE ZINCO 5%



Pode-se verificar, que as três paredes escolhidas, em relação ao número de propágulos de fungos apresentaram o valor de 10³ UFC por grama de rocha. Esse mesmo valor foi citado por BERNER (1997), em fungos presentes no Castelo Herberstein e na igreja St Georgen na Styria, Áustria; LOPES (2002), cita a presença de fungos que causam intemperismo em arenitos de prédios históricos na Lapa, com

uma população de 10^4 UFC; e ORTEGA-MORALES *et al.* (2001) realizou uma pesquisa no Sul do México em arenitos de Monumentos Históricos e encontrou uma população de fungos variando entre 10^2 a 10^5 UFC por grama de rocha. RESENDE (1997) cita valores entre 10^4 a 10^6 UFC, como população de fungos biodegradadores de rochas.

Comparando os resultados obtidos do número mais provável (NMP) das três paredes escolhidas, pode-se verificar que não houve uma diminuição do número de propágulos dos fungos, das amostragens de 1 dia e 7 dias que foram aplicados os tratamentos sulfato de cobre e o tratamento sulfato de cobre + sulfato de zinco, entretanto comparando com a literatura, através do valor do número mais provável, e as observações visuais verificam-se que os fungos são os principais agentes de biodeterioração.

4.3.2 Avaliação dos tratamentos sulfato de cobre e sulfato de zinco sobre a população das bactérias.

O resultado do efeito dos diferentes tratamentos a base de sulfato de cobre e a interação de sulfato de cobre + sulfato de zinco, aplicados nas três paredes serão apresentados a seguir.

Na parede X (Figura 19), não houve uma diminuição do número de propágulos das bactérias, nas amostragens de 1 dia e 7 dias que foram aplicados os tratamentos, em relação à testemunha, o mesmo nas paredes Y e Z (Figuras 20 e 21) para aquelas amostragens que apresentaram os valores entre 2,39 a 4,25. Porque, em relação ao número de propágulos de bactérias, parede X apresentou um baixo número populacional, com um valor de 1,31 somente na amostragem de 7 dias no tratamento sulfato de cobre 5% (Figura 19) enquanto a parede Y apresentou valores 2,4 a 4,0, não sendo significativo, pois estes valores foram encontrados em cinco amostragens, enquanto as outras amostragens apresentaram resultados nulos (Figura 20). Em relação ao tratamento sulfato de cobre 5% + sulfato de zinco 5% não apresentaram valores nas três paredes (Figura 22).

A parede Z apresentou um número de propágulos de bactérias com valores semelhantes da parede Y (Figura 21), as duas paredes encontram-se em um local com grande quantidade de matéria orgânica (excrementos de pombos) isso pode ter influenciado os valores obtidos, já que estimula o desenvolvimento de microrganismos.

FIGURA 19 - NÚMERO MAIS PROVÁVEL PARA BACTÉRIAS – PAREDE X

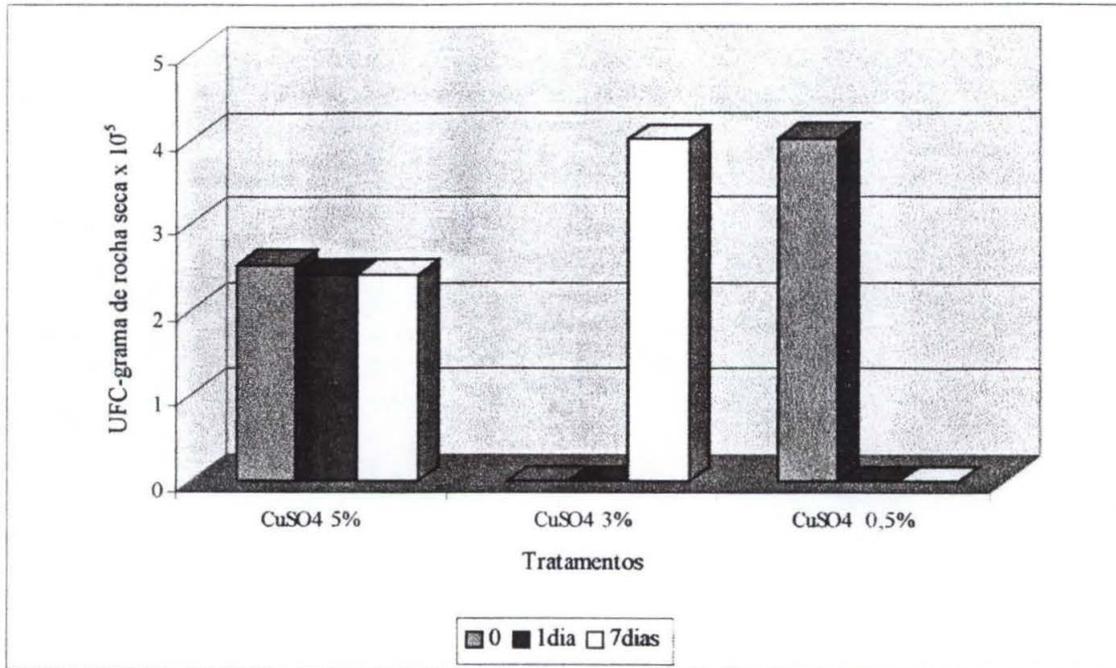


FIGURA 20 - NÚMERO MAIS PROVÁVEL PARA BACTÉRIAS – PAREDE Y

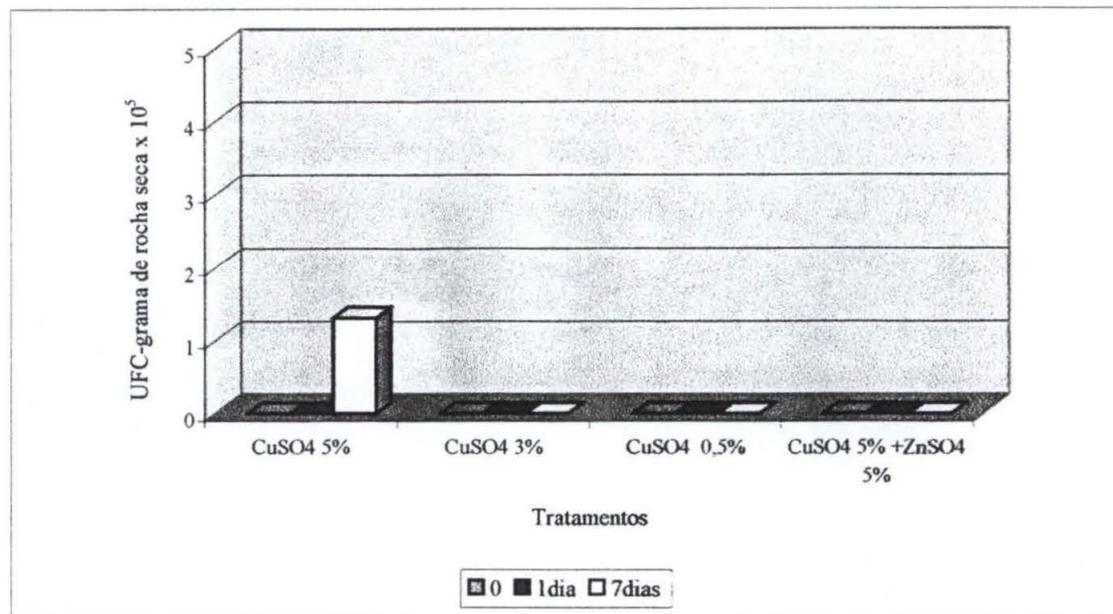


FIGURA 21 - NÚMERO MAIS PROVÁVEL PARA BACTÉRIAS – PAREDE Z

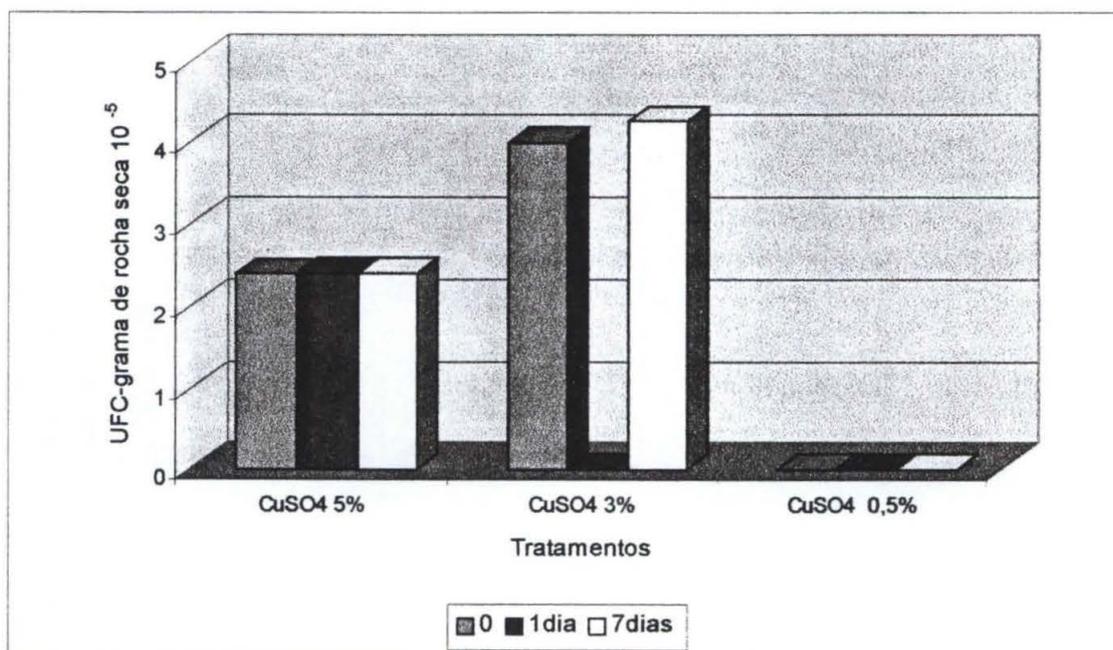
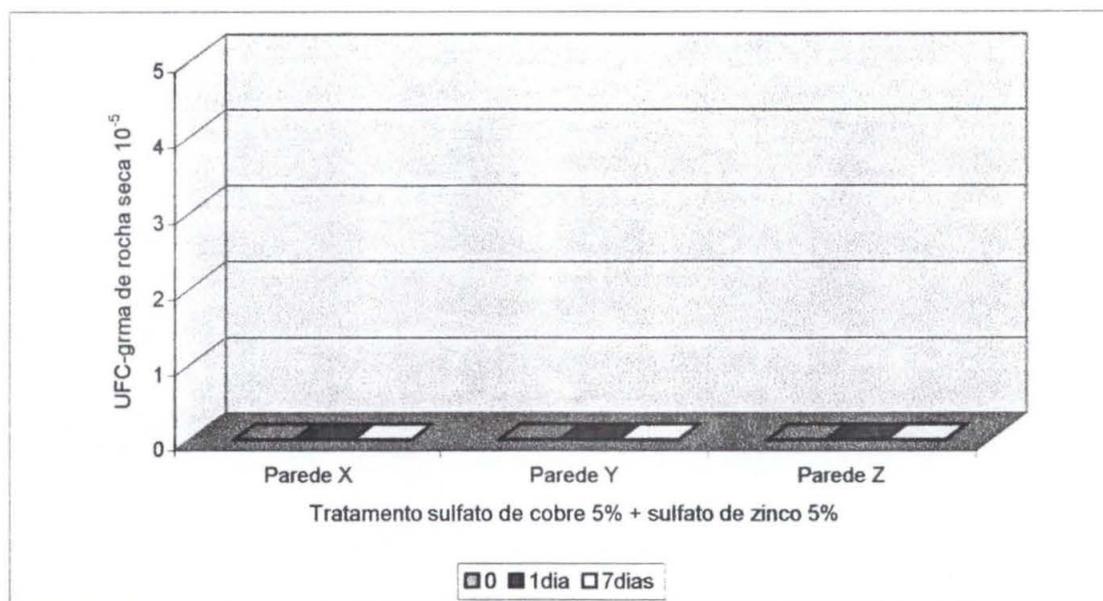


FIGURA 22 - NÚMERO MAIS PROVÁVEL PARA BACTÉRIAS DO TRATAMENTO SULFATO DE COBRE 5% + SULFATO DE ZINCO 5%



Segundo ORIAL e MARIE-VICTORIE (1997) as bactérias quimiorganótroficas podem atingir valores entre 10^3 e 2×10^3 , sendo considerados uma densidade de população microbiana normal, sem causar danos a rocha. ZANARDINI, (2000) realizou trabalhos sobre agentes de biodeterioração e constatou a população de bactérias entre 10^5 a 10^6 UFC. Comparando os resultados com a literatura, pode-se concluir que os valores do número mais provável, apresentaram um baixo número de propágulos de bactérias, não sendo considerados as bactérias heterotróficas como os principais agentes de biodeterioração. Pode-se considerar estas bactérias como parte do biotipo normal da rocha.

4.4 ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DOS FUNGOS BIODETERIORADORES

Alguns propágulos se desenvolveram provocando a descoloração do meio de Martin baixando o pH do meio de cultura. Isto pode ser resultante da solubilização da rocha pela atividade fúngica que libera ácidos na superfície do material. A cultura livre estabelecida através dos propágulos repicados em placas de Petri com isolamento de vários fungos com a separação dos microorganismos por espécie foram dadas como pertencentes ao gênero *Aspergillus* após enviadas e analisadas pelo Instituto Oswaldo Cruz (IOC). Segundo vários autores este gênero é tido como agente de biodeterioração em rochas BECKER, *et al.* (1969),

WARSCHEID e BRAAMS (2000); BERNER; WANNER e LUBITZ (1997); GAYLARD e MORTON (1997); RESENDE *et al.* (1997). Os fungos identificados apresentam micélio septado, produzindo esporos assexuadamente do tipo conidial, com estruturas especializadas, características estas que condizem com o gênero *Aspergillus* conforme (ALEXANDER, 1980).

No caso das bactérias não se procedeu à repicagem por se assumir uma ênfase maior do estudo dos fungos no presente trabalho. Desta forma, as espécies *Aspergillus fumigatus* (Figura 22) e *Aspergillus versicolor* (Figura 23) foram identificadas pelo IOC, nas amostras retiradas das três paredes escolhidas, sendo este último ocorrendo na amostra da parede Y e citada por LOPES (2002), como ocorrente em construções de prédios de arenito na Lapa-PR e ORTEGA-MORALES *et al.* (2001) em monumentos ao Sul do México.

Esta constatação confirma o estudo de RESENDE (1997), que relata a presença da espécie na biodeterioração de monumentos históricos também compactua com BERNER *et al.* (1997), o qual cita várias espécies, dentre elas, o *Aspergillus versicolor*, encontradas na estrutura da Catedral St Georgen, Áustria.

LOPES (2002) realizando um trabalho em arenito, relata sobre a penetração das hifas nas irregularidades da rocha e nas microfissuras provocam intemperismo devido à ação das substâncias químicas liberadas pelos fungos e bactérias. Finalmente, é bem provável que o processo ocorra de maneira análoga nos traquitos e riocitos magmáticos do presente estudo.

FIGURA 23 - ESPÉCIE *Aspergillus fumigatus*

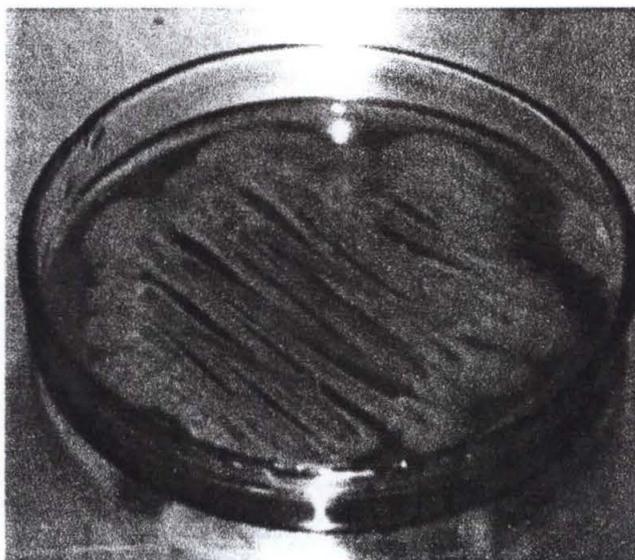
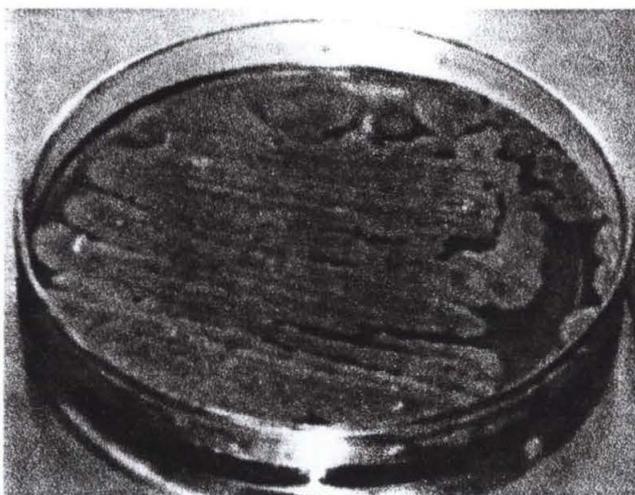


FIGURA 24 - ESPÉCIE *Aspergillus versicolor*



4.5 ANTIBIOGRAMA NA POPULAÇÃO DE FUNGOS

Após a aplicação dos sulfatos de cobre e zinco na superfície das rochas, verificou-se alteração de coloração em maior ou menor grau podendo haver efetivo controle dos fungos estudados. Apesar de não ter havido mudanças significativas pelo efeito dos tratamentos no NMP, mas no aspecto visual houve resultados de controle. Em função disto, realizou-se um antibiograma para comprovação destes resultados de avaliação visual. Concordando com LOPES (2002) em trabalho realizado na região da Lapa - PR fica demonstrado que os tratamentos com sulfato de cobre e zinco apresentaram resultados conforme evidenciado pelo antibiograma. Desta forma, há clara indicação de que os sulfatos de cobre e zinco possuem ação fungistática nas condições ambientais do presente trabalho.

Os resultados a seguir foram obtidos a partir do tamanho do halo inibitório dos fungos, retirado de amostra da rocha estudada, em diferentes concentrações de sulfato de cobre e o tratamento sulfato de zinco 5%+ sulfato de cobre 5%, utilizando a técnica difusão com discos pelo método de Bauer-Kirby, para verificação da ação fungistática através do antibiograma. A técnica é quantitativa, o que seria uma desvantagem, não sendo indicada para uso clínico, pois necessita de dados qualitativos. O que não apresentou problemas deste trabalho, pois a principal finalidade da realização do antibiograma é a presença ou ausência do halo pela ação inibitória dos tratamentos sulfatos de cobre e zinco nos microorganismos.

Os resultados observados nas Figuras 24 a 25, apresentam confiabilidade no método, pois houve pouca variação entre os valores das repetições das concentrações.

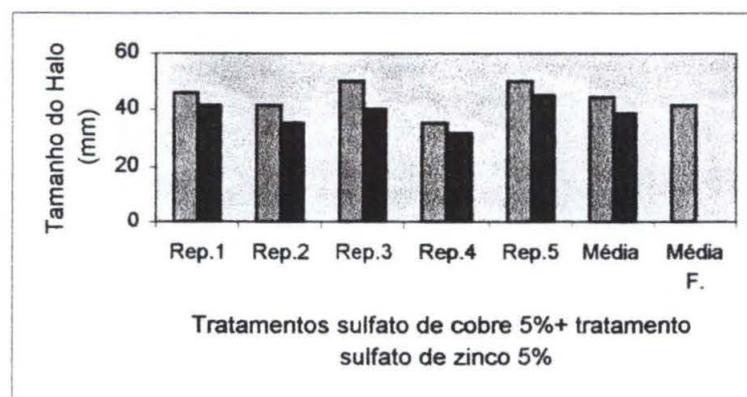
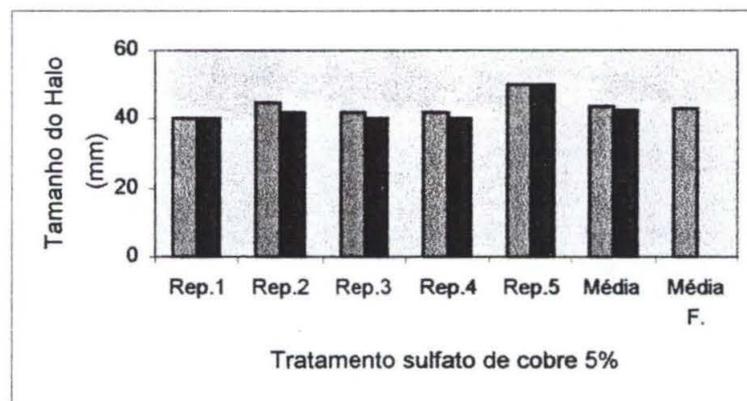
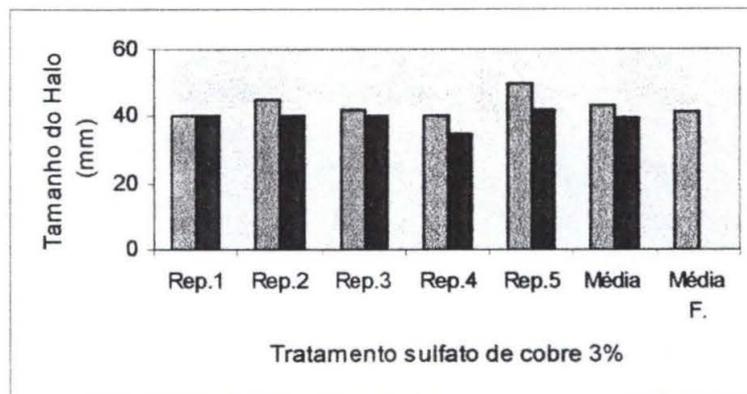
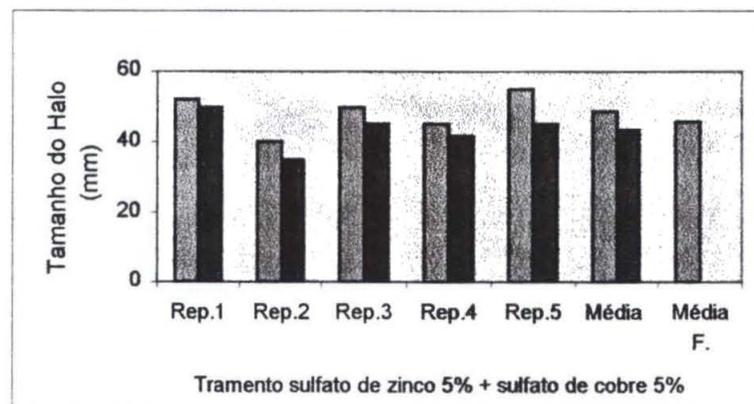
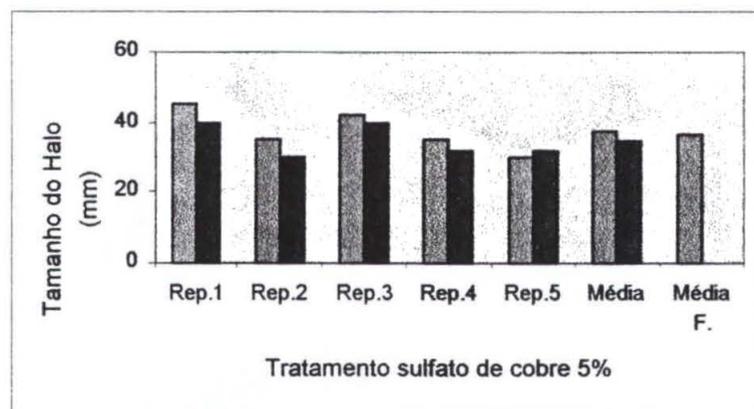
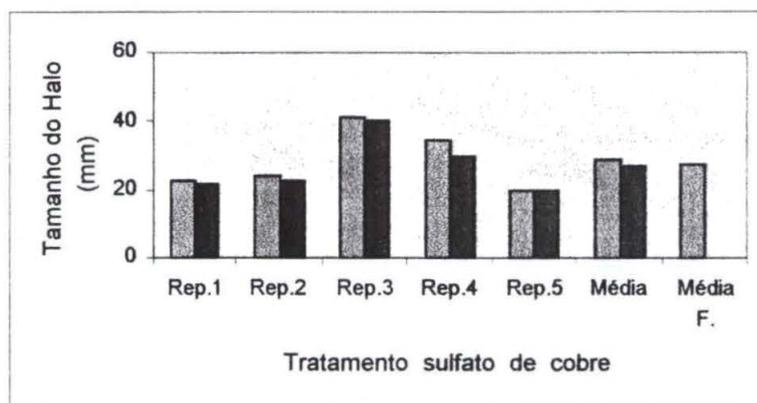
FIGURA 25 - HALO INIBITÓRIO DO FUNGO *Aspergillus fumigatus*

FIGURA 26 - HALO INIBITÓRIO DO FUNGO *Aspergillus versicolor*

Os resultados da medição do diâmetro do halo inibitório, para verificação da ação fungistática e teste de delineamento inteiramente casualizado, relativo a comparação das médias dos tratamentos sulfato de cobre a 5%, 3% e 0,5% e tratamento sulfato de cobre a 5% + sulfato de zinco a 5%, do fungo *Aspergillus*, serão apresentados na Figura 24 referentes ao valor da média do diâmetro do halo no fungo *Aspergillus fumigatus* estiveram entre 41,7 mm a 43,1 mm. O maior valor da média dos diâmetros dos halos foi verificado no tratamento sulfato de cobre a 5% com 43,1mm; o valor mediano no tratamento sulfato de zinco a 5% + sulfato de cobre a 5% de 41,7mm; o menor valor no tratamento sulfato de cobre a 3% com 41,4 mm e para o tratamento sulfato de cobre a 0,5%, não apresentou halo de inibição em nenhuma das repetições.

De todos os tratamentos utilizados, somente o sulfato de cobre a 0,5% não houve valores, enquanto que o sulfato de cobre a 5%, a 3% e o sulfato de cobre a 5% + sulfato de zinco a 5% apresentaram controle eficientes em relação ao fungo *Aspergillus fumigatus*. Foi analisada a variação da média e constatou-se que os tratamentos sulfato de cobre 5%, 3% e sulfato de cobre 5 % + sulfato de zinco 5% apresentaram a mesma média, sendo considerado estatisticamente iguais (Tabela 9), enquanto que o tratamento sulfato de cobre 0,5 % apresentou-se estatisticamente diferente em relação ao demais tratamentos, se baseando no teste de Tukey com 5% de probabilidade.

Observando-se os aspectos visuais (4.2) após aplicação do tratamento nas rochas, com a variação da média dos valores obtidos no antibiograma do fungo *Aspergillus fumigatus*, constata-se a viabilidade de uso dos tratamentos sulfato de cobre 5%, 3% e sulfato de cobre 5 % + sulfato de zinco 5% os quais apresentaram ação fungistática.

Os valores apresentados na Figura 25 referente ao valor da média do diâmetro do halo no fungo *Aspergillus versicolor* variam entre 45,9 mm a 27,8 mm. A maior média dos diâmetros dos halos, foi verificada no tratamento sulfato de cobre a 5% + sulfato de zinco a 5% com 45,9mm de diâmetro, enquanto 36,1mm foi o valor mediano no tratamento sulfato de cobre a 5% e 27,8 mm o menor valor tratamento sulfato de cobre a 3%. O tratamento sulfato de cobre a 0,5%, não apresentou halo de inibição em nenhuma das repetições.

Analisando os quatro tratamentos somente sulfato de cobre 0,5% não houve resultados, enquanto que sulfato de cobre 5%, 3% e sulfato de cobre 5 % + sulfato de zinco 5% apresentam resultados eficientes em relação ao fungo *Aspergillus versicolor*. Analisou-se a variação da média e constatou-se que os tratamentos sulfato de cobre 5%, 3% e sulfato de cobre 5 % + sulfato de zinco 5% apresentaram a mesma média, sendo considerado estatisticamente iguais (Tabela 10), enquanto que o tratamento sulfato de cobre 0,5 % apresentou-se estatisticamente diferente em relação ao demais tratamentos, se baseando no teste de Tukey com 5% de probabilidade.

Comparando as observações dos aspectos visuais (4.2) após aplicação do tratamento nas rochas, com a variação da média dos valores obtidos do antibiograma do fungo *Aspergillus versicolor*, constata-se a viabilidade do uso dos tratamentos sulfato de cobre 3%, 5% e sulfato de cobre 5 % + sulfato de zinco 5% e que os tratamentos apresentaram ação fungistática.

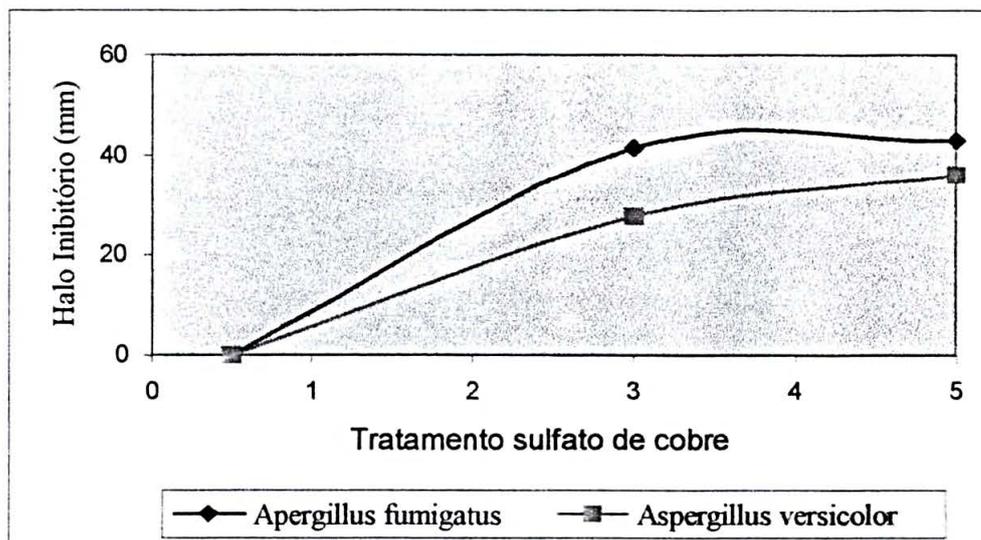
Pode-se analisar que as duas espécies de fungos apresentaram valores estatisticamente iguais nos tratamentos sulfato de cobre 3%, 5%, sulfato de cobre 5% + sulfato de zinco 5%. O tratamento sulfato de cobre 0,5% não apresentou eficiência para as duas espécies de fungos (Tabela 11).

O fungo *Aspergillus fumigatus* apresentou valores aproximados das médias de diâmetro de halo nos tratamentos sulfato de cobre 3%, 5% e sulfato de cobre 5% + sulfato de zinco 5%. O fungo *Aspergillus versicolor*, para os tratamentos sulfato de cobre 5% e sulfato de cobre 5% + sulfato de zinco 5% apresentou a maior média.

TABELA 9 – COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DAS DUAS ESPÉCIES ESTUDADAS

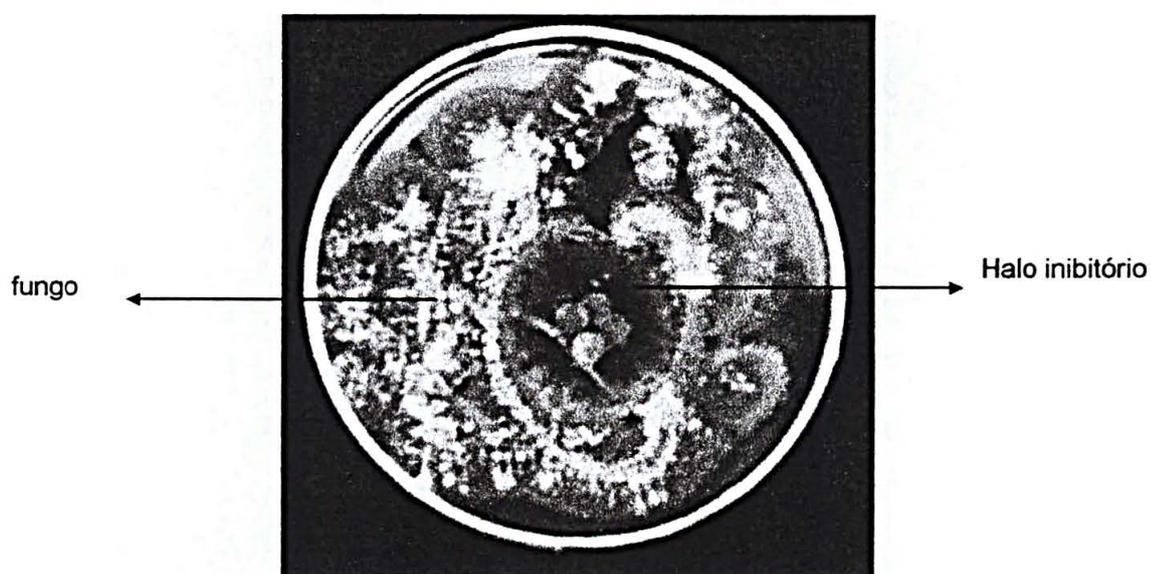
Tratamentos	Fungos	
	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Aspergillus versicolor</i>
sulfato de cobre 0,5%	0 b	0 b
sulfato de cobre 3%	41,4 a	27,8 a
sulfato de cobre 5%	43,1 a	36,1 a
Sulfato de cobre 3% + sulfato de cobre 3%	41,7 a	45,9 a

FIGURA 27 - ANTIBIOGRAMA DOS FUNGOS *Aspergillus fumigatus* E *Aspergillus versicolor* NO SUBSTRATO COM O TRATAMENTO SULFATO DE COBRE



Analisando a média dos halos pode-se verificar que neste estudo o *Aspergillus fumigatus* é um fungo mais agressivo do que o *Aspergillus versicolor*, para ação de biodeterioração de rochas. Comparando todos os resultados do antibiograma do gênero *Aspergillus*, todos os tratamentos apresentaram-se fungistáticos, com exceção do sulfato de cobre a 0,5%.

FIGURA 28 - HALO INIBITÓRIO EM *Aspergillus versicolor*



4.6 COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS DO ANTIBIOGRAMA DOS MICRORGANISMOS

Avaliando a eficiência dos tratamentos, podemos verificar que os tratamentos sulfato de cobre 5%, sulfato de cobre 3%, sulfato de cobre 5%+sulfato de cobre 5% apresentaram resultados eficientes tanto para fungos como bactérias e o tratamento sulfato de cobre 0,5% somente apresentou –se eficiente para bactérias.

Portanto, para executar o trabalho de recuperação é viável a utilização de sulfato de cobre 5%, sulfato de cobre 3% e sulfato de zinco 5%+ sulfato de cobre 5%, pois comparando com os resultados dos aspectos visuais, nenhum desses tratamentos apresentou alteração da coloração original da rocha.

5 CONCLUSÕES

Com base dos resultados, apresentados e discutidos, foi possível concluir que:

1. Todos os tratamentos com sulfato de cobre 5%, sulfato de cobre 3 %, sulfato de cobre 0,5% e sulfato de cobre 5% + sulfato de zinco 5%, são viáveis o uso dos tratamentos, pela análise visual, não causaram alteração da coloração original da rocha vulcânica, riodacito e traquito.
2. As espécies de fungos isolados que provavelmente estão envolvidos na biodeterioração das rochas da catedral foram identificados como *Aspergillus fumigatus* e *Aspergillus versicolor*.
3. Os tratamentos sulfato de cobre 5%, sulfato de cobre 3% e sulfato de cobre 5% + sulfato de zinco 5%, apresentaram ação fungistática, sendo possível seu uso para a preservação das rochas da Catedral de Asis – Ayaviri - Peru
4. Os resultados obtidos com sulfato de cobre e sulfato de zinco, utilizados para o tratamento de biodeterioração das pedras rioacito e traquito, indicam a possibilidade de novos estudos visando a otimização de formulações que possam ser utilizadas em outros sistemas e outros tipos de rochas.

REFERÊNCIAS

ALEXANDER, M. **Introducción a la microbiología del suelo**. México: Libros Editoriales, 1980.

BECKER, T. W. *et al.* **Investigations into microbiology**. In: INVESTIGATIONS into devices against environments attack on stones. Hamburg: GKSS-Forschungszens Geesthacht, 1994.

BERNER, M.; WANNER, G. & LUBITZ, W. A Comparative Study of the Fungal Flora Present in Medieval Wall Paintings in the Chapel of the Castle Herberstein and in the Parish Church of St Georgen in Styria, Austria. **Internacional Biodeterioration & Biodegration**, v.40, n-1, p. 53-61, Britain. 1997

BERTHELIN, J.; TOUTAIN, F. Biologie dès sois. In: DUCHAUFOR, P.; SOUCHIER, B. **Pédologie**. Paris: Masson, 1979. v. 2.

BRUÑO, L. **Atlas Universal y del Péru**. Peru: Asociación, 2000.

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.

CANO, C. Curso de Recuperação de monumentos. **Apostila**. Curitiba, Paraná. 1999

CANO, C. **Comunicação pessoal**, 2001.

CARTER, M. R. **Soil sampling and methods of analysis**. Boca Raton: Corporte Blvd, FL 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 robustas*, a new species in the *Aspergillus ochraceus* group. **Mycologia**, n. 70, p. 200-205, 1978.

DI AKUMAKU, E. GORBUSHINA, A, KRUMBEIN, W. E. PANINA, L, SOUKHARJEVSKI, S. Black, fungi in marble and limestones na aesthetical, chemical and physical problem for the conservation of monuments. **The Science of the Total Environmet**, n. 167, p. 295-304, 1995

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 .
- HLLIS, M. B. **More deniuliaceus liypliomyces**. 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.
- 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.
- GAYLARDE, C. Cooper Leaching and it effects on the micorbial population ans degradacion af stone monuments – A casa study from London, UK. In **Revista de Microbiologia**. Porto Alegre, v.27, p.254-258, 1994.
- GAYLARDE, C. MORTON, L. The importance of biofilms in microbial deterioration of constructional materials. **Revista de microbiologia**. Porto Alegre, v.28, p.221-229, 1997.
- HANCCO, L. **Provincia de Melgar**. Ediciones: R.O.Continental S.R. Juliaca, 2000.
- HASLEY, D.; DEWS, S. J., MITCHELL, D. J. & HARRIS, F. C. **Influence of aspect upon sandstone weathering: the role of climatic cycles in flaking and sacaling**,1994.
- HAWKWORTH, D. L. **Mycologisfs handbook**. 2nd ed. Key Surrey: CAB, 1977. 231p.
- KENDRICK, W. B. *et al.* **Genera of hyphomycetes**. Alberta: The University of Alberta Press, 1980. 387 p.
- KÖLLER, W. D. **Target sites of fungicide action**. CRC Press Boca Raton, Florida - EUA 1992.
- KRUMBEIN. W. E. Biotransfer in monuments-socio-biological study. **Durability Building Materials**, n. 5, p. 359-382, 1988.
- LEINZ, V. & LEONARDOS, O. H. **Glossário Geológico**. São Paulo: Nacional, 1997. 236p.
- LOPES, C. Efeito do sulfato de cobre e de zinco no controle da população de fungos e bactérias do solo que causam intemperismos em arenitos de prédios históricos na Lapa - PR. **Dissertação de Mestrado**. DSEA-AG-UFPR, Curitiba -PR. 2002
- 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.

MEINCKE, M.; KRIEG., E.; BOCK, E. Nitrosovibrio spp., the dominant ammonia-oxidizing bacteria in building sandstone. **American Society for Microbiology**, Germany, v. 55, n.8, p.2108-2110, 1989.

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

MORALES, M.; BUENO, W. **Monografia de la Provincia de Ayaviri de Melgar**, Peru, 2000.

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

ORTEGA-CALVO, J.J., ARIÑO,X., HERNANDEZ-MARINE, SAIZ-JIMENEZ, C. Factors affecting the weathering and colonization of monuments by phototrophic microorganisms. **The science of total environment**, v. 167, p. 328-341, 1995.

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

PAPIDA, SOPHIA, MURPHY, WILLIAM., MAY, ERIC. Enhancement of physical of building stones by microbial populations. **Internacional Biodeterioration & Biodegradation**, n- 46, p. 305-317, 2000.

PARKER, C. The Corrosion of Concrete. **The Australian journal of experimental biology and medial science**, 1945.

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

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.

RIEDERER, J. **Restaurar e preservar**. Deustchland: Instituto Goethe, 1987.

RODRIGUES, D. Estudo do desempenho de tratamento de conservação da pedra. Encontro sobre conservação e reabilitação, **Resumo**. UNEC, 1994.

SAND, W. Importance of Hydrogen Sulfide, Thiosulfate, and Methylmercaptan for Growth of Thiobacilli during Simulation of Concrete Corrosion. *Applied and Environmental Microbiology*. **American Society for Microbiology**. July 1987, p. 1645-1648.

_____. Microbial mechanisms of deterioration of inorganic substrates-A general mechanistic overview. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v.40, p. 183-190, p. 1997.

SAND, W; BOCK, E. Biodeterioration of ceramic materials by biogenic Acids. *International Biodeterioration*.v. 2, p.175-183, 1991.

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

TIANO, P. *et al.* Bacterial bioremediated calcite precipitation for monumental stones conservation: methods of evaluation. *Journal of Microbiological Methods*, v.36, p. 139-145, 1999.

URZI, C., REALINI, M. Color changes of Noto's calcareous sandstone as related to its colonisation by microorganisms. *Internacional Biodeterioration & Biodegradation*, v. 42, p. 45-54, 1998.

VIDELA, H. A., GUIAMET, P. S., SARAVIA, S. G. **Biodeterioration of Mayan archaeological sites in the Yucatan Peninsula, Mexico**, v. 46, p. 335-341, 2000.

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

WARSCHEID, T, BRAAMS, J, *et al.* Biodeterioration of stone: a review. *Internacional Biodeterioration & Biodegradation*, Germany, v. 46, p.343-368, 2000.

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.

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

ZANARDINI, E., ABBRUSCATO, P., GHEDINI, N., REALINI, M., SORLINI, C. Influence of atmospheric pollutants on the biodeterioration of stone. *Internacional Biodeterioration & Biodegradation*, Germany, v. 46, p.35-42, 2000.