

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE AGRONOMIA

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA
AGRÍCOLA E DO AMBIENTE**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**BIODETERIORAÇÃO
PRODUZIDA POR BIOFILMES DE FUNGOS E
CIANOBACTÉRIAS
NAS RUINAS JESUÍTICAS DAS MISSÕES
E AVALIAÇÃO DO SEU CONTROLE**

**Martín Ruben Espartaco Barrionuevo
Engenheiro químico**

Dissertação apresentada como requisito à obtenção do grau de Mestre em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, ênfase em Biodegradação, Biocorrosão e Biodeterioração.

**Porto Alegre, RS, Brasil
Abril de 2004.**

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer aos meus colegas do curso, pelo companheirismo no decorrer das aulas. E também aos meus colegas e funcionários do laboratório de Microbiologia do Solo, pela ajuda, e pelos alegres bons momentos.

A Queli do departamento de microbiologia de Kresil Indústrias, pelas amostras de verniz.

Ao meu orientador professor Doutor J.R. Freire por me orientar, e me oferecer a oportunidade de desenvolver este trabalho.

À professora Gelsa Englert pelas sugestões e pela ajuda com as imagens de varredura eletrônica.

Ao professor Enilson L. Saccol de Sá, pelos inúmeros aportes intelectuais, sugestões e orientações.

Ao professor Carlos Germani por ter me apoiado desde o começo até o final do curso, me aconselhando para seguir o caminho correto para a culminação do mestrado.

Ao professor Peter Gaylarde, pelas inúmeras horas de ajuda na identificação do "micro-universo" das amostras de fita adesiva.

À professora Denise Saad por ter me facilitado as técnicas e dicas para o estudo dos fungos degradadores, e por ter me oferecido a possibilidade de ministrar uma seção do curso de biodeterioração em Santa María.

À professora Christine C. Gaylarde por ter confiado em meu trabalho, mesmo quando parecia que tudo ia dar errado, ela conseguia me orientar com muita paciência e sempre com um sorriso no rosto. Muito obrigado por tudo Christine.

A CAPES e a CNPq pelo apoio financeiro para a pesquisa.

Aos meus familiares, meus pais e irmãos e amigos, que me acompanharam desde a Argentina em todo momento. Ao meu tio que conviveu comigo esses dois anos.

RESUMO

As Ruínas das Missões Jesuíticas foram declaradas Patrimônio da Humanidade pela UNESCO em 1984. Nesse trabalho foi estudada a degradação das mesmas usando análises físico-químicas, petrológicas e microbiológicas. Amostras de blocos de arenito e pedra itacurú foram tomadas das ruínas de Santa Ana, Loreto, San Ignacio e Santa María no Nordeste da Argentina. Foram realizados estudos microbiológicos convencionais e de microscopia de varredura eletrônica para determinar a biodiversidade da microflora presente nos biofilmes das superfícies. Uma ampla variedade de microrganismos autotróficos e heterotróficos, principalmente cianobactérias, algas e fungos, foram achados, sendo que, nos sítios menos expostos à luz solar, a biodiversidade foi maior. Foi constatada a mobilização microbiana dos íons Fe e Mn do núcleo das pedras para a periferia, formando uma crosta superficial de óxidos minerais, a qual aumenta a suscetibilidade à degradação. Foram testados no laboratório vernizes protetores com três biocidas em dois veículos diferentes, utilizando-se testes em placa de Petri e em câmara tropical com inóculos de fungos filamentosos e cianobactérias isoladas das pedras degradadas. O biocida Coryna® DF (isotiazolinonas + derivados do benzimidazol) mostrou-se mais eficiente contra a mistura de fungos, enquanto que o biocida Preventol® MP 260 (3-iodo-2-propinilbutil carbamato) foi mais ativo contra as cianobactérias. O verniz base solvente sem biocida apresentou ligeira ação inibitória contra fungos (¹).

¹ Dissertação de Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente - Biodegradação, Biocorrosão e Biodeterioração, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (125 p.) Abril, 2004.

ABSTRACT

The ruins of the Jesuit Missions were declared Heritage of Mankind by UNESCO in 1984. In this project, the degradation of these buildings was studied using physico-chemical, petrological and microbiological analyses. Blocks of sandstone and itacurú stone were collected from the ruins of Santa Ana, Loreto, San Ignacio and Santa María in the Northeast of Argentina. Conventional microbiological studies and scanning electron microscopy were carried out to determine the biodiversity present in the biofilms on the surfaces. A wide variety of autotrophic and heterotrophic microorganisms, principally cyanobacteria, algae and fungi, were found, biodiversity being greater at sites with lower sun exposure. Microbial mobilization of Fe and Mn ions from the core to the surface of the stones was detected. Here, they form a surface crust of mineral oxides which increase susceptibility to degradation. Protective varnishes, with 3 different biocides and 2 different vehicles, were tested in the laboratory, using experiments in Petri dishes and in the tropical chamber, with inocula of filamentous fungi and cyanobacteria isolated from the degraded stones. The biocide Coryna® DF (isothiazolinones + benzimidazole derivatives) was more efficient against the fungal mixture, while Preventol® MP 260 (3-iodo-2-propinylbutyl carbamate) was more effective against cyanobacteria. The solvent-based varnish without biocide was slightly inhibitory against fungi (¹).

¹ Master of Science dissertation in Agricultural Microbiology - Biodegradation, Biocorrosion and Biodeterioration, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (125 p.) April, 2004.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	ii
RESUMO	iii
ABSTRACT	iv
SUMÁRIO	v
LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	ix
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1 Resenha Histórica	4
2.1.1 História	4
2.1.2 Situação atual	6
2.2 Aspectos Geológicos, Geográficos e Climáticos	7
2.2.1 Localização Geográfica e Clima	7
2.2.2 Geologia	9
2.3 Aspectos macro- e micro-Ecológicos. Biofilmes	13
2.3.1 Ecologia	13
2.3.2 Biofilmes, diversidade biológica	15
2.3.3 Biofilmes, o EPS	19
2.4 Biodeterioração e Biodegradação de Monumentos de Pedra	22
2.4.1 Biodeterioração de prédios	22
2.4.2 Microrganismos	27
2.5 Preservação de monumentos de pedra	39
2.5.1 Prevenção e preservação	39
2.5.2 Pinturas	41
3. MATERIAL E MÉTODOS	49
3.1 Obtenção de amostras de Cianobactérias e Fungos	49
3.2 Isolamento e manutenção das culturas	51
3.3 Estudo da degradação física, química, e mineralógica	52
3.3.1 Coleta das amostras	52
3.3.2 Preparação da amostras	53
3.3.3 Estudos de laboratório.	53
3.4 Estudo da micro-ecologia	54
3.4.1 Isolamento e crescimento em meio sólido	54
3.4.2 Caracterização da microflora.	55
3.4.3 Microscopia eletrônica de Varredura (MEV)	56
3.5 Avaliação de vernizes para cobertura	57
3.5.1 Isolamento e crescimento em meio líquido	57
3.5.2 Preparação do inóculo	57
3.5.3 Avaliação do filme de Tinta em câmara Tropical	59
3.5.3.a Construção da câmara	59
3.5.3.b Tintas testadas	60
3.5.3.c Teste acelerado	61

3.5.3.d Avaliação semi-quantitativa	63
3-5-4 Avaliação do filme de Tinta em placa, teste de inibição	63
3.5.4.a Avaliação qualitativa	65
3.5.4.b Avaliação semi-quantitativa	66
3.5.4.c Avaliação quantitativa	66
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	69
4.1 Degradação física, química, e mineralógica	69
4.1.1 Parâmetros físicos	69
4.1.2 Petrografia	71
4.1.3 Quantificação Química	73
4.2 Distribuição ecológica da microflora	78
4.2.1 Biodiversidade no biofilme epilítico	78
4.2.2 Disposição dos organismos no biofilme	85
4.3 Cobertura com vernizes	88
4.3.1 Testes de inibição em placa	88
4.3.1.1 Avaliação do crescimento de cianobactérias	90
4.3.1.2 Avaliação do crescimento de fungos	92
4.3.1.3 Comparação dos métodos	96
4.3.2 Câmara Tropical	99
4.3.3 Considerações gerais	100
5. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES	101
5.1 Biodeterioração	101
5.2 Biodiversidade	102
5.3 Preservação	102
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	104
6.1 Medidas de reconstrução	104
6.2 Aplicação de preservantes químicos	104
6.3 Trabalhos futuros	105
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	106
APÊNDICE A	116
APÊNDICE B	117
APÊNDICE C	118
APÊNDICE D	119
APÊNDICE E	120
APÊNDICE F	124
APÊNDICE G	125

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Classificação dos deteriogenos	14
Tabela 2 Aparição das cianobactérias	27
Tabela 3 Substituintes das clorofilas naturais	28
Tabela 4 Propriedades de absorção dos distintos tipos clorofilas	35
Tabela 5 Microbiocidas comuns modernos	44
Tabela 6 Pontos de coleta de cada um dos locais amostrados	50
Tabela 7 Proporção dos componentes na resina acrílica	60
Tabela 8 Disposição dos blocos de arenito dentro da câmara	63
Tabela 9 Proporção dos componentes na resina acrílica	64
Tabela 10 Notas para a avaliação visual do desenvolvimento	66
Tabela 11 Parâmetros físico-químicos das amostras	69
Tabela 12 Valores de média e DP para os subgrupos	70
Tabela 13 Distribuição probabilística das distintas frações	71
Tabela 14 Características de deposição e coloração	73
Tabela 15 Diferenças percentuais entre a S e o N das amostras de arenito	74
Tabela 16.a Organismos achados nas paredes das ruínas de Santa Ana	79
Tabela 16.b Organismos achados nas paredes das ruínas de Loreto	80
Tabela 16.c Organismos achados nas paredes das ruínas de San Ignacio	81
Tabela 16.d Organismos achados nas paredes das ruínas de Santa María	82
Tabela 17 Percentagens relativas da biodiversidade micro-fotossintética	83
Tabela 18 Percentagens da biodiversidade total para cada ponto de coleta	84
Tabela 19 Valores médios dos parâmetros de exposição das amostras	86
Tabela 20 Morfotipos dominantes de cianobactérias, fungos e algas	86
Tabela 21.a Resultados da avaliação visual do crescimento em placa Mix_C	90
Tabela 21.b Valores percentuais do grau de cobertura de cada placa Mix_C	90
Tabela 22.a Resultados da análise de imagens para o crescimento em placa Mix_C	91
Tabela 22.b Resultados da análise de imagens para o crescimento em placa Mix_C	91
Tabela 23.a Avaliação da quantidade de clorofila-a nas placas com Mix_C	92
Tabela 23.b Resultados da análise do conteúdo de clorofila-a	92
Tabela 24.a Resultados da avaliação visual do crescimento em placa Mix_F	93
Tabela 24.b Resultados da avaliação visual do crescimento em placa Mix_F	93
Tabela 24.c Resultados da avaliação visual do crescimento em placa Mix_F	93
Tabela 25.a Valores percentuais do grau de cobertura de cada placa Mix_F	94
Tabela 25.b Resultados da avaliação por software do crescimento em placa Mix_F	94
Tabela 25.c Resultados da avaliação por software do crescimento em placa Mix_F	94
Tabela 26.a Valores de ergosterol em mg / m ² para o teste de inibição Mix_F	95
Tabela 26.b Valores de ergosterol em mg / m ² para o teste de inibição Mix_F	95
Tabela 26.c Valores de ergosterol em mg / cm ² para o teste de inibição Mix_F	95
Tabela 27 Conteúdo de ergosterol médio por esporo para as três cepas inoculadas	96
Tabela 28 Densidade percentual de biomassa, teste da câmara tropical	100
Tabela 29 Proporção de óxidos e perda de voláteis ao fogo	119

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Fotografias San Ignacio, Loreto	5
Figura 2 Fotografias Santa Ana, Santa Maria	5
Figura 3 Afloramentos de arenito, aquífero guarani	10
Figura 4 Sucessões microbianas em biofilmes	17
Figura 5 Espectro de distintos pigmentos fotossintéticos	30
Figura 6 Pigmentos isoprenoides lipossolúveis	31
Figura 7 Estrutura tetrapirrólica não cíclica das ficobiliproteínas	32
Figura 8 Disposição "irradiada" que adotam as ficobiliproteínas	33
Figura 9 Geração de oxigênio, ATP, e NADPH	35
Figura 10 Comparação das moléculas do colesterol e ergosterol	37
Figura 11 Moléculas de Carbendazim e Diuron	45
Figura 12 Molécula de OIT	45
Figura 13 Planta San Ignacio, Loreto	50
Figura 14 Planta Santa Ana, Santa Maria	51
Figura 15 Fotografias blocos de arenito	52
Figura 16 Fotografias câmara tropical	60
Figura 17 Fotografias método de cobrimento	62
Figura 18 Fotografias câmara tropical	62
Figura 19 Distribuição de frequência cumulativa das diversas frações	71
Figura 20 Variações entre os níveis de Fe (esquerda) e Mn (direita)	76
Figura 21 Imagem varredura eletrônica Santa Ana	87
Figura 22 Imagem varredura eletrônica Loreto	87
Figura 23 Imagem de varredura eletrônica das deposições de minerais	87
Figura 24.a Fotografias placas Mix_C	89
Figura 24.b Fotografias placas Mix_F em resina	89
Figura 24.c Fotografias placas Mix_F em látex	89
Figura 25 Fotografias pontos de coleta Santa Ana	116
Figura 26 Fotografias pontos de coleta San Ignacio e Loreto	116
Figura 27 Tela apresentada pelo software de análise de imagem	118
Figura 28 Fotografias da granulometria, biofilme superficial e cimentação	124
Figura 29 Fotografias da granulometria, composição e cimentação	124
Figura 30.a Imagem microscopia de campo claro e campo obscuro	125
Figura 30.b Imagem microscopia de contraste de fases e epifluorescência	125

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

α	ângulo que depende das impurezas presentes na superfície
ΔH^+	gradiente de prótons
ϕ	diâmetro de partícula
γ_w	densidade da água
η_w	viscosidade dinâmica da água
λ	comprimento de onda
θ	ângulo função do travamento intergranular
σ	resistência à compressão
σ^{-1}	desvio padrão populacional
τ_s	tensão superficial
ξ	fóton
AP	aloficocianina
ATP	trifosfato de adenosina
c	coeficiente que depende das forças de coesão e da cimentação
C₁	coeficiente de proporcionalidade
CDF	biocida coryna DF
D₁₀	diâmetro de partícula da fração p(10)
D_{mp}	diâmetro médio dos poros
DP	desvio padrão
EPS	exopolissacarídeo
FABP	biocida FABP-830
Fd(ox)	ferredoxina
Fd(re)	ferredoxina reduzida
hc	altura capilar
i	gradiente hidráulico
K	permeabilidade
L₋	Loreto
MEV	microscopia eletrônica de varredura
MKM	meio Knopp modificado
n	porosidade
NADP⁺	difosfato de nicotinamida adenina
NADPH	difosfato de nicotinamida adenina reduzida
PBS	ficobilissomo
PBP	ficobiliproteína
PC	plastocianina
PC	ficocianina
PE	ficoeritrina
PEC	ficoeritrocianina
PM	peso molecular
PMP	biocida Preventol MP
PQ	plastoquinona
PQH₂	plastoquinol
PS	fotosistema
RuBP	ribulose bifosfato carboxilase oxigenase
RC	centro de reação
SA₋	Santa Ana
SI₋	San Ignacio
SM₋	Santa María
Sp	área papel de filtro (m ²).
UA	unidades de absorvância (nm).
v	velocidade de fluxo d'água dentro do material poroso
V_{MeOH}	volume de MeOH utilizado para a extração.
Wchl	peso de clorofila-a por unidade de área (mg / m ²).

1. INTRODUÇÃO

As Ruínas Jesuíticas constituem um patrimônio histórico - cultural importante da humanidade, encontrando-se algumas em elevado estado de deterioração por estar situadas em locais próximos a regiões selváticas, prejudicando a sua utilização como atrativo turístico. É imperioso, portanto a sua preservação pelos órgãos estaduais e ou federais.

Entre as principais atividades microbianas que são importantes na deterioração de superfícies de pedra, sejam cobertas ou nuas, pode-se citar a colonização por microrganismos tanto procarióticos como eucarióticos; que formam no decorrer do tempo biofilmes ou películas de difícil remoção que contribuem na deterioração estrutural e estética das superfícies pétreas. As cianobactérias, os fungos e os líquens são os microrganismos mais comumente encontrados nessas superfícies.

É importante a avaliação de diversos compostos químicos para serem usados como inibidores do desenvolvimento e das atividades metabólicas microbianas, dando ênfase às atividades antimicrobianas específicas contra os diversos tipos de organismos presentes no biofilme.

O objetivo geral deste trabalho foi a avaliação da biodegradação atual das superfícies pétreas e o desenvolvimento dos biofilmes deteriorogênicos

das Ruínas Jesuíticas das Missões, com ênfase em cianobactérias e fungos colonizadores.

Os objetivos específicos foram:

- Determinar o grau de biodeterioração ocorrido sobre os materiais de construção remanescentes das Ruínas.

- Correlacionar as diferenças apresentadas pelo intemperismo físico-químico com os distintos parâmetros meso-ambientais.

- Isolar e identificar os diferentes gêneros de cianobactérias e fungos presentes nas paredes externas das Ruínas Jesuíticas das Missões.

- Avaliar a possibilidade de controlar o desenvolvimento dos biofilmes utilizando diversas combinações de tintas e vernizes, com propriedades biocidas.

- Comparar distintos métodos de avaliação rápida de crescimento microbiano, utilizando diversas tecnologias como HPLC, espectrofotocolorimetria e análises de imagens.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Resenha Histórica

2.1.1 História

Os Jesuítas, que chegaram ao Paraguai em 1588, fundaram 30 comunidades utópicas. Elas converteram-se em eloqüentes testemunhos em pedra da forma de vida e da motivação espiritual dos Índios que as habitavam. Hoje, depois de 200 anos de abandono, as ruínas das missões estão sendo resgatadas dos estragos do tempo.

No ano 1604, Roma constituiu a região do Paraguai como uma "província" só para os jesuítas. Aquela província incluía os territórios atuais da Argentina, Chile, Bolívia, partes do Brasil e Paraguai, com um tamanho similar ao da Europa ocidental. Já antes, o trabalho evangelizador tinha começado graças aos Franciscanos que chegaram ao Paraguai com os fundadores da cidade de "Asunción", em 15 de agosto de 1537 (McNaspy & Blanch, 1991).

Assim, chegaram a estabelecer e administrar 30 povos da zona do rio Paraná até a sua expulsão em 1768 por ordem de Carlos III rei da Espanha. Em menos de 15 anos desapareceram 22 das 30 comunidades missionárias e com elas, muitas de suas igrejas e objetos. Hoje em dia só persistem oito, dos demais, ficaram só ruínas e lembranças. Às vezes são chamadas "as cidades perdidas do Paraguai".



Figura 1. (esquerda) Fachada do templo principal das ruínas de San Ignacio, **(direita)** muro direito do colégio das ruínas de Loreto.

Na atualidade os restos de suas 30 missões estão dispersos pela fértil região agrícola do sul do Paraguai, pelo sudoeste Brasileiro e nordeste Argentino.

As igrejas das missões e as vivendas, aonde em algum tempo chegaram a morar 144.000 índios cristianizados, constituem um legado cultural único. A distribuição dos edifícios nessas "cidades" (igreja, colégio, horta, oficinas, vivendas, praça) seguia o plano geral já utilizado em outras reduções Jesuíticas.



Figura 2. (esq) Escadaria templo principal das ruínas de Santa Ana, **(dir)** frente do templo provisório das ruínas de Santa María

O método construtivo consistia numa técnica mista artesanal e industrial (provisão de suportes e elementos estruturais e cerâmicos). A estrutura resistente era um sistema de ensarilhado para formar o tripé, de madeira dura de grande porte e esquadria que sustentava a cobertura de dois

planos em telhas, sendo as paredes consistidas de muros de pedra arenito ("sandstone") ou "itacurús" de grande espessura sem aparelho ordenador evidente. A estrutura de suporte era de madeira e os pisos cerâmicos, existindo ainda hoje originais destes (Gutierrez, 2001).

2.1.2 Situação atual

As missões criadas pelos Jesuítas compõem hoje parte dos territórios pertencentes ao NE Argentina - SSO Brasil - SE Paraguai. Dos 30 povos antigamente fundados na "República das Missões Jesuíticas", foram reconhecidos pela UNESCO como patrimônio histórico da humanidade, em 1984, os seguintes sítios:

- "San Ignacio de Ipaumbucú ou Miní" (mostrada na figura 1 esquerda: fachada do templo principal).

Os jesuítas tinham dado esse nome por ter sido fundado depois da outra "San Ignacio Guazú" hoje em território Paraguaio.

- "Nuestra señora de Loreto" (na figura 1 direita: muro direito do colégio),

- "Santa Ana" (figura 2 esquerda: grades acesso templo),

- "Santa María la Mayor" (figura 2 direita: frente templo),

localizados em território do nordeste argentino, mais especificamente na província de "Misiones".

- "São Miguel do Oeste",

localizado no estado do Rio Grande do Sul em território Brasileiro, e pertencente ao município de Santo Ângelo.

- "Trinidad",

localizado no Departamento de "Misiones" no Paraguai.

As ruínas das reduções jesuíticas começaram a ser restauradas a partir da década de 50, sendo que algumas delas encontram-se em avançado estado de deterioração devido ao avanço da mata silvestre por sobre as edificações e pisos.

2.2 Aspectos Geológicos, Geográficos e Climáticos

2.2.1 Localização Geográfica e Clima

As missões do território argentino localizam-se na província homônima, cujas sedes encontram-se distanciadas da capital provincial "Posadas", as localizações exatas e o tipo de acesso são detalhadas a seguir:

- Aceso asfaltado até "San Ignacio": 50 quilômetros (2500 metros até a estrada Nacional 12). Pertence ao Departamento de "Candelária". Latitude Sul 27° 20' - longitude Oeste 55° 32'.

- Aceso asfaltado até Nossa Senhora de Loreto: 55 quilômetros (2500 metros até a estrada Nacional 12, trecho de chão consolidado). Pertence ao Departamento de "Candelária". Latitude Sul 27° 20' - longitude Oeste 55° 32'.

- Aceso asfaltado até "Santa Ana": 45 quilômetros (2000 metros até a estrada Nacional 12, trecho de chão consolidado). Pertence ao Departamento de "Candelária". Latitude Sul 27° 23' - longitude Oeste 55° 33'.

- Aceso asfaltado até "Santa María la Mayor" 120 quilômetros (estradas províncias 105/ 201/ 1/ 2). Pertence ao Departamento de "San Javier-Itacaruaré". Latitude Sul 27° 33' - longitude Oeste 55° 31'.

O clima na região das missões é do tipo **cfa** segundo a classificação de Köppen (García, 1973), ou seja subtropical úmido, sem estação seca e com verão quente. Representa o clima típico do leste costeiro continental que abrange dos 20° a 30° latitude Sul.

Os parâmetros climáticos mais importantes que caracterizam a região são:

- Temperatura média anual	21,9°C
- Temperatura média máxima	27°C, em Janeiro
- Temperatura média mínima	15°C, em Julho
- Precipitação média normal mensal	120 - 200 mm
- Precipitação média anual	1850 mm
- Geadas anuais	10 - 15 dias.

Os climas subtropicais úmidos ou simplesmente "sub-úmidos" são climas transicionais entre os "tropicais sem inverno" e as regiões "temperadas" que têm um clima invernal severo. Eles possuem um inverno suave, mas bem definido, com temperaturas médias do mês mais frio abaixo dos 18 °C, mas acima dos 0 °C. Os climas sub-úmidos ocupam as regiões leste costeiro continental entre as latitudes 20° e 30° Sul e Norte. Este clima compõe grandes áreas, estendendo-se em consideráveis distâncias terra adentro desde as costas marítimas, localizando-se na região oeste mais úmida do ambiente

costeiro das latitudes subtropicais onde a circulação das monções causa um fluxo de ar úmido marítimo tropical durante os meses do verão. No inverno, o deslocamento em direção ao Equador das tormentas ciclônicas de latitude média encaminham os ventos do oeste, produzindo as precipitações em algumas destas regiões. Esse padrão de circulação atmosférica induz invernos suaves, úmidos a relativamente secos, e verões quentes e úmidos (Kumar & Kumar, 1999).

2.2.2 Geologia

2.2.2.1 Características geológicas regionais

Os arenitos que conformam o perfil geológico regional foram caracterizados em princípio, pela sua geologia, de sua cor avermelhada escura, sua estratificação e da origem predominantemente eólica, como provenientes das Formações "Arenitos das Missões" e "Arenitos de Independência" que surgiam em amplas áreas do Paraguai. No entanto Teruggi (1970) estendeu a área de abrangência da Formação "Arenitos das Missões" até a província argentina de "Misiones", ao norte da sua capital "Posadas" (área de "San Ignacio") com retalhos na margem do rio Uruguai (zona de "San Javier"). Finalmente Chebli *et al.*, (1976) limitaram a extensão desses arenitos ao subsolo da margem nordeste de "Entre Ríos", leste de "Corrientes" e todo o território das Missões (figura 3 esquerda).

Essas sedimentitas, que foram amplamente utilizadas como material construtivo das ruínas, datariam do período Jurássico Superior - Cretáceo

Inferior, conformando parte do subsolo Mesopotâmico argentino, entre 25°10'S - 31°S e 54°W - 58°W.

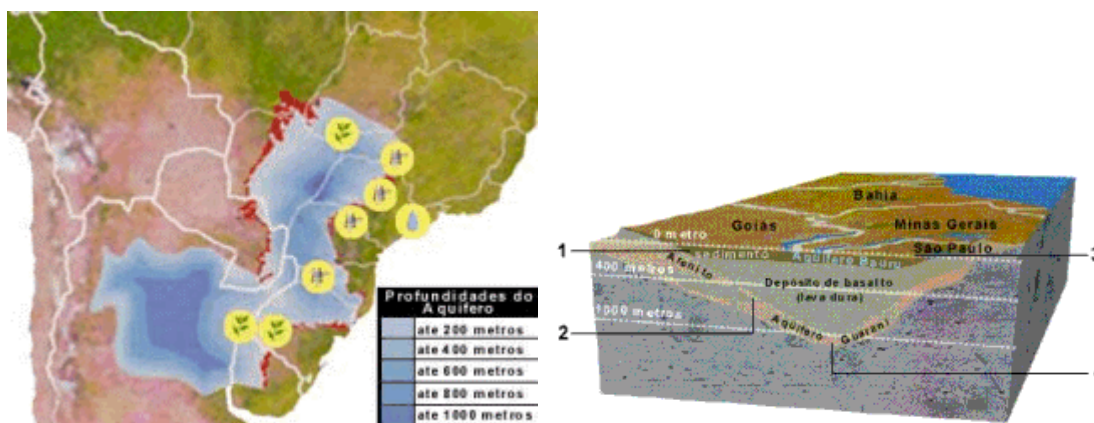


Figura 3 (esq) distribuição dos afloramentos dos lentes de arenito de "Misiones - Independência" e Botucatu nos extremos do aquífero guarani. **(dir)** Corte transversal do aquífero na região central do estado de São Paulo, onde aparecem as camadas estratificadas de: 1 aquífero Bauru, 2 aquífero basáltico Serra Geral, 3 área de afloramentos marginais do aquífero, 4 grupo Passa Dois e substrato do aquífero. (Fonte: figuras extraídas da revista Super Interessante nº 07, ano 13)

A unidade estratigráfica está caracterizada por **lentes de arenitos** de origem eólica, intercalados com os derrames de lava basáltica, dos vários episódios efusivos que conduziram a Formação "Serra Geral – Brasil" (Gentili & Rimoldi, 1979). Estes arenitos pertencem a extensão Sudoeste da referida formação basáltica, que ingressa em território argentino pelas províncias de "Misiones", "Entre Rios" e "Corrientes" (Membro "Solari" do Jurássico Superior - Cretáceo Inferior). Essa unidade correlaciona-se com outras formações da mesma idade, pertencentes à era Mesozóica:

- **Formação "São Cristóbal"** (Entre Rios - subsolo Argentino);
- **Formação "Botucatu"** de datação radiométrica no Jurássico superior (nordeste da Argentina, entre as províncias de "Entre Ríos" e "Misiones", e a região do Planalto Meridional do Rio Grande do Sul, 27°S - 30°S e 54°40'W - 52°W);

- **Formação "Taquarembó"** datada no período Jurássico (Bacia do Rio Paraná, sul do Brasil, leste do Paraguai, nordeste da Argentina e noroeste do Uruguai, entre 18°S e 30°S).

As entidades São Cristóbal e Taquarembó conformam o teto da Formação "Buena Vista" (Herbst *et al.*, 1976) na região argentina, datada radiométricamente no período que abrange o início do Mesotriássico até o Eotriássico tardio (Departamentos Cerro Largo e Rivera em Uruguai, na fronteira com a região sul do Rio Grande do Sul, aprox. 30°S - 32°S e 52°W - 55°W, e subsolo do centro e norte argentino, aprox. 55°W - 62°W e 27°S - 33°S) (Padula & Mingramm, 1968).

A Formação "Arenitos das Missões" corresponde a uma litologia limo-arenosa que intercala níveis limo-argilosos, considerada uma variação lateral continente das Formações Botucatu e Pirambóia da região centro-sul brasileira (Fernández Garracino, 1994).

As características físico-estruturais e de permeabilidade desses arenitos possuem grande importância hidrogeológica, já que o conjunto das Formações Botucatu, Guará, Santa Maria, Sanga do Cabral, Pirambóia, Rio do Rasto/Membro Morro Pelado (Brasil); Taquarembó, Buena Vista, Yaguari (Uruguai); Misiones, Independência (Paraguai); San Cristóbal, Buena Vista (Argentina) conformam o aquífero Gigante do MERCOSUL ou "Aquífero Guarani" com características granulométricas de arenitos finos a médios, arenitos lamíticos, lamitos de origem eólica e fluvial (Campos, 1999).

O aquífero subjaze em grande parte de sua extensão ao aquífero intrabasáltico Formação Serra Geral (fraturado), e suprajaze ao aquífero Grupo Passa Dois e Tubarão (figura 3 direita) (Montaño Carrion, 1990).

2.2.2.2 Materiais de construção e Intemperismo Físico

Os espessos solos formados a partir da meteorização das rochas basálticas, apresentam uma natureza essencialmente argilosa e cor vermelha, que resultam da decomposição dos componentes argilosos primários com a liberação paralela dos óxidos metálicos (principalmente óxidos e oxi-hidróxidos de ferro e manganês).

Os materiais utilizados para a construção das reduções jesuíticas foram principalmente blocos talhados de rochas. Os tipos de rochas utilizadas podem ser divididos em três tipos:

- Rochas sedimentares: arenitos (muros de carga, paredes divisórias, colunas, bases, etc.)
- Rochas ígneas: basaltos e outras extrusivas afaníticas (bases).
- Pedras antropogênicas: pedra "itacurú" e outras escórias de fundição, tijolos e telhas de barro cozidas.

A ocorrência disseminada de arenitos em toda a região do Planalto Meridional permitiu que desde épocas históricas até hoje em dia eles sejam utilizados como material de construção. Calçadas, fundações e muros são alguns dos exemplos que ainda hoje se encontram na construção civil (Gutierrez, 2001).

2.3 Aspectos macro e microecológicos. Biofilmes

2.3.1 Ecologia

O desenvolvimento em maior ou menor extensão de espécies biológicas sobre determinadas superfícies, está influenciada pelas propriedades químicas e físico-químicas da rocha (minerais constituintes, pH, proporções relativas dos vários minerais, salinidade, conteúdo de água e textura). Também depende dos fatores ambientais (temperatura, umidade relativa percentual - RH%, condição de iluminação, nível e extensão de poluição atmosférica, vento, chuvas). Ou seja, a resposta dos organismos para uma superfície potencialmente colonizável depende dos seus requerimentos fisiológicos, e micro e macroecológicos (Caneva & Salvadori, 1989).

Amplamente falando, todos os organismos vivos podem ser classificados como "autótrofos" ou "heterótrofos", baseando-se em seus requerimentos nutricionais (tabela 1). Para todos os organismos autotróficos, os constituintes das superfícies inorgânicas representam substâncias nutritivas potenciais e são importantes fatores que condicionam o seu crescimento. Por outro lado, os organismos heterotróficos crescem somente quando existe matéria orgânica potencialmente utilizável por eles na superfície. A maioria dos organismos, exceto as espécies xerófilas, preferem superfícies com alto conteúdo de umidade.

Tabela 1 Classificação dos organismos deteiriógenos.

Categoria Nutricional	Fonte de Energia	Fonte de Carbono	Doadores de elétrons	Receptores de elétrons	Grupos de Organismos
Fotoautótrofos Ou Fotolitótrofos	Luz solar (organismos fotossintéticos)	CO ₂	H ₂ O	Oxigênio Compostos orgânicos	Organismos aeróbios: Cianobactérias Algas (Bacillariofitas ou Diatomáceas) Algas (Clorofitas) Líquens Hepáticas e musgos Plantas superiores
Quimioautótrofos Ou Quimiolitótrofos	Reações Redox (organismos quimiossintéticos)	CO ₂	H ₂ Fe ⁺² NH ⁺⁴ , NO ₂ S, (S ₂ O ₃) ⁻²	Oxigênio	Organismos aeróbios: Bactérias do hidrogênio Bactérias do ferro Bactérias nitrificantes Bactérias oxidantes do enxôfre
Fotoheterótrofos Ou Fotoorganótrofos	Luz solar (organismos fotossintéticos)	Compostos orgânicos	Compostos orgânicos H ₂ S H ₂	Oxigênio Compostos orgânicos	Organismos aeróbios: Bactérias fotossintéticas Algumas algas Organismos anaeróbios: Bactérias verdes e púrpuras do enxôfre Bactérias púrpuras não-enxôfre
Quimioheterótrofos Ou Quimioorganótrofos	Reações Redox (organismos quimiossintéticos)			Oxigênio	Organismos aeróbios: Actinomicetos Animais Fungos Bactérias respiratórias Organismos anaeróbios: Bactérias fermentativas Bactérias denitrificantes Bactérias redutoras do enxôfre

(Fonte: KUMAR 1999)

Como foi anteriormente mencionado, os fatores ambientais das regiões tropicais e subtropicais úmidas, que caracterizam o clima na região em estudo (elevados valores de temperaturas e precipitações médias), são favoráveis para o suporte da vida da maioria dos organismos, e indicam um elevado potencial para alteração das rochas por intemperismo e agentes biodeteriogênicos. A presença de luz solar é essencial para os organismos fotossintetizantes. Os organismos quimiossintéticos podem viver sem luz solar, derivando sua energia para biossíntese das reações químicas (Caneva *et al.*, 1991; Jain *et al.*, 1993; Tiano, 1993). Na maioria dos casos, os poluentes

atmosféricos, especialmente os anidridos SO_2 e NO_x , foram achados prejudiciais para o crescimento dos organismos biodeteriogênicos (Heck & Brandt, 1977), notável exceção corresponde aos organismos acidófilos e acidolíticos que crescem melhor em meios ácidos. Por outro lado, sujeira e poluentes orgânicos colaboram mantendo o crescimento e a atividade de certos organismos heterotróficos (Saiz-Jimenez, 1994). Sendo que a extensão da utilização destes poluentes está determinada pela sua "recalcitrância" a biodegradação.

2.3.2 Biofilmes, diversidade biológica

2.3.2.1 Biofilmes

Os "Biofilmes" representam complexas associações de microrganismos ligados às superfícies ou aderidos com interfaces. Um fato que tem sido observado já há algum tempo por muitos pesquisadores é que a maioria das bactérias encontradas em ambientes naturais, industriais e clínicos persiste associada às superfícies, formando comunidades microbianas (em um arranjo bi ou tridimensional) que são freqüentemente compostas de múltiplas espécies que interagem umas com outras e com o ambiente.

2.3.2.2 Sucessões microbianas

A distribuição espacial dos organismos que se desenvolvem nas superfícies das rochas, é influenciada pela "bioreceptividade" das macro e microestruturas expostas ao meio ambiente e pelas condições meso-ambientais do local (Guillitte & Dressen, 1995). Esses organismos tendem a

crescer embebidos em uma matriz polimérica de materiais polissacarídeos (exopolissacarídeos ou matriz EPS), produzidas por eles mesmos (ou por outros "colonizadores primários") e funcionando como um material de suporte e adesão além de protegê-los contra os efeitos da dessecação, iluminação excessiva, danos mecânicos e efeitos erosivos. A distribuição temporal é também evidente sendo ainda mais complexa. Essa sucessão vai acompanhada de um incremento na deterioração da rocha substrato e engrossamento do biofilme. Os colonizadores primários são principalmente bactérias autotróficas, seguidas de bactérias heterotróficas, actinomicetos e fungos (Allsopp & Seal, 1986). Eles darão posteriormente suporte mecânico e nutricional a outros organismos maiores tais como briófitas e plantas superiores, assim como servindo como nutrientes para miniherbívoros tais como gasterópodos; microherbívoros como vermes, ácaros; e protozoários predatórios tais como rotíferos.

Em ambientes naturais não induzidos, a formação ou "montagem" do biofilme segue geralmente o modelo de "colonização facilitada" proposto por Connell e Slatyer (1977), no qual os primeiros microrganismos colonizadores mudam as condições do biofilme, facilitando a posterior dominância de populações diferentes. Em etapas posteriores os organismos heterotróficos são mais dependentes da produção autotrófica que ocorre dentro do biofilme (tais como algas e cianobactérias), ou seja, a comunidade torna-se mais um sistema fechado.

Baseado nos resultados de estudos recentes para o desenvolvimento de biofilmes epilíticos, Jackson *et al.* (2001) sugeriram certas

mudanças conceituais que poderiam ocorrer nas propriedades da comunidade durante a sucessão microbiana (figura 4). Ele serviu-se do mesmo método utilizado por Santegoeds *et al.* (1981), empregando DGGE para separar os diferentes fragmentos de DNAr 16S, assumindo que cada população bacteriana produziria uma banda característica no gel.

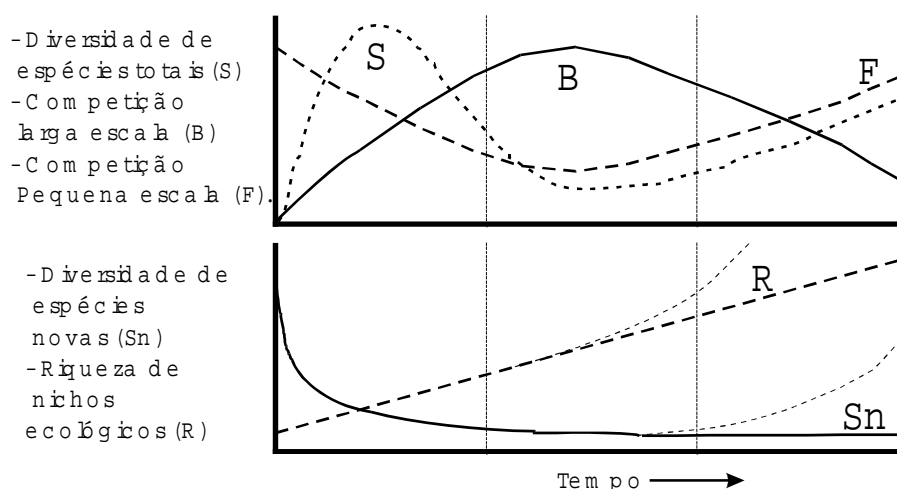


Figura 4 Sucessões microbianas em biofilmes. (Fonte: JACKSON 2002)

Uma revisão desses trabalhos revela que podem ser obtidas algumas previsões acerca das mudanças sucessionais que ocorrem durante a formação e desenvolvimento de comunidades microbianas (Jackson, 2002).

Inicialmente a "riqueza de espécies" (S) aumenta devido a uma rápida colonização por múltiplas espécies, promovida por uma superfície limpa ou recém exposta ao meio; diminuindo logo devido a que alguns "colonizadores primários" não podem mais competir por espaço e outros "recursos de larga escala" (B) sendo excluídos da comunidade. No entanto a comunidade irá se desenvolver incrementando o número de "nichos ecológicos" (R) potenciais, combinado com a aparição de populações mais especializadas acoplado à transição de um habitat bidimensional para outro tridimensional.

Logo um incremento de R promove um segundo aumento de S (concorrente com o amadurecimento do biofilme) e a competência torna-se mais uma força estruturante dos "recursos de pequena escala" (F) para populações mais especializadas. Devido a que R continua a crescer (com o incremento da heterogeneidade do habitat), novas espécies (S_n) são adicionadas à comunidade quando novos nichos são disponíveis, porém em algum ponto R e S deveriam se estabilizar (pelo menos, para um biofilme em equilíbrio ou "maduro"). No entanto S_n poderia evoluciona assintoticamente se $R = f(t)$ fosse linear, ou crescer se $R = f(e^t)$, que indicaria uma relação geométrica.

De modo geral, as comunidades microbianas do biofilme podem se encaixar num modelo de "exploração natural", porque um aumento em biomassa num nível trófico facilitaria o desenvolvimento de níveis superiores (Oksanen *et al.*, 1981). Deve-se salientar que também existe a possibilidade de que o nível inicial da cadeia trófica não consista de organismos autotróficos, mais sim de heterótrofos que utilizem carbono orgânico estranho ao sistema e cujos metabólitos primários sirvam de nutrientes para organismos posteriores.

Nas etapas finais da maturação do biofilme, a interação trófica entre bactérias e outros organismos torna-se prevalente, ocorrendo uma comutação do mecanismo de controle tipo "bottom-up" (devido principalmente a R e B/F) para outro do tipo "top-down" através de fatores tais como predação (por protistas, ou macroganismos) ou ataque de bacteriófagos (lises virais) que são mais importantes que a competição (B ou F) ou disponibilidade de recursos (R), mudando a estrutura do biofilme.

2.3.3 Biofilmes, o EPS

Em superfícies expostas às condições ambientais naturais, biofilmes mono-específicos são raramente encontrados. A grande maioria é composta por uma mistura estruturada de espécies. O polímero EPS sintetizado pelas células microbianas varia extensivamente em sua composição, e conseqüentemente em suas propriedades físicas e químicas. Algumas são macromoléculas neutras, mas a maioria é poli-aniônica devido a presença de ácidos urônicos (mais comum ácido D-glucurônico, sendo também achados D-galacturônico e D-manurônico), piruvatos com ligação cetálica, ou resíduos inorgânicos de PO_4^{-2} e SO_4^{-2} . Mas existem naturalmente alguns policatiônicos, como os polímeros formados por cepas de eubactérias aeróbicas Gram(+). A composição e a estrutura dos polissacarídeos determinam a sua "conformação primária". A "configuração secundária" freqüentemente forma hélices agregadas. Em alguns polímeros a cadeia central ou "backbone" forma-se a partir de seqüências monoméricas com ligações $1,4\text{-}\beta$ - ou $1,3\text{-}\beta$ - que dão uma considerável rigidez, outros se apresentam como estruturas menos rígidas como ligações $1,2\text{-}\alpha$ - ou $1,6\text{-}\alpha$ - achados em muitos dextranos.

A transição da forma hidratada randômica para um agregado helicoidal fica influenciada pela presença ou ausência de substituintes acilo tais como O-acetil ou O-succinil ésteres, ou piruvatos cetálicos. Essa transição também depende da temperatura e da concentração de sais no meio circundante (Sutherland, 1990).

As macromoléculas do EPS são essencialmente cadeias muito finas e longas com um PM médio da ordem de $0,5 - 2,0 \times 10^6$ Daltons, que podem

estar associadas de diversas maneiras. Mayer *et al.*,(1999) sugeriram que as ligações eletrostáticas e as pontes de hidrogênio são as forças dominantes.

Interações iônicas e associações em complexos de cadeias ligadas lateralmente conduzem à formação de redes muito pouco solúveis em solventes aquosos, formando inclusive géis de variada estabilidade. No entanto, os polissacarídeos interagem todo o tempo com uma variada gama de outras espécies macromoleculares, incluindo lectinas, proteínas, lipídeos e outros polissacarídeos; formando uma "supra-estrutura terciária". Essa estrutura compreende um entrelaçamento dos polissacarídeos secretados inicialmente pelas células com outras macromoléculas, e que poderão albergar outras células (da mesma ou de outras espécies) modificando o equilíbrio dinâmico entre a absorção de nutrientes e a eliminação dos subprodutos metabólicos.

Muitos polissacarídeos formam géis fracos e relativamente solúveis que modificam a viscosidade do eventual entorno aquoso; porém importantes alterações ocorrem quando íons estão presentes no meio. Estes íons (cátions principalmente) interagem com os grupos carboxílicos do EPS ligando-se fortemente às macromoléculas próximas, incrementando a viscosidade (inclusive até a gelificação total). Vários cátions podem competir pelo mesmo sítio da ligação (Loaëc *et al.*, 1997); sendo que a extensão da interação entre as cadeias poliméricas e a formação dos agregados de hélices depende freqüentemente do raio iônico do cátion ligante. Na maioria dos casos, a presença de cátions multivalentes tais como Ca^{+2} e Mg^{+2} conduzem a uma formação mais extensiva de hélices arranjadas ordenadamente do que íons

monovalentes, porém há polissacarídeos que se assemelham ao "κ-carrageno" revelando agregados de hélices duplas em presença de íons K^+ .

Um outro fato importante é a grande capacidade de retenção de água pelas moléculas de EPS - o ácido hialurônico, por exemplo, pode reter até 1 Kg de água por grama de polissacarídeo (Sutherland, 2001) - mantendo uma camada altamente hidratada em volta das células, prevenindo uma dessecação letal em ambientes de grandes flutuações diurnas de umidade, como ocorre tipicamente em biofilmes mistos de algas e cianobactérias. No caso específico de células que possuem somente uma fina camada protetora ou "bainha", a parte mais externa da camada EPS desidrata-se ficando endurecida, diminuindo a permeabilidade hídrica e a pressão parcial de vapor na superfície celular.

Uma clara indicação da relação que existe entre estrutura e função do polissacarídeo pode ser observada se comparamos os alginatos de algas eucarióticas com os bacterianos, sendo os primeiros muito rígidos e indeformáveis devido a alta interação específica com íons Ca^{+2} ou Sr^{+2} (propriedade amplamente utilizada em biotecnologia para imobilização de células e enzimas); em comparação com os alginatos bacterianos que possuem uma estrutura semelhante (seqüências de blocos poli-gulurônicos com estrutura de "caixa de ovos"), nos quais os grupos acetilados inibem fortemente a interação com cátions, dando conseqüentemente soluções aquosas com propriedades visco-elásticas e impedindo a formação de géis (Ertesvag & Valla, 1998). Em contrapartida, esses biofilmes de EPS acetilado

resistirão a maioria das enzimas alginato-liases que degradariam os produtos das algas.

Por outro lado, o EPS confere certa estabilidade mecânica, o que permite as células tolerarem consideráveis forças de atrito superficial (Mayer *et al.*, 1999). Também confere proteção contra bacteriocinas, ou até bacteriófagos cujo genoma não contenha seqüências para codificar enzimas polissacaridases que permitam a eles chegar à superfície celular. Hughes *et al.*, (1998) demonstrou que bacteriófagos com atividade enzimática polissacaridase específica, conseguem remover completamente o biofilme de espécies entéricas.

2.4 Biodeterioração e Biodegradação de Monumentos de Pedra

2.4.1 Biodeterioração de prédios

"Biodeterioração" pode ser definida como uma mudança indesejável nas propriedades de um material causada pelas atividades vitais de organismos vivos. A palavra "Biodegradação" é freqüentemente utilizada para definir uma mudança desejável efetuada pelas atividades vitais de organismos, como ocorre no caso de recuperação de dejetos e efluentes industriais ou áreas poluídas (Allsopp & Seal, 1986). No entanto as duas palavras são confundidas comumente e utilizadas com a significância da primeira.

A biodeterioração de monumentos de pedra em edificações é um problema bem reconhecido em ambientes tropicais, onde os fatores ambientais favorecem o desenvolvimento e a manutenção de uma ampla variedade de organismos em estas superfícies (Allsopp & Seal, 1986). Existem, no entanto

diferenças nos mecanismos e na extensão da biodeterioração, quando, além dos processos de intemperismo natural físico-químico e biológico, são adicionados outros contaminantes devidos a poluição antropogênica, produzindo um efeito sinérgico nos processos já mencionados.

Tendo em conta a "bioreceptividade" da superfície pétreo e os fatores meso-ambientais, existe uma ampla distribuição espacial dos organismos que se desenvolvem na superfície rochosa, principalmente embebidos numa matriz polimérica de exopolissacarídeos (biofilme EPS) gerada pelos próprios organismos, cumprindo funções de suporte e adesão à superfície, além de proteção contra a dessecação, iluminação excessiva, danos mecânicos e efeitos erosivos (entre outras mais específicas).

Existe também, uma distribuição temporal bem mais complexa, na qual aparece uma verdadeira sucessão de colonizações dos diferentes organismos, que é controlada principalmente pelo estado de deterioração do substrato pétreo e da extensão da formação do biofilme. Assim os microrganismos colonizadores primários, principalmente bactérias hetero e autotróficas seguidas de actinomicetos e fungos, darão suporte mecânico posteriormente a outros organismos como briófitas e plantas superiores; além de suporte energético a outros organismos como mini e microherbívoros (Allsopp & Seal, 1986).

2.4.1.1 Agentes biodeteriorantes

Os mecanismos de deterioração por bactérias envolvem a evolução de ácidos biogênicos (alguns deles com capacidade quelante) que causam

dissolução através da mobilização de cátions de Ca, Fe, Mn, Al e Si (Caneva & Salvadori 1988; Jain *et al.*, 1993).

As cianobactérias autotróficas causam danos estéticos aos monumentos de pedra criando filmes de várias cores em suas superfícies (Gaylarde & Gaylarde, 1999), esses filmes podem conter significativas quantidades de materiais inorgânicos adsorvidos derivados do substrato (quartzo, carbonato de cálcio, argila) e detritos (células mortas ou subprodutos microbianos).

A superfície mucilaginosa dessas bactérias facilita a adesão de partículas aéreas de pó, pólen, vapores de óleo, e cinzas de carvão, produzindo crostas duras e pátinas que são difíceis de eliminar.

Além da deterioração estética produzida pelas cianobactérias em monumentos históricos, existem danos físicos e químicos diretos produzidos por elas. A presença da camada microbiana de cianobactérias epilíticas cria um microambiente distinto onde a respiração e a fotossíntese produzem ácidos como subprodutos; causando deterioração bioquímica da pedra através do enfraquecimento das estruturas minerais e da dissolução dos minerais ligantes ou cimentantes, especialmente os carbonatos (Griffin *et al.*, 1991; Warscheid *et al.*, 1990).

Em mármore, por exemplo, as cianobactérias produzem padrões de erosão superficial devido ao seu estabelecimento nas depressões microscópicas tais como as interfaces dos cristais. Elas incrementam localmente a capacidade de retenção de água da pedra dissolvendo o material adjacente, o que promove um incremento da sua população. A coerência dos

cristais diminui nas áreas dominadas por cianobactérias, e a chuva desune os cristais conduzindo a erosão (Krumbein, 1993).

Deterioração biofísica com liberação de material granular pode também ocorrer, devido às forças exercidas por repetidos ciclos de secagem e reidratação da bainha mucilaginosa causada pela variação de umidade ambiente.

As cianobactérias estão usualmente presentes em associação com algas verdes, vermelhas e diatomáceas. A dominância de um grupo sobre outro varia local e regionalmente, e vários estudos indicaram que as cianobactérias dominam os habitats de regiões tropicais (Crispim *et al.*, 2003), contrariamente a tendência dos biofilmes de locais temperados onde as algas são dominantes (provavelmente devido a maior tolerância a temperaturas elevadas das cianobactérias). As cianobactérias e algas estão bem adaptadas a viver em locais de muito baixa iluminação (elas apresentam coloração verde ou verde escura quando úmidas e preta quando secas).

Várias espécies fúngicas têm sido isoladas de pedras intemperizadas, especialmente em áreas tropicais (Koestler *et al.*, 1985). A versatilidade metabólica deste grupo de microrganismos aumenta sua eficiência para colonizar diferentes tipos de substratos, porém as pedras inorgânicas não permitem por si mesmas o crescimento fúngico, sendo necessário pelo menos resíduos orgânicos.

Deterioração biofísica de pedras tem sido demonstrada pela extensiva penetração de hifas fúngicas em "pedra sabão", as hifas também podem penetrar paralelamente aos cristais em pedras calcíicas e dolomíticas,

contribuindo à decomposição de calcário, silicatos minerais (mica e ortoclase), e outros minerais contendo ferro e magnésio (biotita, olivina, piroxeno), granitos e mármore pela excreção de ácidos oxálicos e cítricos. Esses ácidos apresentam-se também como agentes quelantes que podem lixiviar cátions metálicos, tais como Ca^{+2} , Fe^{+2} , ou Mg^{+2} , da superfície rochosa, formando complexos solúveis como oxalatos férricos e sílica gel (Caneva & Salvadori, 1988).

Foi inferido a partir destes estudos que as rochas ácidas são mais resistentes que as básicas ao ataque fúngico. Em tal sentido, na bibliografia mencionam-se experimentos realizados com cepas de *Aspergillus niger* que conseguiram (produzindo ácidos glucônico, cítrico e oxálico) lixiviar minerais pulverizados em meio artificial com glicose como fonte de carbono. Em outros experimentos demonstrou-se a habilidade de vários fungos filamentosos (e de suas formas simbióticas com algas: os líquens) para dissolver, recristalizar e redepositar cristais de calcita e oxalatos metálicos ao redor e nas proximidades das hifas (Wilson *et al.*, 1981). Foi reportado também que houve oxidação de manganês, o que causaria manchas pretas nas superfícies (Eckhardt, 1985).

Algas eucarióticas formam pátinas que suportam o posterior desenvolvimento de uma sucessão de biodeteriogenos mais corrosivos (briófitas e plantas superiores). Elas produzem proteínas com capacidade quelante, e ácidos orgânicos que aumentam a solubilidade dos constituintes da pedra, alterando outras propriedades da região superficial, tais como o coeficiente volumétrico de expansão térmica, e incrementando posteriormente a sua sensibilidade a danos mecânicos. Algas de vida endolítica aumentam

(durante o crescimento) fissuras e rachaduras preexistentes na pedra, incrementando o seu volume quando em contato com alta umidade (Caneva *et al.*, 1991).

2.4.2 Microrganismos

2.4.2.1 Cianobactérias

As primeiras cianobactérias (Classe Cyanoficeae) aparecem em fósseis de $2,8 \times 10^9$ anos (tabela 2). Sua bioquímica evoluiu fundamentalmente diferente das Arqueobactérias. Elas foram os primeiros organismos dominantes que usaram a fotossíntese oxigênica, através da evolução inovadora que foi o Fotossistema II (PSII), o qual pode utilizar o oxigênio da H_2O como doador de elétrons dando como subproduto O_2 . Isto representou uma mudança fundamental na atmosfera terrestre, podendo ser observado seu impacto nas camadas mais profundas de rochas sedimentárias, onde a transição anaeróbica / aeróbica da atmosfera (ocorrida aproximadamente a $2,5 \times 10^9$ anos) aparece como mudanças da cor cinza para vermelho, devido a oxidação do ferro para íons férricos em grande escala. A subsequente evolução foi a aparição da bioquímica respiratória oxidativa e o começo da era Precâmbrica.

Tabela 2 Evolução da atmosfera, transição anaeróbica / aeróbica, em relação com a aparição das cianobactérias.

Formação da Terra		Primeiro ser vivo	Primeira cianobactéria	Aparição Oxigênio	Aparição de Eucariotos			Domínio de Eucariotos
4,5 bilhões	4,0	3,5	3,0	2,5	2	1,5	1,0	0,5
Era Hadeana		Era Arcaica	Era Proterozoica				Era Fanerozóica	

(Fonte: http://koning.ecsu.ctstateu.edu/plant_biology/cyanophyta.html)

Hoje em dia elas compõem o maior subgrupo de procariotos Gram(-) fotossintéticos em biofilmes epilíticos, apresentando-se num grande número de

gêneros e espécies (Rippka, 1988). A partir dos primeiros organismos fotossintéticos endosimbiontes surgiram as organelas fotossintéticas (cloroplastos e cianelas) dos eucariotos (Giovannoni *et al.*, 1988); sendo que as formas de vida livre exibem propriedades fisiológicas variadas e sua morfologia apresenta formas unicelulares, coloniais ou formas filamentosas complexas (Rippka *et al.*, 1979; Castenholz & Waterbury, 1989).

As cianobactérias geralmente são mais adaptadas para resistir condições ambientais adversas. A resistência à grandes flutuações de umidade e temperatura poderia explicar sua maior distribuição em climas tropicais mais expostos, se comparadas as algas (Gaylarde & Gaylarde, 1999), produzindo pigmentos de proteção dentro de suas células que as protegem do estresse fótico (Garcia-Pichel *et al.*, 1992; Matsunaga *et al.*, 1993; Chazal & Smith, 1994). A síntese dos pigmentos acessórios fotossintéticos está regulada pelas características espectrais da luz ambiente (figura 8) (Bennett & Bogorad, 1973). Devido a sua fisiologia complexa muito versátil, elas conseguem colonizar muitos nichos ecológicos e sobreviver em ambientes muito diferentes. O produto da fotossíntese é armazenado em grânulos de "glicogênio cianobacteriano" (um glucano com ligações α -1,4- parecido com a fração amilopectina das plantas superiores).

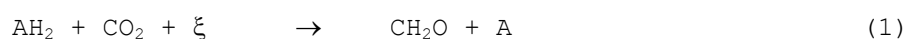
Em ambientes depletados de nitrogênio (NH₃) as cianobactérias dos subgrupos IV e V diferenciam algumas células do tricoma produzindo "heterocistos" intervalados com células vegetativas; formam-se camadas de parede adicionais (permeáveis ao N₂ mais não ao O₂) e as tilacóides são modificados, não apresentando o fotossistema II operante. A nitrogenase é

sintetizada e a fixação do N₂ prossegue, especialmente na luz, com o ATP fornecido pelo transporte cíclico de elétrons do Fotossistema I (PS I). Uma parte da glutamina, produto da fixação, é modificada e armazenada em grânulos de "cianoficina" (500 nm), polímeros de arginina ou de ácido aspártico.

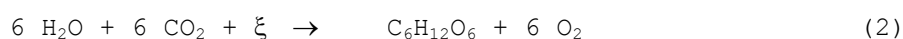
Elas produzem também grânulos de "volutina" (H₂O₂PO-[PHO₂]_n-PO₂H₂) variando de 100 a 300nm de diâmetro, como reserva de fósforo inorgânico. Outras adaptações são os vacúolos de gás, compostos por muitas vesículas de gás cilíndricas e alongadas, que ocorrem principalmente em cianobactérias planctônicas (adaptação fototrópica).

Vários gêneros de cianobactérias do Subgrupo IV sob condições de deficiência de nutrientes (principalmente fosfatos) e/ou limitação de luz, produzem células de resistência ou "acinetos". Adquirem uma parede espessa circundando a parede velha, acumulam cianoficina, glicogênio, lipídeos e pigmentos carotenóides, mas os polifosfatos desaparecem. Toleram secagem, congelamento e armazenamento longo em sedimentos anóxicos (Herdman, 1988).

a) Fotossíntese Oxigênica: O metabolismo fotoautotrófico oxigênico das cianobactérias é semelhante ao produzido nos cloroplastos das plantas. Ele se encaixa na equação geral fotossintética de Van Niel (equações 1 e 2):



Para o caso específico de utilizar água como doador de elétrons:



Essa reação é muito endergônica requerendo aproximadamente 257 J / mol, que representaria um potencial de 1Volt numa célula eletroquímica (Duysens *et al.*, 1961).

b) Sistema fotossintético: Cedo na evolução das cianobactérias as invaginações da membrana formaram as "tilacóides", que são sacos empilhados em camadas. Esta parte periférica intensamente pigmentada do interior celular chama-se "cromatoplasma" (Schopf, 1992).

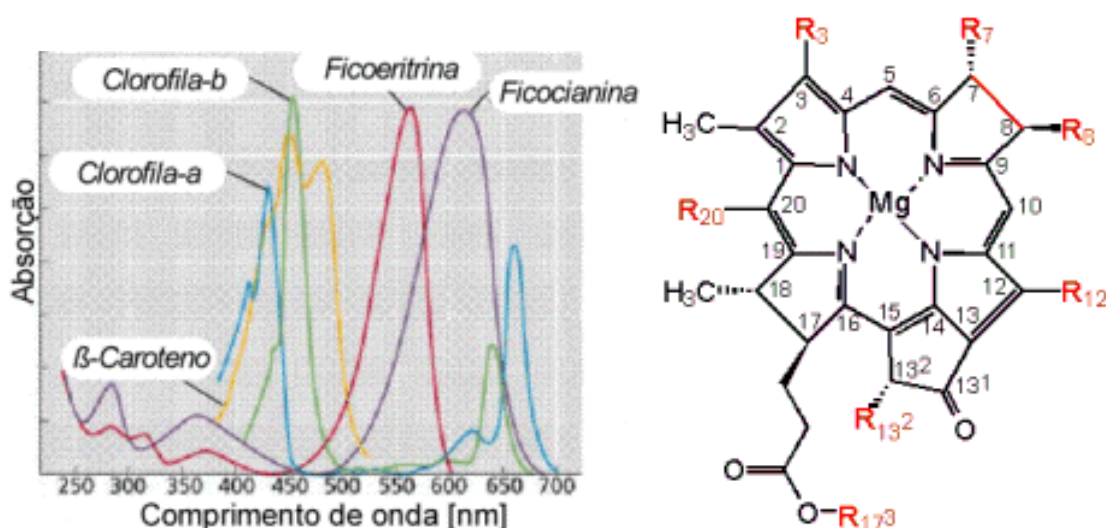


Figura 5 (esq) Espectro de distintos pigmentos fotossintéticos. **(dir)** Diagrama estrutural do anel tetrapirrólico de clorofila. (Fonte: <http://www.personal.psu.edu/faculty/n/x/nxf10/index.htm>)

As membranas tilacóides possuem o sistema de transporte de elétrons necessário para as reações em presença de luz da fotossíntese, que incluem a clorofila-a (figura 5 direita), o principal pigmento do Centro de Reação (RC) fixada à proteínas de membrana (veja na tabela 3 outros tipos de clorofilas e bacterioclorofilas).

Tabela 3 Substituintes das clorofilas naturais

Composto	R ₃	R ₇	R ₈	7,8-ligação	R ₁₂	R ₁₃ ²	R ₂₀	principal R ₁₇ ³
BClorof <i>a</i>	-CO-CH ₃	M	E	Simples	M	-CO-O-CH ₃	H	P, (GG)
BClorof <i>b</i>	-CO-CH ₃	M	=CH-CH ₃	Simples	M	-CO-O-CH ₃	H	P
BClorof <i>c</i> ^a	-CHOH-CH ₃	M	E,Pr,I	Dupla	M,E	H	M	F
BClorof <i>c</i> ^b	-CHOH-CH ₃	M	E	Dupla	M	H	M	S, (outros)
BClorof <i>d</i>	-CHOH-CH ₃	M	E,Pr,I,N	Dupla	M,E	H	H	F
BClorof <i>e</i>	-CHOH-CH ₃	-CHO	E,Pr,I,N	Dupla	E	H	M	F
BClorof <i>g</i>	-CH=CH ₂	M	=CH-CH ₃	Simples	M	-CO-O-CH ₃	H	F
Cloro <i>a</i>	-CH=CH ₂	M	E	Dupla	M	-CO-O-CH ₃	H	P
Cloro <i>b</i>	-CH=CH ₂	-CHO	E	Dupla	M	-CO-O-CH ₃	H	P

Referências tabela: (a) bactéria verdes do enxofre, (b) bactérias verdes filamentosas. BCl - bacterioclorofila, Cl - clorofila, E - etil, F - farnesil, GG – geranyl-geranyl, H - hidrogênio, I - isobutil (2-metilpropil), M - metil, N - neopentil (2,2-dimetilpropil), P - fitil, Pr - propil, S - estearil. (Fonte: <http://www.personal.psu.edu/faculty/n/x/nxf10/index.htm>)

Esse RC captura luz numa faixa espectral mais larga graças aos carotenoides (figura 6), e outros pigmentos acessórios de membrana, como zeaxantina, β -caroteno, equinenona, cantaxantina e mixoxantofilas (Croce, 1998).

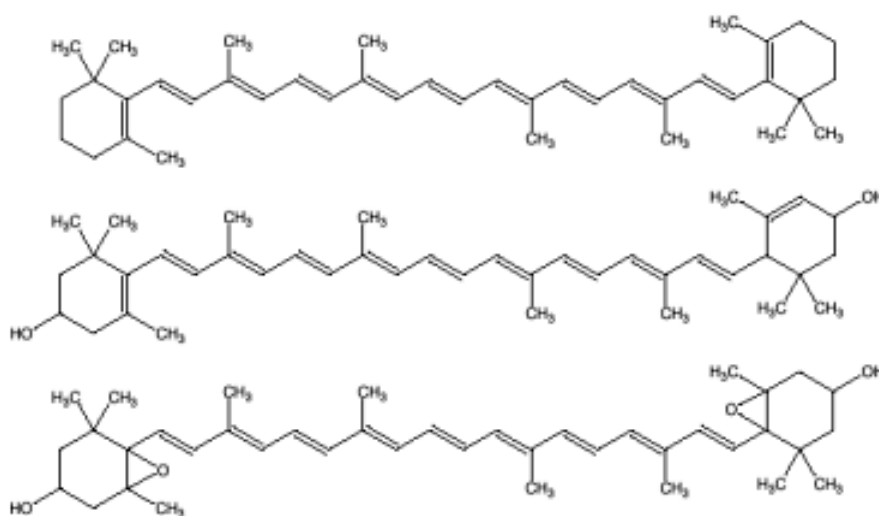


Figura 6 Pigmentos isoprenoides lipossolúveis derivados da família dos carotenos. De cima para baixo β -caroteno, luteína (uma xantofila) e violaxantina. (Fonte: CROCE 1998)

Conectados para a face citosólica das tilacóides estão os ficobilissomas (PBS), que são complexos protéicos que convertem a energia de luz em energia excitatória (ressonância) e a transfere centripetamente à região central que irá canalizá-la para o PSII (ou indiretamente ao PSI) (Glazer, 1985).

Os PBS podem representar cerca de 30% da proteína celular, estando organizada em dois domínios estruturais, o núcleo e os bastonetes.

Cada domínio contém polipeptídeos pigmentados e não-pigmentados. Todos os PBS têm as cromoproteínas (ficobiliproteínas-PBP): Aloficocianina (AP) e Ficocianina-c (PC), e muitos deles contém Ficoeritrina (PE) e Ficoeritrocianina (PEC), veja na figura 7 a estrutura química desses compostos (Glazer *et al.*, 1983).

As cores das PBP são consequência da absorção diferencial da luz pelos cromóforos tetrapirrólicos lineares associados covalentemente com apoproteínas. As PBP estão compostas por as sub-unidades α e β associadas em heterodímeros que se agregam em trímeros $(\alpha\beta)_3$ e hexâmeros $(\alpha\beta)_6$. Os polipeptídeos ligantes não-cromoforilados (L) estabilizam os PBS, facilitando a montagem dos agregados de PBP, modulando as características de absorção das PBP, e promovendo um fluxo de energia unidireccional aos RC (Capuano *et al.*, 1991).

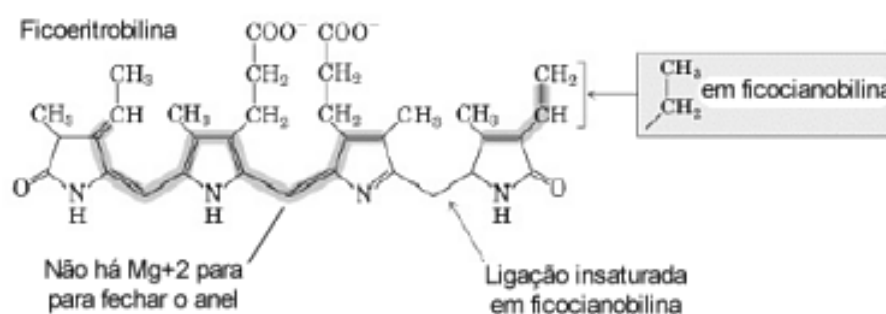


Figura 7 Estrutura tetrapirrólica não cíclica das ficobiliproteínas PE e PC. (Fonte: GROSSMAN *et al.*, 2001)

Os núcleos dos PBS contêm trímeros de AP junto com polipeptídeos pigmentados e tipo L. Um polipeptídeo de alto peso molecular do núcleo (L_{CM}) tem homologia com as PBP e os polipeptídeos L. O domínio semelhante a PBP do L_{CM} liga um cromóforo tetrapirrólico servindo como receptor terminal de energia do PBS. Geralmente 6 bastonetes, cada um composto de hexâmeros

de PC e PE empilhados, "irradiam" do núcleo, tornando ao PBS com uma aparência de leque (figura 8) (Capuano *et al.*, 1991).

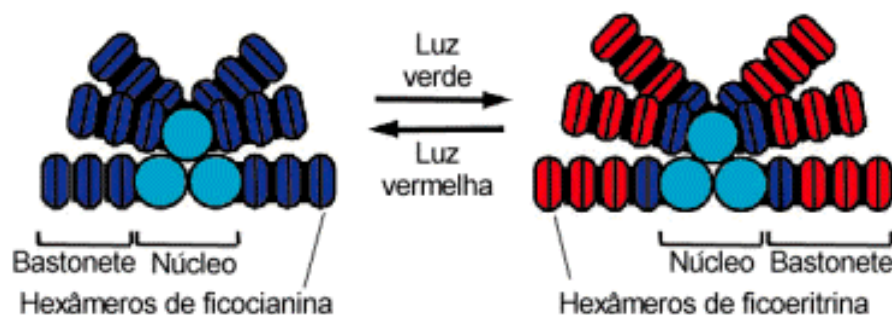
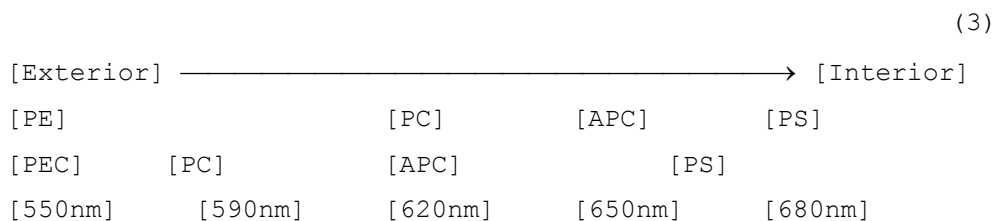


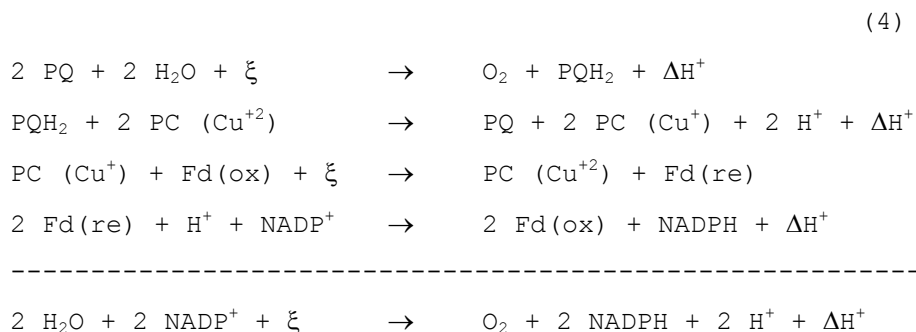
Figura 8 Disposição "irradiada" que adotam as ficobiliproteínas. (Fonte: GROSSMAN *et al.*, 2001)

Nessa estrutura existe uma transferência vetorial "centrípeta" de energia (equação 3), com uma ordenação "centrífuga" nas posições do PBP no PBS.

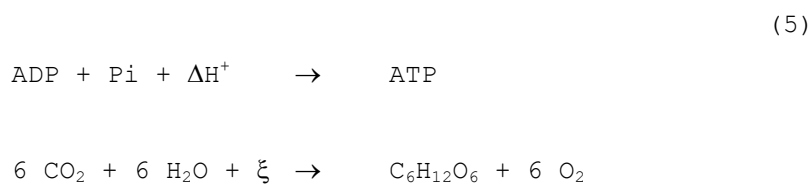


c) O esquema Z: A fotossíntese oxigênica está baseada na ação coordenada dos dois fotossistemas (PSI e PSII). O PSII tem o centro RC (P680) com um potencial basal muito eletropositivo (+1 V). Quando excitado pela luz ele pode tomar elétrons do H₂O, e mudar seu potencial para -0.5 V, movimentando os elétrons para uma série de transportadores (ETC) que irá eventualmente alimentar com eles ao RC do PSI (P700) (Bhalerao *et al.*, 1994). Esse movimento dos elétrons gera um gradiente de prótons através da membrana, que será posteriormente utilizado para gerar ATP. O P700 logo de absorver um fóton irá reduzir NADPH através de outra série de ETC (figura 9), formando o

"potencial redutor", necessário para as reações de biossíntese (equação geral 4).



O ATP e o NADPH geradas durante a parte fotoativada da fotossíntese, serão logo utilizados durante o período de escuridão da fotossíntese (biossíntese), quando entram no ciclo redutor da pentose-fosfato (ou ciclo de Calvin-Benson), reduzindo 6 moléculas de CO₂ para produzir uma de glicose (equação geral 5). Essa redução é catalisada pela ribulose bifosfato carboxilase / oxigenase (RuBisCO ou RuBP carboxilase), presente em grandes quantidades no citoplasma em estruturas angulares grandes chamadas de "carboxissomos" (Stryer, 1995).



O sistema PSI pode utilizar uma via alternativa cíclica, gerando ATP mais não NADPH (utilizado quando não há necessidade de mais poder redutor dentro da célula).

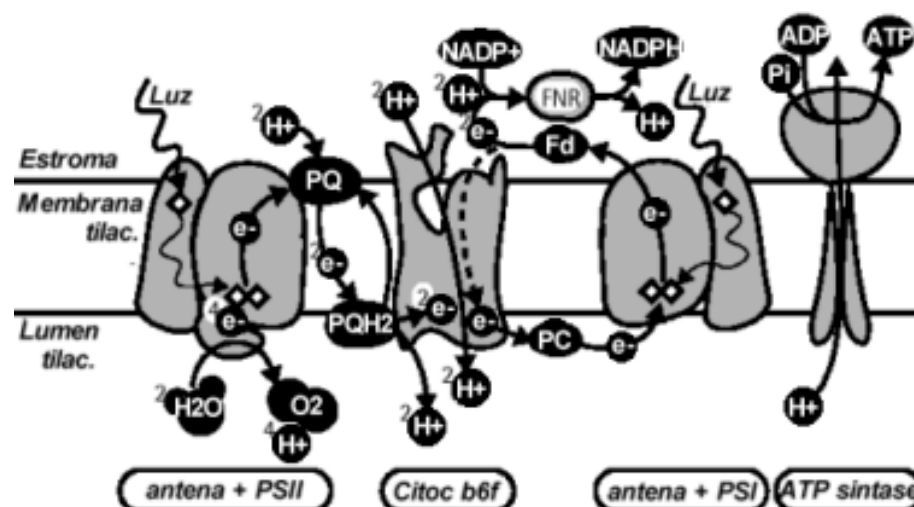


Figura 9 Geração de oxigênio, ATP, e NADPH no sistema de transporte de elétrons da membrana tilacóide. (Fonte: STRYER 1995)

O padrão de absorção da clorofila-a ilustrado na figura 5 esquerda, mostra dois comprimentos de onda potencialmente utilizáveis (430, 663 nm) para a sua quantificação e identificação com técnicas de HPLC e espectrofotometria (Eijkelhoff & Dekker, 1997). Tendo em conta que os pigmentos fotossintéticos degradam-se rapidamente após a morte dos organismos, o conteúdo total de clorofila poderia então ser tomado como indicador de biomassa ativa média fotossintética. As propriedades de absorção dos pigmentos em solução são ilustradas na tabela 4.

Tabela 4 Propriedades de absorção dos distintos tipos clorofilas.

Pigmento	Chl a	Chl b	BChl a	BChl b	BChl c	BChl d	BChl e
Máxima absorção (nm)	430, 663	463, 648	364, 770	373, 795	434, 666	427, 655	469, 654
Máxima absorção da feofitina correspondente (nm)	408, 664	ND	357, 746	367, 776	412, 666	406, 657	435, 665

(Fonte: <http://www.personal.psu.edu/faculty/n/x/nxf10/phd/index.htm>)

2.4.2.2 Fungos

a) Superfície Celular e Ergosterol: Os fungos filamentosos apresentam na sua superfície externa uma camada capsular que envolve à parede celular. Essa parede está formada por uma camada composta de microfibrilas cristalinas, cujos componentes são quitina e β -glucano e uma matriz amorfa

composta de α -glucano e glicoproteínas, também há porções de quitosano, β -galactosamina, melanina e lipídeos (Kuhn *et al.*,1990). Embutida na parede encontram-se proteínas carregadoras de nutrientes do meio ambiente assim como outras biomoléculas.

A parede celular dos fungos da divisão Basidiomycota, Ascomycota, Zigomicota e alguns fungos pertencentes à divisão Mastigomicota, tais como as classes Quitriomicetos e Hifoquitriomicetos apresentam microfibrilas de quitina, enquanto que os fungos pertencentes à classe Oomicetos apresentam microfibrilas de celulose.

A parede celular por sua vez recobre a membrana celular que serve como uma barreira entre célula ou as organelas e o ambiente em seu entorno, apresentando a estrutura básica (membrana unitária) da membrana presente em todos os seres vivos, uma bicamada lipídica, na qual estão inseridas proteínas e glicoproteínas (formando o "mosaico fluido"). Esta estrutura formada de biocompostos permite a célula ter controle sobre trocas de moléculas e íons entre a mesma e o ambiente (Kuhn *et al.*, 1990).

Dentre os lipídeos formadores da membrana encontram-se os fosfolipídeos (função estrutural), ácidos graxos livres e carotenóides (função de proteção) e os glicolipídeos e esteróis (contribuem para a estabilidade da membrana citoplasmática).

A função dos esteróis na membrana citoplasmática é aderir-se às cadeias de ácidos graxos componentes dos lipídeos vedando-os. Nas células eucarióticas animais o esterol encontrado é o colesterol, em células de plantas podem ser estigmasterol ou sitosterol, e nas membranas da maioria dos fungos

eumicóticos (filamentosos ou leveduras), incluindo Zigomicota, Ascomicota, Deuteromicota e Basidiomicota, o principal esteroide é o $\Delta^{5,7,22}$ -24 β -metil-colesterol-3 β -ol ou "ergosterol", cuja estrutura química se mostra na figura 10 (Kuhn *et al.*, 1990).

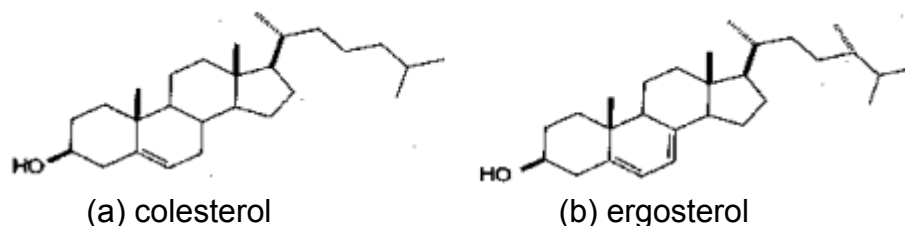


Figura 10 Comparação das moléculas do colesterol e ergosterol. (Fonte: SAAD *et al.*, 2003)

Na região central da bicamada lipídica os esteróis interagem com as cadeias aciladas dos glicero-fosfolípidos, condensando, aumentando a resistência e diminuindo a sua fluidez (Russell, 1989). A interação ocorre em duas partes: entre o grupo 3 β -OH e os carbonos C-1 e C-2 do glicerol, e entre os anéis rígidos do esteroide com os primeiros 10 ou 12 carbonos das cadeias aciladas (restrição da isomerização, aumento da rigidez estrutural).

Além de regular a fluidez da membrana, o ergosterol intervém no transporte de aminoácidos e pirimidinas (atividade respiratória), e resistência a certos agentes químicos e certos cátions (Parks e Casey, 1995).

O ergosterol pode encontrar-se dentro da membrana em duas formas, como ergosterol livre (cerca de 80% do total) e o restante em ergosterol esterificado (Martin *et al.*, 1990). Estudos realizados demonstram que o grau de esterificação durante a fase exponencial de crescimento é de 0 a 10% do total, e no final da fase exponencial - início da fase estacionária, atinge valores na ordem de 85 a 90% (Bailey & Parks, 1975).

O processo de esterificação e acúmulo da porção esterificada nos glóbulos lipídicos é um controle realizado em resposta ao excesso de ácidos graxos (que poderiam tornar-se tóxicos), regulando ao mesmo tempo a quantidade de esterol na membrana (modificando a sua fluidez).

Por este esterol da membrana apresentar uma estrutura crítica para a manutenção do funcionamento celular, as duplas ligações contidas na célula podem sofrer oxidação ou outras reações, acarretando uma rápida degradação da célula, o que permite utilizá-lo como um indicador da biomassa fúngica viva.

A existência de duplas ligações nos carbonos 5, 7 e 22 nos anéis do ergosterol, permite a avaliação deste composto por espectroscopia de absorvância de luz ultravioleta na faixa de 282 nm, o que o torna um índice potencial para a análise da contaminação fúngica (Gessner,1993; Newell, 1988).

2.4.2.3 Liquens

a) A simbiose liquênica: Uns poucos fungos liquênicos são membros do grupo Basidiomicota, porém a grande maioria são membros do grupo *Ascomicota* (fungos que formam ascas), produzindo freqüentemente corpos e frutificação conspícuos (ascocarpos) que são estruturas em forma de discos ou "apotécio".

Quase a metade da totalidade dos fungos são ascomicetos, e cerca da metade deles são achados em liquens. Apesar do fato de que seus esporos são dispersos dos corpos de frutificação, esses fungos não parecem ter uma existência independente muito importante na natureza devido a sua taxa de

crescimento extremamente baixa, geralmente carecendo do sistema enzimático para degradar polímeros complexos (Piervittori *et al.*, 1996).

Contrastando com os milhares de fungos liquênicos, existem somente 100 simbiontes fotossintéticos. O mais comum é a alga verde unicelular do gênero *Trebouxia*, achado em muitos líquens das regiões temperadas e frias, incluindo todas as espécies de líquens do gênero *Cladonia*. As espécies de *Trebouxia* raramente crescem independentemente na natureza constituindo um "fotobionte" especializado. Outro fotobionte comum em regiões cálidas e tropicais é a alga verde filamentosa do gênero *Trentepohlia*, podendo ser encontrado crescendo independentemente na natureza, assim como outros ficobiontes tropicais (Gehrmann *et al.*, 1992).

Cerca de 10% dos líquens possuem cianobactérias modificadas ou "cianelas" (como *Nostoc*) como simbionte sintético principal ou único (se principal conforma um "cianolíquen"); como exemplo têm-se as espécies de *Peltigera*. Porém cerca de 3-4% das espécies de líquens de algas verdes contém também cianobactérias, em estruturas especiais ou "cefalodia", utilizando a sua capacidade para fixar N₂ atmosférico (Ascaso & Wierzchos, 1994).

2.5 Preservação de monumentos de pedra

2.5.1 Prevenção e preservação

As medidas preventivas de rotina que controlam a umidade e eliminam causas de condensação e gotejamento, reduzem consideravelmente a taxa de desenvolvimento biológico.

As plantas superiores, por exemplo, crescem em rachaduras, gretas e cavidades nas superfícies de pedra, por isso são necessárias vigilâncias freqüentes, consumindo muito tempo para preveni-las (Mishra *et al.*, 1995).

Dentre os métodos de prevenção, tem sido recorrentemente mencionado na literatura a instalação de delgadas fitas de cobre na parte superior das alvenarias, que inibiriam por longo tempo o desenvolvimento nas paredes de pedra. Essas fitas irão lixiviar com a água da chuva dando íons cuprosos moderadamente tóxicos, mas que irão tingir de cor verde claro as superfícies expostas, afetando a aparência geral (Ashurst & Ashurst, 1988).

Em sítios históricos e/ou arqueológicos das regiões tropicais, onde a umidade e os níveis de precipitação são elevados, recobrimentos protetores podem ser usados para reduzir a umidade excessiva no substrato.

Os métodos modernos de conservação aplicam os tratamentos "consolidantes" de compostos repelentes à água. Os compostos mais comuns são os polímeros sintéticos e as resinas usadas em tintas, pinturas ou vernizes. Esses compostos devem ser avaliados, principalmente em regiões tropicais, para estudar a influência que produzem sobre os organismos diretamente, ou pela mudança do microambiente que eles criam (Griffin *et al.*, 1991; Krumbein *et al.*, 1993).

Os resultados de laboratório obtidos em vários estudos indicam que muitos desses repelentes (organosilanos, silicones, acrílicos, resinas epoxi e polvinil acetato), aparentemente não têm efeito sobre o crescimento dos organismos, muito pelo contrário, alguns deles podem tornar-se fonte de nutrientes. Nesse caso as bactérias heterotróficas e os fungos poderiam usar

os compostos orgânicos das camadas de tinta como substratos para seu crescimento, produzindo ácidos que causem a fragilização da tinta ou mudem sua consistência (Krumbein & Petersen, 1990). No entanto algumas das resinas sintéticas podem resistir ao crescimento microbiano, devido a presença de aditivos de efeito biocida (como o dibutilestânio dilaurato) ou a adição de solventes tóxicos (Koestler & Santoro, 1988; Mamonova *et al.*, 1988).

Esses tratamentos produzem melhores resultados quando aplicados em superfícies novas ou tratadas previamente com biocidas. Um exemplo pode ser tomado de vários monumentos na Índia (Kumar & Sharma, 1992), onde a aplicação sobre paredes de arenito de uma solução de 2% de polimetil-metacrilato em tolueno, depois da limpeza superficial com água e hipoclorito 5%, manteve em um nível mínimo o desenvolvimento de microrganismos durante mais de 5 anos.

É importante salientar que os tratamentos com compostos repelentes à água nunca devem ser aplicados em superfícies expostas a fontes de umidade interna à superfície, porque o perigo de cristalização interna de sais pode levar ao desprendimento da camada protetora superficial (Garg *et al.*, 1988).

2.5.2 Pinturas

2.5.2.1 Composição

Recobrimentos poliméricos de superfícies são utilizados há muito tempo com objetivo de proteger o substrato dos efeitos do intemperismo físico e químico. Os primeiros utilizados eram de origem natural (proteínas, gomas,

sais insolúveis, óleos secantes, etc.), mas eles foram evoluindo com o tempo até constituir-se hoje em dia de materiais completamente sintéticos (Lambourne & Strivens, 1999).

As pinturas em edificações podem se classificar como de "base solvente" ou "base água". Durante sua formulação, como critério geral, algumas importantes propriedades devem ser observadas, tais como, opacidade, cor, brilho, textura, adesão ao substrato, resistência química e durabilidade. Outros requisitos são facilidade de aplicação, formação do filme de tinta, e considerações ambientais e de saúde (Paul, 1996).

Os recobrimentos (pinturas) orgânicos são uma mistura complexa de substâncias, que pode ser dividida em 4 grandes grupos:

a) Ligantes ou *Binders*: são os materiais que formam o filme contínuo, que se aderem ao substrato por um lado, interligam as outras substâncias para formar o filme, e apresentam uma superfície resistente na parte exterior. Em alguns casos os polímeros já prontos são adicionados à tinta antes da aplicação, em outros casos a polimerização final ocorre depois da tinta ser aplicada ao substrato. As macromoléculas de peso molecular entre 300 e 30.000 gr / mol fornecem a base para o filme contínuo, selando e protegendo a superfície. Os compostos com maior peso molecular incluem nitrato de celulose, poliacrilatos e copolímeros de cloreto de vinila. Nos compostos com baixa massa molecular têm-se resinas alquídicas, fenólicas e epóxi. Após aplicação no substrato, o veículo se evapora e a parte não volátil começa a endurecer quimicamente, produzindo um produto de elevada massa molecular através de ligações cruzadas entre moléculas (Stoye & Freitag, 1998).

b) Compostos voláteis: estão presentes na maioria das tintas. São líquidos que fazem a tinta fluida o suficiente para a sua aplicação, evaporando-se durante e após a aplicação final. O termo "solvente" não seria completamente aplicável a todos os voláteis porque existem ligantes que não são completamente solúveis no veículo. A tendência atual é a redução de emissão de compostos orgânicos voláteis (VOC) através do uso de tintas de alta quantidade de sólidos, ou de água como parte principal dos voláteis.

c) Pigmentos: são sólidos insolúveis finamente divididos dispersos no veículo, que permanecem suspensos no ligante depois da formação do filme. A função primária é conferir cor e opacidade ao filme, mais alteram também outras propriedades dele. A maioria das tintas possui pigmentos, porém existem muitos tipos importantes de recobrimentos que não contêm pigmentos, são chamados de "tintas claras" ou vernizes. Os pigmentos empregados poderão ser de dois tipos, componentes primários e "fillers". Estes compostos podem em alguns casos incrementar as propriedades anticorrosivas, podendo ser compostos orgânicos, inorgânicos ou pigmentos metálicos, sendo o mais empregado o óxido de titânio. Eles devem apresentar uma elevada área superficial, a qual deverá ser molhada pelo ligante para dar uma cobertura eficiente, boa estabilidade e resistência ao intemperismo (Stoye & Freitag, 1998).

d) Aditivos: são materiais inclusos em pequenas quantidades para modificar algumas propriedades da tinta. Exemplos são: catalisadores para reação, estabilizantes, modificadores de fluxo, dispersantes, antiespumantes, modificadores de pH, biocidas.

Os sistemas de tinta base água são denominados de "látex", conformando uma dispersão polimérica (uma resina sólida). Essa dispersão geralmente está composta por vários polímeros. A seleção dos monômeros, o mecanismo de plastificação (interno ou externo), as condições de fabricação e o tipo de material coloidal protetor, são variáveis importantes que influenciam nas propriedades finais do látex: viscosidade, temperatura mínima de formação do filme, resistência à saponificação, resistência ao intemperismo, estabilidade na embalagem, etc. As resinas sintéticas mais utilizadas são: acetato de vinila, estireno, propionato de vinilo, e derivados do ácido acrílico (Stoye & Freitag, 1998).

O "veículo" nas tintas base água está formado por componentes voláteis, que incluem água, como solvente principal, e agentes de coalescência (solventes orgânicos). Entre os componentes não voláteis têm-se ligantes, resinas, plastificantes, aditivos, corantes, pigmentos e fillers. Todos estes apresentam função, alguns na tinta líquida, outros na película final (Lambourne & Strivens, 1999). Dentro do veículo, o solvente é o componente que permite a aplicação da pintura sobre o substrato, onde os compostos comumente empregados são hidrocarbonetos aromáticos e alifáticos, álcoois, cetonas, éter-glicóis, sendo compostos normalmente líquidos a temperatura ambiente. Dissolvem os componentes da tinta, superando incompatibilidade entre os mesmos (Stoye & Freitag, 1998).

Quando ocorre a secagem da tinta no substrato, um filme aderido à superfície é formado. A formação desta película poderá ocorrer através de reações químicas ou físicas. Na secagem física (tintas termoplásticas, e lacas

de base solvente), a formação do filme está relacionada à evaporação do solvente, e na secagem química (tintas termosolidificáveis) dá-se através de reações químicas entre os componentes da mesma. Em sistemas base água, a secagem dá-se pela evaporação da água contida na tinta (Lambourne & Strivens, 1999). Como consequência a porosidade e a distribuição do tamanho dos poros em ambos diferem grandemente (Adan *et al.*, 1994).

2.5.2.2 Alteração das tintas

Embora os binders empregados em tintas base água, isto é, polímeros acrílicos e polivinil-acetatos, são geralmente altamente resistente ao ataque microbiano, aditivos tais como espessantes celulósicos podem ser atacados (Diez & Barros, 1992, Adan *et al.*, 1994).

O emprego de substâncias orgânicas nos compostos voláteis das tintas tem levado a inúmeras discussões, devido à proteção ambiental. Por isso, novos produtos vêm sendo desenvolvidos pela indústria de tintas empregando água em substituição a solventes orgânicos, os quais necessitam da adição de biocidas para prevenir a rápida deterioração do produto. Substâncias utilizadas, tais como organo-mercuriais, apresentam um grande espectro de atividade contra microrganismos, entretanto são desfavoráveis na avaliação ecológica (Glaser, 2000).

Os novos biocidas utilizados, apesar de apresentar um espectro de atividade mais específico, são substâncias ecologicamente aceitáveis, entretanto, uma contínua discussão sobre o impacto ambiental ainda toma lugar. Estes biocidas hoje empregados, dependendo da aplicação, poderão ser

utilizados para preservação da tinta na lata, ou do filme de tinta seco (Glaser, 2000).

Dependendo da concentração utilizada, a ação de agentes antimicrobianos poderá ser microbiostática ou microbicida; a primeira ocorre quando o crescimento microbiano é temporariamente inibido, e na segunda o produto empregado tem efeito de morte sobre os organismos (Müller, 2000).

Existem três modos gerais de ação contra os organismos:

a) Os compostos que agem na membrana (membrana-ativos): alguns deles reagem com acetil-acetona produzindo formaldeído, o qual interage com os grupos amino das proteínas, inativando-as. O resultado é a perda do conteúdo da célula para o ambiente. Este mecanismo é efetivo contra bactérias, entretanto menos efetivo contra fungos filamentosos e leveduras (King, 1995).

b) Os compostos que reagem com grupos nucleofílicos no interior da célula microbiana (agentes eletrofílicos): eles reagem com grupos nucleofílicos contidos nos aminoácidos ou em proteínas, inativando-os. Metais geralmente fazem parte de enzimas e vitaminas necessárias para o crescimento e metabolismo. Os agentes químicos quelantes de metais atuam contra os microrganismos pela remoção destes elementos químicos. Os agentes catiônicos desestabilizariam a parede celular causando a morte da célula, através da reação com os constituintes aniônicos, inorgânicos ou orgânicos (King, 1995).

c) Outros: além desses mecanismos poder-se-ia citar a desativação do transporte de proteínas, pela adsorção de moléculas na parede celular, inibição da respiração resultando na incapacidade em gerar energia, interferência com

DNA, RNA, ou síntese de proteínas, todos estes mecanismos poderão levar a morte da célula. Outro processo de interferência seria na síntese de ergosterol, um importante lipídeo componente da membrana fúngica. Empregando baixas concentrações de agentes antimicrobianos, estes apresentariam efeito fungistático e com elevadas concentrações, efeito fungicida (King, 1995).

Na tabela 5 encontram-se alguns microbicidas contendo nitrogênio ou enxofre, os quais são empregados em tintas (King, 1995).

Tabela 5 Microbicidas comuns modernos.

Nome		Mecanismo de ação	Espectro de ação			Faixa de pH	Solubilidade na água	Observações
Químico	Comum		Fungos	Algas	Bactéria			
1H-benzimidazol-2-il	Carbendazim	Inh síntese DNA	X			2 - 12	baixa	estab. física e química amarelamento da tinta
3-Iodo-2-propinilbutil-carbamato	IPBC		X	X	X			
bis-dimetiltio-carbamato	Tiram		X	X	X		muito baixa	
N-Zinco-dimetilditio-arbamato	Ziram		X	X	X		muito baixa	
N-haloalquiltio	Folpet, Captan	Eletrofílico	X				baixa	degradável por hidrólise
Uréia derivado	Diuron	Inh fotossíntese		X			muito baixa	resiste a luz
1,2-benzo(T3O)	BIT	Eletrofílico	X		X			reage com ferro
2-metil-4,5-trimetileno-4-iso(T3O)	MTIT	Eletrofílico	X		X			
2-N-octil-4-iso(T3O)	OIT		X	X	X		alta	fácilmente lixiviável
Triazina derivado	Irgarol1051			X				
Zinco-piritiona			X			< 8	baixa	descoloração da tinta

T3O -> tiazolin-3-ona

(Fonte: SAAD *et al.*,2003)

2.5.2.3 Biocidas aplicáveis às tintas

As superfícies pintadas podem servir como meio nutritivo para crescimento microbiano havendo suficiente umidade; os organismos podem destruir as propriedades protetoras dos filmes de tintas, podendo causar coloração, levando até mesmo a destruição e perda de integridade do mesmo. A escolha adequada do biocida para um tipo determinado de tinta é fundamental para a durabilidade do recobrimento; tendo em conta que devido a estrutura química dos biocidas empregados e a sua reatividade, os mesmos poderão sofrer oxidação ou redução, sendo decompostos, o que resultaria em deficiência na atividade desejada (Bieleman, 2000).

Os requisitos necessários para os agentes ativos, visando a conservação do filme de tinta endurecida incluem: a efetiva ação contra fungos e algas, baixa solubilidade na água, baixa pressão de vapor, estabilidade em presença de luz UV, estabilidade com variações de pH, compatibilidade com os componentes da tinta, fácil incorporação, dosagem e manuseio, nenhum efeito além do biológico, não colorir o filme de tinta, elevada relação custo-benefício e risco aceitável para o homem, animais e ambiente durante o uso. Todos estes requisitos poderão não ser atingidos por um simples agente, sendo necessário emprego de combinações dos mesmos (Verkholantsev, 2000).

Alguns biocidas utilizados no passado eram compostos de metais pesados e derivados de fenóis halogenados. Das substâncias utilizadas para preservação, citam-se formaldeído, glutaraldeído, derivados fenólicos, ácidos, amidas. Hoje em dia eles foram substituídos por outros mais modernos como benzimidazolas (figura 11 esquerda), carbamatos e ditiocarbamatos, compostos N-haloalquiltio, derivados de benzo-isotiazolinonas como OIT (2-n-octil-4-isotiazolin-3-ona) (figura 12), zinco piritona e Diuron (figura 11 direita). Deve ter-se em conta que alguns desses compostos heterocíclicos podem ser agentes liberantes de formaldeídos (Glaser, 2000).

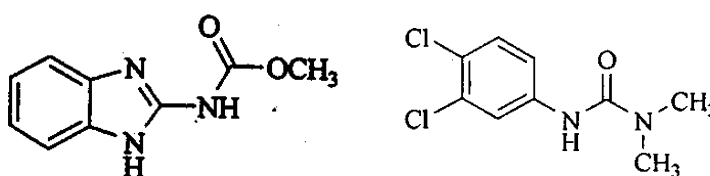


Figura 11 Moléculas de Carbendazim (**esq**) e Diuron (**dir**). (Fonte: SAAD *et al.*, 2003)

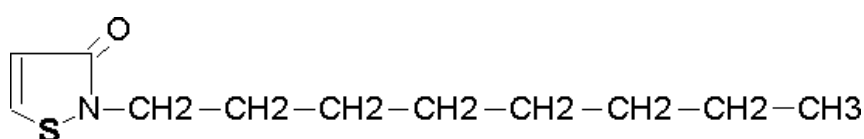


Figura 12 Molécula de OIT. (Fonte: catálogo THOR CHEMICALS-UK)

3. MATERIAL E MÉTODOS

Alguns dos locais que serviram como local de coleta das amostras, encontram-se em avançado estado de deterioração biológica e intemperismo físico. Todas são localizadas na província Argentina de "Misiones" e datam do começo do século XVII. Os locais são os seguintes: "San Ignacio Miní", "Loreto", "Santa María" e "Santa Ana". Esses locais foram em sua maioria construídos em pedra Arenito "Botucatu" ou "Guarani" com tijolos alternantes de pedra "Itacurú" sem cobertura nem argamassa de junção, deixando evidente a ação do tempo em sua estrutura, com presença de biofilmes em grande parte da sua extensão.

3.1 Obtenção de amostras de Cianobactérias e Fungos

As amostras foram coletadas de biofilmes visíveis das paredes e estruturas externas das diferentes edificações que compõem as Reduções Jesuíticas (figuras 13 e 14).

Foram coletadas 7 amostras das ruínas de Santa Ana e 7 das ruínas de Loreto no dia 7 de Janeiro de 2003. No dia 12 de Janeiro de 2003, 9 amostras foram retiradas das ruínas de San Ignacio e mais 7 das ruínas de Santa María. Os pontos de coleta para cada Local amostrado são detalhados na tabela 6, a escolha desses pontos baseou-se no grau de deterioração

aparente que apresentavam, mas também porque eles são representativos e característicos de cada sítio (apêndice A).

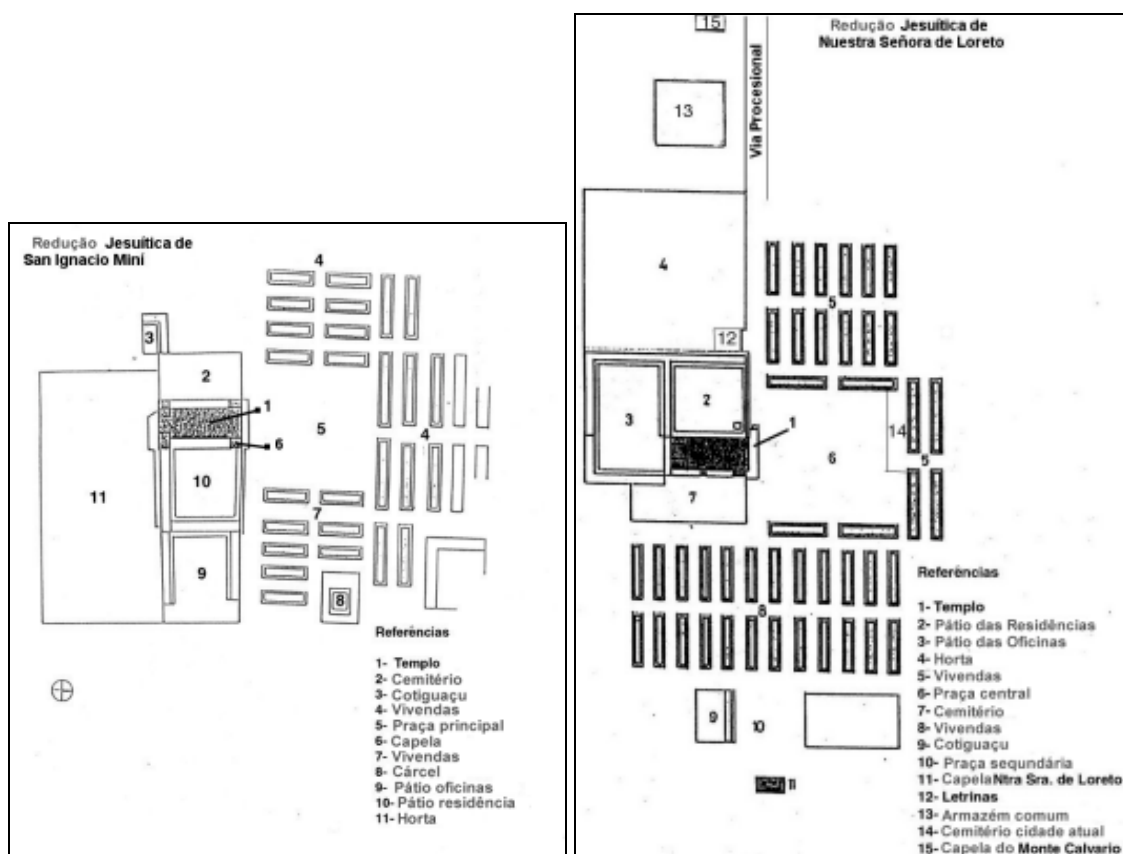


Figura 13 Vista em planta das ruínas de San ignacio (esq) e Loreto (dir).

Tabela 6 Pontos de coleta de cada um dos locais amostrados.

Local de amostragem	Pontos de coleta das amostras (número de amostras em cada ponto de coleta)
Santa Ana	Colégio (2) , Oficinas (1) , Templo (4)
Loreto	Colégio (1) , Oficinas (1) , Templo (4) , Vivendas (1)
San Ignacio	Cabilda (2) , Capela (1) , Colégio (1) , Templo (3) , Relógio de sol (1) , Vivendas (1)
Santa Maria	Horta (1) , Monólito praça (2) , Oficinas (2) , Pátio (1) , Vivendas (1)

O método utilizado para a coleta das amostras foi a técnica de fita adesiva de Gaylarde & Gaylarde (1998) e raspagem direta com estilete esterilizado. Visualizou-se o biofilme e colocou-se a fita sobre o mesmo

fazendo-se pressão para que o maior número possível de material ficasse aderido à fita. Também foi retirado e coletado o material do biofilme diretamente por raspagem e armazenado em sacolas plásticas estéreis.

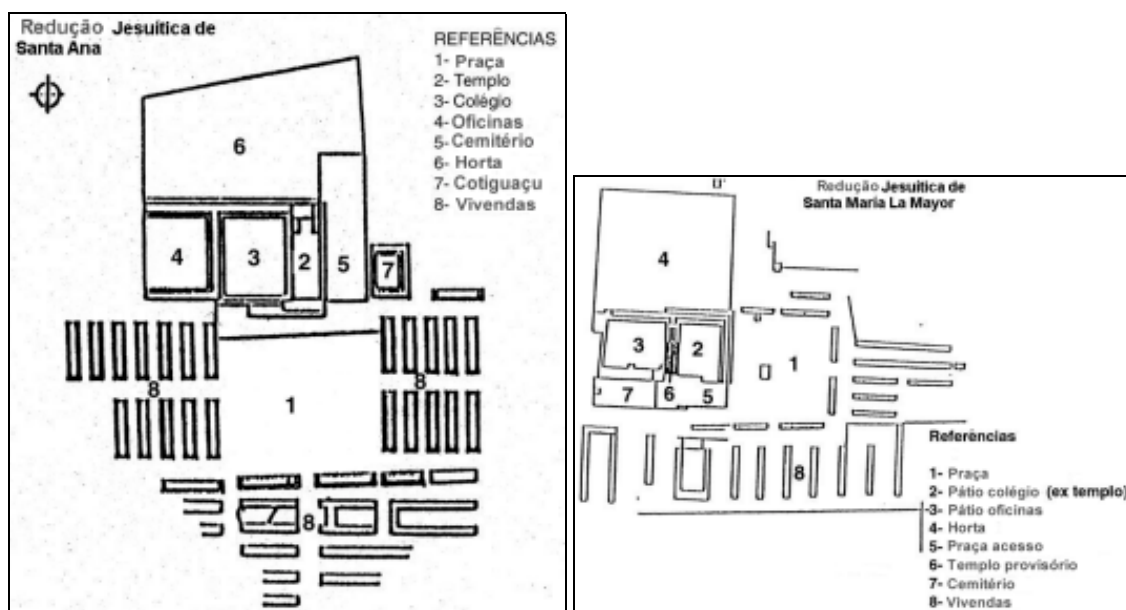


Figura 14 Vista em planta das ruínas de Santa Ana (esq) e Santa María (dir).

Algumas culturas de fungos, previamente isolados pela Dra. Denise Saad da UFSM, foram selecionadas como colonizadores comuns de superfícies externas de edificações, para formar o inóculo Mix_F.

3.2 Isolamento e manutenção das culturas

Após a coleta de amostras do biofilme, a fita foi colocada diretamente sobre placas de Petri com 25ml aproximadamente de meio MKM sólido (apêndice B). Cianobactérias e fungos foram selecionados após crescimento e repicados em placas de MKM para cianobactérias e ágar malte para fungos (Seção 3.4.1). A partir do estoque, as amostras que iriam ser

utilizadas para os três estudos foram incubadas numa estufa incubadora iluminada para B.O.D. (Fanem, modelo 347FG), a 25°C (Gaylarde & Gaylarde, 1998) por até 20 semanas em meio apropriado, sendo repicadas aproximadamente cada 20 dias.

3.3 Estudo da degradação física, química, e mineralógica

3.3.1 Coleta das amostras

Nas mesmas datas de coleta dos biofilmes, aproveitou-se para retirar amostras de pedra que se encontravam ligeiramente soltos dos pisos e muros de cada local. Essas amostras, que consistam em blocos de pedra de 500 cm³ aproximadamente (figura 15), foram coletados assepticamente de alguns dos locais descritos na tabela 6, colocados em sacos plásticos e levados imediatamente para seu armazenamento em local resfriado (4°C). A escolha foi feita visando-se dois parâmetros principais: o grau de degradação e a intensidade de exposição solar.



Figura 15 (esq) Imagem de um dos blocos de arenito (amostra SA_2). **(dir)** detalhe da estratificação plano paralela e diferença na coloração das camadas de uma das amostras.

Essas amostras, juntamente com uma outra retirada de uma lajota adquirida em Porto Alegre, foram identificadas como:

- San Ignacio: SI_1; SI_2
- Loreto: L_1; L_2
- Santa Ana: SA_1; SA_2; SA_3; SA_4; SA_5; SA_6; SA_7; SA_8; SA_9; SA_10
- Santa María: SM_1; SM_2; SM_3; SM_4; SM_5
- Porto Alegre: PoA

3.3.2 Preparação das amostras

No laboratório, camadas de 5 à 7 mm de espessura da superfície exposta ao ambiente (S) das amostras de arenito foram cortadas com serra elétrica, assim como camadas da região central (N) com menor grau de alteração (figura 15). Ficando então subdivididas as amostras:

L_1N; L_1S; SA_1N; SA_1S; SA_2N; SA_2S; SA_4N; SA_4S; SA_5N; SA_5S; SA_6N; SA_6S; SA_9N; SA_9S; SM_3N; SA_3S; SM_4N; SM_4S; PoA_N; PoA_S

3.3.3 Estudos de laboratório.

Parâmetros físicos. De cada um dos fragmentos foi determinado o pH superficial em H₂O destilada deionizada, relação volumétrica 1:1 fragmento:água (pHmetro NOXTRON NOX68), porosidade e relação de vazios (gravimétrico por embebição com H₂O), conteúdo de umidade natural (gravimétrico secagem 70°C por 72 hrs).

Petrografia. Os quatro fragmentos de amostras de cada local foram cortados e submetidos a estudo por observação em lupa (10 x), comparando-se as regiões superficiais com os núcleos. Foram analisados: cor superficial, e

das regiões (bandas) mais claras e mais escuras do núcleo (Munsell Color Chart), granulometria média (peneiras 0,5mm; 0,25mm; 0,105mm; 0,053mm).

Quantificação Química. Os mesmos fragmentos anteriores foram moídos cuidadosamente em almofariz de ágata até malha 150, feita a digestão em tubos de 50ml com uma solução de [H₂SO₄ - HNO₃ - H₂O₂ - mistura de digestão] em bloco digestor a 300°C, para ser logo determinadas as composições percentuais dos óxidos que caracterizam os principais macro e micronutrientes requeridos pelos organismos autótrofos.

As quantidades de CaO, MgO, Fe₂O₃, MnO, ZnO foram calculadas (equação 6) a partir das medições feitas em um espectrômetro de absorção atômica Perkin Elmer 401, as de K₂O em um fotômetro de chama DigiMed 105, e o P₂O₅ foi determinado num espectrofotocolorímetro Perkin Elmer 750. Todas as análises foram feitas seguindo as recomendações do Manual de Química do Solo (Tedesco *et al.*, 1995). As determinações físico-químicas foram feitas em duplicata.

$$\%MxO_m = 100 * \frac{PM_{MxO}}{PM_M} * \frac{\left(Cs - \frac{(Cs - Ci)}{(Ls - Li)} \right) * Fd}{Pamostra * 1000} \quad (6)$$

As análises foram realizadas no laboratório de Química do Solo (Núcleo de Solos - Faculdade de Agronomia - UFRGS).

3.4 Estudo da micro-ecologia

3.4.1 Isolamento e crescimento em meio sólido

As amostras foram examinadas por microscopia ótica após o processo de reidratação (1 a 3 horas, em MKM) e diariamente por quatro dias e

em intervalos semanais. Quando o número de células alcançou um nível suficiente, a fita foi removida para uma nova placa de Petri com MKM sólido. As microcolônias ficaram no ágar antigo, algumas foram coletadas imediatamente com um micromanipulador de agulha e / ou deixadas por um período maior de tempo necessário para alcançar o tamanho apropriado. Depois, as colônias separadas de cianobactérias foram transferidas para MKM sólido e os fungos para ágar malte. Em alguns casos, especialmente no caso de espécies cianobacterianas com uma bainha externa, as microcolônias permaneceram ligadas à fita e foram coletadas diretamente da mesma fita com um crescimento em outra placa. A remoção da fita é preferível, uma vez que isto permite o desenvolvimento tridimensional das colônias, ajudando em sua diferenciação morfológica. As formas filamentosas foram coletadas como tricomas isolados no estágio apropriado.

3.4.2 Caracterização da microflora.

Foi observado o crescimento fúngico, principalmente evitando-se a contaminação durante a manipulação por outros fungos anemófilos e oportunistas. As hifas e células leveduriformes crescidas em MKM, foram coletadas e repicadas em meio ágar-malte para enriquecimento em placa e em tubos inclinados por triplicata. Logo foram incubados na mesma estufa iluminada para B.O.D. utilizada para as cianobactérias.

A ocorrência dos distintos grupos de organismos achados foi documentada, sendo feita a identificação morfológica de fungos e cianobactérias. Foi feita uma determinação semi-quantitativa dos principais

morfotipos ocorrentes. As observações foram feitas com lupa (x10) e por microscopia de campo claro, de contraste de fases e de epifluorescência (x400 e x1000). Foi adotado o critério de morfologia de acordo com Holt *et al.*, (1994).

Esses dados foram logo correlacionados com o grau de degradação apresentado pelo substrato de pedra no ponto da coleta e com os parâmetros meso-ambientais da área circundante, avaliando-se o grau de colonizações sucessivas presentes na superfície, e determinando as relações de ocorrência percentual dos distintos grupos morfologicamente diferentes em cianobactérias e fungos.

As análises foram realizadas no laboratório de Microbiologia do Solo (Núcleo de Solos - Faculdade de Agronomia - UFRGS).

3.4.3 Microscopia eletrônica de Varredura (MEV).

Pequenos fragmentos da parte superficial das amostras L_2 e SA_1 (cobertas com biofilme) foram metalizadas com ouro sem desidratação prévia, e observadas em vários aumentos num aparelho Cambridge Stereoscan 600 operando a 20KV (Laboratório de Bio-corrosão - Faculdade de Engenharia - UFRGS). A escolha das amostras a serem observadas em MEV, foi feita baseada no critério das que apresentaram as maiores diferenças no grau de degradação visual, sendo retiradas de locais com marcadas diferenças nos parâmetros meso-ambientais. As abundâncias relativas foram registradas como (++++) dominante, (+++) muito comum, (++) comum, (+) raro e (-) ausente.

3.5 Avaliação de vernizes para cobertura

3.5.1 Isolamento e crescimento em meio líquido

Cianobactérias A partir do estoque das colônias em meio sólido (Seção 3.4.1) foi necessário que as colônias se desenvolvessem em meio MKM líquido, sendo selecionadas algumas delas (as mais representativas e que tiveram maior taxa de desenvolvimento) e isoladas em frascos estéreis com tampa contendo 25ml de meio MKM líquido por quatro a cinco semanas.

Fungos Do total de fungos crescidos, foram isolados e caracterizados morfologicamente 3 cepas fúngicas (disponibilizadas pela Doutora Saad), as quais foram transferidas para ágar malte em tubos inclinados, e deixadas crescer por uma semana até a esporulação em estufa a 25°C.

3.5.2 Preparação do inóculo

Inóculo de Cianobactérias Do total de culturas disponíveis no estoque (isoladas das superfícies das ruínas, Seção 3.2), foram selecionadas somente seis para a avaliação dos vernizes com diferentes biocidas, as quais foram:

- *Nostoc sp.*
- *Scytonema sp.*
- *Lyngbya sp.*
- *Plectonema sp.*
- *Pleurocapsales sp.*
- *Microcoleus sp.*

O inóculo foi preparado a partir de uma mistura de 5ml de cada amostra e diluídos a 125mL em meio MKM líquido (Mix_C), e logo colocado em agitador magnético por 24 horas até conseguir a ruptura dos filamentos que poderiam ocluir o atomizador aplicador de inóculo (Morton *et al.*, 1984). A viabilidade foi testada logo por repicagem em placa e observação microscópica; sendo determinado o número de propágulos por mL por contagem em câmara de Petroff-Hauser:

- Fragmentos encapsulados de filamentos (5 ~ 100 células): $1,2 \times 10^6$ /mL
- Fragmentos de filamentos sem encapsulamento (1 ~ 4 células): $1,1 \times 10^8$ /mL
- Hormogônios: $7,5 \times 10^5$ /mL

O total foi de $11,2 \times 10^7$ propágulos por mililitro.

Inóculo de Fungos As formas anamórficas das cepas escolhidas (isoladas pela doutora Saad) foram:

- *Fusarium sp.*
- *Cladosporium sp.*
- *Penicillium sp.*

Aos tubos com ágar malte inclinado foi adicionado uma solução salina estéril com 0,1% de Tween 80 e pérolas de vidro estéreis, sendo logo após agitados suavemente em vórtice. As suspensões de esporos obtidas, foram seguidamente diluídas em MKM + 0,1% de extrato de levedura.

O inóculo foi preparado a partir das suspensões de cada amostra e diluídas a 250mL em meio MKM + 0,1% extrato de levedura líquido (Mix_F) previamente agitados com vórtice. A contagem dos esporos tinha sido

previamente realizada em câmara de Petroff-Hauser para calcular o volume de cada suspensão fúngica a ser utilizada para conseguir uma concentração final de 1×10^5 de cada cepa (total 3×10^5 esporos por mL).

Inóculo Misto Foram misturados em um erlenmeyer de 150mL, 50mL de inóculo Mix_C e 50mL de inóculo Mix_F:

3.5.3 Avaliação do filme de Tinta em câmara Tropical

Aplicou-se o método da Câmara Tropical (ASTM D 3273-86) com modificações. O método descreve uma câmara ambiental, onde são simuladas as condições de intemperismo acelerado as quais um filme de tinta aplicado pode ser submetido e observa as alterações provocadas por estas condições.

3.5.3.1 Construção da câmara

A câmara foi construída a partir de um aquário com tampa de vidro de 4mm de espessura, cujas dimensões foram: 30 x 60 cm de base e 50 cm de altura. Dentro do aquário foi construída uma bandeja de vidro de 3mm, de 3 cm de profundidade, elevada 4 cm do fundo e afastada 2cm de cada parede do aquário (figura 16).

Em cima da tampa foi colocada uma lâmpada fluorescente tipo "luz dia" de 15 Watts com ciclo contínuo de trabalho. Dentro do aquário foi fixado em um canto o controlador de temperatura, e no fundo foi colocado o elemento aquecedor.

Como substrato para o experimento foram utilizados 36 blocos de arenito "Botucatú" (corpos de prova) de forma aproximadamente cúbica (4,5 x

3,5 x 4,5 cm). Os blocos foram cortados (com serra de disco) no laboratório de preparação de amostras da área de Geologia (Campus do Vale-UFRGS) a partir de uma lajota previamente adquirida numa pedreira de Porto Alegre.

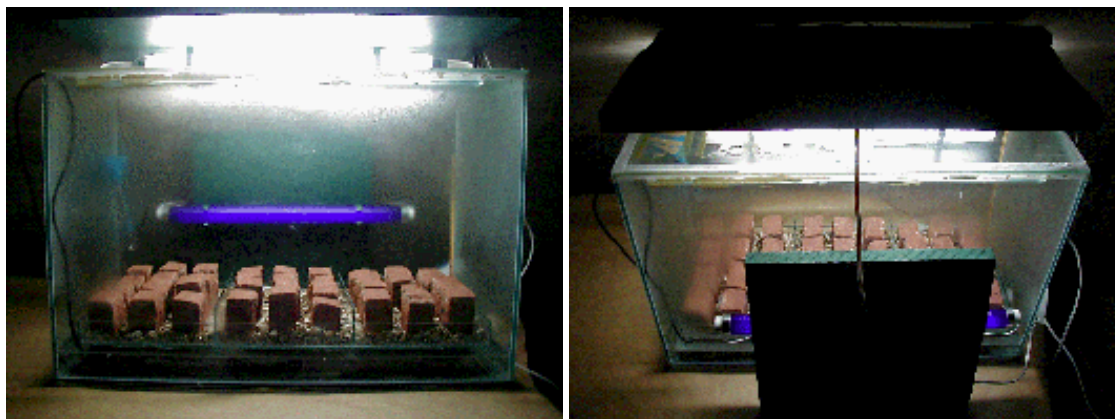


Figura 16 Vistas frontal (**esq**) e posterior (**dir**) da câmara já montada.

As modificações do método padrão ASTM foram feitas visando a adequação do método para substrato de pedra em condições de iluminação tipo "daylight" constante, avaliando-se a resistência do filme de tinta aplicado quanto ao ataque de fungos e cianobactérias.

3.5.3.2 Tintas testadas

Foram testadas 3 formulações sintéticas, 2 com atividade biocida e comparados com um verniz base sem biocida ou "branco" (fornecidos pelo laboratório de microbiologia de KRESIL Industrias Ltda. PoA). A composição básica do verniz aparece na tabela 7.

Tabela 7 Proporção dos componentes na resina acrílica.

Componente	%
Resina Acrílica 100%	30
Solvente Aromático leve	36
Solvente Alifático pesado	33,25
Antiespumante	0,5
Biocida (fungicida + algicida)	0,25

Os componentes com atividade biocida foram escolhidos em base a seu preço e disponibilidade de fabricantes nacionais (sendo o CDF o mais econômico).

a) CDF: Coryna® DF. De origem nacional, fabricado pela Miracema-Nuodex Indústria Química Ltda. Tem uma composição de compostos heterocíclicos com isotiazolinonas e benzimidazol-derivados em dispersão aquosa, sendo desenvolvido para tintas à base de água. Segundo informação do fabricante, apresenta atividade fungicida-algicida eficiente devido ao efeito sinérgico dos seus componentes.

b) PMP: Preventol® MP 260. De origem alemã, fabricado pela Bayer AG. O princípio ativo é o 3-iodo-2-propinilbutil carbamato (IPBC) em dipropileno glicol, sendo desenvolvido para ser aplicado em adesivos, tinturas, plásticos, têxteis, e tintas base água. Segundo informação fornecida pelo fabricante ele tem ação fungicida de largo espectro, principalmente contra fungos pigmentados, bactérias, algas e outros agentes que tingem as superfícies.

3.5.3.3 Teste acelerado

Os blocos de arenito, a água destilada deionizada e a vermiculita foram autoclavados por 30 minutos a 121°C. A câmara foi lavada e desinfetada com uma mistura Etanol-Água 75%.

Os blocos foram pintados em 5 das suas faces com verniz sem biocida (Branco) e 1 face com PMP ou CDF (figura 17), mantendo uma separação de 1 cm entre a face com biocida e as quatro laterais de arenito sem

cobertura como controle de crescimento (Controle), e para evitar a difusão do biocida para o Branco.

Do total de blocos, 18 foram recobertos em uma das suas faces com PMP, e os restantes com CDF.



Figura 17 Método de cobrimento dos blocos de arenito.

Logo foram colocados sobre uma camada de vermiculita de 2 cm com a face com o biocida voltada para cima sobre a bandeja. O fundo do aquário foi preenchido com 4cm de água destilada-deionizada-esterilizada cobrindo o elemento aquecedor do termostato (figura 18 direita).

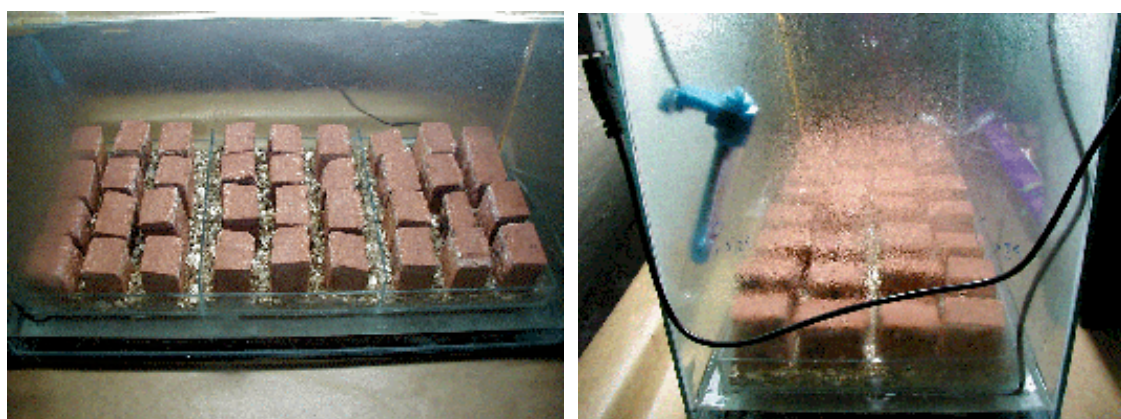


Figura 18 (esq) Figura dos blocos já inoculados e com o aquecedor funcionando. **(dir)** A condensação visível indica que a umidade é aproximadamente 100%.

Os 18 blocos de PMP e CDF foram divididos em 3 subgrupos de 6 (figura 18 esquerda), respectivamente. Ao primeiro subgrupo foi aplicado com

atomizador o inóculo Mix_C, ao segundo Mix_C + Mix_F e ao último somente Mix_F (conforme a tabela 8), em todas as faces de cada bloco e recolocados na câmara com a face superior com biocida. As medições foram realizadas em duas etapas por triplicata.

Tabela 8 Disposição dos blocos de arenito dentro da câmara, referência figura 3.4.

	Mix_F			Mix_F+Mix_C			Mix_C		
PMP	MFe1pl	MFe1pll	MFe1pIII	MFCe1pl	MFCe1pll	MFCe1pIII	MCe1pl	MCe1pll	MCe1pIII
	MFe2pl	MFe2pll	MFe2pIII	MFCe2pl	MFCe2pll	MFCe2pIII	MCe2pl	MCe2pll	MCe2pIII
CDF	CFe1pl	CFe1pll	CFe1pIII	CFCe1pl	CFCe1pll	CFCe1pIII	CCe1pl	CCe1pll	CCe1pIII
	CFe2pl	CFe2pll	CFe2pIII	CFCe2pl	CFCe2pll	CFCe2pIII	CCe2pl	CCe2pll	CCe2pIII

3.5.3.4 Avaliação semi-quantitativa

Após um período de 120 dias de incubação, as amostras foram retiradas da câmara e observadas através da lupa, quantificando o grau de crescimento microbiano na superfície como a porcentagem da superfície total coberta pelo biofilme, a medida foi feita a través de um retículo milimetrado transparente.

3-5-4 Avaliação do filme de Tinta em placa, teste de inibição

Foi seguido o "Federal Test Method STD No. 141C, method 6271.2" (Diez & Barros, 1992) com modificações, no qual utiliza-se como corpos de prova papel de filtro recoberto com tinta contendo os diferentes biocidas.

O papel de filtro (gramatura 75 gr/m²) foi cortado em quadrados de 40 x 40 mm, margeados com grafite em 5 x 5 mm (deixando para a análise um espaço de 30 x 30 mm) e recobertos com o verniz com ajuda de um extensor padronizado (60µm para a resina acrílica e 150µm para o verniz ACR). Cada face do papel de filtro recebeu uma demão permitindo 24hs de secagem entre uma e outra e 72hs de secagem após a última demão. Finalmente os corpos de

prova submeteram-se a irradiação com luz UV por 20min (Souza & Gaylarde, 2002).

Utilizaram-se diferentes concentrações de CDF e PMP em uma resina acrílica sintética (Kresil) base solvente com 0,15% - 0,25% - 0,35% (do mesmo tipo utilizado no teste da câmara tropical), mais um branco de comparação sem biocida.

A escolha das concentrações foi baseada em aplicar uma concentração menor, uma maior e uma normalmente utilizada na formulação de tintas, seguindo recomendação do fabricante.

Testou-se um outro verniz com veículo látex (Verniz ACR Kresil) com 0,25% de Coryna® DF (AcrCDF), e um outro biocida propriedade do fabricante FABP 830 0,25% (AcrFABP) junto com uma prova sem biocida (BrancoACR), fornecidos pelo laboratório de microbiologia da KRESIL Industrias Ltda. A composição básica do verniz base água aparece na tabela 9.

Tabela 9 Proporção dos componentes na resina acrílica.

Componente	%
Resina Acrílica 100%	48
Solvente Aromático leve	1,9
Espessante	4,5
Antiespumante	0,4
Amoníaco	0,5
Biocida (fungicida + alguicida)	0,25
Água	44,7

Os componentes com atividade biocida foram escolhidos em base a sua disponibilidade para vernizes base água.

a) CDFAc: Coryna® DF. Seção 3.5.3.2 (a).

b) FABPAcr: FABP 830®. De origem nacional, fabricado pela IPEL Produtos especiais Ltda. O princípio ativo está constituído por uma Combinação de Isotiazolinona, derivados halogenados e nitrogenados e semi acetais.

Formulada para ser utilizada em PVA base água e resinas acrílicas de base solvente. Segundo informação do fabricante, apresenta atividade fungicida-algicida devido ao efeito sinérgico dos seus componentes.

Para cada concentração de biocida, os corpos de prova foram depositados no centro de uma placa de Petri contendo 30mL de meio MKM com 1,3% de ágar malte (pH=5.7).

O conjunto de corpos de prova foi dividido em dois subgrupos. O primeiro foi inoculado com 1mL de suspensão Mix_C, e o segundo com 1mL de Mix_F. O método utilizado foi semeadura em superfície com alça de Drigalsky ("spread plate") e o experimento foi realizado em triplicata para cada subgrupo.

Depois de inoculados, os corpos de prova foram incubados a 30 - 32°C, umidade relativa de 85 – 95%. A leitura foi feita aos 7 dias para as placas inoculadas com Mix_F. E aos 5 e 10 dias para as placas inoculadas com Mix_C.

A avaliação final da eficácia de cada biocida nos diferentes veículos foi feita empregando-se três métodos: o primeiro método avaliou visualmente o desenvolvimento dos microorganismos nas superfícies dos corpos de prova, o segundo empregou um software de análise de imagens avaliando também o desenvolvimento, e o terceiro por cromatografia líquida de alto desempenho.

3.5.4.1 Avaliação qualitativa

Após a incubação, as amostras foram observadas a olho nu, e o grau de cobertura da superfície pelo crescimento microbiano foi avaliado adotando o critério citado por Bravery *et al.*,(1978); veja tabela 10.

Tabela 10 Notas para a avaliação visual do desenvolvimento (BRAVERY *et al.*, 1978).

Nota	Descrição
0	Ausência de crescimento
1	<1% de recobrimento da área demarcada
2	1-10% de recobrimento da área demarcada
3	10-30% de recobrimento da área demarcada
4	30-70% de recobrimento da área demarcada
5	>70% de recobrimento da área demarcada

3.5.4.2 Avaliação semi-quantitativa

Fotografias digitais foram tiradas de cada placa, selecionando-se para à quantificação a superfície de cada corpo de prova. Cada sub-imagem assim obtida foi quantificada pelo algoritmo de integração do histograma percentual, utilizando-se um software escrito para este finalidade (apêndice C).

Os resultados obtidos foram comparados com os restantes métodos.

3.5.4.3 Avaliação quantitativa

A terceira avaliação foi feita por determinação em cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) em coluna cromatográfica de fase reversa, e por espectrofotometria de absorção. Para HPLC foi utilizada uma coluna Merk com fase estacionária tipo C18 Chromolith®, e para obter os espectros de absorção foi utilizado um espectrofotômetro SPECTRONIC 20 GENESYS (Laboratório de análises físico-químicas "Fundación DINCyT" - Misiones - Argentina).

Foram quantificadas as concentrações de Ergosterol para as placas do subgrupo Mix_F e de Clorofila-a para o subgrupo Mix_C. Os valores achados foram comparados a avaliações anteriores para cada corpo de prova.

Cianobactérias Para determinação de biomassa de cianobactérias utilizou-se o método padrão de extração de Clorofila-a (Knudson, 1977). Cada

um dos corpos de prova foi colocado em tubo de ensaio com tampa, adicionados 2mL de MeOH grau HPLC, colocados em local protegido da luz e refrigerado por 24 hrs a 4°C. Logo retirado para outro recipiente cada extrato e armazenado no escuro a -20°C. Foram repetidas por mais 2 vezes as extrações. As 3 alíquotas extraídas foram misturadas e mantidas a -20°C até leitura em espectrofotômetro, registrando-se os respectivos espectros entre 325 - 1100 nm com resolução de 2 nm.

As concentrações de Clorofila-a foram calculadas pela equação tricromática em dissolvente alcoólico (equação 7).

$$W_{chl-a} \left(\frac{mg}{m^2} \right) = \frac{V_{MeOH} * (13,7 * (UA_{665} - UA_{750}) - 5,76 * (UA_{649} - UA_{750}))}{S_{papel}} \quad (7)$$

Fungos. Para determinação de biomassa fúngica, utilizou-se o método padrão de extração e quantificação de ergosterol, aplicado por primeira vez para avaliação de tintas pela doutora Saad (Saad *et al.*, 2003). Cada um dos corpos de prova foi colocado em tubo de ensaio com tampa, adicionados 4mL de KOH 10% p/p e 1mL MeOH grau HPLC, colocados em banho termostático por 2,5 hrs a 70°C. Logo foi repetida por 3 vezes a extração líquida com Petróleo-Éter agitando com vórtice e retirando o sobrenadante. As 3 alíquotas extraídas foram misturadas, e levadas a um dessecador de vácuo. Finalmente os extratos secos de cada amostra foram redissolvidos em 40µL MeOH grau HPLC.

O procedimento completo foi repetido para quantificar o conteúdo individual de ergosterol por propágulo, para cada uma das três cepas fúngica

inoculadas. A tal efeito foi retirado 1mL de cada inóculo separadamente (1 x 10⁵ esporos por mL) e realizada a extração com MeOH.

De cada amostra foram injetados 25µL com injetor manual U6K WATERS; as condições de fluxo foram 1,5 mL/min (isocrático) com uma bomba WATERS LC6100 controlada por um BUS-LACE System Controller WATERS, tempo da corrida 10 minutos, fase móvel com relação volumétrica 1 (MisturaAlcoólica) : 1 (H₂O), sendo MisturaAlcoólica = 3 (Metanol) : 1 (2-Propanol). A leitura foi feita a 282nm em um espectrofotômetro diferencial WATERS M481. Os dados já integrados foram recopilados pelo software Waters Millenium V2.15.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Degradação física, química, e mineralógica

4.1.1 Parâmetros físicos

Um resumo dos resultados obtidos pode ser observado na tabela 11, na qual se observa uma marcada diferença entre os distintos tipos de rochas.

Tabela 11 Parâmetros físico-químicos das amostras.

Nome da amostra	Umidade percentual p / p %	pH	Densidade aparente gr * cm ⁻³	Porosidade percentual n %	Relação de vazios e
SA_1	0,26	5,58	1,89	24,30	0,32
SA_2	0,26	5,42	1,86	25,60	0,34
SA_3(*)	5,62	6,67	1,62	31,40	0,46
SA_4	0,31	5,88	1,71	31,48	0,46
SA_5	0,27	5,88	1,97	21,40	0,27
SA_6	0,51	4,52	1,95	22,09	0,28
SA_7(*)	3,59	6,38	1,49	36,77	0,58
SA_8(*)	3,31	6,54	1,42	39,61	0,66
SA_9	0,30	6,38	2,00	20,04	0,25
SA_10(*)	3,47	4,45	1,54	34,60	0,53
L_1	0,73	5,33	1,66	33,53	0,50
L_2	0,38	4,89	1,66	33,43	0,50
SI_1(*)	1,76	4,05	1,63	30,83	0,45
SI_2(*)	2,53	5,94	1,58	33,06	0,49
SM_1(*)	3,78	4,45	1,51	36,08	0,56
SM_2(*)	2,57	4,23	1,60	32,34	0,48
SM_3	0,57	6,37	1,88	24,79	0,33
SM_4	0,63	5,72	2,00	19,84	0,25
SM_5(+)	1,89	6,59	1,72	31,23	0,45
PoA	0,20	6,68	1,90	23,85	0,31

Referências: (*) pedra itacuru; (+) rocha ígnea. As restantes são pedra arenito.

Em linhas gerais a umidade e a porosidade percentual são maiores para amostras de pedra itacuru que as de arenito. A densidade aparente pelo contrário, é maior nas amostras de arenito. A exceção ocorre com as amostras de arenito L_1 e L_2 que apresentam propriedades intermédias entre as

restantes de arenito e as de pedra itacuru. O pH demonstra ser muito variável com respeito ao tipo de pedra e ao local de amostragem, variando de medianamente ácido (4,05) até perto da neutralidade (6,68).

As análises físicas das pedras mostram que o tipo de arenito utilizado possuía em seu estado natural (não deteriorado) condições de permeabilidade, porosidade e densidade aparente (tabela 11) correlacionáveis com as jazidas superficiais do aquífero guarani.

Os materiais utilizados para a construção das ruínas têm diferentes características de resistência ao intemperismo físico-químico. Tais fatos são claramente observados na tabela 11. Esses dados podem ser parametrizados, para se distinguirem três grupos (tabela 12):

Tabela 12 Valores médios e de desvio padrão para os subgrupos de amostras.

	Umidade	pH	DensAp	Porosidade n	RelVazios e	
Média	0,4	5,5	1,9	25,4	0,3	Arenitos
DP	0,15	0,6	0,1	3,8	0,1	
Média	0,6	5,1	1,7	33,5	0,5	L1 L2
DP	0,25	0,3	0,0	0,1	0,0	SM_5
Média	3,3	5,3	1,5	34,3	0,5	Itacurus
DP	1,1	1,1	0,07	3,0	0,1	

Onde se observa o grupo dos arenitos de SA, SM_4 e PoA com características que denotam baixa porosidade e alta densidade aparente, contribuindo para uma umidade de equilíbrio interna baixa. Nas amostras de pedra itacuru, a baixa densidade aparente e alta porosidade lhe conferem uma potencialmente alta degradabilidade. Já as amostras de Loreto e a SM_5 de Santa María possuem propriedades intermediárias, que dão conta do avançado estado de deterioração observado nos pontos de coleta.

4.1.2 Petrografia

Os arenitos utilizados como material de construção das ruínas, caracterizam-se por serem do tipo siliciclásticos, com uma granulação psamítica quartzosa com classificação granulométrica muito boa (figura 19).

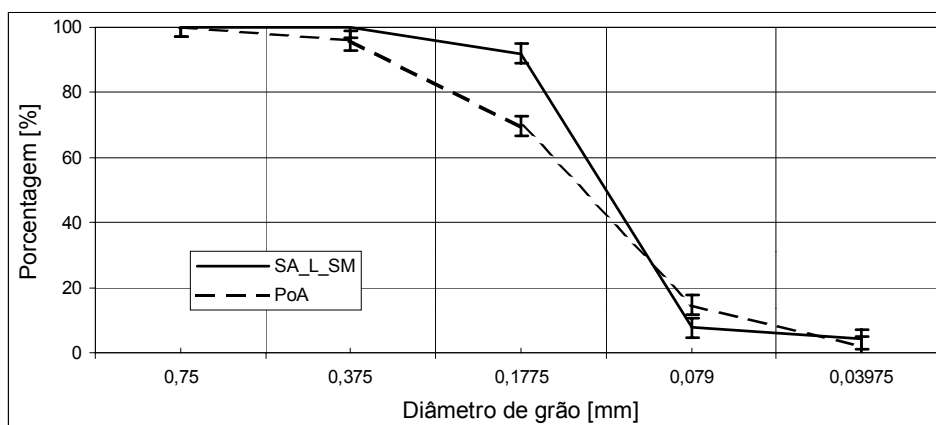


Figura 19 Distribuição de frequência cumulativa das diversas frações.

Possuem também boas características de esfericidade e arredondamento, pois tratam-se de arenitos "maduros", pelo que se pode inferir da distribuição probabilística das distintas frações (tabela 13), com granulometria média ϕ_m : $184,20\mu\text{m}$ - σ^{-1} : $69,02$.

Tabela 13 Distribuição probabilística das distintas frações.

Amostra valor médio percentual	Intervalos mm				
	Areia %			Silte %	
	Grossa > 0,50	Média 0,50 - 0,25	Fina 0,25 - 0,105	Grosso 0,105 - 0,053	Fino + argila < 0,053
SA_L_SM	0,058	8,042	84,266	3,555	4,079
PoA	4,066	26,264	55,000	12,747	1,923

Existe uma diferença granulométrica dos arenitos das ruínas, se comparado com o tipo de arenito presente na lajota adquirida em PoA, pois este último tem menor grau de classificação, sendo os grãos bem arredondados, porém com esfericidade bem menor. Parâmetros

granulométricos para arenito de PoA ϕ_m : 247,35 μ m - σ^{-1} : 185,91 (calculados a partir da tabela 13).

A matriz clástica presente nos arenitos das ruínas compõem-se praticamente de quartzo, com algumas inclusões esparsas de litoclastos e alteritos ferrificados.

Minerais acessórios de zircão, turmalina, opacos e granada também foram encontrados. A cimentação é constituída por crescimentos autigênicos sintaxiais de quartzo e calcedônia com proporções de feldspatos alcalinos (principalmente K[AlSi₃O₈]) e óxidos de ferro e manganês.

A alteração dos arenitos está ligada à lixiviação de cátions produzida pelas águas superficiais e do subsolo (dissolvendo as paredes internas dos poros, e aumentando a porosidade), e a destruição dos minerais originais sendo substituídos por outros neoformados mais estáveis nas condições ambientais (pH abaixo de 5,5 e alto Eh), tais como os argilominerais do grupo das caulinitas (Campal, 1996).

A tabela 14 apresenta as características visuais e deposicionais das amostras, cada um dos códigos representa uma cor definida na carta de Munsell como "matiz" (R, YR), "brilho" e "saturação". As cores observadas nos cortes das pedras apresentaram variados tons, que abrangem desde o amarelo-vermelho pálido (5YR7/2) até marrom escuro (10R3/6). A estratificação apresenta-se bem definida como plano-paralela ou plano-cruzada na maioria das amostras, sendo não identificável no caso de duas delas.

Tabela 14 Características de deposição e coloração.

Nome da amostra	Rocha tipo	Estratificação	Ângulo De Corte	Região Central Mais escura	Região central Mais clara	Região superficial média
SA_1	Arenito	E1	O1	5YR4/6	5YR5/4	5YR4/3
SA_2	Arenito	E1	O1	5YR6/6	5YR7/4	2.5YR3/4
SA_3	Itacuru	-	O5	7.5YR3/0	10R4/8	-
SA_4	Arenito	E1	O1	2.5YR4/8	5YR6/4	2.5YR3/4
SA_5	Arenito	E1	O2	10R3/6	5YR7/4	5YR4/6
SA_6	Arenito	E1	O1	5YR5/4	5YR7/2	5YR5/3
SA_7	Itacuru	-	O5	7.5YR3/0	7.5YR7/8	-
SA_8	Itacuru	-	O5	7.5YR4/0	7.5YR6/8	-
SA_9	Arenito	E1	O1	2.5YR4/4	5YR7/3	5YR4/4
SA_10	Itacuru	-	O5	7.5YR4/0	7.5YR5/6	-
L_1	Arenito	E2	O3	2.5YR4/6	5YR7/6	5YR6/4
L_2	Arenito	E2	O3	5YR5/4	5YR7/3	5YR6/2
SI_1	Itacuru	-	O5	7.5YR5/0	7.5YR5/4	-
SI_2	Itacuru	-	O5	7.5YR3/6	7.5YR7/6	-
SM_1	Itacuru	-	O5	7.5YR3/0	10YR6/6	-
SM_2	Itacuru	-	O5	10YR4/1	10YR6/6	-
SM_3	Arenito	E3	O4	5YR6/3	5YR6/3	5YR6/4
SM_4	Arenito	E3	O4	5YR7/2	5YR7/2	7.5YR6/2
SM_5	Ígnea	-	O4	10R5/1	7.5YR7/0	5YR4/4
PoA	Arenito	E1	O1	10R6/2	5YR7/2	5YR8/2

Referências:

E1	Plano-paralela
E2	Plano-cruzada
E3	Indistinguível
O1	0-5 graus
O2	5-10 graus
O3	>10 graus
O4	Indistinguível
O5	Sem orientação aparente

4.1.3 Quantificação Química

Os resultados das análises químicas do núcleo (N) e a periferia (S) das amostras pertencentes aos distintos locais aparecem na tabela 29 do apêndice D, apresentados como a porcentagem da composição total.

Pode se observar a grande diferença de composição entre as pedras de arenito e o itacuru, sendo que as diferenças são menores entre a ígnea e o arenito. No arenito, o conteúdo dos silicatos que conformam a matriz clástica e a cimentação conformam cerca de 95% do total, já no itacuru cerca de 50% do total são óxidos de Ferro.

A tabela 15 mostra a diferença entre as composições da superfície para o núcleo das amostras de arenito.

Tabela 15 Diferenças percentuais entre a S e o N das amostras de arenito.

Nome amostra	K2O %	CaO %	MgO %	P2O5 %	Fe2O3 %	MnO %	ZnO %	Óxidos Totais %
SA_1	0,00326	0	0	0,00424	0,36172	0,00285	0,00087	0,37294
SA_2	0,00814	0	0,00104	-0,01037	0,34363	0,00142	0,00022	0,34407
SA_4	0,00326	0,00311	-0,01295	0,00636	0,12486	0,00095	0,00022	0,1258
SA_5	0,00814	0,00622	0,01347	-0,00849	0,0096	0,00047	0,00243	0,03185
SA_6	0,00814	0,00311	-0,01303	0,00424	0,15608	0,00522	0	0,16376
SA_9	0,00163	0,00311	-0,00259	-0,02429	0,10885	0,00047	-0,00022	0,08696
L_1	0,00232	0	-0,02684	0,01374	0,05763	0	-0,00131	0,04553
L_2	0,00488	0,00777	0,01281	0,00955	0,37485	0	0	0,40986
SM_3	-0,00929	0,00311	-0,00984	-0,0112	-0,0032	0,00427	0,00044	-0,02572
SM_4	-0,00232	0,00155	0,00518	0,00973	-0,07043	-0,00095	0,00087	-0,05637
PoA	0,00232	0,0171	0,00259	0,02655	0,02241	0,00664	-0,00044	0,07718

Pode observar-se que os valores de óxidos totais são homogêneos para os distintos locais, apresentando remoção de óxidos do núcleo para a periferia, com exceção das amostras de Santa Maria no qual ocorreu o inverso, ou seja, uma lixiviação superficial dos óxidos para o ambiente.

Os arenitos da formação Missões comportam-se como sub-estáveis pelo elevado teor de quartzo (média aprox. 95%) se comparados a outros com maior composição de plagioclases ou ortoclases (Gamermann, 1979).

Avaliando as mudanças químicas e mineralógicas que ocorrem do núcleo para a superfície dos blocos, podem ser inferidos três processos:

Alteração de minerais instáveis Existe um considerável potencial de degradação pela presença de plagioclases e ortoclases na matriz da rocha. No caso dos argilominerais de illita-montmorillonita e clorita originalmente presentes em outras formações correlacionadas (Gamermann, 1979) tendem em meio ácido altamente lixiviante a passar a minerais mais estáveis do grupo das caulinitas.

Redissolução de óxidos e oxihidróxidos as observações feitas em cortes da rocha, confirmam estudos anteriores (Roisenberg & Gamermann, 1980) de que os grãos de quartzo ficam aderidos por um filme (crescimento autigênico sintaxial) de óxidos de ferro e manganês que conferem a coloração característica das rochas; assim como a ocorrência de outros minerais acessórios contendo ferro (granada, turmalina, piroxênio, etc). Os tons de vermelho-marrom das amostras de SI, L e SA provêm de quantidades variáveis de hematita, enquanto que a coloração mais amarelada das amostras de SM é produzida provavelmente por goetita e maiores quantidades de minerais contendo K e Na.

Na periferia dos blocos estudados, tinha-se observado a formação de crostas de coloração marrom mais escura (tabela 14). Os estudos químicos posteriores (tabela 15) confirmaram que trata-se de compostos de Fe e Mn que foram remobilizados para a superfície.

Na figura 20, pode-se observar quais são as percentagens de remoção de ferro e manganês do núcleo para a periferia, ficando as maiores remobilizações de ferro para as amostras SA_1, SA_2 e L_2, e as de manganês para SA_6, SM_3 e PoA. As amostras de Santa María mostraram menores quantidades de óxidos totais e de Fe nas superfícies expostas (apêndice F, figura 28 esquerda), e valores totais altos de K (composição mais feldspática). Isso poderia explicar em parte, a predominância superficial de fungos e de formas filamentosas de algas e cianobactérias sobre outros organismos.

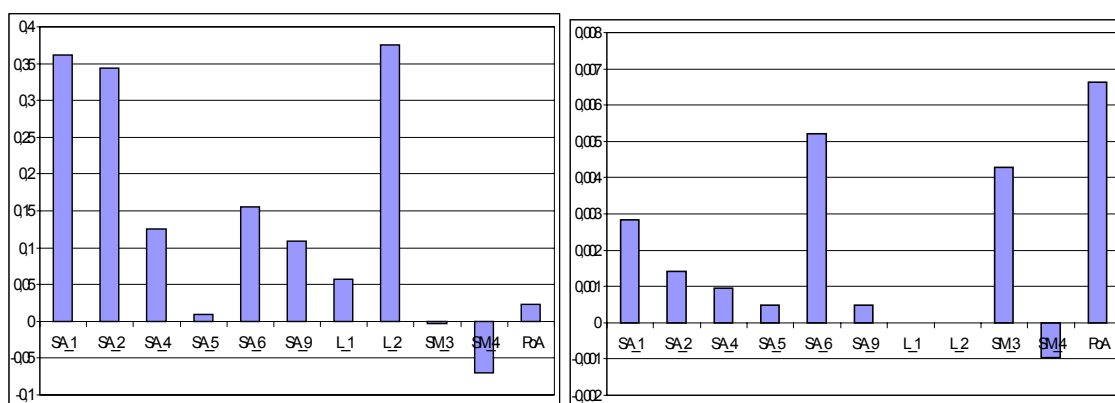


Figura 20 Variações entre os níveis de Fe (esquerda) e Mn (direita) na superfície e no núcleo (Sup / Núcleo, em %) para SA_1, SA_2, SA_4, SA_5, SA_6, SA_9, L_1, L_2, SM_3, SM_4 e PoA.

Por outro lado a solubilidade do Fe^{+3} é extremamente baixa em pH superiores a 3,5 (precipita em forma de $\text{Fe}(\text{OH})_3$), o que favorece a idéia de que ele seria reduzido primeiramente para Fe^{+2} em meio com baixo Eh dentro dos poros da rocha, sendo logo conduzido pelos fluxos d'água internos até a superfície, oxidando novamente e precipitando em forma de crostas (um processo semelhante ocorreria com o Mn).

Esse ambiente de baixo Eh e pH seria produzido pelos microrganismos que crescem em forma endolítica (algas, líquens e fungos), produzindo ácidos inorgânicos que aumentam a solubilidade dos cátions e ácidos orgânicos com propriedades seqüestrantes de metais polivalentes (quelatos orgânicos) (Gaylarde & Morton, 1999). As mudanças de ambiente eletroquímico seriam produzidas por bactérias heterotróficas que decompõem a matéria orgânica, utilizando fundamentalmente um metabolismo anaeróbio, e sobrevivendo principalmente nas camadas mais internas dos biofilmes epilíticos.

Desagregação dos silicatos O material mais estável que conforma o arenito é a sílica, sendo muito insolúvel em meios com pH inferiores a 10,7.

Porém, vários estudos (Segalen, 1969) têm demonstrado que a solubilidade dos silicatos em meio ácido ou neutro fica muito influenciada pela presença de outros óxidos. Assim em presença de carbonatos e sulfatos de cálcio e óxidos de ferro aumenta sua solubilidade, diminuindo em presença de alumina ou de polialuminatos.

As observações petrográficas (apêndice F, figura 28) revelaram que as superfícies dos grãos de quartzo encontram-se corroídos e fissurados com incrustações de compostos de Fe, o que poderia ser uma clara indicação de que estariam ocorrendo processos de alteração da matriz clástica, e diminuindo conseqüentemente as propriedades mecânicas de suporte dos blocos observados.

Tomando em conta os pontos expostos anteriormente, fica claro que, para o caso dos itacurus, eles têm um potencial de degradabilidade muito maior, se observado que eles compõem-se de Ferro em aproximadamente 50% (apêndice F, figura 29 direita). Estas observações concordam completamente com a situação encontrada nos locais de coleta do sítio de Santa María, devido ao fato dele ter sido construído em grande parte com esse tipo de material. Ao observar-se os muros desse local, detectam-se rachaduras e macroporos de tamanho considerável que cobrem toda a superfície externa dos blocos.

No apêndice E da-se um fundamento matemático as relações que existem entre as mudanças da composição química da cimentação intergranular (e a resistência intrínseca dos grãos de quartzo) com a resistência mecânica dos blocos de arenito.

4.2 Distribuição ecológica da microflora

As observações por lupa, microscopia normal (campo claro), de contraste de fases e de epifluorescência mostraram que os biofilmes epilíticos são suportados predominantemente por uma mistura estruturada de organismos autótrofos, incluindo cianobactérias, diatomáceas e algas eucarióticas. Na maioria dos casos as cianobactérias foram claramente os organismos dominantes (apêndice G, figura 30 a esquerda). Outros organismos foram também achados, actinomicetos, fungos mitospóricos, leveduras e bactérias heterotróficas. Foi registrada também a ocorrência de espécies de fungos meristemáticos pretos (MCF), ascomicetos pertencentes a ordem *Dothideales*, assim como de leveduras unicelulares pretas, adaptados para viver em condições bastante extremas. Nas amostras retiradas dos locais que apresentavam estágios mais avançados de deterioração foram encontrados mixomicetos, plantas inferiores (hepáticas e musgos), protozoários e microherbívoros.

4.2.1 Biodiversidade no biofilme epilítico

Um total de 25 gêneros de cianobactérias, 5 de clorófitas, 3 de bacillariófitas, 8 de fungos filamentosos e leveduras e 7 tipos de outros mini e microrganismos foram encontrados (tabelas 16a, 16b, 16c e 16d) nos biofilmes das paredes. Bactérias heterotróficas (principalmente espécies de *Bacillus*) também foram observadas mais não documentadas.

Tabela 16.a Organismos achados nas paredes das ruínas de Santa Ana

Ordem / Gênero	Amostras							Abundância relativa		
	1	2	3	4	5	6	7	Total	Percentual	%Total
CIANOBACTÉRIAS										
Gloeocapsa sp.	x		x					2	5,88	11,76
Chroococcus sp.					x			1	2,94	
Synechocystis sp.			x					1	2,94	
Synechococcus sp.										
Merismopedia sp.										
Microcystis sp.										
Gloeobacter sp.										
Dermocarpa sp.										14,71
Pleuocapsales gen.			x	x		x		3	8,82	
Xenococcus sp.							x	1	2,94	
Chroococciopsis sp.			x					1	2,94	
Oscillatoria sp.	x							1	2,94	14,71
Plectonema sp.			x	x				2	5,88	
Microcoleus sp.										
Lyngbya sp.					x			1	2,94	
Leptolyngbya sp.										
Spirulina sp.				x				1	2,94	
Anabaena sp.										20,59
Nostoc sp.										
Calothrix sp.										
Nodularia sp.					x			1	2,94	
Scytonema sp.	x		x	x	x	x	x	6	17,65	
Fisherella sp.										2,94
Stigonema sp.	x							1	2,94	
Chlorogloeopsis sp.										
ALGAS										
Chlorella sp.	x			x		x	x	4	11,76	11,76
Mesotaenium sp.										
Mougeotia sp.										0,00
Ulothrix sp.										
Trentepohlia sp.										
Fragilaria sp.										0,00
Nitzschia sp.										
Cymbella sp.										
FUNGOS										
Aspergillus sp.						x		1	2,94	11,76
Penicillium sp.										
Alternaria sp.										
Trichoderma sp.										
Aureobasidium sp.		x						1	2,94	
Cladosporium sp.		x						1	2,94	
Dothideales gen.		x						1	2,94	
Leveduras pretas gen.									0,00	0,00
OUTROS										
Myxomicetos				x				1	2,94	8,82
Actinomicetos	x							1	2,94	
Líquens					x			1	2,94	
Briófitas										
Rotíferos				x				1	2,94	2,94
Vermes redondos										
Ácaros										
Total Organismos							34	34	100,00	100,00

Tabela 16.b Organismos achados nas paredes das ruínas de Loreto

Ordem / Gênero	Amostras							Abundância relativa		
	1	2	3	4	5	6	7	Total	Percentual	%Total
CIANOBACTÉRIAS										
Gloeocapsa sp.		x	x			x		3	8,33	8,33
Chroococcus sp.										
Synechocystis sp.										
Synechococcus sp.										
Merismopedia sp.										
Microcystis sp.										
Gloeobacter sp.										
Dermocarpa sp.										19,44
Pleuocapsales gen.	x		x			x	x	4	11,11	
Xenococcus sp.				x	x	x		3	8,33	
Chroococciopsis sp.										
Oscillatoria sp.						x	x	2	5,56	5,56
Plectonema sp.										
Microcoleus sp.										
Lyngbya sp.										
Leptolyngbya sp.										
Spirulina sp.										
Anabaena sp.										13,89
Nostoc sp.			x				x	2	5,56	
Calothrix sp.										
Nodularia sp.										
Scytonema sp.	x		x			x		3	8,33	
Fisherella sp.										0,00
Stigonema sp.										
Chlorogloeopsis sp.										
ALGAS										
Chlorella sp.			x	x		x		3	8,33	8,33
Mesotaenium sp.										
Mougeotia sp.										5,56
Ulothrix sp.					x		x	2	5,56	
Trentepohlia sp.										
Fragilaria sp.							x	1	2,78	2,78
Nitzschia sp.										
Cymbella sp.										
FUNGOS										
Aspergillus sp.										5,56
Penicillium sp.										
Alternaria sp.										
Trichoderma sp.		x						1	2,78	
Aureobasidium sp.						x		1	2,78	
Cladosporium sp.										
Dothideales gen.										
Leveduras pretas gen.										0,00
OUTROS										
Myxomicetos							x	1	2,78	22,22
Actinomicetos	x		x				x	3	8,33	
Líquens										
Briófitas	x	x	x		x			4	11,11	
Rotíferos			x					1	2,78	8,33
Vermes redondos							x	1	2,78	
Ácaros					x			1	2,78	
Total Organismos								36	36	100,00

Tabela 16.c Organismos achados nas paredes das ruínas de San Ignacio

Ordem / Gênero	Amostras									Abundância relativa		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Total	Percentual	%Total
CIANOBACTÉRIAS												
Gloeocapsa sp.	x			x		x	x			4	6,90	13,79
Chroococcus sp.		x	x					x	x	4	6,90	
Synechocystis sp.												
Synechococcus sp.												
Merismopedia sp.												
Microcystis sp.												
Gloeobacter sp.												
Dermocarpa sp.		x								1	1,72	12,07
Pleuocapsales gen.	x			x			x	x		4	6,90	
Xenococcus sp.			x							2	3,45	
Chroococciopsis sp.												
Oscillatoria sp.								x		1	1,72	10,34
Plectonema sp.				x						1	1,72	
Microcoleus sp.						x	x			2	3,45	
Lyngbya sp.		x								1	1,72	
Leptolyngbya sp.							x			1	1,72	
Spirulina sp.												
Anabaena sp.												6,90
Nostoc sp.	x									1	1,72	
Calothrix sp.												
Nodularia sp.		x								1	1,72	
Scytonema sp.	x						x			2	3,45	
Fisherella sp.												3,45
Stigonema sp.								x	x	2	3,45	
Chlorogloeopsis sp.												
ALGAS												
Chlorella sp.	x	x	x			x		x		5	8,62	8,62
Mesotaenium sp.												
Mougeotia sp.												5,17
Ulothrix sp.	x	x						x		3	5,17	
Trentepohlia sp.												
Fragilaria sp.												0,00
Nitzschia sp.												
Cymbella sp.												
FUNGOS												
Aspergillus sp.	x	x	x	x		x	x	x		7	12,07	22,41
Penicillium sp.												
Alternaria sp.												
Trichoderma sp.			x						x	2	3,45	
Aureobasidium sp.			x	x						2	3,45	
Cladosporium sp.											0,00	
Dothideales gen.				x	x					2	3,45	
Leveduras pretas gen.											0,00	0,00
OUTROS												
Myxomicetos			x							1	1,72	12,07
Actinomicetos	x	x			x	x	x			5	8,62	
Líquens									x	1	1,72	
Briófitas												
Rotíferos	x									1	1,72	5,17
Vermes redondos	x							x		2	3,45	
Ácaros												
Total Organismos										58	58	100,00
											100,00	100,00

Tabela 16.d Organismos achados nas paredes das ruínas de Santa Maria

Ordem / Gênero	Amostras							Abundância relativa		
	1	2	3	4	5	6	7	Total	Percentual	%Total
CIANOBACTÉRIAS										
Gloeocapsa sp.				x	x	x		3	10,00	13,33
Chroococcus sp.								1	3,33	
Synechocystis sp.							x			
Synechococcus sp.										
Merismopedia sp.										
Microcystis sp.										
Gloeobacter sp.										
Dermocarpa sp.										
Pleuocapsales gen.				x				1	3,33	3,33
Xenococcus sp.										
Chroococciopsis sp.										
Oscillatoria sp.										
Plectonema sp.										23,33
Microcoleus sp.	X	x		x				3	10,00	
Lyngbya sp.		x	x	x			x	4	13,33	
Leptolyngbya sp.										
Spirulina sp.										
Anabaena sp.										
Nostoc sp.				x			x	2	6,67	13,33
Calothrix sp.										
Nodularia sp.										
Scytonema sp.				x	x			2	6,67	
Fisherella sp.										
Stigonema sp.										0,00
Chlorogloeopsis sp.										
ALGAS										
Chlorella sp.										
Mesotaenium sp.					x	x		2	6,67	6,67
Mougeotia sp.										
Ulothrix sp.										10,00
Trentepohlia sp.		x	x				x	3	10,00	
Fragilaria sp.										
Nitzschia sp.										0,00
Cymbella sp.										
FUNGOS										
Aspergillus sp.										
Penicillium sp.		x			x			2	6,67	20,00
Alternaria sp.										
Trichoderma sp.										
Aureobasidium sp.										
Cladosporium sp.				x				1	3,33	
Dothideales gen.			x		x		x	3	10,00	
Leveduras pretas gen.	x	x						2	6,67	6,67
OUTROS										
Myxomicetos										
Actinomicetos										3,33
Líquens					x			1	3,33	
Briófitas										
Rotíferos										
Vermes redondos										0,00
Ácaros										
Total Organismos							30	30	100,00	100,00

Uma análise qualitativa da biodiversidade encontrada nos quatro locais (tabelas 16) permite fazer uma subdivisão em dois subgrupos com parâmetros regionais meso-ambientais semelhantes: por um lado temos os pontos de coleta localizados nos sítios de Santa Ana e Santa Maria que compartilham condições de insolação diária mais elevadas, devido a uma cobertura vegetal menos espessa, com temperaturas epilíticas médias altas e menores teores de umidade. Uma situação contrária existe nos pontos de coleta escolhidos nos sítios de Loreto e San Ignacio. (veja figuras 13 e 14)

Na tabela 17 encontra-se expressados os percentuais relativos da biodiversidade de clorofitas (cocóides e filamentosas) e diatomáceas; além dos percentuais das formas cocóides e filamentosas de cianobactérias. Na tabela 18 têm-se os percentuais totais de cada grupo de organismos.

Tabela 17 Percentagens relativas da biodiversidade micro-fotossintética das amostras coletadas pela técnica da fita adesiva.

Local	Algas [%] relat			Cianobactérias [%] relat	
	cocóides	filamentosas	frústulas	cocóides	filamentosas
Santa Ana	100,0	0,0	0,0	40,9	59,1
Loreto	50,0	33,3	16,7	58,8	41,2
San Ignacio	62,5	37,5	0,0	55,6	44,4
Santa Maria	40,0	60,0	0,0	31,3	68,7

Pode-se observar na tabela 18 que no primeiro subgrupo (Santa Ana e Santa Maria) mais de 50% das espécies documentadas são cianobactérias, existindo também de moderada até alta presença de fungos filamentosos, principalmente os fungos leveduriformes "extremófilos meristemáticos" (ordem *Dothideales*), além de leveduras pretas verdadeiras no caso das amostras de Santa Maria (tabelas 16.a e 16.d). Essa predominância de espécies de cianobactérias pode corresponder-se com a maior resistência que esses organismos apresentam à condições ambientais extremas de alta insolação,

alta temperatura e baixa umidade (Potts, 1994), as quais existem nestes locais. Anotaram-se, também, muitas células fortemente pigmentadas, conferindo assim uma proteção contra luz ultravioleta que abrangem desde UVA até UVB (Garcia-Pichel, *et al.*, 1992; 1993).

Tabela 18 Percentagens da biodiversidade total para cada ponto de coleta das superfícies dos muros das ruínas.

Local	Cianobactérias %Tot	Algas %Tot	Fungos %Tot	Outros organismos %Tot
Santa Ana	64,7	11,7	11,8	11,8
Loreto	47,2	16,6	5,6	30,6
San Ignacio	46,6	13,8	22,4	17,2
Santa Maria	53,3	16,7	26,7	3,3

Já que os únicos organismos que podem se desenvolver em locais com a_w extremamente baixo são os xerotolerantes (a_w mínimo é 0,75 para algumas bactérias, arqueobactérias e fungos filamentosos; a_w mínimo de 0,60 para algumas leveduras - Stryer, 1995), explica-se a grande quantidade de leveduras e fungos leveduriformes pigmentados nos locais de maior taxa de insolação. A adoção de um tipo de crescimento leveduriforme dos fungos, deve-se a que formas esféricas ou ovóides possuem uma menor relação Superfície/Volume que outras formas com mais arestas ou vértices, minimizando a perda d'água do interior celular.

O segundo subgrupo (Loreto e San Ignacio) apresenta uma maior e mais heterogênea biodiversidade, caracterizado por espessos biofilmes epilíticos que suportam tanto espécies heterotróficas como de organismos fotossintéticos superiores, o que se relaciona com as condições ambientais menos estressantes desses locais.

A proporção de espécies de algas é bastante baixo nos quatro locais (cerca de 15%), o que se explica por serem esses organismos menos

adaptados às altas temperaturas que existem nas superfícies das pedras. No caso específico de Loreto, quase um 17% da sua biodiversidade de algas está formada por espécies de bacillariofitas (diatomáceas) (tabela 16.b). A literatura também menciona algas como os fotótrofos dominantes em climas temperados, se comparadas as cianobactérias (Gaylarde & Gaylarde, 2004).

4.2.2 Disposição dos organismos no biofilme

A tabela 19 resume os principais parâmetros físicos e climáticos dos pontos de coleta das amostras de pedra. A biomassa de cianobactérias filamentosas e as populações de algas são maiores nas amostras de pedra extraídas de Loreto, se comparadas com as amostras extraídas de Santa Ana (tabela 20). Contrariamente as amostras de pedra retiradas de Santa Ana possuem uma biomassa total inferior de cianobactérias e maiores de fungos pigmentados (figuras 23 e 24).

Tabela 19 Valores médios dos parâmetros de exposição das amostras de Santa Ana (SA) e Loreto (L).

Local	Temperatura superficial (°C)	Grau de exposição relativa (%)	pH superficial	Conteúdo de água (%)	Densidade aparente (g cm ⁻³)	Porosidade (%)	Relação de vazios (m ³ m ⁻³)	Perda ao fogo (%)
SA	32,0 (0,5) *	58,75	5,5 (0,11)	0,26 (0,0001)	1,876 (0,023)	24,95 (0,919)	0,333 (0,016)	4,59 (0,572)
L	28,7 (0,2)	30	5,11 (0,31)	0,56 (0,2)	1,663 (,001)	33,48 (0,067)	0,503 (0,002)	5,603 (1,559)

(*) Valores correspondem a média de duas determinações ± (DP).

Tabela 20 Morfotipos dominantes de cianobactérias, fungos e algas detectados nos biofilmes das amostras de pedra nas ruínas das Missões.

Orden / Gênero	Abundância relativa			
	Loreto		Santa Ana	
	L_1	L_2	SA_1	SA_2
Cianobactérias				
<i>Gloeocapsa sp.</i>	+++ (gr)		++++ (gr, re\$)	+ (gr)
<i>Chroococcus sp.</i>		+++		
<i>Xenococcus sp.</i>	++			
<i>Oscillatoria sp.</i>		++++ (gr)	++	
<i>Nostoc sp.</i>	+(br, &Br)	+(br, gr)		
<i>Scytonema sp.</i>	++++ (br)		++ (br)	
<i>Stigonema sp.</i>			+	
Algas				
<i>Chlorella sp.</i>	+++			
<i>Chroococcales gen.</i>			++	
<i>Ulothrix sp.</i>		+		
<i>Fragilaria sp.</i>		+		
Fungos				
<i>Aspergillus sp.</i>	+++ (wh)			
<i>Trichoderma sp.</i>	+(gr)			
<i>Aureobasidium sp.</i>				++ (bl)
<i>Cladosporium sp.</i>				++ (bl)
<i>Dothideales gen.</i>				++++ (bl)

(++++) dominante; (+++) muito comum; (++) comum; (+) raro e () ausente.

(&Br) Em simbiose com rizóide de Briófitas; (gr, wh, bl, br) células ou filamentos verdes, brancos, pretos, ou marrons; (re\$) células avermelhadas com pigmentos protetores vermelhos no EPS.

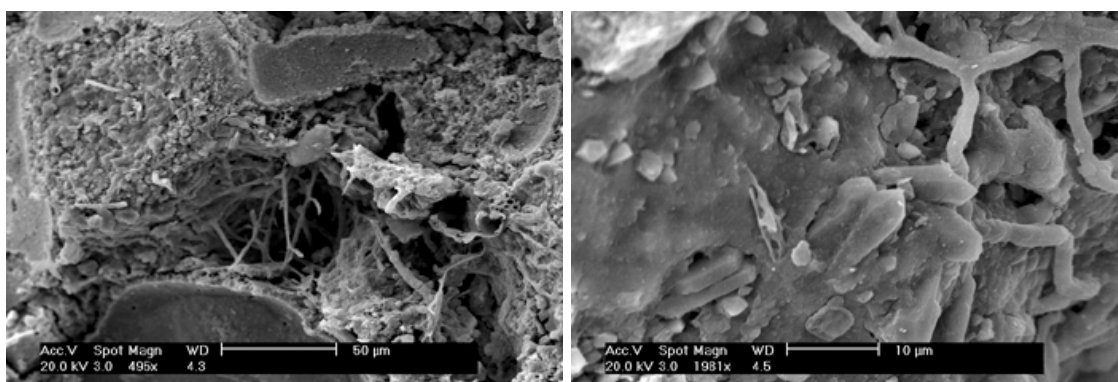


Figura 21 Micrografias de varredura mostrando um biofilme epilítico e endolítico crescendo na superfície da rocha em Santa Ana, Misiones. A esquerda, crescimento de filamentos e hifas no interior dos poros (Barra = 50 μ m). A direita, hifas crescendo ao redor dos cristais na superfície de um grão da matriz clástica (Barra = 10 μ m).

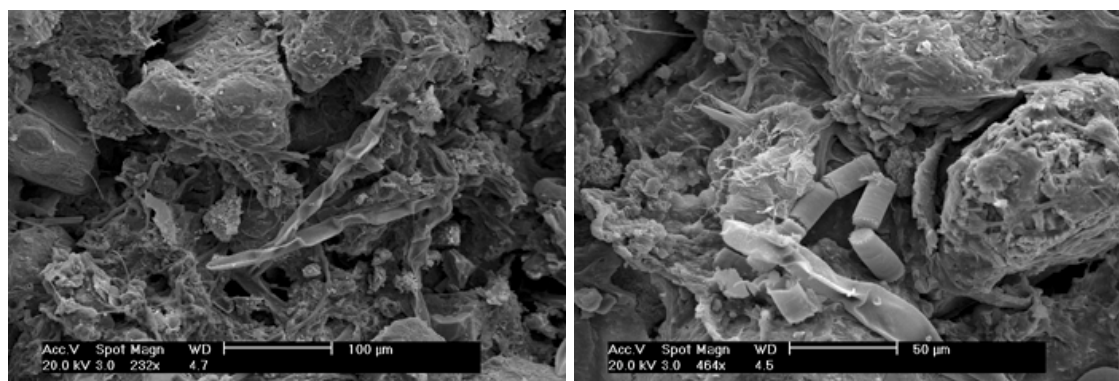


Figura 22 Imagem do biofilme epilítico da superfície de pedra mostrando algas diatomáceas intercaladas com cianobactérias (Loreto, Misiones). A esquerda, crescimento de filamentos de cianobactérias e algas verdes (Barra = 100 μ m). A direita, biofilme de EPS recobrendo completamente a superfície dos grãos silíceos, observam-se células de diatomáceas e formas cocóides de cianobactérias desidratadas (Barra = 50 μ m).

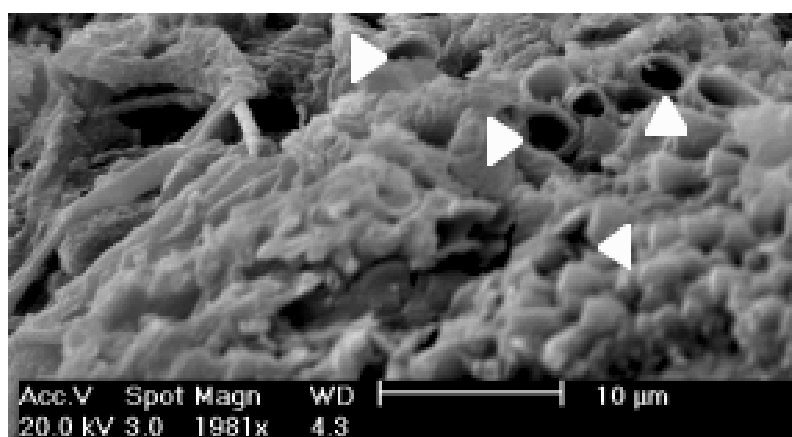


Figura 23 Imagem de varredura eletrônica das deposições de minerais induzidas por microrganismos, as setas brancas indicam a formação dos tubos de minerais neoformados (Barra = 10 μ m).

A informação complementar fornecida pelas imagens de microscopia de varredura eletrônica (figuras 23 e 24) confirma diferenças nas composições das comunidades presentes em sítios que têm distinto grau de exposição solar diária (tabela 19). Se bem que a biodiversidade foi superior nas amostras superficiais de Santa Ana (obtidas pela técnica da fita adesiva), tanto a biomassa total de cianobactérias filamentosas como a biomassa de algas mostraram predominância nas amostras de pedra extraídas de Loreto, se comparadas às amostras de pedra extraídas de Santa Ana (tabela 20). Em compensação as amostras de Santa Ana possuem uma biomassa total inferior de cianobactérias e maior de fungos pigmentados.

Nas imagens obtidas por MEV foi possível observar as deposições de minerais re-cristalizados (em forma de pequenos tubos nas paredes dos poros) deixadas pelos fungos ou cianobactérias filamentosas. Essas estruturas são formadas provavelmente, pela dissolução dos minerais a causa dos ácidos produzidos durante as atividades metabólicas deles e a sua recristalização ao redor dos filamentos (figura 25).

4.3 Cobertura com vernizes

4.3.1 Testes de inibição em placa

Os resultados dos testes foram registrados após 5 e 10 dias para cianobactéria (Mix_C), e após 7 dias para os fungos (Mix_F). As fotografias das placas aparecem na figura 26a, 26b e 26c, cada uma das placas representa uma de três repetições.

CDF0,15%	CDF0,25%	CDF0,35%	BrancoACR
PMP0,15%	PMP0,25%	PMP0,35%	BrancoResina

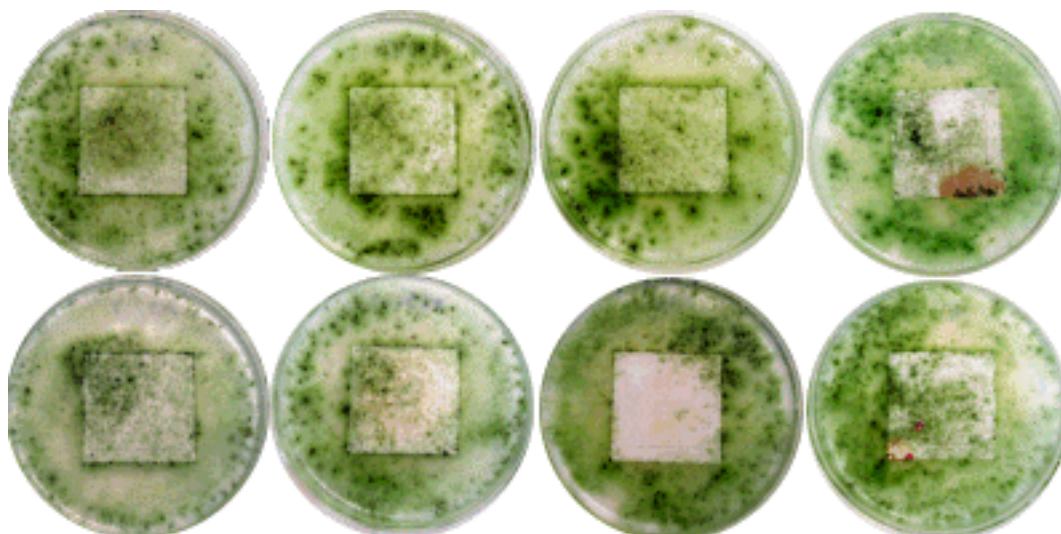


Figura 24.a Resultados dos testes em placa para as placas inoculadas com Mix_C, mostram-se apenas uma de três repetições.

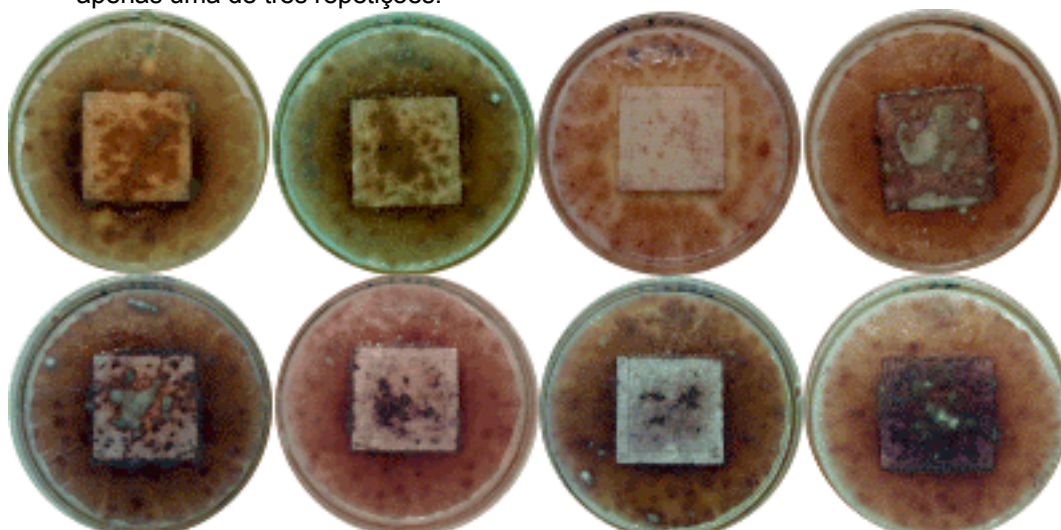


Figura 24.b Resultados dos testes em placa para as placas inoculadas com Mix_F, mostram-se apenas uma de três repetições.

CDFAc0,25%	FABPAcr0,25%	Controle
------------	--------------	----------



Figura 24.c Resultados dos testes em placa para as placas inoculadas com Mix_F em verniz ACR, mostram-se apenas uma de três repetições.

4.3.1.1 Avaliação do crescimento de cianobactérias

Avaliação visual

A avaliação visual confirmou crescimento abundante do Mix_C utilizado em cada uma das placas. Embora o método não forneça um parâmetro quantitativo direto, observou-se maior eficácia do biocida PMP se comparado ao CDF, para controlar o crescimento de algas e cianobactérias (tabela 21a).

Tabela 21.a Resultados da avaliação visual do crescimento em placa de cianobactérias do Mix_C, com resina acrílica base solvente e três concentrações dos biocidas CDF e PMP.

Conc Biocida	Nro Repet	CDF		PMP	
		5 dias	10 dias	5 dias	10 dias
0,15%	3	1,50*	4,00	1,00	3,00
		0,33**	0,25	0,00	0,00
0,25%	3	0,50	4,50	0,50	2,00
		1,00	0,11	1,00	0,00
0,35%	3	1,50	4,00	0,00	1,00
		0,33	0,00	0,00	0,00

Referência: (*) a primeira linha indica a média aritmética. (**) a segunda linha indica erro padrão (referência válida para todas as tabelas que seguem).

Outro fator observado foi que a tinta látex (verniz ACR) teve um efeito inibitório maior sobre o crescimento das cianobactérias que a tinta base solvente (resina acrílica), observadas nas amostras sem biocidas da tabela 21.b.

Tabela 21.b Resultados das notas de avaliação visual do crescimento em placa de cianobactérias do Mix_C, com resina acrílica base solvente comparada ao verniz sintético ACR (sem biocidas).

Verniz s/ biocida	Nro Repet	Base	
		5 dias	10 dias
Resina acrílica	3	1,50	4,50
		0,33	0,11
Verniz ACR	3	1,00	2,00
		0,00	0,00

Nota: A pesar dos resultados serem qualitativos (não paramétricos), eles foram parametrizados através da média para facilitar a comparação entre eles, e posteriormente com os resultados obtidos por análise de imagens.

Avaliação por análises de imagens

As análises das fotografias obtidas dos corpos de prova de cada placa, foram comparadas entre elas e com duas imagens padrões: prova em branco (sem inóculo) e prova de controle de crescimento (sem biocida nem verniz), através do software de análise de imagens desenvolvido no laboratório durante a pesquisa (BIOIMGAN v2.0). Observou-se correlação com os dados obtidos pelo método visual (tabela 22.a). Os valores colocados na tabela indicam percentagem da superfície coberta e profundidade de cobrimento combinados.

Tabela 22.a Valores percentuais do grau de cobertura de cada placa comparada aos testes de branco (0%) e controle (100%), do Mix_C inoculado em corpos de prova pintados com verniz base solvente e três concentrações de CDF e PMP, respectivamente.

Conc Biocida	Nro Repet	CDF		PMP	
		5 dias	10 dias	5 dias	10 dias
0,15%	3	11,46	53,58	8,48	35,45
		0,05	0,08	0,03	0,04
0,25%	3	7,44	59,67	2,91	25,78
		0,01	0,05	0,02	0,02
0,35%	3	10,36	56,28	0,56	6,58
		0,02	0,03	0,00	0,05

Nesta análise também observou-se que a tinta látex (verniz ACR) teve um efeito ligeiramente inibitório no crescimento das cianobactérias, se comparado com que a resina base solvente (tabela 22.b).

Tabela 22.b Resultados (%) da análise de imagens para o crescimento em placa de cianobactérias do Mix_C, com resina acrílica base solvente comparada ao verniz sintético ACR (sem biocidas).

Verniz s/ biocida	Nro Repet	Base	
		5 dias	10 dias
Resina acrílica	3	10,72	66,82
		0,04	0,07
Verniz ACR	3	14,52	38,52
		0,00	0,00

Avaliação por Espectrofotometria

Sendo esta avaliação do tipo destrutiva (a diferença das anteriores) avaliaram-se os resultados somente no décimo dia. As análises por espectrofotometria demonstraram maior eficácia do biocida PMP sobre o CDF (tabela 23a).

Tabela 23.a Avaliação da quantidade de clorofila-a nas placas ($\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$) inoculadas com Mix_C, para os corpos de prova pintados com verniz base solvente e com três concentrações dos biocidas CDF e PMP.

Conc Biocida	Nro Repet	CDF	PMP
		10 dias	10 dias
0,15%	3	10,92	12,08
		0,32	1,43
0,25%	3	9,33	7,57
		1,06	0,20
0,35%	3	12,20	0,80
		0,99	0,04

Observou-se também efeito inibitório do verniz base látex com relação a resina base solvente, embora tenha sido bem maior que o efeito observado pelos métodos visuais e de análise de imagens (tabela 23.b).

Tabela 23.b Resultados da análise do conteúdo de clorofila-a para o crescimento em placa de cianobactérias do Mix_C, com resina acrílica base solvente comparada ao verniz sintético ACR (sem biocidas).

Verniz s/ biocida	Nro Repet	Base
		10 dias
Resina acrílica	3	14,10
		3,78
Verniz ACR	3	3,96
		0,00

4.3.1.2 Avaliação do crescimento de fungos

Avaliação visual

A avaliação visual confirmou crescimento profuso do Mix_F utilizado em cada uma das placas. Embora o método não forneça um parâmetro quantitativo direto, observou-se maior eficácia do biocida CDF se comparado

ao PMP, para controlar o crescimento de fungos filamentosos pigmentados (tabela 24.a).

Tabela 24.a Resultados da avaliação visual do crescimento em placa de fungos do Mix_F, com resina acrílica base solvente e três concentrações dos biocidas CDF e PMP.

Conc Biocida	Nro Repet	CDF	PMP
		7 dias	7 dias
0,15%	3	4,00	3,00
		0,25	0,33
0,25%	3	3,00	3,00
		0,58	0,00
0,35%	3	1,33	2,67
		0,43	0,22

Outro fator observado foi que a resina base solvente teve um efeito inibitório maior sobre o crescimento dos fungos que verniz látex (ACR), observadas nas amostras sem biocidas da tabela 24.b.

Tabela 24.b Resultados da avaliação visual do crescimento em placa de fungos do Mix_F, com resina acrílica base solvente comparada ao verniz sintético ACR (sem biocidas).

Verniz s/ biocida	Nro Repet	Base 7 dias
Resina acrílica	3	4,0
		0,4
Verniz ACR	3	4,5
		0,2

Devido ao fato do CDF ter apresentado atividade frente ao inóculo Mix_F, e a sua disponibilidade também em veículo aquoso, testaram-se mais duas combinações de base látex ACR: uma com CDF 0,25% e outra com o biocida FABP 0,25%. Os resultados aparecem na tabela 24.c.

Tabela 24.c Resultados da avaliação visual do crescimento em placa de fungos do Mix_F, com verniz sintético ACR e uma concentração de 0,25% de CDF e FABP, respectivamente.

Conc Biocida	Nro Repet	CDF	FABP
		7 dias	7 dias
0,25%	3	3,0	4,5
		0,0	0,2

Nota: Neste caso, os resultados também foram parametrizados através da média para facilitar a sua comparação posterior através de análise de imagens.

Avaliação por análises de imagens

Utilizando o mesmo software (BIOIMGAN v2.0), analisaram-se as fotografias dos corpos de prova cobertos com biomassa fúngica. Observa-se correlação com os dados obtidos pelo método visual (tabela 25.a).

Tabela 25.a Valores percentuais do grau de cobertura de cada placa comparada aos testes de branco (0%) e controle (100%), do Mix_C inoculado em corpos de prova pintados com verniz base solvente e três concentrações de CDF e PMP, respectivamente.

Conc Biocida	Nro Repet	CDF	PMP
		7 dias	7 dias
0,15%	3	52,93	42,34
		0,26	0,15
0,25%	3	49,97	41,16
		0,39	0,09
0,35%	3	11,65	40,33
		0,12	0,15

Comparando a resina base solvente com verniz ACR, denotaram-se valores muito semelhantes, com ligeira inibição da resina base solvente (tabela 25.b).

Tabela 25.b Resultados da avaliação por software do crescimento em placa de fungos do Mix_F, com resina acrílica base solvente comparada ao verniz sintético ACR (sem biocidas).

Verniz s/ biocida	Nro Repet	Base 7 dias
Resina acrílica	3	53,40
		0,37
Verniz ACR	3	47,67 0,04

Para o caso dos biocidas CDF e FABP em base látex, têm se os resultados da tabela 25.c.

Tabela 25.c Resultados da avaliação por software do crescimento em placa de fungos do Mix_F, com verniz sintético ACR e uma concentração de 0,25% de CDF e FABP, respectivamente.

Conc Biocida	Nro Repet	CDF	FABP
		7 dias	7 dias
0,25%	3	34,31	41,68
		0,04	0,25

Neste caso o biocida CDF apresentou maior eficácia que o FABP, na ação contra o crescimento fúngico.

Avaliação por HPLC

Na tabela 26.a observa-se que o biocida CDF teve maior eficácia que o PMP nas amostras avaliadas, sendo que o maior efeito encontrado para uma concentração de 0,35% para ambos biocidas.

Tabela 26.a Valores de ergosterol em mg / m² para o teste de inibição em placa, da resina base solvente.

Conc	Nro	CDF	PMP
Biocida	Repet	7 dias	7 dias
0,15%	3	2,18	4,54
		1,03	0,61
0,25%	3	1,70	4,14
		0,87	0,28
0,35%	3	0,20	3,23
		0,29	0,30

Outro fator importante, foi que a tinta base solvente inibiu melhor o crescimento de fungos que a tinta látex (tabela 4.23), o mesmo ocorreu com o biocida CDF 25% que demonstrou maior atividade sobre o FABP (tabela 4.24).

Tabela 26.b Valores de ergosterol em mg / m² para o teste de inibição em placa, com resina acrílica base solvente comparada ao verniz sintético ACR (sem biocidas).

Verniz	Nro	Base
s/ biocida	Repet	7 dias
Resina acrílica	3	3,79
		0,56
Verniz ACR	3	8,32
		0,18

Tabela 26.c Valores de ergosterol em mg / cm² para o teste de inibição em placa, com verniz sintético ACR e uma concentração de 0,25% de CDF e FABP, respectivamente.

Conc	Nro	CDF	FABP
Biocida	Repet	7 dias	7 dias
0,25%	3	2,72	7,68
		0,01	0,21

Por último o conteúdo de ergosterol das cepas inoculadas foi quantificado. Achou-se diferença apreciável dentre os distintos gêneros (tabela 27).

Tabela 27 Conteúdo de ergosterol médio por esporo para as três cepas fúngicas inoculadas (pg / esporo).

Fungo	Nro Repet	Conteúdo de ergosterol
Fusarium sp.	3	1,371 0,10
Penicillium sp.	3	0,822 0,07
Cladosporium sp.	3	0,345 0,05

4.3.1.3 Comparação dos métodos

A bibliografia (Diez & Barros, 1992) menciona que o teste de inibição em placa torna-se apropriado para calcular a dosagem de uma substância com atividade biocida, que será adicionado à formulação do verniz. O teste incluiu três dosagens dos biocidas PMP e CDF respectivamente para um verniz acrílico base solvente, e uma dosagem (intermédia) de FABP e CDF num verniz acrílico látex.

Uma comparação dos métodos utilizados para quantificar o desenvolvimento de cianobactérias, revela que todos eles possuem a mesma tendência, ou seja: maior eficácia global do PMP sobre o CDF (sendo nitidamente máxima para uma dosagem de 0,35%), e um efeito inibitório do verniz base sem biocida maior para o veículo látex (vernizACR) que para o veículo solvente (tabelas 21.a, 22.a e 23.a). Sendo que o fabricante do biocida CDF não revela a composição química exata dos compostos utilizados, não é possível explicar diretamente os resultados. Porém tendo em vista as atividades observadas, podería-se inferir que:

(a) a isotiazolinona utilizada foi a 1,2-benzo-isotiazolin-3-ona (BIT) de atividade específica contra fungos e bactérias, mais sem atividade contra algas e cianobactérias (tabela 5), e

(b) o derivado benzimidazólico pertenceria a família do Carbendazim (atividade antifúngica específica).

Um outro fator que reforça a idéia de que a isotiazolinona utilizada foi o BIT, é que foi observada reação de oxidação da embalagem de ferro galvanizado que continha a resina acrílica com CDF (veja observações da tabela 5).

O método visual de avaliação rápida tem utilidade limitada, devido ao fato de não se obter um valor numérico proporcional ao desenvolvimento, nem diferenciar a viabilidade dos organismos. Uma alternativa consiste em utilizar o método rápido de análise de imagens por computador, que permite observar diversos parâmetros (brilho, cor, saturação) da imagem e quantificá-los; sendo que este método tem a vantagem de produzir um valor numérico proporcional à extensão e à intensidade do desenvolvimento, conseguindo sob determinadas circunstâncias diferenciar a viabilidade (no caso de mudanças nas propriedades de absorção de luz, que poderiam acompanhar a morte celular). O método que ofereceu maior precisão foi o HPLC junto com espectrofotometria que forneceu informação de quantidade de biomassa viva, já que os pigmentos fotossintéticos degradam-se rapidamente após a morte do organismo (especialmente a clorofila-a).

Nas placas inoculadas com Mix_F, observou-se um efeito contrário aos inoculados com Mix_C. Os vernizes com CDF foram mais efetivos que aqueles que contiam PMP (tabelas 24.a, 25.a e 26.a). Aclara-se que as concentrações sugeridas pelo laboratório de microbiologia da KRESIL Indústrias (0,15% - 0,25% - 0,35 %) para o biocida PMP, são inferiores às

sugeridas pelo fabricante para serem aplicadas em pinturas exteriores (1% - 2,7%), o que pode ser explicado por ser ele utilizado em combinação com outros biocidas (agindo como reforço), devido ao seu custo mais elevado.

As avaliações visuais e de análise de imagem concordaram na maioria das determinações, as diferenças ocorreram em:

- (a)** AcrCDF 0,25% que mostrou um desempenho inferior na análise visual, se comparada aos outros métodos;
- (b)** valores com tendência aleatória para as três concentrações de PMP.

No caso específico da quantificação através do conteúdo total de ergosterol por HPLC, mostrou a mesma tendência que os dois primeiros métodos, maior eficácia do CDF em comparação ao PMP (tabela 26.a). Para os testes de inibição fúngica, destacam-se ainda três fatores:

- O biocida FABP não apresentou efeito inibitório evidente nas concentrações testadas (tabelas 24.c, 25.c e 26.c).
- Dos testes com vernizes sem biocidas (tabelas 24.b, 25.b e 26.b), o de base solvente inibiu melhor o desenvolvimento fúngico que o ACR (contrário ao efeito observado no teste de cianobactérias, nas tabelas 21.b, 22.b e 23.b).
- A eficácia da resina acrílica com CDF 0,25% foi superior ao verniz ACR com CDF 0,25%. Provavelmente devido ao efeito sinérgico do CDF com a base solvente (tabelas 26.a e 26.c).

Uma outra observação importante que deve ser levada em conta nos testes por avaliação de ergosterol, e que o conteúdo de ergosterol por propágulo, depende de diversos fatores como a cepa fúngica inoculada, o estágio de desenvolvimento, a composição do meio, a idade da cultura, etc.

(Saad *et al.*, 2003). Por tal motivo, e aos efeitos de comparação com os resultados obtidos por outros pesquisadores, realizou-se uma determinação do conteúdo de ergosterol por esporo, encontrando-se um valor de 0,345 pg/esp para o gênero *Cladosporium* inoculado (tabela 27), valor muito próximo dos 0,333 pg/esp mencionado no trabalho de Saad *et al.* (2003).

Os resultados numéricos da quantificação de ergosterol por unidade de superfície (de 0,20 até 8,32 mg/m²) , demonstraram concordância com os valores mencionados no trabalho de Gutarowska e Zakowska (2002), que determinaram valores de 0,9 até 7,9 mg/m² para diversos tipos de substratos. No mencionado trabalho destaca-se que para os valores médios dos limites obtidos para diversos substratos, uma concentração inferior a 2,12 mg/m² corresponde a um nível normal de contaminação fúngica sem desenvolvimento ativo, e que valores superiores a 3,96 mg/m² revelam alto grau de contaminação fúngica com desenvolvimento ativo e intenso. Por tanto, os valores obtidos no presente trabalho mostraram um desenvolvimento intenso em todos os corpos de prova de papel de filtro pintado, excetuando aqueles recobertos com biocida CDF (tanto em resina acrílica como em látex).

4.3.2 Câmara Tropical

Na tabela 28 podem ser observados os resultados do teste na câmara tropical. Os números representam a superfície coberta pela biomassa em cada bloco após 120 dias (na primeira etapa, aos 60 dias, não ocorreu desenvolvimento). Não houve desenvolvimento apreciável nos blocos inoculados com a mistura fúngica (Mix_F), sendo marcados como não

quantificável (nq). As médias calculadas mostraram que os blocos pintados com verniz + biocida PMP (superfície média: 3,6 - DP: 1,63) tiveram menor desenvolvimento de biofilme que os pintados com verniz + biocida CDF (superfície média: 3,9 - DP: 1,76). Essa observação resultou compatível com as tendências de ação dos biocidas, achadas no teste de inibição em placa.

Tabela 28 Densidade percentual de biomassa para os blocos do teste da câmara tropical (%).

	Mix_F			Mix_F + Mix_C			Mix_C		
PMP	nq	nq	nq	0,6	1,7	2,5	1,2	1,8	1,4
	nq	nq	nq	1,5	1,0	0,4	2,3	0,9	1,9
CDF	nq	nq	nq	1,2	1,4	0,7	3,4	1,3	1,8
	nq	nq	nq	1,1	1,1	1,3	1,2	1,9	1,6

4.3.3. Considerações gerais

Os resultados mostram que, para provisionar uma proteção contra biodeterioração à superfície rochosa, a formulação do verniz deveria combinar a ação dos dois tipos de biocidas testados (por exemplo, IPBC + BIT), sendo que cada um dos quais inibiria microrganismos diferentes. Deve ser mencionado que a resina acrílica base solvente já foi utilizada na restauração da igreja Santa Terezinha em Porto Alegre, a superfície da qual permanece limpa após 2 anos da aplicação. Estes resultados sugerem que o mesmo tratamento seria apropriado para proteção de monumentos históricos de pedra, uma vez que não altera a aparência da superfície, oferecendo uma proteção duradoura.

5. CONCLUSÕES

5.1 Biodeterioração

Analisando as atividades microbiológicas em conjunto, e a influência que elas produzem na deterioração das rochas, podem-se obter as seguintes conclusões:

- A alteração dos minerais constituintes da cimentação intergranular aumenta progressivamente a porosidade e a permeabilidade do arenito, modificando o equilíbrio hidráulico interno da rocha.

- Os biofilmes presentes nas superfícies dos blocos de pedra, aumentam a retenção d'água necessária para os organismos, pois influem nas forças capilares.

- A remobilização dos cátions metálicos por lixiviação, os leva para à superfície onde são precipitados para formar crostas duras que aumentam a bio-receptividade da pedra, fornecendo novos nichos ecológicos.

- As crostas precipitadas na superfície têm distintas propriedades mecânicas que o resto da rocha, tornando-se uma potencial interface de ruptura ou descamação.

- Os padrões de deterioração da rocha são diferentes em locais com altas taxas de insolação, de temperaturas mais elevadas e menor umidade, se

comparados aos cobertos total ou parcialmente por sombra foliar (mata circundante).

- Os locais com maior sombreamento e umidade apresentam uma degradação maior, correspondente com uma biodiversidade também maior. Existe porém, um efeito direto de raízes e plantas que crescem por sobre e dentro das edificações.

5.2 Biodiversidade

Analisando a distribuição de organismos e microrganismos nos diferentes microclimas presentes nas ruínas, conclui-se o seguinte:

- No local de Loreto predominam espécies de algas, principalmente famílias de diatomáceas em locais com maior umidade. De acordo com isto, conclui-se que as temperaturas médias superficiais desse local são menores que para os outros três.

- As quantidades relativas de espécies de cianobactérias filamentosas são maiores para os sítios de SA e SM (mais de 60%), o que se explica pela ampla distribuição geográfica para espécies de *Scytonema* em Santa Ana e de espécies de *Microcoleus* e *Lyngbya* em Santa Maria.

5.3 Preservação

Analisando as atividades específicas mostradas pelos biocidas, podem ser inferidas as seguintes conclusões:

- Para o Preventol MP, que contém o componente ativo 3-Iodo-2-propinilbutil-carbamato (de ampla atividade contra bactérias, algas e fungos da

tabela 5), ele apresentou alta eficácia contra as cianobactérias, porém o crescimento fúngico foi inibido em menor medida com as concentrações testadas.

- O Coryna DF apresentou alta eficácia contra as cepas fúngicas testadas, porém seu efeito foi praticamente nulo contra as cianobactérias nas concentrações utilizadas. Recomenda-se então o uso de embalagens plásticas para o armazenamento de tintas e vernizes com CDF.

- O biocida FABP 830 do verniz ACR foi o que apresentou a atividade mais baixa nas condições testadas.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

6.1 Medidas de reconstrução

As medidas reconstitutivas gerais que se recomendam para as edificações são as seguintes:

- Limpeza de todas as superfícies por métodos abrasivos não erosivos. Utilizando removedores químicos biodegradáveis e água sob pressão.

- Eliminação de vegetais e arbustos que têm se desenvolvido no interior das edificações, e também ao redor das mesmas num raio maior a extensão das respectivas raízes.

- Remontagem criteriosa das edificações, evitando-se concentração de esforços e a percolação de água de chuva para o interior dos muros. Os cimentos utilizados devem possuir quantidades mínimas de cálcio para evitar-se a formação de gesso ($\text{CaSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) pela combinação com os sulfatos presentes nas rochas, que conduzem à desagregação dos blocos (Millot *et al.*, 1967).

6.2 Aplicação de preservantes químicos

Os critérios a serem levados em conta para a eleição do biocida e a base do verniz, são:

- Adoção de tratamento de impermeabilização adequado, tendo em conta tanto os tipos de vernizes ou tintas a serem usados (enquanto a sua

durabilidade e relação custo/benefício), como aos tipos de biocidas que eles possuem na sua formulação, que prejudiquem o mínimo possível ao meio ambiente.

- A utilização de combinações de biocidas (fungicidas + algicidas) que funcionem em forma eficiente em baixas concentrações.

- Uma outra recomendação, é o uso de embalagens plásticas para o armazenamento de tintas e vernizes com CDF.

6.3 Trabalhos futuros

- Com respeito aos métodos rápidos de avaliação da biodegradação, observou-se que o conteúdo de ergosterol para *Fusarium sp.* foi quatro vezes superior a do *Penicillium sp.*, e 1½ vezes superior a do *Cladosporium sp.* Portanto, esse fator deveria ter-se em conta em estudos posteriores que procurassem desenvolver um modelo matemático para a estimativa de contaminação fúngica de materiais de construção, baseado no conteúdo superficial de ergosterol (Gutarowska & Zakowska, 2002).

- Finalmente, encontraram-se resultados altamente coincidentes com os publicados por Roisenberg e Gamermann do Instituto de Geociências da UFRGS (1985) no estudo da degradação dos arenitos das ruínas de São Miguel - Brasil. Isto conferiria um caráter mais global a este tipo de estudos de biodeterioração de monumentos históricos de pedra. Recomenda-se então que para trabalhos futuros, os estudos mineralógicos deveriam ser complementados com estudos ecológicos e microbiológicos, assim como de preservação química e físico-química.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAN, O.C.G.; SAMSON, R. A.; WIJNEN, J. T. M. **Health implications of fungi in indoor environments**. Amsterdã: Elsevier, 1994. p.451-484. Cap.2: Fungal resistance tests of gypsum based interior finishes under steady-state air humidities.
- ALLSOPP, D; SEAL, K.J. **Introduction to Biodeterioration**. London: Edward Arnold, 1986. 136 p. Cap. 2: Natural Materials.
- ASCASO, C.; WIERZCHOS, J. Structural aspects of the lichen – rock interface using back scattered electron imaging. **Botanical Acta**, Bergen, v.107, n. 12, p.156-251, 1994.
- ASHURST, J.; ASHURST, N. **Practical Building Conservation: Stone Masonry**. Aldershot, England: Gower Technical Press, 1988. v.1.
- BAILEY, R.B.; PARKS, L.W. Yeast sterol esters and their relationship to the growth of yeast. **Journal of Bacteriology**, London, v.124, n. 2, p.606-612, 1975.
- BAKKE *et al.* 3-D pore scale modeling of sandstones and flow simulations in the pore networks. **Society of Petroleum Engineers Journal**, Berkeley, v.37, n.12, p.136-148, 1997.
- BELCHER, H; SWALE E. **A beginner's guide to freshwater algae**. London: Inst of terrestrial ecology, 1985. 47p.
- BENNET, A.; BOGORAD, L.J. Complementary Chromatic Adaptation. **Journal of Cell Biology**, Vienna, v.58, p.419-435, 1973.
- BHALERAO, R.P.; LIND, L.K.; GUSTAFSSON, P. Cloning of the *cpcE* and *cpcF* genes from *Synechococcus sp.* PCC 6301 and their inactivation in *Synechococcus sp.* PCC 7942. **Plant Molecular Biology**, New York, v.26, p.1-14, 1994.
- BIELEMAN, J. **Additives for coatings**. Grunstadt: Wiley-VCH, 2000. 372p.
- BRAVERY, A.; BARRY, F; COLEMAN, S. A method for testing the mould resistance of Paints. **International Biodeterioration Bulletin**, New York, v.14, p.1-10, 1978.

- CAMPOS, H.C.N.S. Applied groundwater modeling in the Botucatu aquifer system. In: THE GEOLOGY OF TODAY FOR TOMORROW. A SATELLITE CONFERENCE OF THE WORLD CONFERENCE ON SCIENCE, 1999, Budapest. **Programme and Abstracts...** Budapest: Hungarian Geological Society : UNESCO, 1999. p.56-57.
- CANEVA, G.; SALVADORI, O. Biodeterioration of stone. In: LAZZARINI, L. (Ed.) **The deterioration and conservation of stone**. Paris: UNESCO, 1988. p.182-234.
- CANEVA, G. *et al.* Pitting of marble roman monuments and the related microflora. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON DETERIORATION AND CONSERVATION OF STONE, 7., 1991, Lisboa. **Proceedings...** Lisboa, 1991. v.1, p.521-526.
- CAPUANO, V. *et al.* Phycobilisome Structure. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v.266, p.7239-7247, 1991.
- CASTENHOLZ, R.W.; WATERBURY, J.B. **Cyanobacteria**. In: BERGEY'S Manual of Systematic Bacteriology. Baltimore: The Williams & Wilkins, 1989. v.3, p.1710-1727.
- CHAZAL, N.M.; SMITH, G.D. Characterization of a brown *Nostoc* species from Java that is resistant to high light intensity and UV. **Microbiology**, Reading, v.140, Part 11, p.3183-3189, 1994.
- CHEBLI G.; GEBHARD J.; MENZEL M. Estratigrafía y magmatismo en la zona de la estancia la juanita y alrededores (departamento deseado, provincia de Santa Cruz). In: CONGRESO GEOLÓGICO ARGENTINO, 6.,1975, Bahía Blanca. **Resumen...** Buenos Aires, 1976. v1, p.357-373.
- CRISPIM, C.A.; GAYLARDE, P.M.; GAYLARDE, C.C. Algal and cyanobacterial biofilms on calcareous historic buildings. **Current Microbiology**, Heidelberg, v.46, n. 2, p.79-82, 2003.
- CROCE, R.; BASSI, R. The Light Harvesting Complex of Photosystem I: pigment composition and stoichiometry. In : GARAB, G. (Ed) **Photosynthesis: mechanisms and effects**. Dordrecht: Kluwer Academic,1998. v.1, p.421-424.
- DIEZ, M.A.L.M.; BARROS, N.S. Avaliação de microbiocidas para preservação de tintas. In: SIMPÓSIO LATINOAMERICANO DE BIODETERIORAÇÃO, 1992, Campos do Jordão. **Anais...** Campos do Jordão, 1992. v.1, p.106-120.
- DEER, W.A. **Minerais constituintes das rochas, uma introdução**. London: Fund. Calouste Gulbenkian, 1966. 559p.

- DUYSSENS, L.N.M.; AMESZ, J.; KAMP B.M.: Two photochemical systems in photosynthesis. **Nature**, Boston, v.190, p.510-511, 1961.

- ECKHARDT, F. E. W. Mechanisms of the microbial degradation of minerals in sandstone monuments, medieval frescoes and plaster. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON DETERIORATION AND CONSERVATION OF STONE, 5., 1985, Lausanne, Switzerland. **Proceedings...** Lausanne, 1985. v.2, p.643-52.

- EIJCKELHOFF, C.; DEKKER, J.P. A routine method to determine the chlorophyll-a, pheophytin-a and β -carotene contents of isolated Photosystem II reaction center complexes. **Photosynthesis Research**, Lubbock, v.52, p.69-73, 1997.

- ERTESVAG, H.; VALLA, S. Biosynthesis and applications of alginates. **Polymer Stabilization and Degradation**, Orlando, v.59, p.85-91, 1998.

- FERNÁNDEZ GARRACINO, C. **Contribución al Conocimiento de la Provincia de Misiones, Argentina**. Algunas posibilidades exploratorias. Buenos Aires, 1994. (Boletín de informaciones petroleras, 3)

- GAMERMANN, N. **Contribution a l'étude de la diagénese des grés: Couleur rouge, argiles authigènes et induration: Formations d'Estrada Nova, de Rosario do Sul et de Botucatu du Brésil et Buntsandstein des Vosges**. París : Universidade Lovis Pasteur, 1979. 115f. Tese (Docteur-Ingénieur) - Universidade "Lovis Pasteur", París, 1979.

- GARCÍA E. **Modificaciones al sistema de Clasificación Climática De Köppen**. México: Editorial Larrios, 1987. 217p.

- GARCIA-PICHEL, F.; SHERRY, N.D.; CASTENHOLZ, R.W. Evidence for ultraviolet sunscreen role of the extracellular pigment scytonemin in the terrestrial cyanobacterium *Chlorogloeopsis* sp. **Photochemistry and Photobiology**, Lawrence, v.56, n. 1, p.17-23, 1992.

- GARCIA-PICHEL, F.; WINGARD, C.E.; CASTENHOLZ, R.W. Evidence regarding the ultra-violet sunscreen role of a microsporine-like compound in the cyanobacterium *Gloeocapsa* sp. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.59, p.170-176. 1993.

- GARG, K. L.; DHAWAN S.; AGRAWAL, O.P. **Deterioration of Stone and Building Materials by Algae and Lichens: A Review**. Lucknow, India: National Research Laboratory for Conservation of Cultural Property, 1988.

- GAYLARDE, P.M.; GAYLARDE, C.C. A Rapid Method for the Detection of Algae and Cyanobacteria on the External Surfaces of Buildings. In: LABS 3 - LATIN AMERICAN BIODEGRADATION AND BIODETERIORATION SYMPOSIUM, 3, 1998, Florianópolis. **Proceedings...** Florianópolis: [s.n.], 1998. 1 CD-ROM. Paper n. 37.

- GAYLARDE, C.C.; MORTON, L.H.G. Deteriogenic biofilms on buildings and their control: a Review. **Biofouling**, London, v.14, n.1, p.59-74, 1999.
- GAYLARDE, P.M.; GAYLARDE, C.C. Algae and cyanobacteria on painted surfaces in Southern Brazil. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v.30, p.209-213, 1999.
- GAYLARDE, C; RIBAS SILVA, M; WARSCHEID, TH. Microbial impact on building materials: an overview. **Materials and Structures**, Bagneux, v.36, p.342-352, 2003.
- GAYLARDE, P.M.; GAYLARDE, C.C. A comparative study of the major microbial biomass of biofilms on buildings in Europe and Latin America. Submetido a **International Biodeterioration and Biodegradation**, London, 2004.
- GAYLARDE, CC; GAYLARDE, PM; COPP, J, NEILAN, BA. Polyphasic detection of cyanobacteria in terrestrial biofilms. **Biofouling**, Buckingham. In press.
- GEHRMANN, C.K.; KRUMBEIN, W.E.; PETERSEN, K. Endolithic lichens and the corrosion of carbonate rocks, a study of biopitting. **International Journal of Mycology and Lichenology**, Stuttgart, v.5, p.37-48, 1992.
- GENTILI, C.; H. RIMOLDI. Mesopotamia. In: SIMPOSIO GEOLOGÍA REGIONAL ARGENTINA, 2, Córdoba, 1979. **Anales**. Córdoba: Publicación de la Academia Nacional de Ciencias, 1979. v.1, p.185-223.
- GESSNER, M.O.; CHAUVET, E. Ergosterol-to-biomass conversion factors for aquatic hyphomycetes. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.59, n. 2, p. 502-507, 1993.
- GIOVANNONI, S.J. *et al.* Evolutionary relationships among cyanobacteria and green chloroplasts. **Journal of Bacteriology**, Washington, v.170, n. 8, p.3584-3592, 1988.
- GLASER, J.K. Biocides. In: BIELEMAN, J (Coord.) **Additives for Coatings**. Grunstadt: Wiley-VCH, 2000. 372p.
- GLAZER, A. N. *et al.* The structure of a "simple" phycobilisome. **Annals of Microbiology**. Paris: Inst. Pasteur, 1983. v.134B, p.159-180.
- GLAZER, A. N. Light harvesting by phycobilisomes. **Biophysical Chemistry**, Scotland, v.14, p.47-77, 1985.
- GRIFFIN, P.S.; INDICTOR, N.; KOESTLER, R.J. The biodeterioration of stone: a review of deterioration mechanisms, conservation case histories and

treatment. **International Biodeterioration**, London, v.28, n. 1-4, p.187-208, 1991.

- GROSSMAN, A. R.; BHAYA, D.; HE, Q. Tracking the Light Environment by Cyanobacteria and the Dynamic Nature of Light Harvesting. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v.276, n. 15, p.11449-11452, 2001.

- GUILLITTE, O.; DREESEN, R.E. Laboratory chamber studies and petrographical analysis as bioreceptivity assessment tools of building materials. **Science of the Total Environment**, Michigan, v.167, p.365-374, 1995.

- GUTAROWSKA, B.; ZAKOWSKA, Z. Elaboration and application of mathematical model for estimation of mould contamination of some building materials based on ergosterol content determination. **International Biodeterioration and Biodegradation**, London, v.49, n. 4, p.299-305, 2002.

- GUTIERREZ, R. Tipologías urbanas de las Misiones Jesuíticas. In: CONGRESO INTERNACIONAL DE HISTORIA DE AMÉRICA, 6, Buenos Aires, 1982. **Resumen...** Buenos Aires, 2001. v.3.4.

- HECK, W. W.; BRANDT, C.S. Effects on vegetation. **Air Pollution**, New York, v.2, p.157-229, 1977.

- HERBST, R.; SANTA CRUZ, J.; ZABERT, L. Avances en el conocimiento de la estratigrafía de la Mesopotamia Argentina, con especial referencia a la provincia de Corrientes. **Revista de la Asociación de Ciencias Naturales del Litoral**, Santa Fé, v.7, p.101-121, 1976.

- HERDMAN, M. *et al.* Genome size of cyanobacteria. **Journal of General Microbiology**, Reading, v.111, p.73-85, 1979.

- HERDMAN, M.; RIPPKA, R. Cellular differentiation: hormogonia and baeocytes. **Methods in Enzymology**, London, v.167, p.232-242, 1988.

- HOLT, J.G. *et al.* **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. Baltimore: William & Wilkins, 1994. 787p.

- HUGHES *et al.* Bacteriophage and associated polysaccharide depolymerases novel tools for study of bacterial biofilms. **Journal of Applied Microbiology**, London, v.85, p.583-590, 1998.

- JACKSON, C.R.; CHURCHILL, P.F.; RODEN, E.E. Successional changes in bacterial assemblage structure during epilithic biofilm development. **Ecology**, Washington, v.82, p.555, 2001.

- JAIN, K.K.; MISHRA A.K.; SINGH T. Biodeterioration of stone: A review of mechanism involved. In RECENT ADVANCES IN BIODETERIORATION AND

BIODEGRADATION, 1993, Calcutta. **Proceedings...** Calcutta: Naya Prokash, 1993. v.1, p.323-354.

- KING, V.M. Bactericides, Fungicides and Algicides. In: KOLESKE, J.V. **Paint and Coating Testing Manual**. Philadelphia, 1995. (ASTM Manual Series). p.17 1995.

- KNUDSON, L.; TIBBITTS, T.; EDWARDS, G. Measurement of ozone injury by determination of leaf chlorophyll concentration **Plant Physiology**, Amsterdã, v.60, p606-608, 1977.

- KOESTLER, R.J. *et al.* Microbiologically induced deterioration of dolomitic and calcitic stone as viewed by scanning electron microscopy. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON DETERIORATION AND CONSERVATION OF STONE, 5., 1985, Lausanne. **Proceedings...** Switzerland: Presses polytechniques romandes, 1985. v.2, p.617-626.

- KOESTLER, R.J.; SANTORO, E.D. **Assessment of the susceptibility to biodeterioration of selected polymers and resins**. Marina del Rey, California: Getty Conservation Institute, 1988. (GCI Scientific Program Report, 1)

- KRUMBEIN, W.E.; PETERSEN, K. Mikroorganismen beschleunigen den Zarfall mittelalterlicher Wandgemãld. **Wandmalereischãden Arbeitshefte Denkmalpflege Niedersachsen**, Weiningen, v.8, p.115-121, 1990.

- KRUMBEIN *et al.* Interactions of microbes with consolidants and biocides used in the conservation of rocks and mural paintings. In: INTERNATIONAL RILEM / UNESCO CONGRESS HELD AT THE UNESCO HEADQUARTERS, Paris, 1993. **Proceedings...** Conservation of stone and other materials. London, 1993. v.2.

- KUHN P.J. *et al.* **Biochemistry of cell walls and membranes in fungi**. Heidelberg: Springer-Verlag, 1990. 524p.

- KUMAR, R.; SHARMA R.K. Conservation of deul of the Lord Jagannath temple, Puri (Orissa), India: A case study. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON DETERIORATION AND CONSERVATION OF STONE, 7., 1992, Lisbon, Portugal. **Proceedings...** Lisboa: Laborat3rio Nacional de Engenharia Civil, 1992. v.80, p.1471.

- KUMAR, R.; KUMAR, A.V. **Biodeterioration of stone in tropical environments: An overview**. Los Angeles: Getty Conservation Institute, 1999. 96p.

- LAMBOURNE, R.; STRIVENS, T.A. **Paint and Surface Coatings Theory and Practice**. Cambridge: Woodhead, 1999, 784p.

- LOAËC *et al.* Uptake of lead, cadmium and zinc by a novel bacterial exopolysaccharide. **Water Research**, London, v.31, p.1171-1179, 1997.
- MAMONOVA *et al.* Catapol, a new polymer in restoration. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON DETERIORATION AND CONSERVATION OF STONE, 6., 1988, Torun. **Proceedings...** Torun, Poland: Nicholas Copernicus University Press Department, 1988. v.2, p.262-267.
- MARTIN, F.; DELARUELLE, C.; HILBERT, J. L. An improved ergosterol assay to estimate fungal biomass in ectomycorrhizas. **Mycological Research**, London, v.94, n. 8, p.1059-1064, 1990.
- MATSUNAGA, T. *et al.* An ultra-violet (uv-a) absorbing bioprotein glucoside from marine planktonic cyanobacterium *Oscillatoria* sp. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Heidelberg, v.39, n. 2, p.250-253, 1993.
- MAY, E. *et al.* Microbial deterioration of building stone - a review. **Biodeterioration Abstracts**, London, v.7, p.109-123, 1993.
- MAYER *et al.* The role of intermolecular interactions: studies on model systems for bacterial biofilms. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdã, v.26, p.3-16, 1999.
- MCNASPY, C.J.; BLANCH, J.M. **Las Ciudades Perdidas del Paraguay**. Asunción: Litocolor, 1991. 159p.
- MISHRA *et al.* Role of higher plants in the deterioration of historic buildings. **The Science of the Total Environment**, Michigan, v.167, p.375-392, 1995.
- MONTAÑO CARRION, R. Optimización de la Explotación del Sistema Acuífero Jurásico Triásico Tacurembó- Buena Vista. In: CONGRESSO BRASILEIRO D'ÁGUAS SUBTERRÂNEAS, ABAS, 6., 1990, Brasil. **Anais**. São Paulo, 1990. p.180-198.
- MORTON, L.; LOVELL, M.; MITCHELL, A. Effect of maceration on filamentous algae used for the testing of algicidal compounds. **International Biodeterioration**, London, v.20, n. 12, 1984.
- MÜLLER, F. **Agrochemicals composition, production, toxicology, applications**. Weinheim: Wiley-VCH, 2000. 1031 p.
- NEWELL, S.Y.; ARSUFFI, T.L.; FALLON, R.D. Fundamental procedures for determining ergosterol of decaying plant material by liquid chromatography. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 54, n. 7, p.1876-1879, 1988.
- OKSANEN, L. *et al.* Exploitation ecosystems in gradients of primary productivity. **The American Naturalist**, Chicago, v.118, p.240-261, 1981.

- PADULA, E.; MINGRAMM, A. Estratigrafía, distribución y cuadro geotectónico - sedimentario del "Triásico" en el subsuelo de la llanura Chaco-Paranense. In: JORNADAS GEOLÓGICAS ARGENTINAS, 3., 1968, Argentina. **Actas**. Buenos Aires, 1968. v.1, p.291-331.
- PARKS, L.W.; CASEY, W.M. Physiological implications of sterol biosynthesis in yeast. **Annual Review of Microbiology**, North Carolina v.49, p. 95-116, 1995.
- PAUL, S. **Surface Coatings**. New York: John Wiley & Sons, 1996. 931 p.
- PIERVITTORI, R.; SALVADORI, O.; LACCISAGLIA, A. Literature on lichens and biodeterioration of stonework. II. **Lichenologist**, Cambridge, v.28, p.471-483, 1996.
- POTTS, M. Desiccation tolerance of prokaryotes. **Microbiological Reviews**, Washington, v.58, p.755-805, 1994.
- RICHARDSON, B.A. Control of microbial growths on stone and concrete. In: BIODETERIORATION AND BIODEGRADATION 9., 1995, Rugby. **Proceedings...** Rugby: Inst. Chem. Eng., 1995. p.101-106.
- RIPPKA, R. *et al.* Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. **Journal of General Microbiology**, Reading, v.111, p.1-61, 1979.
- RIPPKA, R. Recognition and identification of cyanobacteria. **Methods in Enzymology**, London, v.167, p.28-67, 1988.
- ROISENBERG, A.; GAMERMANN, N. **Estudo da alteração das pedras de arenito das ruínas de São Miguel**. Porto Alegre: Instituto de Geociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1985. 23p. (Documento 98)
- ROY, A.; TRIPATHY, P.; ADHIKARY, S.P. Epilithic blue-green algae / cyanobacteria from temples of India and Nepal. Presence of ultraviolet sunscreen pigments. **Archiv Fuer Hydrobiologie Supplementband**, Stuttgart, v.120, p.147-161, 1997.
- RUIZ, C. **Materiales para caminos**. Resistencia: Departamento de vías de comunicación. Facultad de ingeniería, 1971. 160p.
- RUSSELL, N.J. Functions of Lipids: Structural roles and membrane functions. In: RATLEDGE, C.; WILKINSON, S.G. **Microbial Lipids**, London: Academic Press, 1989, p.277-365.

- SAAD, D.S. *et al.* Ergosterol analysis for the quantification of fungal growth on paint films. Proposal for a standard method. **JOCCA – Surface Coatings International**, London, Part B, v.86, p.131-134, 2003.
- SAIZ-JIMENEZ, C. Biodeterioration of stone in historic buildings and monuments. In: BIODETERIORATION RESEARCH : MYCOTOXINS, WOOD DECAY, PLANT STRESS, BIOCORROSION, AND GENERAL BIODETERIORATION, 4., 1994, New York. **Proceedings...** New York: Plenum Press, 1994. p.586-604.
- SANTEGOEDS, *et al.* Structural and functional dynamics of sulfate-reducing populations in bacterial biofilms. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.64, p.3731-3739, 1981.
- SCHOPF, J.W. **The oldest fossils and what they mean**: Major events in the history of life. [S.l.] : Jones and Bartlett, 1992. p.29-63.
- SEGALEN, P.; LEAL SILVA, J.N. Le fer, le manganèse, l'aluminium et la silice facilement extractibles dans les sols tropicaux a sesquioxydes. **Cahiers ORSTOM. Série Pédologie**, Paris, v.7, n. 3, p.287-310, 1969.
- SLATYER, R. O.; CONNELL, J. H. Mechanisms of succession in natural communities and their role in community stability and organization. **The American Naturalist**, Chicago, v.111, p.1119-1144, 1977.
- SOUZA A.; GAYLARDE CC. Biodeterioration of varnished wood with and without biocide: implications for standard test methods. **International Biodeterioration and Biodegradation**, London, v.49, p.21-25, 2002.
- STOYE, D.; FREITAG, W. **Paints, Coats and Solvents**. Weinheim: Wiley-VCH, 1998. 424 p.
- STRYER, L. **Biochemistry**. 4th ed. New York: W.H. Freeman & Co., 1995. 1064p.
- SUTHERLAND Mini-Review: Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. **Microbiology**, Reading, v.147, p.3-9, 2001.
- TEDESCO, M.J *et. al.* **Análise de Solo, Plantas e outros Materiais**. Porto Alegre: Departamento de Solos da UFRGS, 1995. 174p.
- TERUGGI M. E. Bosquejo geológico del Paraguay y la provincia de Corrientes. **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica (Suplemento)**, Buenos Aires, v.11, p.1-15, 1970.
- TERZAGHI, K.; PECK, R. B. **Mecánica de suelos**. Buenos Aires. 1969. 450p.

- TIANO, P. Biodeterioration of stone monuments: A critical review. In: RECENT ADVANCES IN BIODETERIORATION AND BIODEGRADATION, 1993, Calcutta. **Proceedings...** Calcutta: Naya Prokash, 1993. p.300-321.

- TIANO, P.; ACCOLLA, P.; TOMASELLI, L. Phototrophic biodeteriogens on lithoid surfaces – an ecological study. **Microbial Ecology**, New York, v.29, p.299-309, 1995.

- VERKHOLANTSEV, V.V. Biocides. **European Coatings Journal**, Hannover, v.4, p. 56-60, 2000.

- WARSCHEID, T.; PETERSEN, K.; KRUMBEIN, W.E. A rapid method to demonstrate and evaluate microbial activity on decaying sandstone. **Studies in Conservation**, Weinheim, v.35, p.137-147, 1990.

- WEBER, K. Application of Biocides in Waterborne Coatings. In: DAVINSON, G.; SKUSE, D.R. **Advances in Additives for Water-based coatings**, London: Royal Society of Chemistry, 1999. p.61-73.

- WICKS, W.Z. JR. **Organic coatings: science and technology**. New York: John Wiley & Sons, 1992. 343p.

- WILSON, M.J.; JONES, D.; MCHARDY, W.J. The weathering of serpentinite by *Lecanora atra*. **Lichenologist**, Cambridge, v.13, p.167-176, 1981.

APÊNDICE A

As fotografias mostram alguns dos pontos de coleta dos locais que foram objeto de estudo. As amostras foram retiradas pela técnica da fita adesiva de Gaylarde e Gaylarde (1998).

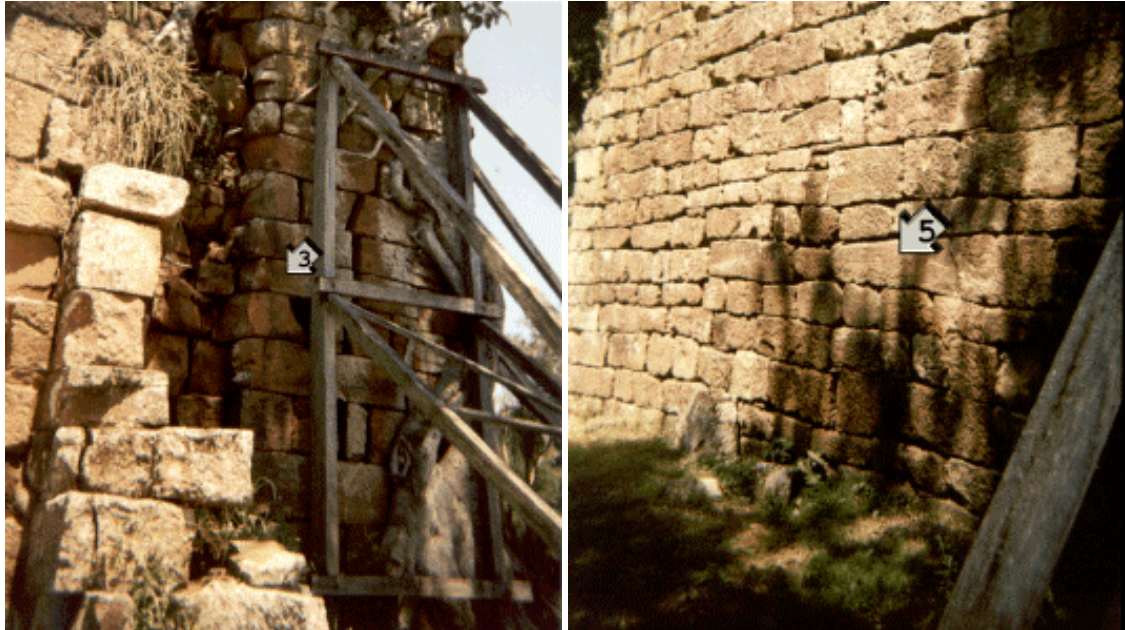


Figura 25 Amostras [3] e [5] retiradas da parede do templo e das oficinas (Santa Ana).



Figura 26 (esq) amostra [1] retirada de uma coluna das viviendas em Loreto. **(dir)** amostra [5] retirada da parede exterior da parte frontal do templo em San Ignacio.

APÊNDICE B

Composição do meio mineral utilizado para sub-cultivo das cianobactérias. Para meio sólido foi agregado bacto-ágar em proporção de 15g/L.

Meio de Knop Modificado (MKM)

Sais minerais	(g / L)

KNO ₃	1,25
KH ₂ PO ₄	1,25
MgSO ₄ ·7H ₂ O	2,50
Fe ₂ (SO ₄) ₃	0,004
C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇ (Citrato de Sódio)	0,3
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,036
Solução de	1mL
Micronutrientes	
Micronutrientes	(g / L)

H ₃ BO ₃	2,86
MnCl ₂ ·4H ₂ O	1,81
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,222
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,39
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,079
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,045

APÊNDICE C

O software para análise de imagens "BioImAn v2.0", foi desenvolvido durante as pesquisas, e teve como objetivo colaborar com as avaliações visuais.

Ele trabalha com imagens BMP RGB de 24 bits. O algoritmo basicamente calcula e gráfica o histograma de cada canal da imagem (Red - Green - Blue), logo faz a integral da área coberta por cada histograma, e finalmente calcula as diferenças ponderadas de cada canal com a luminância para cada um dos pixels da imagem.

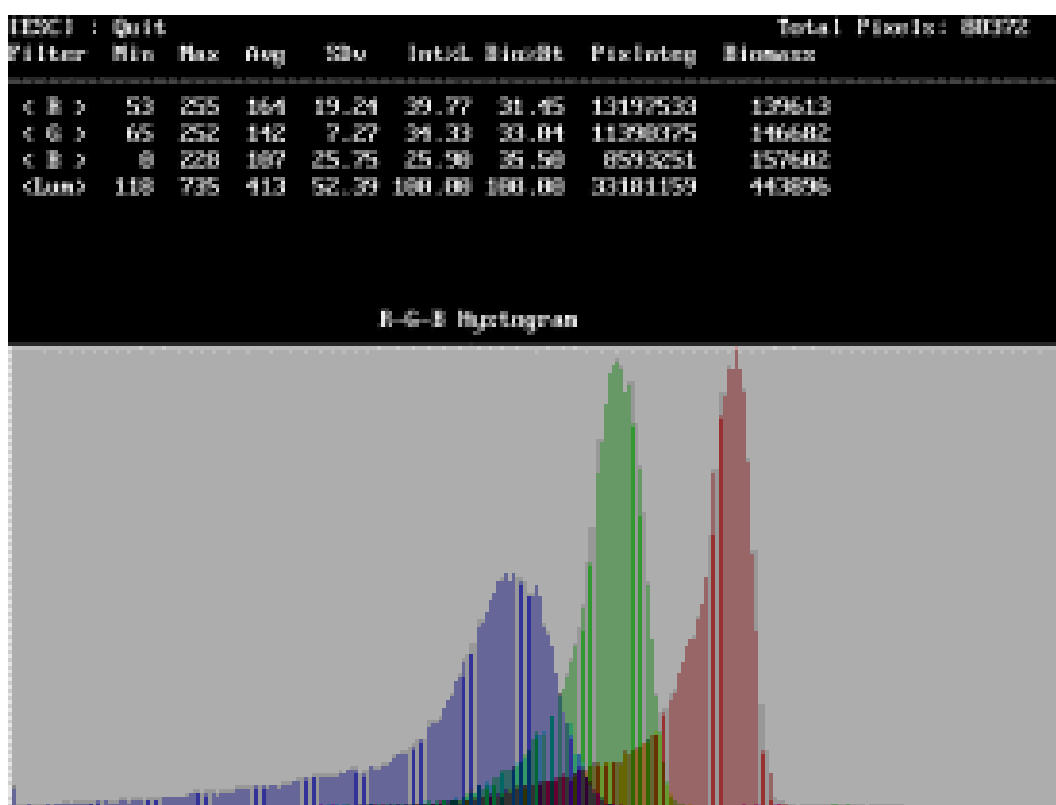


Figura 27 "Screen-shot" da tela apresentada pelo software de análise de imagens.

APÊNDICE D

Tabela 29 Proporção dos óxidos minerais, óxidos totais, e perda de voláteis ao fogo das amostras retiradas dos quatro locais das ruínas.

Nome Amostra	K ₂ O %	CaO %	MgO %	P ₂ O ₅ %	Fe ₂ O ₃ %	MnO %	ZnO %	Óxidos Totais %	Perda ao fogo %
SA_1N	0,04721	0,02332	0,0544	0,03818	0,3234	0,00142	0,00151	0,48944	3,01003
SA_1S	0,05046	0,02332	0,0544	0,04243	0,68512	0,00427	0,00238	0,86238	6,9869
SA_2N	0,02116	0,01865	0,04352	0,05174	0,38311	0,0057	0,00129	0,52517	3,37838
SA_2S	0,0293	0,01865	0,04456	0,04137	0,72674	0,00712	0,00151	0,86925	5
SA_3	0,13903	0,01865	0,15897	0,30952	53,1192	0,75277	0,00484	54,5029	9,95025
SA_4N	0,05209	0,0171	0,0658	0,03394	0,65631	0,00332	0,00129	0,82985	3,98671
SA_4S	0,05535	0,02021	0,05285	0,04031	0,78116	0,00427	0,00151	0,95565	7,173
SA_5N	0,03744	0,01399	0,04974	0,04773	0,48236	0,00237	0,00151	0,63514	6,55738
SA_5S	0,04558	0,02021	0,06321	0,03925	0,49196	0,00285	0,00394	0,66699	4,0678
SA_6N	0,0293	0,0171	0,08534	0,04455	0,30067	0,00332	0,00085	0,48113	5,7047
SA_6S	0,03744	0,02021	0,07232	0,04879	0,45675	0,00854	0,00085	0,6449	3,65449
SA_7	0,17154	0,01399	0,18976	0,18946	31,7673	0,14476	0,00394	32,4808	12,0773
SA_8	0,15296	0,0171	0,16449	0,25234	49,0181	0,40534	0,00461	50,0149	11,0553
SA_9N	0,05372	0,01554	0,05958	0,06354	0,6371	0,00332	0,00173	0,83453	3,91304
SA_9S	0,05535	0,01865	0,05699	0,03925	0,74595	0,0038	0,00151	0,92149	5,80357
SA_10	0,14368	0,01399	0,14814	0,25692	41,0111	0,57905	0,00619	42,1591	10,8434
L_1_N	0,13903	0,02798	0,18581	0,04243	0,6467	0,00427	0,00238	1,0486	8,26087
L_1_S	0,14135	0,02798	0,15897	0,05617	0,70433	0,00427	0,00107	1,09414	5,15021
L_2_N	0,03744	0,02176	0,0601	0,03712	0,30067	0,00332	0,00129	0,46171	4,33333
L_2_S	0,04232	0,02953	0,07291	0,04667	0,67551	0,00332	0,00129	0,87156	4,66667
SI_1	0,14832	0,01244	0,11253	0,16473	48,4322	0,49219	0,00238	49,3648	12,7451
SI_2	0,0968	0,00933	0,10801	0,15522	52,7286	0,28953	0,00596	53,3934	10,6599
SM_1	0,25813	0,04508	0,10801	0,28436	44,1358	1,95547	0,00664	46,7935	13,6546
SM_2	0,17154	0,02332	0,14588	0,29808	39,8394	0,69486	0,00416	41,1772	11,6162
SM_3N	0,15761	0,02487	0,0456	0,05469	0,80037	0,00712	0,00107	1,09133	4,33333
SM_3S	0,14832	0,02798	0,03575	0,04349	0,79717	0,01139	0,00151	1,06561	4,0404
SM_4N	0,15064	0,02643	0,0601	0,04349	0,76196	0,00475	0,00042	1,04777	3,47826
SM_4S	0,14832	0,02798	0,06528	0,05322	0,69152	0,0038	0,00129	0,99141	5,60345
SM_5	0,19011	0,42244	2,6095	0,22032	10,3159	0,05305	0,00484	13,8162	7,71812
PoA_N	0,1785	0,02487	0,04922	0,04879	0,49516	0,0019	0,00151	0,79995	3,42466
PoA_S	0,18082	0,04197	0,05181	0,07534	0,51757	0,00854	0,00107	0,87713	3,93013

APÊNDICE E

Como foi definido na introdução, as características físicas e estruturais dos materiais que conformam as rochas, influenciam grandemente os padrões de fluxo e armazenamento de água no interior do substrato. Assim, a composição química e mineralógica das superfícies expostas indicam a sua resistência à degradação físico-química e biológica (Guillitte & Dreesen, 1995).

Para os sedimentos de materiais granulares esféricos homogêneos, sabe-se que a porosidade irá variar entre 47,6% ($e=0,91$) para um arranjo cúbico, e 25,9% ($e=0,35$) para um arranjo tetraédrico (Bakke *et al.*, 1997). No caso destas sedimentitas siliciclásticas, o tipo, a forma e a distribuição granulométrica dos clastos conferem as suas boas propriedades mecânicas, principalmente resistência à compressão " σ " (Roisenberg & Gamermann, 1980). No entanto, a granulometria e composição da matriz secundária (feldspatos e silicatos nestes arenitos), e a mineralogia da cimentação (principalmente caulinita, óxidos de Fe-Mn e sílica) modificam a porosidade " n " e a permeabilidade " K " da rocha, e conseqüentemente a sua susceptibilidade aos fatores ambientais.

Do ponto de vista matemático a distribuição hídrica total em materiais porosos pode ser dividida em dois parâmetros: a permeabilidade e a intensidade das forças de capilaridade (Terzaghi & Peck, 1969).

- **Permeabilidade.** Importante para fluxos por gravidade ou por gradiente de pressão. A permeabilidade depende, no entanto, da relação de

vazios "**e**" (equação 5.1), do diâmetro efetivo das partículas "**D₁₀**" (ou seja, que 10% em peso das partículas da curva granulométrica da figura 4.1 são menores que o diâmetro **D₁₀**) e do seu arranjo tridimensional (equação 5.2).

$$e = \frac{n}{1-n} \quad (5.1)$$

$$K = C_1 * \frac{\eta}{\gamma_w} * D_{10}^2 \quad (5.2)$$

Com o valor da permeabilidade (**K**) pode se calcular a velocidade de permeação sob pressão dentro da rocha (equação 5.3).

$$v = \frac{K}{\eta} * \gamma_w * i \quad (5.3)$$

- **Capilaridade.** Parâmetro importante para corpos com superfícies expostas a gradientes de umidade. Sendo que as forças capilares dependem do diâmetro médio dos poros e da tensão superficial do material, mas não da pressão externa (equação 5.4).

$$hc = \frac{4 * \tau_s}{D_{mp} * \gamma_w} * \cos(\alpha) \quad (5.4)$$

No entanto, deve ser observado que quando aumenta o diâmetro médio dos poros, **K** aumenta e **hc** diminui, o que leva a pensar que existe uma "porosidade crítica" por encima da qual predominam os efeitos de fluxo por permeabilidade; sendo que por debaixo predominam os efeitos de fluxo e armazenamento d'água capilar.

Com respeito ao tipo de cimentação, pode se dizer que além de modificar a permeabilidade, aquele confere resistência aos esforços de corte "**τ**" e de tração dos blocos de arenito, sendo essa relação definida na equação 5.5 (Ruiz, 1971).

$$\tau = c + \sigma * \tan(\theta) \quad (5.5)$$

O coeficiente **c** depende de um fator de coesão e de um fator de cimentação (forças que tendem a manter os grãos unidos). O fator de coesão é muito baixo para materiais quartzosos (inclusive para siltes muito finos), diferentemente das argilas de superfícies muito ativas (alta superfície específica). O fator de cimentação possui valores altos para materiais semelhantes ao arenito, com deposições químicas intergranulares de origem feldspática e silicácea.

O termo **tan(θ)** depende de um fator de travamento intergranular (e conseqüentemente da forma e disposição dos clastos); assim como da resistência intrínseca dos grãos à ruptura por compressão ou corte.

Essas relações entre os materiais constituintes das rochas, suas estruturas e formas de agregação na matriz, explicam o porquê da ruptura e descamação dos blocos submetidos a esforços em muros, colunas e pisos. O crescimento de organismos nas superfícies e dentro dos poros dos blocos de arenito, afetam a distribuição espacial e temporal dos fluxos de umidade, aumentando a retenção d'água interna. Tais mudanças promovem remobilização e redissolução dos minerais constituintes da cimentação, ataque químico aos clastos da rocha, e aumento da porosidade. Conseqüentemente mais organismos deteriorogêneos podem se desenvolver nos diferentes nichos dentro do biofilme, dando suporte finalmente a organismos superiores com mais efeitos destrutivos diretos, como as raízes de plantas e árvores.

O resultado direto da remobilização de cátions do núcleo para a superfície dos blocos é a formação de crostas, que diminuem a área de

distribuição de cargas, levando à ruptura dos blocos por aparição de esforços de corte ou tração (sendo que a resistência a compressão é superior às de corte e tração para materiais granulares cimentados). O distinto coeficiente de dilatação térmica entre a crosta e a rocha, promovem a desagregação superficial dos blocos expostos a altas taxas de insolação (nesse caso os biofilmes escuros dos organismos contribuem para a absorção de energia solar, elevando mais rapidamente a temperatura da superfície pétrea).

APÊNDICE F

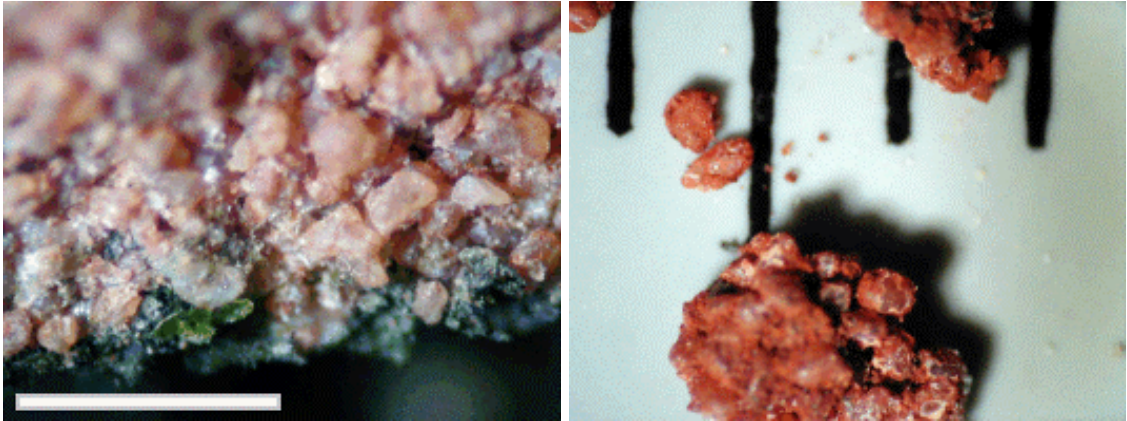


Figura 28 (esq.) Detalhe da granulometria e o biofilme superficial (Barra = 1mm). **(dir.)** Detalhe da cimentação de minerais de ferro (a separação entre marcas indica 1mm).

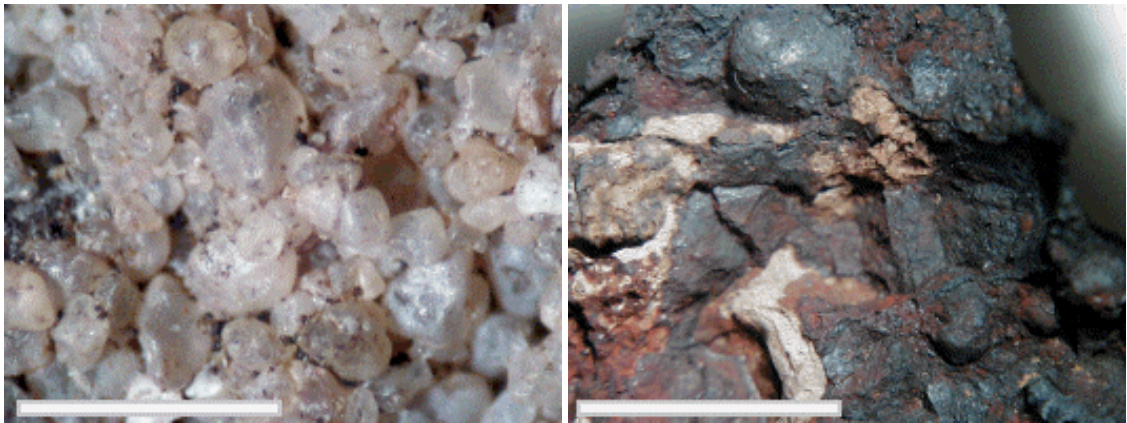


Figura 29 (esq.) Detalhe de granulometria e cimentação para as amostras de Santa Maria. **(dir.)** detalhe da composição predominante de ferro nos itacurus.

APÊNDICE G

Os microrganismos que cresceram em meio mineral (MKM) foram observados por microscopia de campo claro, de campo obscuro, de contraste de fases e de epifluorescência para testar viabilidade. As figuras 30.a e b (esquerda e direita) mostram a mesma lâmina preparada a partir de um biofilme obtido da superfície de uma das amostras e pedra. O campo de observação apresenta uma mistura de algas verdes cocóides, cianobactérias filamentosas e hifas fúngicas. Os pigmentos fotossintéticos produzem cores avermelhadas (figura 30.b direita), quando irradiadas com luz UVB e observados através de filtros específicos.

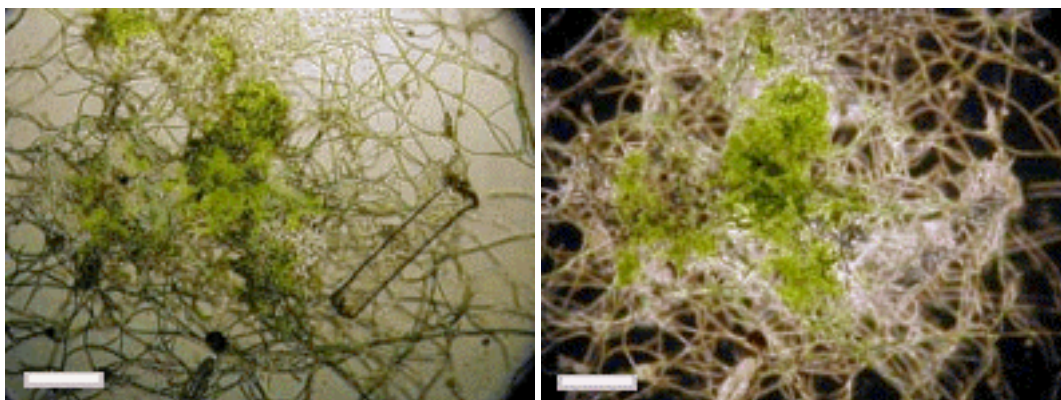


Figura 30.a (esq) imagem por microscopia de campo claro. **(dir)** imagem por microscopia de campo obscuro. (Barra = 15 μ m)

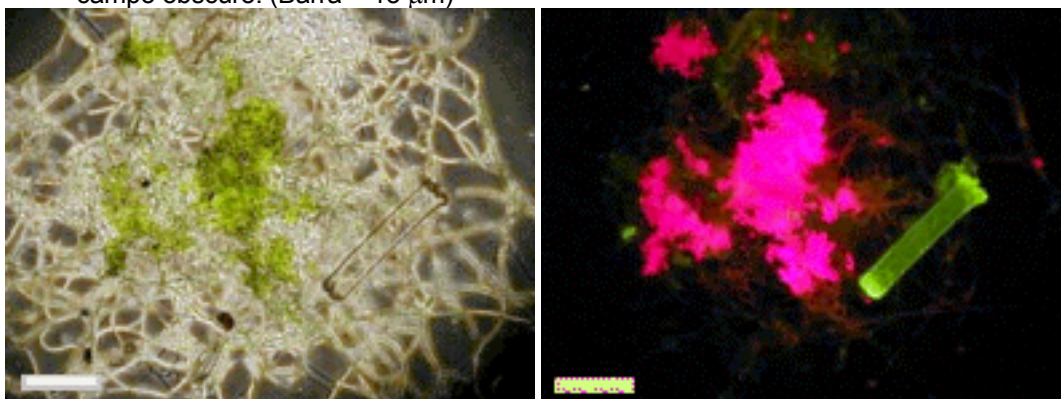


Figura 30.b (esq) imagem por microscopia de contraste de fases. **(dir)** imagem por microscopia de epifluorescência. (Barra = 15 μ m)

VITA

NOME : Martín Rubén Espartaco Barrionuevo. IDENTIDADE: 22.141.340. DATA DE NACIMENTO : 24 – 05 – 1971.
NACIONALIDADE: Argentino (Misiones). FILIAÇÃO : Solteiro.

EXPERIÊNCIA DE TRABALHO

Profesor

1992–1994. Bach.Poliv. No 8 (C.O.L.): MATEMÁTICA, FÍSICA, FISICOQUÍMICA y QUÍMICA.
1997–2001. I.P. "Beato Arnoldo Janssen": SISTEMAS DE TELEVISIÓN y LABORATORIO DE COMPUTADORAS.
1999–2001. ALFA Computación. "TÉCNICO EN INSTALACIÓN, MANTENIMIENTO Y REPARACIÓN DE COMPUTADORAS " (Teoría y Práctica).

Técnico

1999–2001. ALFA Computación. TÉCNICO EN INSTALACIÓN, MANTENIMIENTO Y REPARACIÓN DE COMPUTADORAS.

Trabalho de Campo e ou Fábrica

Engenheiro

1998–1999 U.Na.M. – Dir.Gen.Const. Trabajo de campo, Diseño, Cálculo y participación en el Proyecto de la PLANTA DE POTABILIZACIÓN DE AGUA del Campus Universitario.

1999–2000. U.Na.M. – Lab. Central. Actualización y Desarrollo de SOFTWARE para equipamiento de Laboratorio. Adaptación, Reparación y Mantenimiento de HARDWARE para equipamiento y computadoras PC en el Laboratorio.

2000. Dir.Gral.Reg.Urbana – M.P. Optimización del Servicio de Bromatología correspondiente a la SECRETARÍA de CALIDAD de VIDA de la MUNICIPALIDAD de la Ciudad de POSADAS.

2000. Dir.Gral.Reg.Urbana – M.P. DEPARTAMENTO de ANÁLISIS FISICOQUÍMICOS correspondiente a la DIRECCIÓN de LABORATORIO de BROMATOLOGÍA.

2001. SIAP Provincia de Misiones. " SISTEMAS OPERATIVOS DE RED " (Teoría). " ADMINISTRACIÓN BAJO Microsoft Windows NT " (Teoría y Práctica) " ADMINISTRACIÓN BAJO UNIX SystemV.R4 " (Teoría y Práctica).

ESTÁGIOS

1998. I.T.A.C.A.R. S.A. Práctica en Fábrica obligatoria requerida por la Carrera de INGENIERÍA QUÍMICA. Reacondicionamiento y Reactivación del Laboratorio de Análisis Químicos y Fisicoquímicos de Planta. COORDINACIÓN Y DESARROLLO del producto para nueva línea de producción.

1999. U.Na.M. – FCEQyN – MBQyF. Investigación requerida por la Cátedra de FITOQUÍMICA de la Carrera de INGENIERÍA QUÍMICA, Orientación en Tecnología de los Productos Naturales. Investigación de Alcaloides y Esencias presentes en plantas de *Boldea boldus*.

1999. A.N.M.A.T. – Ins.Nac.Medic. Práctica y Entrenamiento en las Técnicas de Valoración Microbiológica de Antimicrobianos.

EDUCAÇÃO / TITULAÇÕES

1983–1988. E.N.E.T. No 1 "UNESCO". MAESTRO MAYOR DE OBRAS.

1984–1985. I.L.C. AUXILIAR TÉCNICO ELECTROMECAÁNICO.

1991–1993. I.P.Te. TÉCNICO EN RADIO TELEVISIÓN Y ELECTRÓNICA.

1994. E.P.E.T. No 2 "C.M.G. de F.". ESPECIALIZACIÓN EN LUMINOTECNIA.

1995. C.D.I. TÉCNICO EN INSTALACIÓN, MANTENIMIENTO Y REPARACIÓN DE COMPUTADORAS.

1995. U.Na.M. – Fac.Cs.Ex.Qcas.Nat. Módulos I – II – III – IV correspondientes al curso de CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS.

1994–1999. U.Na.M. – Fac.Cs.Ex.Qcas.Nat. INGENIERO QUÍMICO.

1997–1999. U.Na.M. – Fac.Cs.Ex.Qcas.Nat. LABORATORISTA QUÍMICO INDUSTRIAL.

1998–1999. U.Na.M. – Fac.Cs.Ex.Qcas.Nat. ORIENTACIÓN EN INGENIERÍA AMBIENTAL.

1999. U.Na.M. – Fac.Cs.Ex.Qcas.Nat. ORIENTACIÓN EN TECNOLOGÍA DE LOS PRODUCTOS NATURALES.

1999. U.Na.M. – Fac.Cs.Ex.Qcas.Nat. ORIENTACIÓN EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS.

2000–2001. U.Na.M. – Fac.Cs.Ex.Qcas.Nat. ORIENTACIÓN EN CELULOSA Y PAPEL.

PESQUISA

1999. U.Na.M. – C.I.D.E.T. AUXILIAR DOCENTE DE SEGUNDA (Adscripto). Proyecto de Investigación: EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN DE STEVIÓSIDOS. Proyecto de Investigación: ESTUDIO DE ACEITES ESENCIALES DE ESPECIES VEGETALES DE LA PROVINCIA DE MISIONES.

2000. U.Na.M. – C.I.D.E.T. AUXILIAR DOCENTE DE PRIMERA con DEDICACIÓN SEMIEXCLUSIVA. Proyecto de Investigación: ACCIÓN BIOLÓGICA DE EXTRACTOS VEGETALES DE PLANTAS MISIONERAS III.

2004. U.F.R.G.S. – Physiological and microbiological analyses in sandstones of the ruins of the Jesuit missions in Argentina. Accepted for publication in the Proceedings of LABS 5, the 5th Latin American Biodgradation and Biodeterioration Symposium.

CURSOS

1996. U.Na.M. – Fac.Cs.Ex.Qcas.Nat. LIXIVIACIÓN BACTERIANA Y SUS APLICACIONES.

1996. U.T.N. – Fac. Reg. DELTA. (1º Co.N.E.I.Q.). INGENIERÍA DE PROCESOS. INTRODUCCIÓN A LA SIMULACIÓN DE PROCESOS.

1997. U.N.S. (2º Co.N.E.I.Q.) (3º Co.La.E.I.Q.). DINÁMICA DE PROCESOS.

1999. U.T.N. – Fac. Reg. CÓRDOBA (4º Co.N.E.I.Q.) ELABORACIÓN DE CONSERVAS VEGETALES. QUÍMICA DE LAS MACROMOLÉCULAS.

1999. U.Na.M. – Fac.Cs.Ex.Qcas.Nat. Asistencia al Curso de NUTRICIÓN BÁSICA.

1999. U.Na.M. – Fac.Cs.Ex.Qcas.Nat. NUTRICIÓN. VITAMINAS Y MINERALES.

2000. ALFA Computación. PROGRAMACIÓN EN VISUAL BASIC (Teoría y Práctica). MICROSOFT VISUAL BASIC 6.0 Y SUS APLICACIONES.

WORKSHOPS

1996. Cjo.Pro.Arq.Ing. de MISIONES. JORNADAS DE PRESENTACIÓN DE PRODUCTOS EMU.

2000. U.Na.M. – Fac.Cs.Ex.Qcas.Nat. II JORNADAS PROVINCIALES EN CALIDAD FARMACÉUTICA. Medicina Homeopática. Suplementos Dietarios. Plantas Medicinales Regionales (Etnobotánica y Toxicología).