



Comité Nacional Paraguayo



Unión de Ingenieros de ANDE

VIII SEMINARIO DEL SECTOR ELÉCTRICO PARAGUAYO – CIGRE
28, 29, y 30 DE OCTUBRE DEL 2008

Fungos Filamentosos no Basalto e sua Influência na Biodeterioração

Leonilda C. dos Santos, M.Sc.
Laboratório Ambiental
Itaipu Binacional
Foz do Iguaçu – PR – Brasil

Nora Díaz Mora, Dra. Eng.
LaMat - Laboratório de Materiais
UNIOESTE/PTI - Foz do Iguaçu
Foz do Iguaçu - PR - Brasil

RESUMEN

Diversos fatores menos explorados, como a biodeterioração do concreto por efeitos de fenômenos químicos, físicos e biológicos podem ajudar, embora lentamente, ao comprometimento da segurança da barragem de uma Usina Hidrelétrica. Entre os microorganismos que contribuem para essa biodeterioração encontram-se fungos, bactérias e líquens. As rochas da região de Foz do Iguaçu são constituídas de basaltos da formação Serra Geral, as quais podem sofrer alterações na sua composição e biodeterioração pela influência de fatores ambientais. No sentido de contribuir com parâmetros adicionais para o monitoramento e avaliação da segurança da barragem da Usina Hidrelétrica de Itaipu, neste trabalho foi realizado um estudo microbiológico de 16 amostras de basalto coletadas dos túneis de rocha das elevações 55, 60 e 125m, das quais cinco são de rocha "sadia" e onze de rochas com biofilme. Para cada amostra foram realizados, no Laboratório Ambiental da Itaipu, ensaios de quantificação e identificação de fungos filamentosos. Para a quantificação utilizou-se o método spread plate e a identificação foi realizada por intermédio das características morfológicas dos fungos. Na quantificação de fungos filamentosos, nas amostras da rocha basalto "sadia" observou-se que a média aritmética é de $3,94 \times 10^2$ UFC/g, o valor mínimo foi de 0 UFC/g e o valor máximo de $1,25 \times 10^3$ UFC/g, entretanto, na rocha basáltica com biofilme e verifica-se que a média aritmética é de $9,96 \times 10^3$ UFC/g com valor mínimo de $6,81 \times 10^2$ UFC/g e o valor máximo de $3,64 \times 10^4$ UFC/g. Foram identificados os fungos filamentosos *Aspergillus sp.* e *Mucor sp.*, os quais eliminam ácidos orgânicos e conseqüentemente diminuem o pH da rocha, propiciando assim, a instalação de microorganismos responsáveis pelo processo da biodeterioração.

PALAVRAS-CHAVE

Biodeterioração, fungos, rochas basálticas, segurança de barragem.



1. INTRODUÇÃO

A biodeterioração é um fenômeno que envolve a participação dos microorganismos como bactérias e fungos, ou de macroorganismos (cupins, roedores, etc.) que contribuem para a deterioração de materiais de importância econômica expostos a condições ambientais específicas [1].

Estão documentados diversos casos de biodeterioração de materiais de natureza mineral como o mármore e granito ou mesmo pedras, e outros materiais cerâmicos como concreto e vidro por efeito de fatores químicos, físicos e biológicos. Destaca-se que entre os microorganismos que podem contribuir significativamente para a deterioração desses materiais encontram-se as bactérias redutoras de sulfato, bactérias sulfooxidantes, bactérias heterotróficas, fungos e líquens [2]. Esses microorganismos vivem tipicamente em comunidades, dificilmente vivem em colônias isoladas da mesma espécie como são visualizados em laboratórios sendo a biodeterioração o resultado de interações complexas entre grupos de microorganismos [3, 4].

Rochas são formações naturais compostas de um ou mais minerais. Muito embora as limitações de nutrientes, escassa umidade e a elevada exposição a radiação solar indiquem que os substratos rochosos apresentam condições adversas para o desenvolvimento de microorganismos, tem sido caracterizados uma grande quantidade de fungos e líquens em rochas ígneas ou sedimentares [5]. Esses microorganismos podem participar do processo de transformação e até de dissolução desses minerais. Um importante mecanismo contribuindo com o molhamento das rochas é resultado da excreção metabólica desses microorganismos, produzindo ácidos orgânicos que resultam na dissolução das rochas por ataque químico.

Na literatura são citados diversos trabalhos que confirmam alterações na composição e biodeterioração de rochas pela influência dos fatores ambientais [5, 6, 7 e 8]. Na Tabela I [7] estão identificadas os microorganismos mais frequentemente encontrados nas regiões tropicais e que estão caracterizados como potencialmente causadoras de biodeterioração.

Tabela I: Espécies de bactérias e fungos em prédios históricos e monumentos em regiões tropicais

Microrganismos	Ocorrência	Referência
<i>Bacillus sp.</i>	Tailândia e Cuba	Aranyanak (1992); Cepero et. al (1992); Martinez, Castro, Sanchez (1993).
<i>Pseudomonas sp.</i>	Tailândia	Aranyanak (1992)
<i>Staphylococcus sp.</i>	Cuba	Cepero et. al (1992)
<i>Candida albicans</i>	India	Mathur (1983-1984)
<i>Monilia sp.</i>	Cuba	Cepero et. al (1992)

Fonte: [7]

VIII SEMINARIO DEL SECTOR ELÉCTRICO PARAGUAYO – CIGRE
28, 29, y 30 DE OCTUBRE DEL 2008

As rochas da região de Foz do Iguaçu são constituídas de basaltos da formação Serra Geral do período Jurássico da era mesozóica. Os basaltos são rochas de origem vulcânica caracterizadas por lavas básicas que se espalharam por longas distancias em camadas subhorizontais a partir de grandes fendas abertas na crosta terrestres há mais de 140 milhões de anos. O Basalto é uma rocha escura que apresenta textura de grãos finos, podendo ter material vítreo em pequena quantidade (Figura 1). A composição química dos basaltos é muito constante, com teores de SiO_2 entre 45 e 55% e apresentado altos teores de óxido de Alumínio, Al_2O_3 , óxido de Cálcio, CaO , óxidos de Ferro (FeO e Fe_2O_3) óxido Magnésio, MgO e com baixos teores de óxidos de Sódio (Na_2O) e Potássio (K_2O).

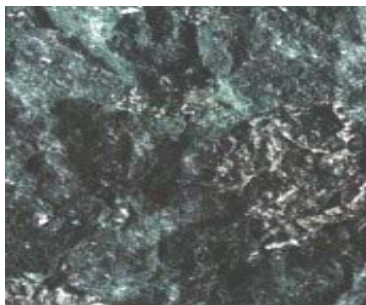


Figura 1 - Micrografia de amostra de basalto.

Recentemente, foi realizado um estudo microbiológico de amostras de rochas basálticas coletadas na região de Foz do Iguaçu, das quais 62 amostras foram coletadas em 1999 e 3 amostras foram extraídas de uma rocha fragmentada em 2004. As amostras retiradas de escavações em cinco diferentes profundidades foram analisadas pela técnica pour plate para a quantificação das bactérias heterotróficas e fungos. Concentrações de bactérias heterotróficas da ordem de 10^4 a 10^6 UFC/g e contagem de fungos da ordem de 10^3 a 10^5 UFC/g foram encontradas para as amostras coletas em 1999. Entretanto, em amostras coletadas em 2004 a contagem de bactérias e fungos foi da ordem de 10^8 a 10^9 UFC/g e 10^7 a 10^8 UFC/g respectivamente. Naquele trabalho os autores discutiram a influência de fatores climáticos no o crescimento bacteriano e fúngico nessas rochas basálticas [9].

A barragem da Usina Hidrelétrica de IB, foi construída utilizando basalto, concreto e rocha e. com o intuito de contribuir com parâmetros adicionais para o monitoramento e avaliação da segurança da barragem da UHI, neste trabalho foi realizado um estudo microbiológico de 16 amostras de basalto coletadas dos túneis de rocha das elevações 55, 60 e 125m, das quais cinco são de rocha "sadia" e onze de rochas com biofilme. A quantificação foi realizada pelo método spread plate e a identificação por intermédio das características morfológicas dos fungos.



2. FUNGOS FILAMENTOSOS E A BIODETERIORAÇÃO

O processo da biodeterioração ou corrosão induzida por microorganismos ocorre com a proliferação de microorganismos presentes na biota local (bactérias heterotróficas e fungos filamentosos), que ao multiplicar-se eliminam ácidos orgânicos fracos como produtos do metabolismo, os quais modificam o pH do local possibilitando a instalação de bactérias redutoras de sulfato, que eliminam gás sulfídrico (H_2S). Esse H_2S produzido é utilizado pelos ácidos-thiobacillus que eliminam ácido sulfúrico (H_2SO_4). Esse processo é contínuo e simultâneo pois ocorre a formação de biofilme com vários agentes biológicos envolvidos (bactérias, fungos, algas, protozoários, moluscos, etc.). Assim, a biodeterioração é influenciada principalmente pela concentração de microorganismos e conseqüentemente a baixa do pH [10].

Os microorganismos que degradam rochas e pedras artificiais têm sua origem na população microbiana (microbiota) do solo e do ar e sob condições atmosféricas favoráveis, eles se desenvolvem sobre esses materiais e aceleram o processo da biodeterioração [11].

Os fungos de superfície são capazes de crescer em condições de anaerobiose e em regiões de materiais com atividade de água (adsorvida) inferiores aos valores possíveis para crescimento bacteriano. Utilizam como substrato sais inorgânicos, óleo diesel ou hidrocarbonetos voláteis como única fonte de carbono. Assumem formação de manchas de coloração macromorfológica diferente (verde, rosa e cinza escuro) e, produzem uma variedade de ácidos orgânicos que podem desmineralizar vários substratos rochosos ou concretos, tal qual o *Aspergillus glaucus* [2].

Na biodeterioração de rochas como mármore, basalto, granito, etc. foram encontrados dentre outros os seguintes fungos: *Acremoniella*, *Acrodictis*, *Alternaria*, *Aphanocladium*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Coniothyrium*, *Curvularia*, *Engyodontium*, *Epicoccum*, *Exophiala*, *Fusarium*, *Homônima*, *Hortaea*, *Lecythophora*, *Lichenothelia*, *Lipomyces*, *Macrophoma*, *Melanospora*, *Memnoniella*, *Moniliella*, *Monillia*, *Monodictys*, *Mucor*, *Paecilomyces*, *Papulospora*, *Penicillium*, *Pestalotia*, *Phaeococcomyces*, *Phaeosclera*, *Phaeotheca*, *Phialophora*, *Phoma*, *Polyscytalum*, *Pseudobotrytis*, *Pycnidiella*, *Rhinocladium*, *Rhinoclatiella*, *Rhizoctonia*, *Rhizopus*, *Rhodotorula*, *Sarcinomyces*, *Scytalidium*, *Trimmatostroma*, *Ulocladium*, *Verticillium* [5]. Também é relatado o caso da biodegradação de basalto por *Penicillium simplicissimum* onde o fungo elimina compostos de ácido orgânico, conseqüentemente baixando o pH da rocha [12].

3. MATERIAL E MÉTODO

3.1 Identificação de Quantificação de Fungos

Coletou-se 16 amostras de basalto, sendo 5 amostras de rocha "sadia" e 11 amostras de rochas com biofilme, procedentes de túneis de rocha das Elevações 55, 60 e 125 (figuras 2) da barragem da Usina Hidrelétrica de Itaipu- Foz do Iguaçu - PR - Brasil. As amostras coletadas apresentavam uma fina cobertura de material particulado de granulometria fina (pó) de cor esverdeada e em outras coletas observou-se aparência de cor amarelada, essa camada se estende de 1 até 5mm de espessura.. Na figura 1 foi mostrada uma micrografia da amostra 1 da rocha basáltica sadia. As amostras foram fragmentadas, acondicionadas em frasco estéril e encaminhadas ao Laboratório Ambiental - Itaipu Binacional para a análise microbiológica.



Figura 2 – Local das escavações para extração de amostras de rochas com biofilme utilizadas para estudo microbiológico da rocha basáltica.

Para cada amostra realizou-se a quantificação e a identificação de fungos filamentosos. Para a quantificação utilizou-se o método spread plate, sendo o resultado expresso por grama da amostra; e a identificação foi realizada por intermédio das características morfológicas dos fungos [13]. Para o crescimento do fungo no laboratório utilizou-se placas de Petri contendo o meio de cultura Sabouraud com 2% de dextrose, os quais foram incubados na temperatura de 25°C por 4 dias.

4. RESULTADOS

Na tabela II são apresentados os resultados da quantificação e a identificação dos fungos nas amostras de rocha "sadia", entretanto na tabela III são apresentados esses resultados para as amostras com biofilme.

VIII SEMINARIO DEL SECTOR ELÉCTRICO PARAGUAYO – CIGRE
28, 29, y 30 DE OCTUBRE DEL 2008

Tabela II: Quantificação e Identificação de Fungos Filamentosos em rocha (basalto) "sadia", em túneis da Usina Hidrelétrica de Itaipu

Amostras - Local	Quantificação de Fungos UFC/g	Identificação de Fungos
1 (El. 125)	0	Ausente
2 (El. 60)	$7,23 \times 10^2$	<i>Aspergillus sp.</i> , <i>Mucor sp.</i>
3 (El. 60)	0	Ausente
4 (El. 55)	0	Ausente
5 (El. 55)	$1,25 \times 10^3$	<i>Mucor sp.</i>

Tabela III: Quantificação e Identificação de Fungos Filamentosos em rocha basálticas com biofilme, em túneis da Usina Hidrelétrica de Itaipu

Amostras / Local	Quantificação de Fungos UFC/g	Identificação de Fungos
1 (El. 125)	$1,25 \times 10^4$	<i>Aspergillus sp.</i> , <i>Mucor sp.</i>
2 (El. 125)	$1,94 \times 10^3$	<i>Mucor sp.</i>
3 (El. 60)	$6,23 \times 10^3$	<i>Mucor sp.</i>
4 (El. 60)	$7,97 \times 10^3$	<i>Aspergillus sp.</i> , <i>Mucor sp.</i>
5 (El. 60)	$3,64 \times 10^4$	<i>Aspergillus sp.</i> , <i>Mucor sp.</i>
6 (El. 60)	$7,75 \times 10^3$	<i>Mucor sp.</i>
7 (El. 60)	$3,20 \times 10^4$	<i>Aspergillus sp.</i>
8 (El. 55)	$5,50 \times 10^3$	<i>Mucor sp.</i>
9 (El. 55)	$6,81 \times 10^2$	<i>Aspergillus sp.</i>
10 (El. 55)	$1,01 \times 10^3$	<i>Aspergillus sp.</i>
11 (El. 55)	$1,66 \times 10^3$	<i>Aspergillus sp.</i> , <i>Mucor sp.</i>

Como se verifica nessa tabelas, foram isolados os fungos filamentosos *Aspergillus sp.* e *Mucor sp.* Na figura 3 é mostrada uma fotografia de placa de cultura na qual podem ser identificados nas regiões escuras os fungos *Aspergillus sp.* e nas partes mais claras aqueles do tipo *Mucor sp.*



Figura 3 - Cultura de fungos (*Aspergillus sp.* e *Mucor sp.*) isolados na amostra 1.



Na tabela IV são apresentados os valores máximos e mínimos e as medias aritméticas da quantificação de fungos filamentosos, nas amostras da rocha de basalto "sadia" e na rocha basáltica com biofilme.

Tabela IV - Valores mínimo, máximo e média da quantificação de fungos em rocha "sadia" e rocha com biofilme, na Usina Hidrelétrica de Itaipu.

Rocha	Valor Mínimo	Valor Máximo	Média Aritmética
"sadia"	0 UFC/g	$1,25 \times 10^3$ UFC/g	$3,94 \times 10^2$ UFC/g
com biofilme	$6,81 \times 10^2$ UFC/g	$3,64 \times 10^4$ UFC/g	$9,96 \times 10^3$ UFC/g

5. DISCUSSÃO

Nas quantificações de fungos filamentosos, observa-se para a rocha "sadia" o valor mínimo de 0 UFC/g e o valor máximo de $1,25 \times 10^3$ UFC/g, entretanto para a rocha com biofilme o valor mínimo de $6,81 \times 10^2$ UFC/g e o valor máximo de $3,64 \times 10^4$ UFC/g. Verifica-se também que o valor mínimo de 0 UFC/g foi encontrado em 60 % para a rocha sadia e para a rocha com biofilme o valor mínimo de $6,81 \times 10^2$ UFC/g em 9,09 % das amostras. Da análise da tabela IV observa-se que para a rocha "sadia" a média aritmética é de $3,94 \times 10^2$ UFC/g e para rocha com biofilme é de $9,96 \times 10^3$ UFC/g.

Neste trabalho, a identificação dos fungos filamentosos *Aspergillus sp.* e *Mucor sp.*, da biota local nas amostras da rocha de basalto, sugere que pode iniciar-se um processo de biodeterioração dessas rochas a exemplo dos resultados apresentados na literatura [5]. Nesse sentido, esses microorganismos são capazes de retirar componentes importantes das rochas tais como cálcio, alumínio, silício, ferro e potássio que são necessários para seu metabolismo através da biosolubilização das rochas [6]. Como apontado acima, este processo geralmente envolve a produção de vários ácidos orgânicos e inorgânicos os quais são agressivos e promovem a lixiviação da rocha pelo rompimento das ligações químicas na estrutura cristalina o que conseqüentemente, leva à fragilização e perda da resistência mecânica da mesma. Os estudos de biodeterioração das referências [11, 12, 14 e 15] sugerem que íons cálcio, sódio potássio, silício, alumínio, titânio, magnésio, zinco, enxofre, ferro, e nióbio encontrados na composição das pedras de monumentos históricos poderiam ser usados como fonte de energia para microorganismos juntamente com poluentes do ar, dióxido de enxofre, oxido de nitrogênio e partículas depositadas na superfície das pedras.

Entretanto, em relação aos resultados obtidos aqui, somente uma caracterização qualitativa da textura das amostras das rochas basáltica estudadas sob luz transmitida em microscópio ótico e Microscopio Eletrônica de Varredura (MEV) permitirão uma verificação de mudanças na estrutura cristalina do basalto.



Comité Nacional Paraguayo



Unión de Ingenieros de ANDE

VIII SEMINARIO DEL SECTOR ELÉCTRICO PARAGUAYO – CIGRE
28, 29, y 30 DE OCTUBRE DEL 2008

6. CONCLUSÕES

Os fungos filamentosos (*Aspergillus sp.* e *Mucor sp.*) eliminam ácidos orgânicos conseqüentemente diminuindo o pH da rocha e propiciando a instalação de microorganismos responsáveis pelo processo da biodeterioração.

Sugere-se:

A realização de outros estudos quantitativos e qualitativos no basalto, em outros locais para verificação da biota local e da ocorrência de fungos filamentosos.

Estudos de outros agentes biológicos (bactérias, algas, líquens) que formam o biofilme e que podem estar associados ao processo de biodeterioração do basalto.

Monitoramento da rocha para verificar as alterações mineralógicas da rocha que podem comprometer a resistência mecânica e conseqüentemente a estabilidade da estrutura.

Utilização de outras técnicas microbiológicas, e de estrutura de materiais para complemento do diagnóstico associando rochas "sadias" e rochas com o fenômeno instalado.

Considerando a complexidade do fenômeno da biodeterioração de rocha, os estudos devem ser realizados por uma equipe multidisciplinar.

BIBLIOGRAFIA

- [1] M. A. Shirakawa , V. John, M. A. Concotto , W. Gambale, "A Biodeterioração de Materiais de Construção Civil" (*Técne*, p. 36-39,1998)
- [2] G. Palermo, P. Helene, C. M. Rossetto "Deterioração Microbiológica em Obras Subterrâneas Urbanas" (*Congresso Ibero Americano de Patologia das Construções*, 1997, p. 265-272).
- [3] G. L. Tortora, B. R. Funke, C. L Case "Microbiologia" (Artes Médicas Sul, 2000, 6.ed.).
- [4] C. C. Rocha, (2001) "Como Identificar a Biocorrosão" (*Recuperar*, 2001, pág.12-19).
- [5] E. P. Burford, M. Kierans, G. M. Gadd "Geomycology: fungi in mineral substrata" (*Mycologist*, 2003).



Comité Nacional Paraguayo



Unión de Ingenieros de ANDE

VIII SEMINARIO DEL SECTOR ELÉCTRICO PARAGUAYO – CIGRE
28, 29, y 30 DE OCTUBRE DEL 2008

- [6] H. A. Videla, P. S. Guiamet and S. Gomez de Saravia “ Biodeterioration of Mayan archaeological sites in the Yucatan Peninsula, Mexico” (International Biodeterioration & Biodegradation 46, October 2000, pag. 335-341).
- [7] R. Kumar & A. V. Kumar “Biodeterioration of stone in tropical environments an overview” (Ed. The Getty Conservation Institute, Los Angeles, 1999).
- [8] Th. Warscheid and J. Braams “Biodeterioration of stone: a review” (International Biodeterioration & Biodegradation 46, October 2000, pag. 343-368).
- [9] L. Correia dos Santos, M. B. Stecanella e N. Díaz-Mora “ Estudo microbiológico de rochas basálticas da região de Foz do Iguaçu” (17 CBCIMAT - Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais, 2006, Foz do Iguaçu).
- [10] L. Correia dos Santos “Estudo quantitativo automatizado no monitoramento de microorganismos ambientais em drenos da barragem de concreto de Itaipu” (Curitiba: CEFET_PR, 2002. Dissertação de Mestrado em Engenharia Elétrica e Informática Industrial).
- [11] C. V. G. Lopes, F. P. C. Carvalho, N. Krieger "Biodeterioração" (*Ciência Hoje*, 2003, páginas 34-39).
- [12] A. P. Mehta, A. E. Torma and L. E. Murr "Effect of Environmental Parameters on the Efficiency of Biodegradation of Basalt Rock by Fungi" (*Biotechnology and Bioengineering*, 1978, pages 875-885).
- [13] L. Correia dos Santos "Laboratório Ambiental" 1999, EDUNIOESTE, 1.ed.
- [14] K. McCormack, L.H.G. Morton, J. Benson, B.N. Osborne, R.W. McCabe “A preliminary assessment of concrete biodeterioration by microorganisms” (Proceedings LABS 2, Biodegradation & Biodeterioration in Latin America, UNEP/UNESCO/ICRO-FEPAGRO/UFRGS, 1996, Porto Alegre, Brazil, pp. 68–70).
- [15] Y. Nuhoglu , E. Oguz, H. Uslu, A. Ozbek, B. Ipekoglu, I. Ocak and İ. Hasenekoglu “The accelerating effects of the microorganisms on biodeterioration of stone monuments under air pollution and continental-cold climatic conditions in Erzurum, Turkey” (*Sci. Total Environ.* Oct. 2007, 15, pag.172-81)