

Qual a origem do filme negro da escultura “Morte de Cleópatra”?

What is the origin of the black film in the sculpture “Death of Cleopatra”?

PEDRO AZEVEDO^{1,*}

MARIA FILOMENA

MACEDO^{1,2} 

AMÉLIA DIONÍSIO³ 

1. Departamento de Conservação e Restauro, Fac. de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, 2829-516 Caparica, Portugal

2. VICARTE, Unidade de investigação Vidro e Cerâmica para as Artes, Fac. de Ciências e Tecnologia U. Nova de Lisboa, Camp.da Caparica, 2829-529 Caparica, Portugal

3. CERENA, Centro de Recursos Naturais e Ambiente, Instituto Superior Técnico, U. de Lisboa, Avenida Rovisco Pais, 1049-001 Lisboa, Portugal

* pedrozenesis@gmail.com

Resumo

Este trabalho surge da necessidade de identificar um filme negro que cobre grande parte da escultura *Morte de Cleópatra*, desfigurando-a. Esta obra, esculpida em mármore de Carrara, pertence ao Jardim Botânico Tropical, em Lisboa. Efetuaram-se operações *in situ* envolvendo medições colorimétricas, testes de adesão e mapeamento das formas de degradação. O filme negro foi igualmente amostrado e observado a nível macro e microscópico. Realizaram-se ainda amostragens nas zonas negras presentes nas espécies botânicas que envolvem a escultura. As amostras individuais do filme negro foram analisadas por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier. Os resultados obtidos mostram que as amostras coligidas possuem sacarídeos, como a sucrose, encontrados em exemplares de melada (*honeydew*). Propõe-se que o filme negro seja devido à formação de fumagina (*sooty mould*). Este filme negro é responsável por danos estéticos, bem como por processos de corrosão da pedra, como foi observado por microscopia eletrónica de varrimento.

PALAVRAS-CHAVE

Morte de Cleópatra
Mármore de Carrara
Filme negro
Fumagina
Biocorrosão

Abstract

This work arises from the need to identify the origin of a black film which is currently covering a large area of the sculpture *Death of Cleopatra*, promoting its disfiguration. This piece, sculpted in Carrara marble, belongs to Tropical Botanic Garden, in Lisbon. *In situ* works involved colorimetric measurements, adhesion tests and mapping of decay patterns. Samples of the black film were taken from the sculpture and also from black areas present in botanic species surrounding the sculpture, which were observed macro and microscopically. Individual samples of the black film were analysed by Fourier-transform infrared spectroscopy. The results obtained show the collected samples possess saccharides such as sucrose, found in honeydew exemplars. Therefore, it is proposed that black film formation is due to sooty mould. This black film is responsible for aesthetic damage, as well as stone corrosion processes, which was observed by scanning electron microscopy.

KEYWORDS

Death of Cleopatra
Carrara marble
Black film
Sooty Mould
Biocorrosion

Introdução

A escultura *Morte de Cleópatra* elaborada por Giuseppe Mazzuoli em 1717 [1] é uma peça pétrea decorativa de exterior, de grande importância artística, localizada no Jardim Botânico Tropical (JBT), em Lisboa. No mesmo jardim existe uma outra peça escultórica, a *Cáritas Romana*, que apresenta uma história comum à da *Morte de Cleópatra*. As duas peças foram esculpidas em Itália, em mármore de Carrara, e chegaram ao espaço atual (hoje JBT) na mesma época (cerca de 1737) [1-4] (Figura 1). Ambas as esculturas apresentavam, em 2007, estado de conservação similar como resultado de uma intervenção de limpeza levada a cabo nesse ano (Figura 1). A Figura 2 permite observar o estado das esculturas após essa intervenção [4-6].

No entanto, uma década após essa intervenção, verificou-se que a escultura *Morte de Cleópatra* (Figura 1a) apresentava-se com fenómenos de degradação relevantes, nomeadamente o desenvolvimento de um extenso filme negro. Note-se que esta forma de degradação não ocorre na *Cáritas Romana* (Figura 3).

A escultura *Morte de Cleópatra* localiza-se numa zona não integrada no percurso visitável do JBT (Figura 4), por oposição à *Cáritas Romana* que se encontra numa zona visitável e de pouco arvoredo. A *Morte de Cleópatra* encontra-se rodeada, a sul e oeste, por duas espécies botânicas de diferente porte e copa (Figura 4): o bambu vulgar (*Bambusa vulgaris*) e vinhático-das-ilhas (*Persea indica*). A este e norte há um espaço amplo reservado, de entrada e saída aos funcionários do jardim (Figura 4).

Observou-se igualmente que algumas das folhas das espécies anteriormente mencionadas (bambu vulgar e vinhático-das-ilhas), envoltentes da *Morte de Cleópatra*, possuíam também zonas com um filme negro semelhante ao encontrado na escultura (Figura 5).

Refira-se que, de acordo com a definição proposta pelo ICOMOS-ISC, um filme negro é uma “camada artificial muito fina, geralmente de natureza orgânica e homogênea, que reveste a superfície da pedra. Um filme pode ser opaco ou translúcido” [7]. Neste caso o filme negro é opaco e será esta a definição adotada ao longo deste trabalho.

O presente trabalho tem como propósito responder à questão de qual a origem do filme negro generalizado que se observa atualmente na *Morte de Cleópatra* (Figuras 1a).

Materiais e métodos

Mapeamento e extensão do filme negro

O mapeamento do filme negro constitui um procedimento de diagnóstico de registo visual necessário, pois estabelece um ponto de referência relativo à extensão daquele na escultura num dado período temporal. Procurou-se igualmente estimar a área ocupada por esta forma de degradação, tendo sido para o efeito efetuado o levantamento fotográfico da

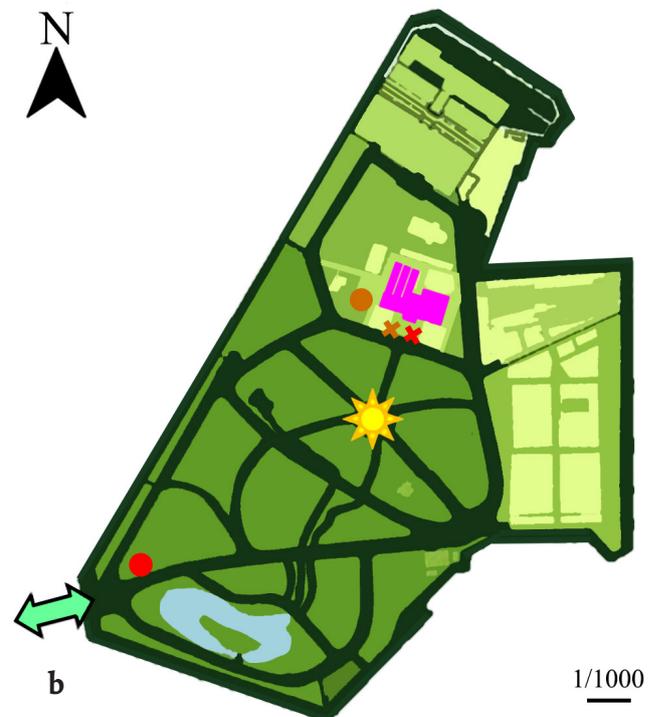
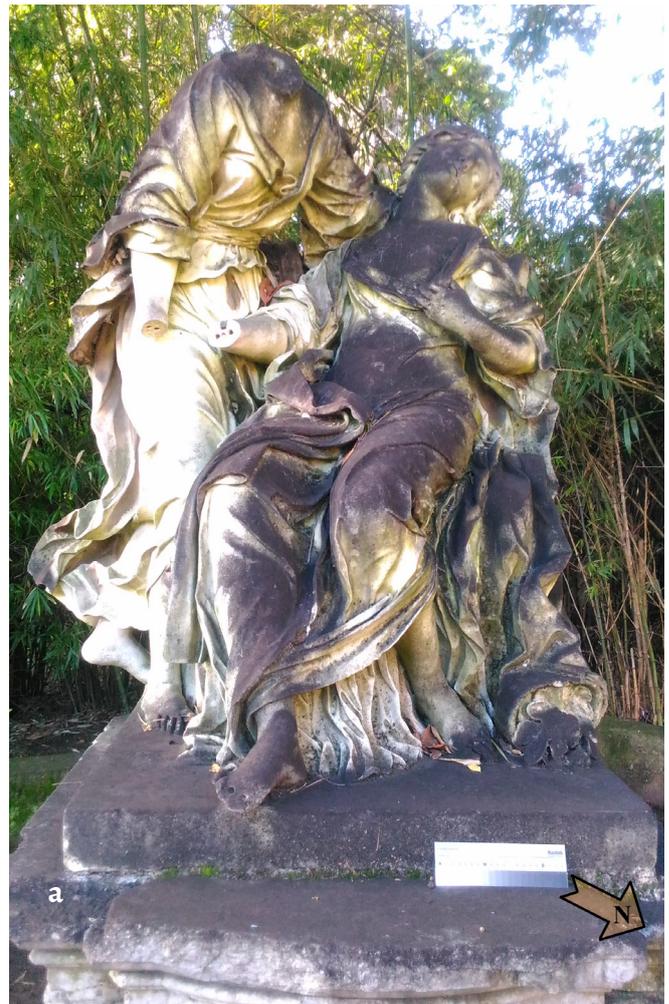


Figura 1. a) *Morte de Cleópatra*, localizada no JBT (foto tirada a 16 de janeiro de 2018). b) Mapa do JBT à escala 1/1000 [5], onde se destacam o percurso visitável (verde escuro), entrada e saída (↔) e as localizações da estufa (rosa), do relógio de Sol (☼) e das esculturas *Morte de Cleópatra* (laranja) e *Cáritas Romana* (vermelho) em 1935 (×) e na atualidade (•).

escultura e utilizado o programa de processamento e análise de imagens digitais ImageJ como ferramenta para essa estimativa.

Caracterização colorimétrica do filme negro

A quantificação colorimétrica do filme negro (e do substrato pétreo) foi obtida usando as coordenadas cromáticas no sistema colorimétrico de referência CIELAB 1976 [8], ou seja, as coordenadas L^* , a^* e b^* . Para a quantificação da cor utilizou-se um equipamento portátil Minolta modelo CM-580i que possui um sistema de iluminação difusa e um ângulo de observação de 8° sobre a normal às amostras em estudo (geometria d/8). O diâmetro de medição é de aproximadamente 8 mm (um valor adequado para a medição colorimétrica quer em rochas monocromáticas quer policromáticas). Para as medições efetuadas foram utilizados o observador normalizado CIE 2° e o iluminante D_{65} (que representa a luz média diurna incluindo a radiação ultravioleta com temperatura de cor de 6504 K).

Foram consideradas três áreas (10 cm × 10 cm) representativas do filme negro ocorrente na escultura, nas quais realizaram-se seis medições de cor. Cada medição correspondeu à média de três leituras. Procurou-se igualmente que as localizações das três áreas tivessem diferentes exposições ambientais: frente (NE), lateral direita da figura (SE) e verso do trono (SW). Nestas janelas de ensaio efetuaram-se periodicamente medições colorimétricas, assim como registo fotográfico (câmara ASUS versão 2.0.66.0_160616). Efetuaram-se igualmente medições em duas áreas com tonalidade próxima da rocha original (mármore branco de Carrara) que foram consideradas como referência. A Comissão Internacional da Iluminação (CIE) estabeleceu padrões que permitem definir uma cor independentemente dos dispositivos utilizados. Estes valores permitiram a determinação da diferença de cor total (ΔE^*) induzida pelo filme negro. Foi utilizada a expressão proposta por [8], apresentada na equação seguinte, onde as coordenadas L^* indicam a luminosidade e a^* e b^* a tonalidade e a saturação:

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

Caracterização da aderência do filme negro

Para estimar o grau de aderência e conseqüente facilidade da remoção do filme negro da superfície da escultura aplicaram-se tiras de fita adesiva transparente Scotch Crystal Clear Tape, de comprimento aproximado de 5 cm, em cinco áreas da escultura, e avaliou-se a quantidade de material negro aderido. Em cada área escolhida foram aplicadas sucessivamente cinco tiras de fita adesiva. Tanto quanto foi possível investigar, não existe nenhum método padronizado para avaliação da aderência deste género de filme ao suporte pétreo. Deste modo, adaptou-se o procedimento



Figura 2. Resultado final da operação de limpeza efetuada em 2007: a) *Morte de Cleópatra* [4]; b) *Cáritas Romana* [5].



Figura 3. *Cáritas Romana*, localizada no JBT (fotografia de 12 de janeiro de 2018).

proposto por Drdácáký *et al.* [9], desenvolvido especialmente para avaliação da coesão superficial dos materiais pétreos.

Microamostragem do filme negro

Foram coligidas *in situ*, por raspagem, 20 microamostras do filme negro em diferentes alçados e cotas da escultura. A raspagem foi feita usando bisturis esterilizados, tendo as amostras sido acondicionadas em tubos de ensaio do tipo eppendorf (igualmente esterilizados) e claramente identificadas. De igual modo, foram recolhidas seis microamostras de filme negro nas folhas das espécies biológicas (no bambu vulgar e no vinhático-das-ilhas), em condições idênticas às acima referidas.

Na Figura 6 registam-se as zonas da escultura onde foram efetuadas microamostragens para a análise das seguintes técnicas analíticas: microscopia ótica (MO), microscopia eletrónica de varrimento associada a espectrometria de raios X dispersiva de energia (SEM-EDS) e espetroscopia de infravermelho com transformada de Fourier por refletância total de atenuada (FTIR-ATR).



Figura 4. *Morte de Cleópatra*, rodeada do bambu vulgar (seta azul) e vinhático-das-ilhas (seta laranja).

Análise do filme negro por MO

As amostras, recolhidas ainda frescas, foram montadas em lâminas de microscópio para uma primeira observação, tendo-se procedido à sua cultura usando meio de cultura orgânico, *Potato Dextrose Agar* (PDA), e crescimento durante 3 semanas, a 24°C. As espécies que se desenvolveram foram observadas por MO (microscópio ótico Zeiss, modelo Axio). Para a identificação destas microculturas recorreu-se à bibliografia especializada de fungos [10].

Análise do filme negro por SEM-EDS

As amostras dos filmes negros, provenientes da escultura, vinhático-das-ilhas e bambu vulgar, foram também observadas por SEM-EDS. Para o efeito houve a necessidade de as amostras serem previamente revestidas com um filme condutor ultrafino de liga de ouro e paládio (Au-Pd) e serem secas em vácuo, a temperatura ambiente, para posterior análise. Foi utilizado, no Instituto Superior Técnico, um microscópio eletrónico de varrimento Hitachi S-2400 SEM (Microlab, IST-UL) com um espectrómetro de raios X dispersivo de energia Nano GmbH Bruker Quantax e detetores elementares de luz (XFlash 5010). As medições foram realizadas com uma tensão de aceleração de 10 kV, resolução de 1 a 10 µm e ampliações de 170 a 6000×.

Análise do filme negro por FTIR-ATR

Em paralelo, para se determinar os constituintes das amostras e identificar o filme negro presente na escultura e nas espécies botânicas, recorreu-se igualmente à técnica FTIR-ATR. As amostras foram analisadas no Instituto Superior Técnico utilizando um espectrómetro Nicolet Magna FTIR 550 (IST-UL) com uma unidade de refletância Smart Miracle TM-Pike Technologies com uma célula de cristal de ZnSe. A aquisição foi realizada entre 4000 e 500 cm⁻¹, com uma resolução de 4 cm⁻¹.



Figura 5. Filme negro na superfície de folhas: a) vinhático-das-ilhas; b) bambu vulgar.

Resultados e discussão

Mapeamento e extensão do filme negro

O filme negro cobre, como referido anteriormente, a maioria da superfície do mármore da escultura, especialmente na parte frontal da figura da Cleópatra e nos versos superiores da Aia e do trono (Figuras 3a e 6).

Apresenta-se na Tabela 1 a estimativa da área ocupada pelo filme negro. Da análise dos resultados verifica-se que este filme ocupa aproximadamente 76% da área da escultura, com valores mais significativos de 90% e 96%, nas faces voltadas a sudoeste e noroeste, respetivamente.

Caracterização colorimétrica do filme negro

Em termos colorimétricos, o filme negro caracteriza-se por

Tabela 1. Percentagens estimadas das áreas ocupadas, em toda a escultura, pelo filme negro e área com mármore visível em cada face da *Morte de Cleópatra*, de acordo com a ferramenta de processamento e análise de imagens digitais ImageJ.

| Face da escultura | Área (%) | |
|-------------------|-------------|-----------------|
| | Filme negro | Mármore visível |
| Frente (NE) | 58 ± 1,4 | 42 ± 0,1 |
| Esquerda (NW) | 96 ± 1,7 | 4 ± 0,5 |
| Direita (SE) | 58 ± 0,5 | 42 ± 0,5 |
| Verso (SW) | 90 ± 0,3 | 10 ± 0,2 |
| Média | 76 ± 23 | 24 ± 23 |

Tabela 2. Valores médios, desvio-padrão, mínimo e máximo das coordenadas colorimétricas registadas nas superfícies do mármore e do filme negro.

| | Superfícies da escultura com o mármore à vista | | | Superfícies do filme negro | | |
|---------------|--|------|------|----------------------------|-------|-------|
| | L* | a* | b* | L* | a* | b* |
| Média | 78,39 | 0,23 | 6,51 | 32,04 | 1,79 | 8,08 |
| Desvio-padrão | 5,27 | 0,09 | 1,59 | 4,98 | 0,98 | 6,40 |
| Mínimo | 73,61 | 0,10 | 5,10 | 21,70 | 0,83 | 1,17 |
| Máximo | 85,00 | 0,36 | 9,11 | 43,73 | 11,02 | 19,55 |

valores baixos da componente L* (média: 32,04 ± 4,98), identificando um padrão colorimétrico de tonalidade escura que varia entre um máximo de 43,73 e um mínimo de 30,51 (Tabela 2). Trata-se de um filme que promove forte contraste colorimétrico com a pedra usada nesta escultura, o mármore de Carrara [5]. Os valores de a* e b* são mais diversificados (a* = 0,23 ± 0,09, máximo de 0,36 e mínimo de 0,10; b* = 6,51 ± 1,59, máximo de 9,11 e mínimo de 5,10). De facto, as medições efetuadas nas áreas mais próximas da coloração do mármore sem filme negro evidenciam coordenadas de luminosidade elevadas como se pode ver pelo valor de L* (78,39 ± 5,27) (Tabela 2).

A diferença de cor total registada entre a superfície do mármore e do filme negro foi de 46,4 unidades (ΔE^*), que é um valor substancialmente mais elevado do que o considerado para o limiar da perceção humana ($5 < \Delta E^*$) [8], o que causa necessariamente danos estéticos.

Caracterização da aderência do filme negro

A realização do teste de aderência permitiu verificar que as fitas adesivas conseguiram retirar porções não significativas e não uniformes do filme negro da escultura (Tabela 3 e Figura 6). A tonalidade negra da superfície pétrea não foi significativamente alterada, comprovando-se assim que este filme possui elevada aderência à pedra. Acresce que, de acordo com a observação macroscópica do aspeto visual das superfícies antes e após a remoção da fita, a espessura deste filme não é uniforme (Tabela 3).

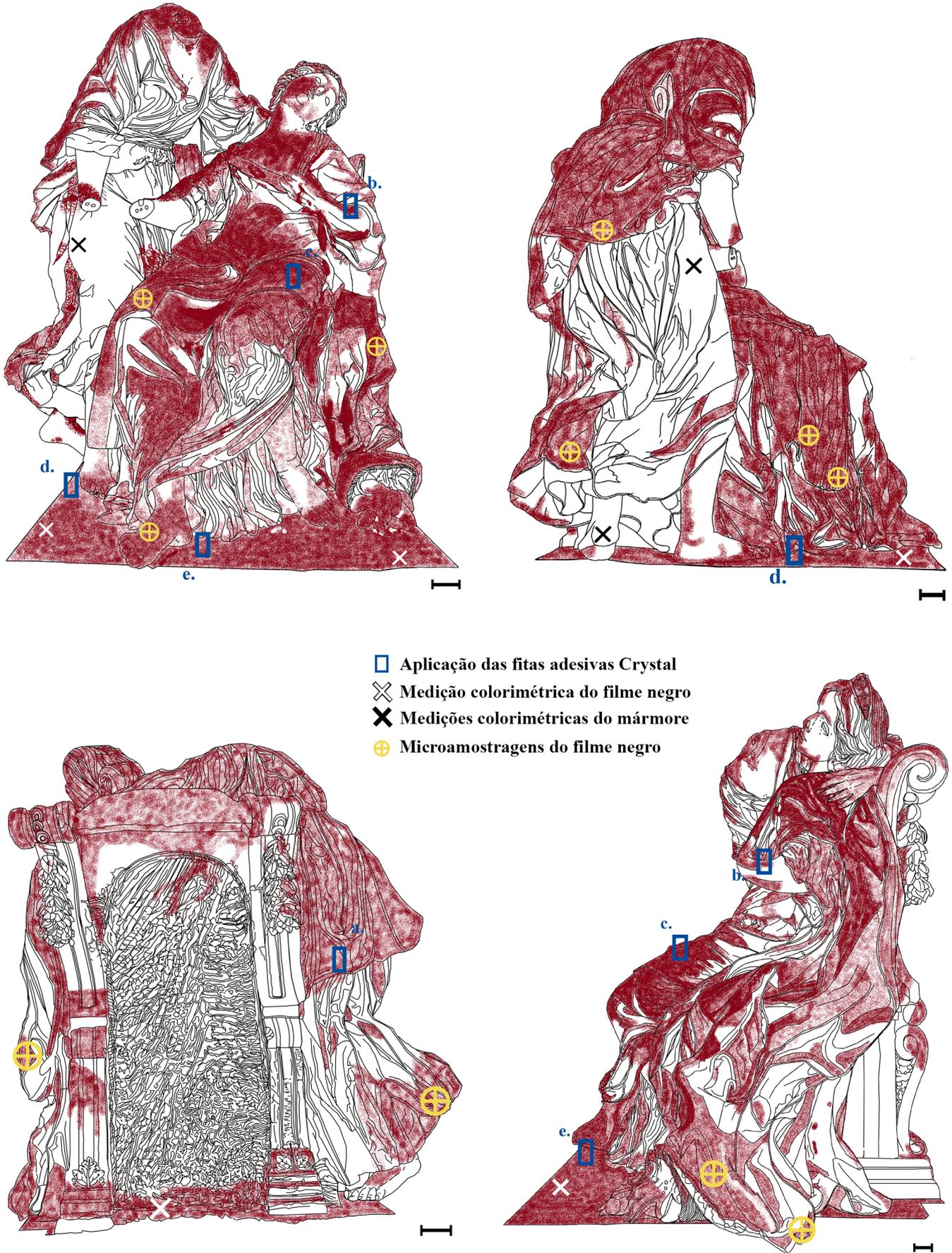
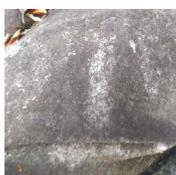
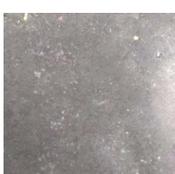


Figura 6. Mapeamento da forma de degradação do filme negro (vermelho) ocorrente nas faces da escultura: a) nordeste (NE); b) sudeste (SE); c) sudoeste (SW); d) noroeste (NW) (barra da escala: 5 cm).

Qual a origem do filme negro da escultura “Morte de Cleópatra”?

Tabela 3. Sequência de fotografias da superfície da escultura *Morte de Cleópatra* antes e após aplicação da fita adesiva Crystal.

| | Antes da aplicação da fita adesiva | Aplicação da fita adesiva | | | | |
|-------------------------------------|---|---|---|--|---|---|
| | | 1. ^a | 2. ^a | 3. ^a | 4. ^a | 5. ^a |
| Traje da aia, a SE |  |  |  |  |  |  |
| Braço esquerdo de Cleópatra, a NE |  |  |  |  |  |  |
| Coxa esquerda de Cleópatra, a NE |  |  |  |  |  |  |
| Chão junto ao pé da aia, a SE |  |  |  |  |  |  |
| Chão junto ao pé de Cleópatra, a NE |  |  |  |  |  |  |

Microamostragem do filme negro

A remoção por raspagem de amostras do filme negro da escultura e o vinhático-das-ilhas foi fácil. Já nas folhas do bambu a remoção foi mais difícil. Acresce que, após soltas da superfície da escultura, as amostras de filme não registaram sinais de aderência ao bisturi e foram por isso de fácil separação. Refira-se que nos locais onde se removeram as amostras ficaram ainda vestígios de filme negro na superfície do mármore.

Análise do filme negro por MO

Após a observação macroscópica do filme negro e com o auxílio do microscópio ótico, verificou-se que o mesmo era maioritariamente constituído por fungos, além de uma substância negra desconhecida.

As microculturas da zona negra da escultura revelaram desenvolvimento em cultura, tendo sido posteriormente isolados os espécimes conforme a sua cor e aspeto.

Após o crescimento em PDA isolaram-se dois

microrganismos (um com esporos de cor negra e outro de cor amarela) para a observação por MO. Usando o corante rosa de lactofucsina, verificou-se que ambos os fungos pertencem ao género *Mucor* [11], nomeadamente às espécies *Mucor plumbeus* (que exibia uma cor preta em cultura) (Figuras 7a-c) e *Mucor hiemalis* (que exibia uma cor amarela em cultura) (Figura 7d). As amostras de filme negro isoladas das folhas não cresceram em laboratório possivelmente por a quantidade de amostra ser muito pequena e se encontrar demasiadamente aderida às folhas.

Análise do filme negro por SEM-EDS

Amostra do filme negro retirado do bambu comum

Nas imagens de SEM-EDS observaram-se vários empacotamentos fortemente interligados e em grande abundância de conídios fúngicos, o que dificultou a identificação das espécies (Figura 8a). Observou-se, no entanto, a presença de *Penicillium* sp. [11] (Figura 8b), que não foi detetado nos isolamentos efetuados no meio de cultura PDA, provavel-

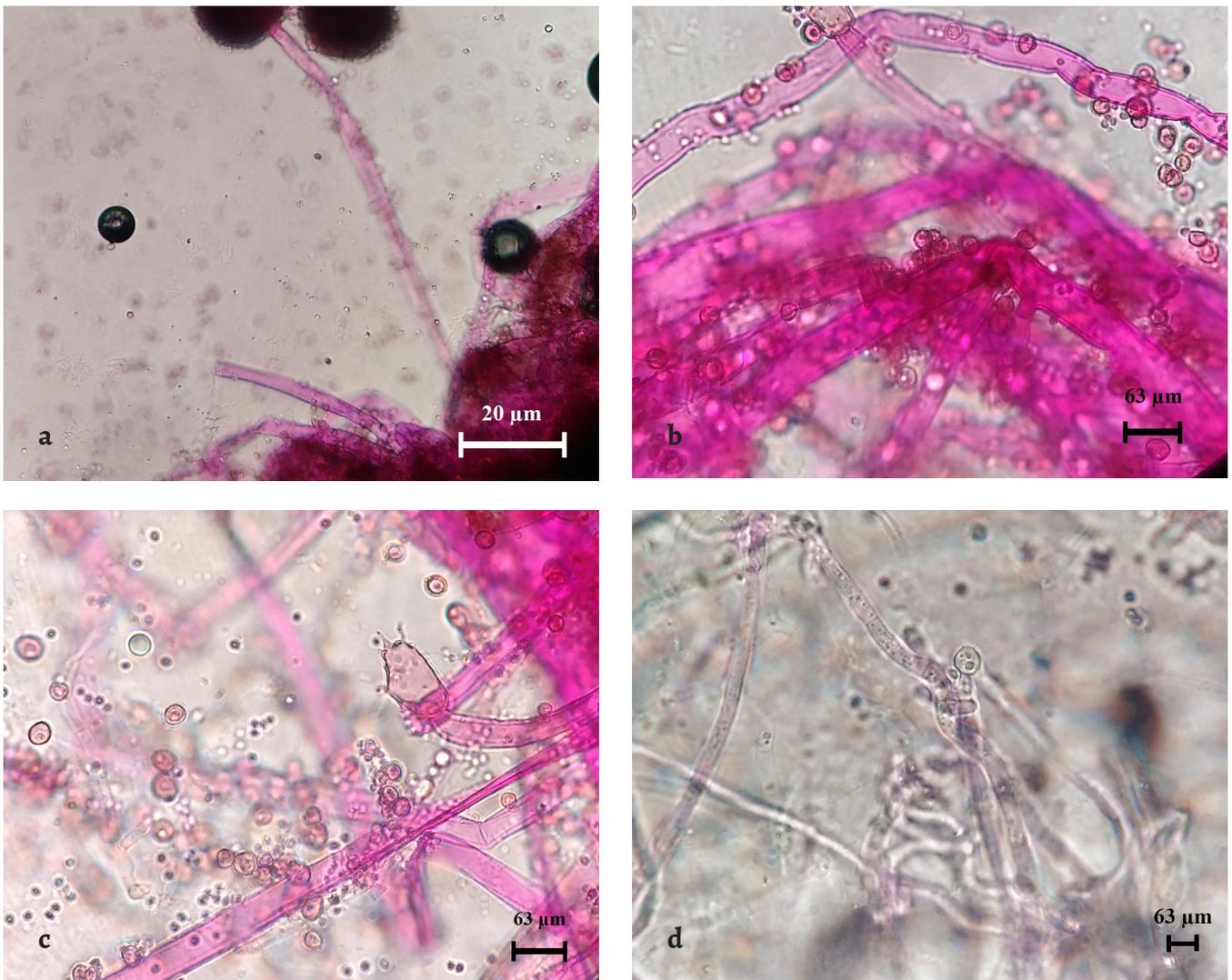


Figura 7. Imagens obtidas por MO de *Mucor plumbeus* (a-c) e *Mucor hiemalis* (d).

mente porque o género *Mucor* cresceu mais rapidamente. O *Penicillium* sp é um dos espécimes de fungos contaminantes mais comuns do ar e dos substratos pétreos [11].

Em algumas áreas de EPS (*Extra Polymeric Substances*) empacotadas, identificou-se também a presença de dois outros elementos orgânicos: algumas algas [12], que parecem tomar uma forma de coral, e alguns esporos presos ao filme fúngico (Figuras 8c-f).

Amostra do filme negro retirado do vinhático-das-ilhas

Na observação por SEM-EDS do filme negro que cobre o vinhático-das-ilhas verificou-se que o tipo de conídios (e seu empacotamento) é semelhante ao observado no filme negro desenvolvido sobre o bambu comum (Figuras 8a, 8d, 8e, 9a, 9c e 9d – note-se a diferença de escala).

À semelhança do registado na literatura [12, 13], no caso de estudo observa-se um desenvolvimento, em grande quantidade, dos conídios tálco-artirico [11] (Figuras 9a-b) ao longo da superfície fúngica, identificados pela forma semioval bem delineada nas paredes.

Tal como no caso do filme negro desenvolvido no bambu comum, nesta amostra observou-se um empacotamento de

EPS, não identificável, com estruturas reprodutoras (Figura 9c). Porém, notou-se neste caso que o biofilme se apresentava mais seco e ligado entre si e algumas algas esmagadas [12] (Figura 9d).

Amostra do filme negro retirado da escultura

Da observação por SEM-EDS do filme negro retirado da escultura, através de microamostragem com bisturi, verificou-se uma maior quantidade de EPS empacotadas com estruturas reprodutoras de mais difícil observação do que nas amostras dos filmes negros retirados das espécies biológicas (Figuras 8a, 9c e 10b). Os conídios observados nesta amostra (Figura 10a) são, no entanto, semelhantes aos observados no filme negro do vinhático-das-ilhas, ainda que com menor desenvolvimento (Figura 9a).

Em comparação às outras amostras, e devido ao facto do filme negro ter sido recolhido de um substrato pétreo, observou-se alguns grãos de calcite com textura irregular, semelhante a um padrão de dissolução diferencial dos grãos minerais (Figuras 10c, d, g), que permite colocar a hipótese de um possível ataque bioquímico à pedra da escultura promovido pelo filme negro. De facto, a análise por SEM-EDS

Qual a origem do filme negro da escultura “Morte de Cleópatra”?

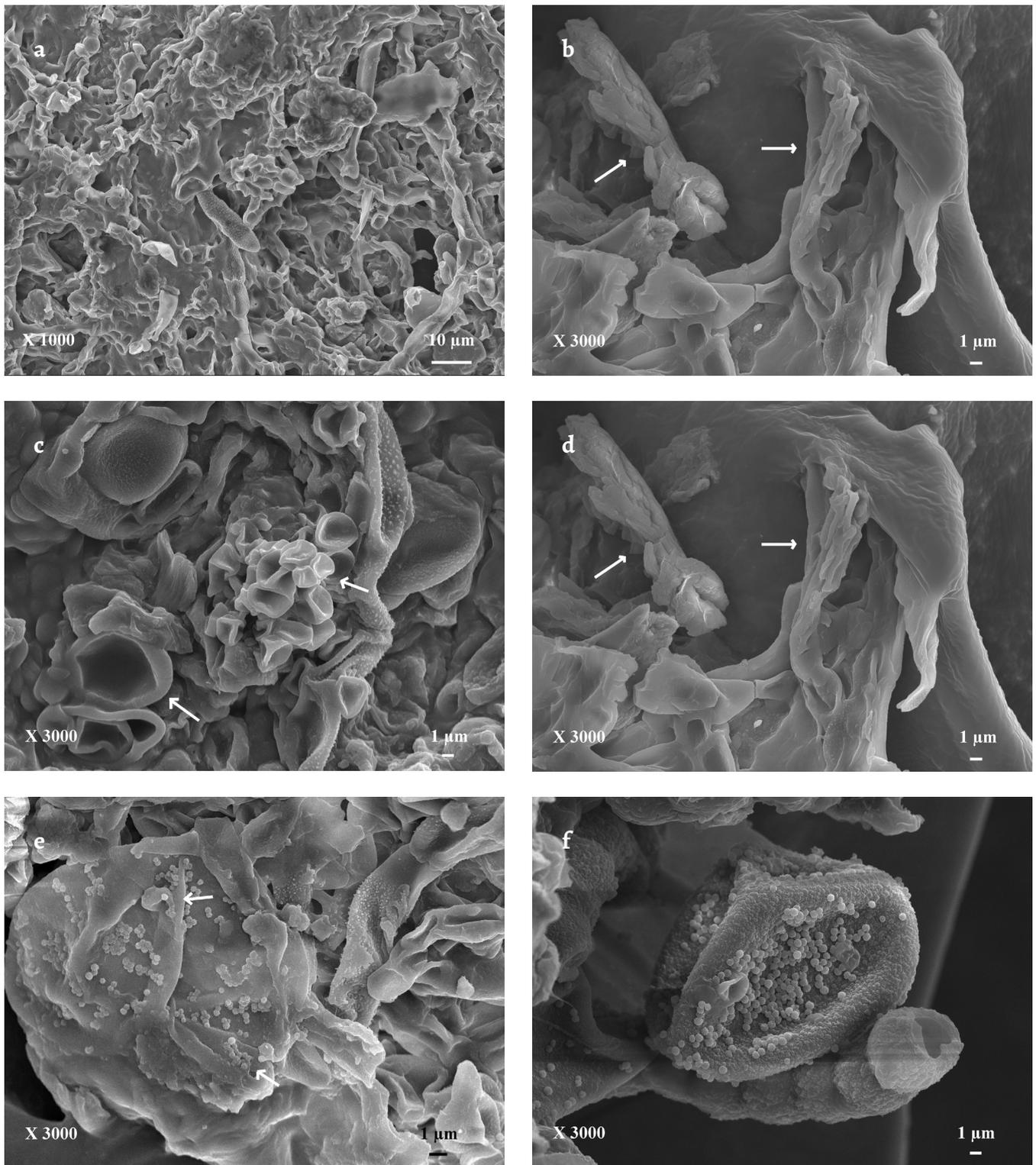


Figura 8. Imagens obtidas por SEM-EDS da amostra do filme negro desenvolvido sobre a folha do bambu: a) EPS do filme fúngico e algal achatado e não uniforme; b) presença de *Penicillium* sp. (setas); c) algas compactas (setas); d) biofilme achatado com estruturas reprodutoras; e) biofilme fúngico com esporos na superfície (setas); f) biofilme com esporos pequenos na superfície e possível conídio.

de amostras de pedra da escultura não afetadas pelo desenvolvimento do filme negro, sugere que os grãos de calcite exibem as suas superfícies sem sinais de dissolução (Figuras 10h, i). Acresce que, para além dos grãos estarem rodeados por conídios e biofilme (Figuras 10c, d), em um dos casos observou-se um possível exemplar de uma zygomycota (com columela e esporangióforo) presa ao grão (Figura 10d).

Através desta técnica analítica foi possível observar estruturas indicadoras da ocorrência de um composto carboidrato associado a um açúcar (Figuras 10e, f). Neste panorama, encontram-se estruturas de forma circunferencial e com alguma parecença a *favos de cera*, porém irregulares (Figuras 10e, f). Após pesquisa bibliográfica, estas estruturas foram associadas a um carboidrato (possivelmente

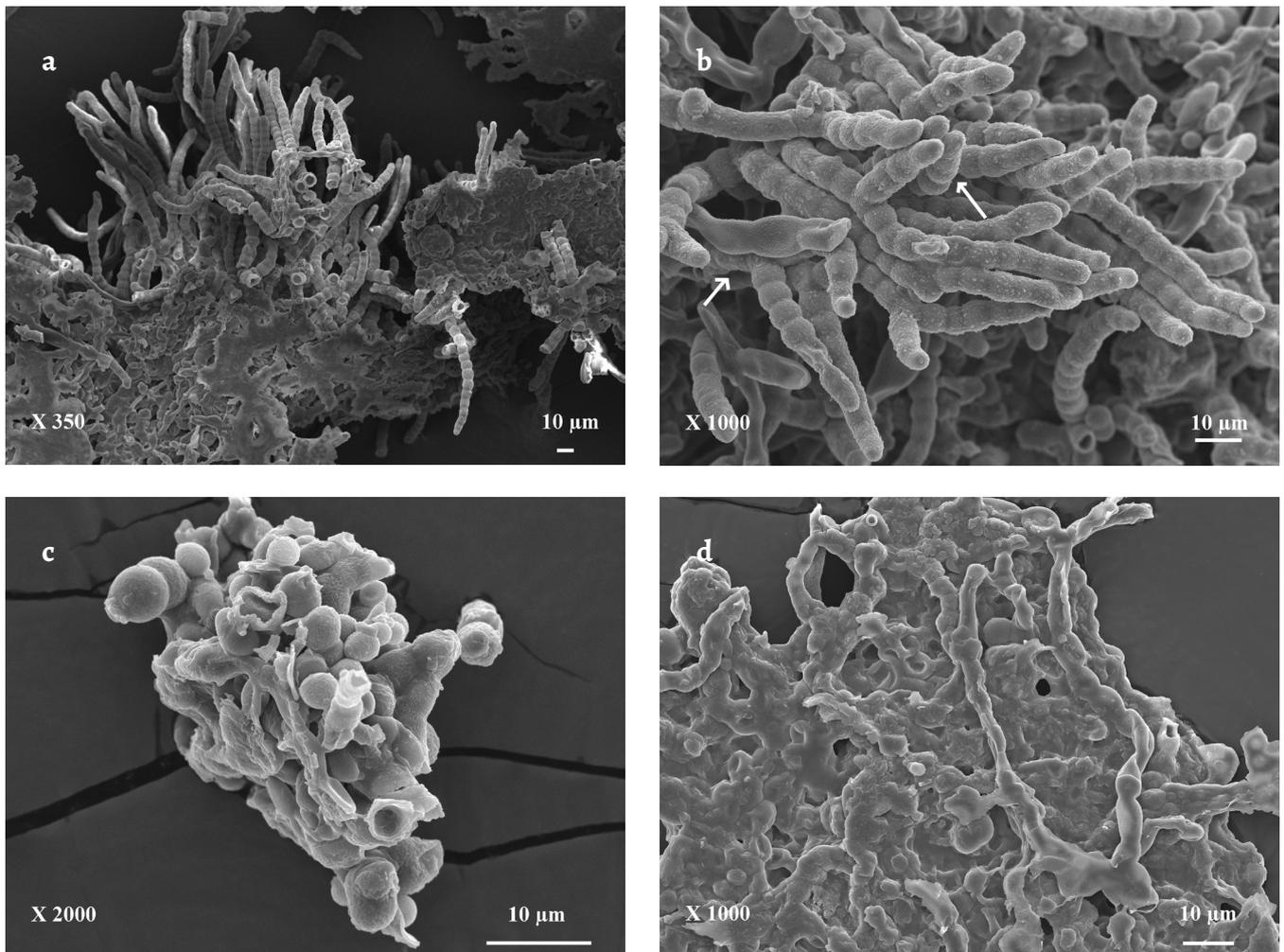


Figura 9. Imagens obtidas por SEM-EDS da amostra do vinhático-das-ilhas: *a)* conídios do filme negro destacados no empacotamento do biofilme; *b)* conídios do filme negro destacados da amostra, com acréscimos laterais nos conidióforos (setas); *c)* empacotamento do biofilme; *d)* empacotamento do biofilme negro.

sucrose) ou uma estrutura de cera, onde posteriormente houve desenvolvimento de fungos à volta da zona [14-16].

Análise do filme negro por FTIR-ATR

Apresenta-se nas Figuras 11 e 12 os espectros obtidos por FTIR-ATR para as amostras de filmes negros coligidos das espécies botânicas e da escultura. Em termos gerais, verifica-se que os espectros são muito semelhantes, ou seja, as bandas de absorvância correspondem aos mesmos números de onda e com a mesma intensidade. No que se refere às bandas, destaca-se na Figura 11 e 12:

i) As bandas a $3600-2800\text{ cm}^{-1}$, associadas a água e grupos hidroxilos ($\nu\text{ O-H}$) [14, 17]. A amostra do filme negro da escultura distingue-se pela maior absorvância entre $3600-3000\text{ cm}^{-1}$, o que poderá estar associado a uma maior retenção de humidade por parte do filme desenvolvido sobre o substrato pétreo devido ao facto de na semana de coleta de material ter chovido.

ii) Na mesma região de número de onda anterior, há duas bandas estreitas de baixa absorvância entre 2950 e 2810 cm^{-1} de grupos $\nu\text{ C-H}$, que poderão associar-se à

sacarose proveniente da fixação de um carboidrato, possivelmente sacarose [15].

iii) A região espectral 1800 a 500 cm^{-1} é onde se localizam as bandas características dos sacarídeos [14, 17-18] geralmente associados à sucrose e frutose: a $1800-1680\text{ cm}^{-1}$ o grupo $\nu\text{ C=O}$; a $1500-1340\text{ cm}^{-1}$ os grupos deformados de $\nu\text{ O-C-H}$ e C-O-H ; a $1340-1170\text{ cm}^{-1}$ os grupos deformados de $\Delta\text{ C-H}$ e O-H ; e a $1180-900\text{ cm}^{-1}$ os grupos $\nu\text{ C-C}$ e C-O .

iv) Apesar de haver uma identificação possível dos grupos funcionais na literatura, as bandas irregulares presentes entre 1500 e 1200 cm^{-1} poderão ser interpretadas como uma possível mistura de vários sacarídeos devido às baixas absorvâncias irregulares não identificáveis [14, 17-19].

v) Observaram-se ainda pequenas bandas a 1740 e 1720 cm^{-1} de um grupo carbonilo ($\nu\text{ C=O}$) e a $1680-1600\text{ cm}^{-1}$ de uma dupla ligação de carbono ($\nu\text{ C=C}$) associados a um éster de cera na amostra [14, 17]. Todavia, e face à pesquisa bibliográfica efetuada, não foi possível identificar o género de cera. No entanto, a cera ocorre não só no filme negro da escultura, mas também nas espécies botânicas. Este resultado está de acordo com as análises por SEM-EDS.

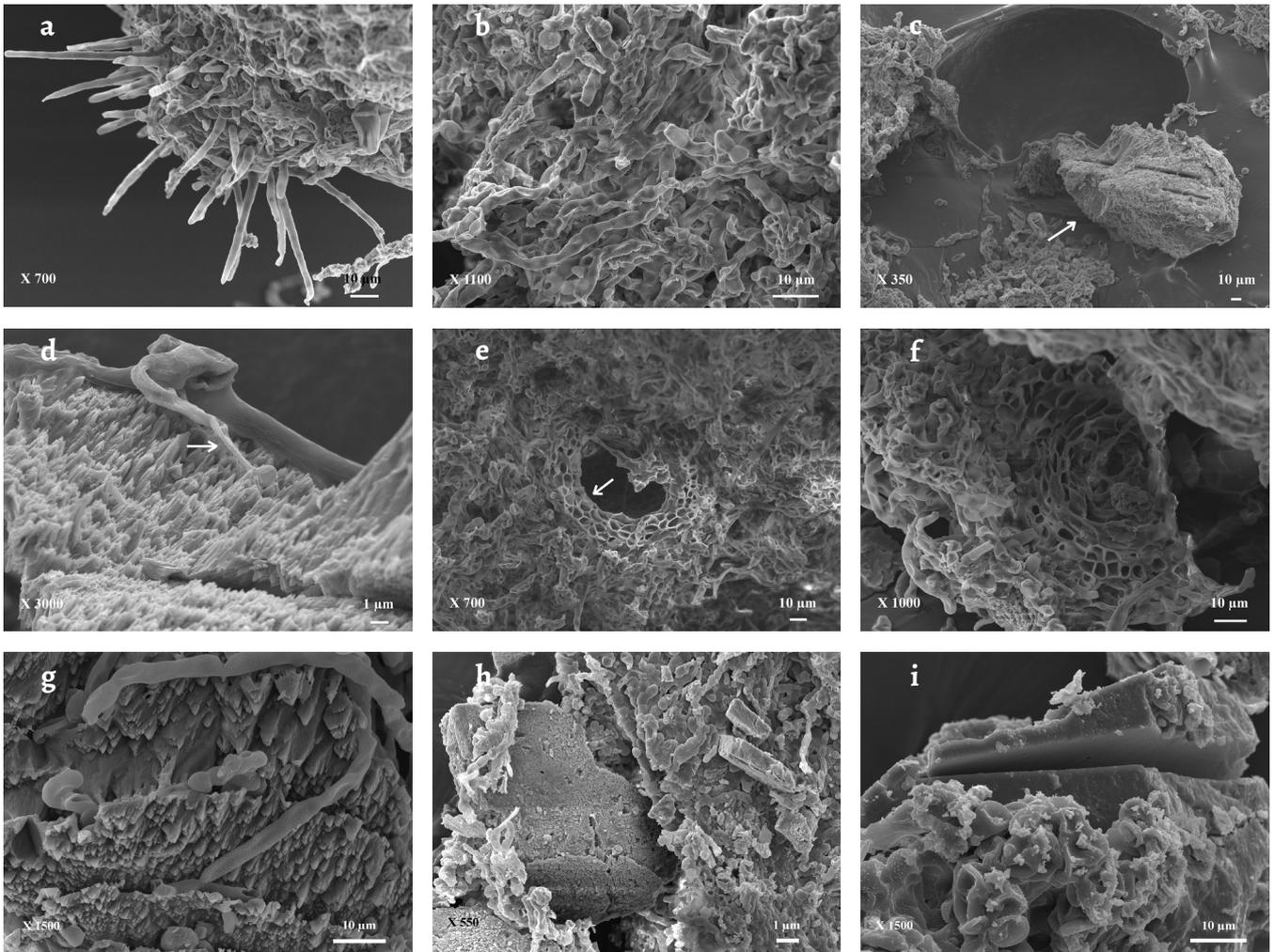


Figura 10. Imagens obtidas por SEM-EDS da amostra do filme negro desenvolvido sobre a escultura: *a)* destacamento dos conídios na amostra; *b)* empacotamento do biofilme do filme negro; *c)* empacotamentos do biofilme do filme negro a circundar um grão corroído de calcite (seta); *d)* ampliação da imagem *c)* mostrando uma columela e esporangióforo, presos a um outro grão corroído de calcite com o filme negro (seta); *e, f)* favos da sucrose ou cera em volta do biofilme do filme negro (seta); *g)* conídios biofilmicos do filme negro presos num grão corroído de calcite semelhantes aos da imagem *c)*; *h)* empacotamento biofilmico do filme negro com grãos e fragmentos de calcite; *i)* empacotamento biofilmico do filme negro num grão fragmentado de calcite; *h, i)* amostras retiradas das zonas do mármore original.

Os espectros obtidos por FTIR-ATR para as amostras de filmes negros coligidas das espécies botânicas bambu (azul) e vinhático-das-ilhas (laranja) foram ampliados na Figura 12 de forma a permitir observar que estes são muito semelhantes, ou seja, as bandas de absorvância correspondem às da escultura (mesmos números de onda e mesma intensidade).

Identificação da origem do filme negro na escultura

O filme negro observado na escultura *Morte de Cleópatra* é semelhante ao que ocorre no bambu e no vinhático-das-ilhas. Todos eles apresentam uma cera (de origem desconhecida) e sacarose. Registou-se que as espécies botânicas mencionadas estavam a fazer sombra à escultura e a aumentar o teor de matéria orgânica desta pela queda das suas folhas. Estas observações e a pesquisa efetuada levaram-nos à hipótese de o filme negro ser fumagina, também conhecida como *sooty mould* [11, 20-24]. A fumagina é um termo genérico para um produto de cor preta causado pelo desenvolvimento de fun-

gos (provocada por mais de 200 espécies fúngicas) sobre um melada [24-27] (*honeydew*), produzido por insetos alimentadores de seiva (especialmente seiva doce), hóspedes das plantas [11, 20, 24].

Existem insetos (e.g. *Aphidoidea* sp., *Planococcus citri*, *Aleyrodoidea* sp.) habitantes das árvores, alimentadores de seiva que vão segregar e excretar gotas de melada [24-27] (*honeydew*) que se depositam sobre as folhas de espécies botânicas (Figura 13) com propriedades açucaradas [11-14, 20, 24-29]. Essas gotas caem das folhas para outras zonas das árvores ou ainda, como neste estudo, sobre a escultura [14, 24, 26, 30]. Após a deposição, vão criar um revestimento açucarado pegajoso [11-12, 23-24] sobre os materiais anteriormente mencionados, basicamente formado por sacarídeos [11, 15, 20-21, 27], aminoácidos, proteínas, minerais, vitaminas e outros compostos orgânicos [11-12, 15, 31]. Neste revestimento desenvolve-se um biofilme fúngico enegrecido (Figura 13) produzindo esporos e uma massa superficial negra [11, 20-21, 27].

A pigmentação negra da fumagina deriva da produção de melanina, um produto da oxidação de tirosina, um aminoácido absorvedor de UV e dissipador de luz [15, 21, 27, 32-38]. Este filme negro aparece mais frequentemente em regiões subtropicais ou tropicais sem especificação do espécime da planta hospede. Como características deste filme aponta-se a sua capacidade de absorver água e de manter, durante longo período de tempo, um nível de humidade elevado nas superfícies das folhas [11-12, 14, 20, 23, 25, 27-28]. O complexo sapróbio do *honeydew* (filme negro) é responsável por: *i*) bloquear a radiação solar impedindo a fotossíntese das plantas; *ii*) alterar a estética das plantas; *iii*) contribuir para um maior número de insetos alimentadores de seiva; *iv*) desenvolver-se em vários substratos [11-12, 14, 20, 22, 24, 27, 34-36, 38], como neste caso, em que formou um filme negro sobre a escultura.

A literatura aponta o termo coletivo *sooty mould* para fungos da divisão Ascomycete na classe Dothideomycetes. Vários autores colocam a fumagina em diferentes ordens (Capnodiales e Pleosporales) e géneros (*Aureobasidium*, *Alternaria*, *Capnodium*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Fumago*, *Limaculna*, *Sarcinomyces*, *Scorias*, entre outros) [13-14, 24, 34]. Assim, face ao exposto nos parágrafos anteriores, verifica-se que os géneros observados nos isolamentos provenientes das microculturas são diferentes daqueles referidos na literatura [13, 22, 24]. Neste trabalho identificou-se um novo género de fungo associada ao termo fumagina, pertencendo ao género *Mucor*, ordem Mucorales, classe Zygomycota [9].

Dhami *et al.* [13] apresentam imagens de fumagina obtidas através de SEM semelhantes às encontradas nas amostras do filme negro desenvolvido no bambu comum (Figura 8), no vinhático-das-ilhas (Figura 9) e na escultura (Figura 10), mas especificamente no que se refere aos empacotamentos de biofilme fúngico. A presença de conídios tálcos e esporos redondos são igualmente semelhantes a uma amostra de um corte transversal apresentada por Santos *et al.* [14], estabelecendo assim uma ligação visual e eventual registo para sua identificação. No caso do filme negro sobre o vinhático-das-ilhas (Figura 9), encontraram-se acrescentos laterais nos conídios, que poderão dar indícios da fumagina estar associada ao *Mucor* sp.

Burford *et al.* [39] referem que o género identificado (*Mucor* sp.) se desenvolve bem sobre mármore, e que algumas formas deste fungo causam dissolução da calcite. Nesta situação, os fungos causam uma corrosão nas rochas hospedeiras, que por sua vez contribuem para a sobrevivência e proliferação de mais comunidades de microrganismos. Deste modo, o padrão registado de dissolução diferencial dos grãos minerais (Figuras 9c, d, g) é indício de corrosão ativa e respetiva dissolução causada pela fumagina, com consequente dano para a escultura. Após comparação com Garcia-Vallès *et al.* [40], confirmou-se que a textura *espinhosa* dos grãos de calcite deve-se a biocorrosão entre a rocha e a colonização biológica existente, cujo caráter erosivo resulta numa acumulação radial de cristais de calcite [40].

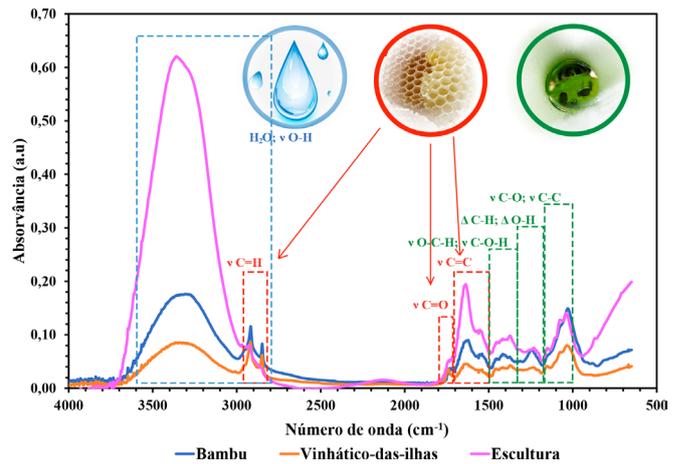


Figura 11. Espectros obtidos por FTIR-ATR das amostras do filme negro recolhidas do bambu (azul), vinhático-das-ilhas (laranja) e escultura (rosa) com identificação dos grupos funcionais pelas bandas e possíveis derivados (água, cera e sacarose).

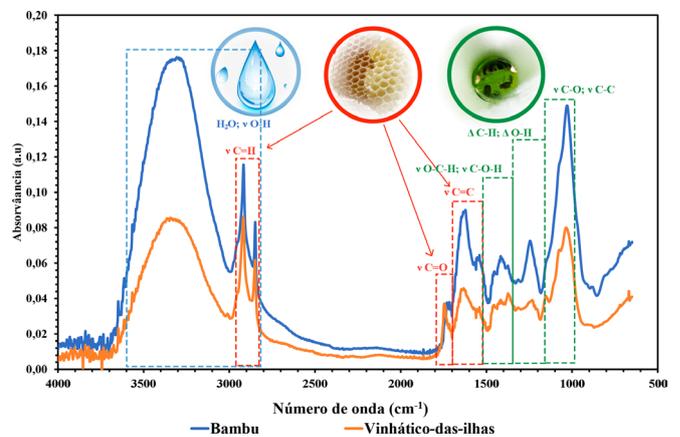


Figura 12. Ampliação dos espectros de FTIR-ATR das amostras do filme negro recolhidas do bambu (azul) do vinhático-das-ilhas (laranja) com identificação dos grupos funcionais pelas bandas e possíveis derivados (água, cera e sacarose).

Face aos resultados obtidos por FTIR-ATR (Figuras 11 e 12) e à comparação com a literatura, verifica-se que as amostras coligadas possuem vestígios de cera e sacarídeos como a sucrose, e possivelmente outros açúcares, habitualmente encontrados em exemplares de *honeydew* [14, 17-18]. É assim muito provável que o desenvolvimento deste género de fungo esteja associado às gotas doces excretadas pelos insetos alimentadores de seiva [14, 17-18].

Conclusões

O filme negro da escultura *Morte de Cleópatra* foi identificado como fumagina (*sooty mould*). Este ocorre devido à escultura possuir, no seu lado SW, duas espécies arbóreas, o bambu e o vinhático-das-ilhas. Nestes exemplares botânicos habitam insetos alimentadores de seiva que vão segregar e excretar gotas de melada (*honeydew*) [24-27]. Essas gotas caem das folhas para outras zonas das árvores ou, como neste estudo, sobre a escultura. As bandas identificadas por FTIR-ATR,

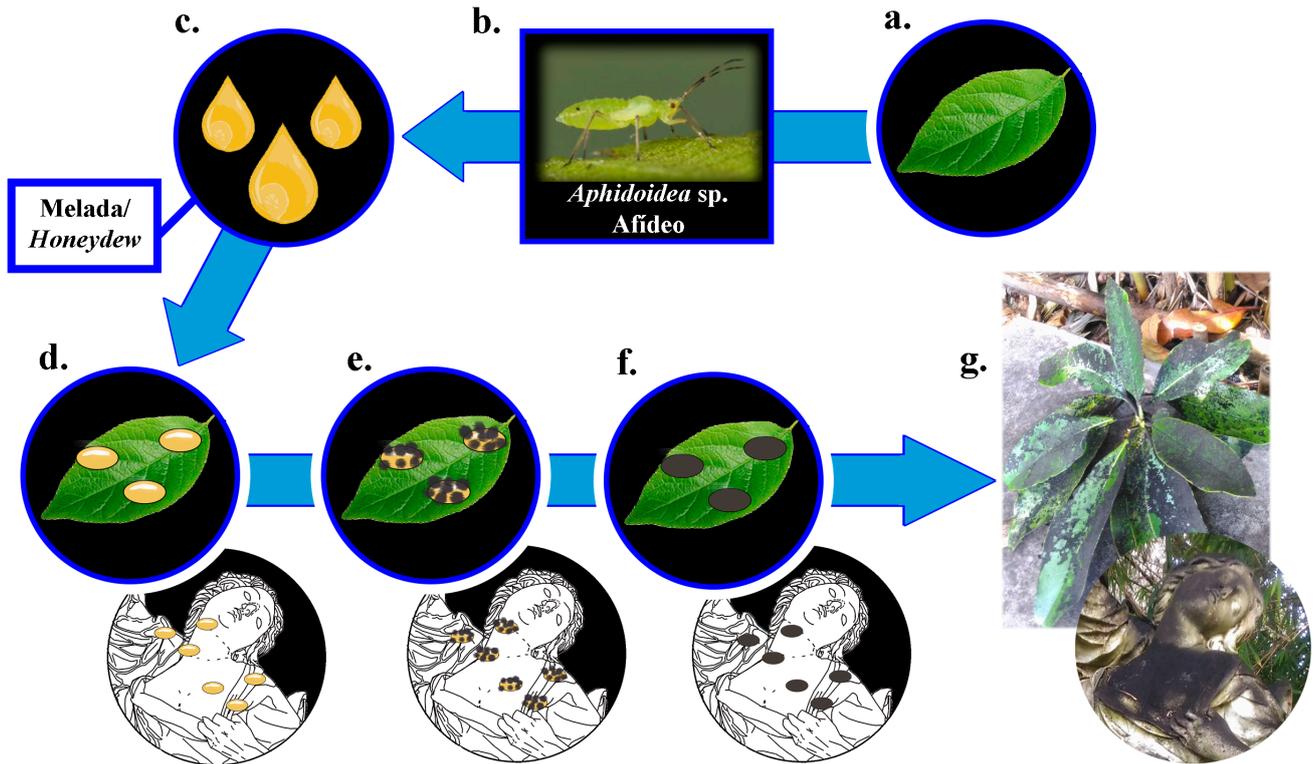


Figura 13. Esquema da formação da fumagina/sooty mould: a) antes da infestação de uma folha; b) exemplo de uma espécie de insetos alimentadores de seiva capazes de produzir fumagina (*Aphidoidea* sp. [29]); c) secreção e/ou excreção de gotas do honeydew pela infestação e possível queda; d) fixação das gotas do honeydew numa outra folha ou escultura *Morte de Cleópatra*; e) início do desenvolvimento da fumagina; f) desenvolvimento progressivo da fumagina; g) aspecto da fumagina no vinhático-das-ilhas e na escultura *Morte de Cleópatra*.

semelhantes ao éster de cera, assim como a textura em favor de cera observado em SEM-EDS, podem também ser enquadradas no panorama do honeydew das amostras estudadas. A literatura sugere que, no ato da excreção, as ninfas e adultos dos insetos alimentadores de seiva libertam o honeydew, coberto por uma fina camada de um material ceroso.

Após a deposição das gotas de melada [24-27], estas vão criar um revestimento açucarado pegajoso sobre os materiais anteriormente mencionados, formado por sacarídeos, aminoácidos, proteínas, minerais, vitaminas e outros compostos orgânicos. Neste revestimento, desenvolve-se um biofilme fúngico enegrecido, produzindo esporos e uma massa superficial negra formando a fumagina, com a formação um filme negro sobre a escultura em estudo.

O vinhático-das-ilhas (*Persea indica*) foi identificado como sendo o responsável, ou o espécime botânico originário, pela queda de fumagina, devido a este possuir nas folhas um filme negro mais desenvolvido e mais espesso. Salienta-se que, pelo facto de esta árvore se encontrar numa altura elevada e sobre a escultura, após a infestação pelos insetos infestadores, se compreende que tenha ocorrido queda do particulado negro e/ou gotas de honeydew nas folhas de bambu e na *Morte de Cleópatra*.

De acordo com o observado, não há vantagem em efetuar uma intervenção de limpeza na *Morte de Cleópatra* enquanto esta se mantiver debaixo de espécies botânicas. Deste modo aconselha-se ao Jardim Botânico Tropical que desloque a escultura para um local sem árvores a envolvê-la.

Agradecimentos

Os autores agradecem o financiamento provido ao Projetos Estratégicos, financiado pela FCT, do CERENA (PE-UID/ ECI/04028/2019) e ao projeto do VICARTE: CleanART (PTDC/ EPH-PAT/0224/201

REFERÊNCIAS

1. Ramalho, S. L. R., *Guia de Portugal Artístico*, Lisboa (1935).
2. Castel-Branco, C.; Fernandes, C. V., *Jardins e Escultura do Palácio de Belém*, Lisboa (2005).
3. Thau, M. V., ‘Mazzuoli, Giuseppe, il Vecchio’, *Dizionario Biografico degli Italiani* (2008), [http://www.treccani.it/enciclopedia/mazzuoli-giuseppe-il-vecchio_\(Dizionario-Biografico\)/](http://www.treccani.it/enciclopedia/mazzuoli-giuseppe-il-vecchio_(Dizionario-Biografico)/) (acesso em 2018-7-22).
4. ‘Proposta de percurso, mapa adaptado’, <http://www2.iict.pt/jbt/index.php?idc=217&idi=11897> (acesso em 2018-7-22).
5. Neves, S. A. T. F., ‘Intervenção de conservação na escultura “Morte de Cleópatra”’, dissertação, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, Lisboa (2007).

6. Simões, C. J. A., 'Diagnóstico e intervenção de conservação de uma escultura em pedra', dissertação, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, Lisboa (2007).
7. Vergès-Belmin, V. (ed.), *Illustrated Glossary on Stone Deterioration Patterns*, ICOMOS, Paris (2008), https://www.icomos.org/publications/monuments_and_sites/15/pdf/Monuments_and_Sites_15_ISCS_Glossary_Stone.pdf (acesso em 2018-07-22).
8. Mokrzycki, W. S.; Tatol, M., 'Color difference delta E – A survey', *Machine Graphics and Vision* **20**(4) (2011) 383-412.
9. Drdácák, M.; Lesák, J.; Rescic, S.; Slízková, Z.; Tiano, P.; Valach, J., 'Standardization of peeling tests for assessing the cohesion and consolidation characteristics of historic stone surfaces', *Materials and Structures* **45**(4) (2012) 505-520, <https://doi.org/10.1617/s11527-011-9778-x>.
10. Samson, R. A.; Horkstra, E. S.; Frisvad, J. C.; Filtenborg, O., *Introduction to Food and Airborne fungi*, 6th ed., Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht (2001).
11. Philips, A., 'Mycology. An introduction to the fungi', guia laboratorial, Universidade Nova de Lisboa, Faculdade de Ciências e Tecnologia, VICARTE (2005).
12. Chomnunti, P.; Hongsanan, S.; Aguirre-hudson, B.; Tian, Q.; Persoh, D.; Dhami, M. K.; Alias, A. S.; Xu, J.; Liu, X.; Stadler, M.; Hyde, K. D., 'The sooty moulds', *Fungal Diversity* **66**(1) 1-36 (2014), <https://doi.org/10.1007/s13225-014-0278-5>.
13. Dhami, M. K.; Weir, B. S.; Taylor, M. W.; Beggs, J. R., 'Diverse honeydew-consuming fungal communities associated with scale insects', *PLoS One* **8**(7) (2013) 1-12, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070316>.
14. Santos, S. A. P.; Santos, C.; Silva, S.; Pinto, G.; Torres, L. M.; Nogueira, A. J. A., 'The effect of sooty mold on fluorescence and gas exchange properties of olive tree', *Turkish Journal of Biology* **37**(5) (2013) 620-628, <https://doi.org/10.3906/biy-1301-81>.
15. Ammar, E.; Alessandro, R.; Jr, R. G. S.; Hall, D. G., 'Behavioral, ultrastructural and chemical studies on the honeydew and waxy secretions by nymphs and adults of the asian Citrus Psyllid *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae)', *PLoS One* **8**(6) (2013) 1-6, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0064938>.
16. Hallmann, C.; Rüdrieh, J.; Enseleit, M.; Friedl, T.; Hoppert, M., 'Microbial diversity on a marble monument: a case study', *Environmental Earth Sciences* **63**(7-8) (2011) 1701-1711, <https://doi.org/10.1007/s12665-010-0772-3>.
17. Shim, Y.; Jung, H.; Woong, J.; Seok, H.; Bae, H.; Park, J.; Choi, B.; Lee, S., 'Fabrication of hollow porous PLGA microspheres using sucrose for controlled dual delivery of dexamethasone and BMP2', *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* **37** (2016) 101-106, <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2016.03.014>.
18. Anjos, O.; Graça, M.; Contreras, P.; Antunes, P., 'Application of FTIR-ATR spectroscopy to the quantification of sugar in honey', *Food Chemistry* **169**(15) (2015) 218-223, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.138>.
19. Ibrahim, M.; Alaam, M.; El-haes, H.; Jalbout, A. F.; De Leon, A., 'Analysis of the structure and vibrational spectra of glucose and fructose', *Eclética Química* **31**(3) (2006) 15-22, <https://doi.org/10.1590/S0100-46702006000300002>.
20. Weinbuch, D.; Cheung, J. K.; Ketelaars, J.; Filipe, V.; Hawe, A.; Den Engelsman, J.; Jiskoot, W., 'Nanoparticulate impurities in pharmaceutical-grade sugars and their interference with light scattering-based analysis of protein formulations', *Pharmaceutical Research* **32**(7) (2015) 2419-2427, <https://doi.org/10.1007/s11095-015-1634-1>.
21. Bovi, M. L. A.; De Resende, M. D. V.; Sáes, L. A.; Uzzo, P., 'Genetic analysis for sooty mold resistance and heart of palm yield in archontophoenix', *Scientia Agricola* **61**(2) (2004) 178-184, <https://doi.org/10.1590/S0103-90162004000200009>.
22. Cruywagen, E. M.; Crous, P. W.; Roux, J.; Slippers, B.; Wingfield, M. J., 'Fungi associated with black mould on baobab trees in Southern Africa', *Antonie van Leeuwenhoek* **108**(1) (2015) 85-95, <https://doi.org/10.1007/s10482-015-0466-7>.
23. Filho J. P. L.; Paiva, É. A. S., 'The effects of sooty mold on photosynthesis and mesophyll structure of mahogany (*Swietenia macrophylla* King., Meliaceae)', *Bragantia* **65**(1) (2006) 11-17, <https://doi.org/10.1590/S0006-87052006000100003>.
24. Insausti, P.; Ploschuk, E. L.; Izaguirre, M. M.; Podworny, M., 'The effect of sunlight interception by sooty mold on chlorophyll content and photosynthesis in orange leaves (*Citrus sinensis* L.)', *European Journal on Plant Pathology* **143**(3) (2015) 559-565, <https://doi.org/10.1007/s10658-015-0709-5>.
25. Amaro, P., *A Protecção Integrada*, ISA/Press, Lisboa (2003), http://www.isa.utl.pt/files/pub/ISAPRESS/PDF_Livros_ProfPedroAmaro/Proteccao_Integrada.pdf (acesso em 2018-7-22).
26. Boavida, C., 'Psilas em eucaliptos-Glycaspis brimblecombei Moore', boletim técnico, Instituto Nacional de Recursos Biológicos (2007), http://www.inia.pt/fotos/editor2/glycaspis_brimblecombei_moore_psilas_em_eucalipto.pdf (acesso em 2019-3-22).
27. Coutinho, C., 'A cochonilha algodão na vinha', ficha técnica, Direcção Regional de Agricultura e Pescas do Norte (2011), http://www.drapn.min-agricultura.pt/drapn/conteudos/ft2010/ficha_tecnica_43_2011.pdf (acesso em 2019-3-22).
28. Neto, E., 'Afideos', ficha de divulgação, Direcção Regional de Agricultura e Pescas do Algarve (2009), http://www.drapalgarve.gov.pt/downloads/Temas%20e%20servicos/Inimigos_Culturas_FD_EAA/VINHA_FD_EAA/FD_EAA_01_2009_Afideos.pdf (acesso em 2019-3-22).
29. Vladimirov, N. 'Photo #62845', in *Insecta.pro*, <http://insecta.pro/gallery/62845> (acesso em 2018-7-22).
30. Nelson, S., 'Sooty mold', University of Hawaii, Honolulu (2008), <http://hdl.handle.net/10125/12424>.
31. Khodaparast, S. A.; Byrami, F.; Pourmoghadam, M. J.; Amirmijani, A. R.; Salimi, M., 'A further contribution to the knowledge of sooty mould fungi from Iran', *Mycologia Iranica* **2**(1) (2015) 46-58, <https://doi.org/10.22043/MI.2015.14224>.
32. Laemmlen, F.F., 'Sooty mold', Integrated pest management for home gardeners and landscape professionals – Pest notes, University of California (2012) <http://www.ipm.ucdavis.edu/PDF/PESTNOTES/pnsootymold.pdf> (acesso em 2018-07-22).
33. Park, P.; Cho, S.-E.; Hong, S.-H.; Choi, I.-Y.; Shin, H.-D., 'Sooty mould on *Hibiscus rosa-sinensis* caused by *Leptoxiphium kurandae* is associated with Extrafloral Nectaries', *Journal of Phytopathology* **5**(2014) 1027-1031, <https://doi.org/10.1111/jph.12332>.

34. Santos, R. S.; Lúcia, A.; Gonzalez, B.; Rodrigues, W. C.; Santos, R. S., ‘Ocorrência de *Phenacoccus solenopsis* Tinsley (Hemiptera : Pseudococcidae) em quiabeiro no estado do Acre’, *Entomologistas do Brasil* **10**(2) 135-138 (2017), <https://doi.org/10.12741/ebrasilis.v10i2.684>.
35. Nieves-Rivera, Á. M.; Tattar, T. A.; Jr, E. H. W., ‘Sooty Mouldplanthopper association on leaves of the black mangrove *avicennia germinans*, (L.) Stearn in Southwestern Puerto Rico’, *The International Journal of Urban Forestry* **26**(2) (2002) 141-155, <https://doi.org/10.1080/03071375.2002.9747328>.
36. Dong, Y.; Wan, L.; Pereira, R.; Desneux, N.; Niu, C., ‘Feeding and mating behaviour of Chinese citrus fly *Bactrocera minax* (Diptera , Tephritidae) in the field’, *Journal of Pest Science* **87**(4) (2014) 647-657, <https://doi.org/10.1007/s10340-014-0605-3>.
37. Summy, K. R.; Little, C. R., ‘Using color infrared imagery to detect sooty mold and fungal pathogens of glasshouse-propagated plants’, *American Society for Horticulture Science* **43**(5) (2008) 1485-1491, <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.43.5.1485>.
38. Hansen, M. A., ‘Sooty mold of conifers and hardwoods’, Virginia Cooperative Extension, Virginia Polytechnic Institute and State University (2009).
39. Burford, E. P.; Kierans, M.; Gadd, G. M., ‘Geomycology : fungi in mineral substrata’ *Mycologist* **17**(3) (2003) 98-107, <https://doi.org/10.1017/S0269915X03003112>.
40. Garcia-Vallès, M.; Urzi, C. E.; Vendrell-Saz, M., ‘Weathering processes on the rock surface in natural outcrops: the case of an ancient marble quarry (Belevi, Turkey)’, *Environmental Geology* **41**(8) (2002) 889-897, <https://doi.org/10.1007/s00254-001-0466-y>.

RECEBIDO: 2018.10.31

REVISTO: 2019.1.11

ACEITE: 2019.1.13

ONLINE: 25.3.2019



Licenciado sob uma Licença Creative Commons

Atribuição-NãoComercial-SemDerivações 4.0 Internacional.

Para ver uma cópia desta licença, visite

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.pt>.