

CURSO DE CONSERVACIÓN DEL PATRIMONIO II

Aplicaciones prácticas de la investigación sobre Patrimonio

Leonila Laiz Trobajo
Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología
Consejo Superior de Investigaciones Científicas
Sevilla



CONSEJO SUPERIOR DE
INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

APLICACIONES PRÁCTICAS DE LA INVESTIGACIÓN SOBRE PATRIMONIO

INTRODUCCIÓN

ESTUDIOS DE PATRIMONIO EN EL LABORATORIO

APLICACIONES PRÁCTICAS



INTRODUCCIÓN



- La célula eucariota procede de la procariota:
 - procariotas: 3800 ma.
 - eucariotas: 1700-1500 ma.
 - primeros multicelulares: 600 ma.
- **Registro microfósil** en rocas: primeras formas microbianas
- **Procariotas:**
 - Habitantes más viejos del planeta
 - Capacidad adaptación amplio rango condiciones
 - Selección enorme diversidad tipos fisiológicos
 - Rápida adquisición propiedades metabólicas



Cueva de Altamira. Biofilm verde

- **Bacterias heterótrofas**

- muy abundantes en sustratos líticos
- biodeterioro en función de disponibilidad de nutrientes

- **Clase Actinobacteria:** bacterias filamentosas fácilmente observables *in situ*
- Naturaleza micelial = gran capacidad para penetrar en el sustrato
Daño : - formación de extensos biofilms
- biomineralización

Contribución de las comunidades microbianas a la formación de estalactitas

- Formación estalactitas = modelo clásico + factor microbiano
- Influencia del **metabolismo bacteriano** en el equilibrio bicarbonato-carbonato:
 - aumentando la solubilidad de los minerales carbonatados
 - proporcionando sitios de nucleación
- **Biodiversidad** de las comunidades microbianas activas en cuevas

Cuevas de Sahastradhara, Dehradun, India
(10 m longitud, 2 m anchura)

- FISH: Eub338, Arch915, SRB385
- Cianobacterias
 - Bacterias heterótrofas
 - δ-Proteobacterias, 26%
 - Archaea



Sushmitha et al. 2005. Role of microbial community in stalactite formation, Sahastradhara caves, Dehradun, India. Current Science, 88 (8): 1305-1308

ESTUDIOS DE PATRIMONIO EN EL LABORATORIO



1. CRECIMIENTO FRACTAL

2. PRODUCCIÓN DE PIGMENTOS

3. FORMACIÓN DE BIOFILMS

Efecto del ácido algínico

4. MONITORIZACIÓN DE LA COLONIZACIÓN BACTERIANA

Desarrollo de sistemas experimentales



CRECIMIENTO FRACTAL

Groth, I., Schumann, P., Laiz, L., Sanchez-Moral, S., Cañaveras, J.C., Saiz-Jimenez, C. 2001. Geomicrobiological study of the Grotta dei Cervi, Porto Badisco, Italy. Geomicrobiol. J. 18: 1-18

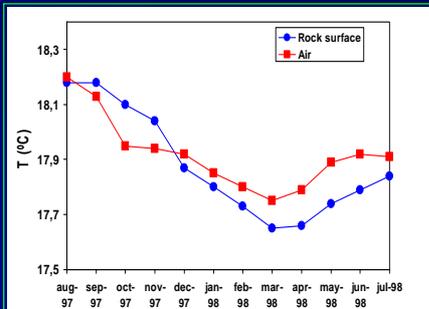


Grotta dei Cervi
Pinturas neolíticas

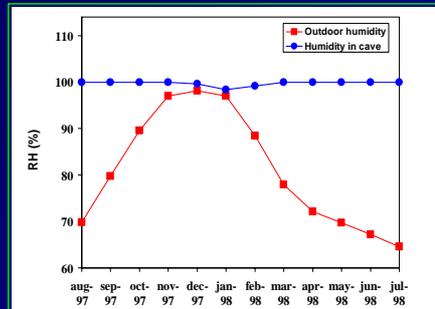
CRECIMIENTO FRACTAL

Laiz, L., Groth, I., Schumann, P., Zezza, F., Felske, A., Hermosin, B., Saiz-Jimenez, C. 2000. Microbiology of the stalactites from Grotta dei Cervi, Porto Badisco, Italy. Internatl. Microbiol. 3: 25-30

Temperatura



Humedad relativa



Géneros identificados

■ Bacterias Gram -

Acinetobacter
Aeromonas
Chromobacterium
Chryseomonas
Enterobacter
Erwinia
Flavimonas
Janthinobacterium
Kingella
Pseudomonas
Serratia
Variovorax
Xanthobacter
Xanthomonas

■ Actinobacteria

Agromyces
Amycolatopsis
Arthrobacter
Aureobacterium
Brachybacterium
Brevibacterium
Gordonia
Kocuria
Microbacterium
Micrococcus
Micromonospora
Nocardia
Nocardioides
Nocardiopsis
Rhodococcus
Rothia
Saccharothrix
Streptomyces

■ Otras Bacterias Gram +

Bacillus
Paenibacillus
Staphylococcus

Crecimiento fractal de *Nocardiopsis dassonvillei* F101

0.25% peptona



2% peptona



5% peptona



10% peptona



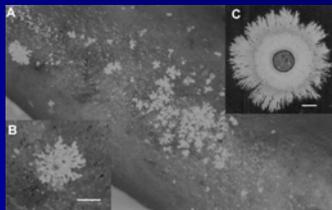
Accession AY277558

ACCESSION **AY277558.**

ORGANISM ***Nocardiopsis dassonvillei***

REFERENCE 1: Groth,I., Schumann,P., Laiz,L., Sanchez-Moral,S., Cañaveras,J.C. and Saiz-Jimenez,C. "Geomicrobiological study of the Grotta dei Cervi, Porto Badisco, Italy". Geomicrobiol. J. 18, 241-258 (2001)

REFERENCE 2: Gonzalez,J.M., Laiz,L. and Saiz-Jimenez,C. "Classifying bacterial isolates from hypogean environments: Application of a novel fluorimetric method dor the estimation of G+C mol% content in microorganisms by thermal denaturation temperature". In: Saiz-Jimenez,C. (Ed.); Molecular Biology and Cultural Heritage: 47-54;A.A. Balkema, The Netherlands (2003)



REFERENCE 3 (bases 1 to 1432):
Laiz,L., Gonzalez,J.M. and Saiz-Jimenez,C.
Direct Submission (14-APR-2003)
IRNAS, CSIC

1. CRECIMIENTO FRACTAL

2. PRODUCCIÓN DE PIGMENTOS

3. FORMACIÓN DE BIOFILMS

Efecto del ácido algínico

4. MONITORIZACIÓN DE LA COLONIZACIÓN BACTERIANA

Desarrollo de sistemas experimentales



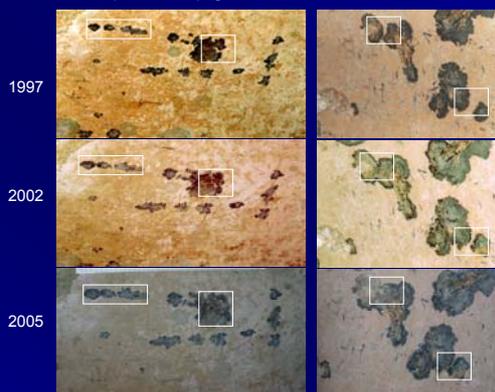
PRODUCCIÓN DE PIGMENTOS

**Necrópolis de Carmona, Sevilla.
Evolución de las manchas del Mausoleo Circular**

***Streptomyces caviscabies* C48
produce pigmento violeta**

- Comparación de la superficie cubierta por crecimiento microbiano

Año de muestreo	Superficie total (cm ²)	Porcentaje (%)
1997	48.1	100.0
2002	62.6	130.2
2005	71.3	148.2



8 años de seguimiento → 50% de crecimiento

PRODUCCIÓN DE PIGMENTOS

Caracterización cepas de *Streptomyces* sp. aisladas del Mausoleo Circular

Strain	Aerial mycelium	Substrate mycelium	Soluble pigment	Sporophore ^a	Melanin	Utilization of carbon sources ^b								
						Ara	Glu	Fru	Ino	Man	Raf	Rha	Sac	Xyl
C25	whitish	yellow brown	-	RF	-	+	+	+	+/-	+	+	+	+	+
C37	whitish	yellow brown	-	S	-	+/-	-	-	-	-	-	-	+/-	-
C44	whitish	yellowish green	-	RF	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
C47	whitish	yellowish brown	-	S	-	+/-	-	-	-	-	-	-	+	-
C48	yellowish green	reddish brown	red-violet	RF	+	+	+	+	+	+	+/-	-	+	+
GT12	grey	yellow, olive, grey	-	S/ RF	-	+	+	+	+	+	+/-	+	+/-	+
SC48	pale reddish-beige	yellow orange	-	RF	-	+	+	+/-	-	+/-	+	+	+	+
SC59	pale grey	yellow brown	-	RF	-	+/-	+	-	-	-	-	+/-	-	-
UL28	whitish	grey brown	-	RF	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+

^aa=Rf: rectiflexibles, S: espirales. ^bb=Ara: arabinosa, Glu: glucosa, Fru: fructosa, Ino: inositol, Man: manosa, Raf: rafinosa, Rha: rhamnosa, Sac: sacarosa, Xyl: xilosa, Cel: celulosa

1. CRECIMIENTO FRACTAL

2. PRODUCCIÓN DE PIGMENTOS

3. FORMACIÓN DE BIOFILMS

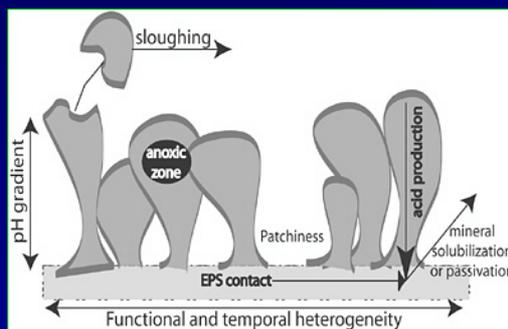
Efecto del ácido algínico

4. MONITORIZACIÓN DE LA COLONIZACIÓN BACTERIANA

Desarrollo de sistemas experimentales



Diagrama de un biofilm sobre un sustrato lítico



• Formación de **Biofilms** vs. biodeterioro sustratos líticos

- Naturaleza de los exopolímeros:
 - variada
 - grupos funcionales que pueden unirse a cationes

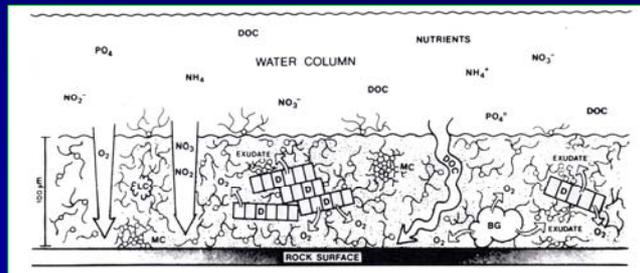
* Exopolímero de *Pseudomonas aeruginosa*

- grupos carbonilo e hidroxilo del ácido algínico
- formación de complejos con la superficie mineral
- liberación de calcio de los sustratos calizos

FORMACIÓN DE BIOFILMS

Biofilms: Presencia **ubícua** en la naturaleza.

- Estudios de **genómica** y **proteómica**:
 - 30% genes se expresan diferencialmente
 - genes responsables de la **transición biofilm↔planctónica**
- Elementos que intervienen en la formación del biofilm de muchos géneros bacterianos:
 1. Familia **proteínas Bap**: "Biofilm associated protein"
 2. Superfamilia **proteínas GGDEF**
 3. Polisacárido **celulosa**: *Phylobacterium catacumbae* CECT 5680^T
Aurantimonas altamirensis CECT 7138^T



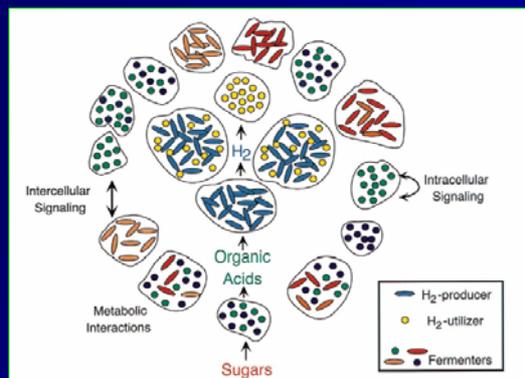
Biofilm natural

BG = cianobacterias
D = diatomeas
DOC = carbono orgánico disuelto
LC = células lisadas
MC = microcolonias

FORMACIÓN DE BIOFILMS

Regulación de la formación del biofilm. Sistema "quorum sensing" o autoinducción.

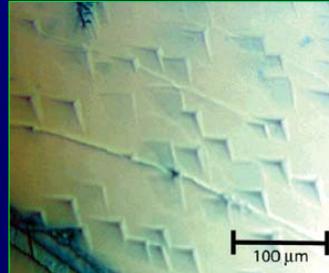
- Mecanismo dependiente de molécula señal, **autoinductor**. Permite a la bacteria sentir la densidad de población
- Autoinductor → Activación de un receptor específico → Alteración expresión genes
- Gram - :acilhomoserina lactona
- Gram+ :naturaleza peptídica
- Moléculas que bloquean el sistema de "quorum sensing":
-*Delisea pulcra*, furanona



Davey y O'Toole. 2000. Microbial Biofilms: from Ecology to Molecular Genetics
Microbiology and Molecular Biology Reviews. 64, (4): 847-867

Efecto del ácido algínico sobre la disolución de calcita

- Composición química del **ácido algínico**:
 - residuos de ácido gulurónico (G)
 - residuos de ácido manurónico (M)
 - configuraciones **poli-G**, **poli-M**, bloques **GM**
- Grupos carbonilo e hidroxilo del ácido algínico (donadores de electrones) son quelantes de Ca^{2+}
- Alginatos poli-G mayor afinidad por Ca^{2+} que alginatos poli-M (conformación espacial)



Microscopía óptica (100X) de ácido algínico teñido con "alcian blue" sobre calcita a pH 5,6

Perry et al. 2004. Effects of the Biologically Produced Polymer Alginic Acid on Macroscopic and Microscopic Calcite Dissolution Rates Environ. Sci. Technol. 38: 3040-3046

- **Adsorción de ácido algínico** sobre calcita:
 - Acumulación preferencial de alginato sitios de disolución activa, cambios morfológicos
 - Adsorción irreversible

1. CRECIMIENTO FRACTAL

2. PRODUCCIÓN DE PIGMENTOS

3. FORMACIÓN DE BIOFILMS

Efecto del ácido algínico

4. MONITORIZACIÓN DE LA COLONIZACIÓN BACTERIANA

Desarrollo de sistemas experimentales



Desarrollo de sistemas experimentales

- **Utilidad** sistemas experimentales estandarizados: condiciones controladas
 - especies que mejor colonizan un sustrato
 - evolución de la comunidad microbiana, función del tipo de sustrato
 - modificación composición química del sustrato
 - contribución **precisa** de los microorganismos
 - metabolismo microbiano, no contaminación atmosférica
 - proponer materiales para restauración

- **Diseño** sistemas experimentales estandarizados:
 - sustratos y morteros comunes en monumentos
 - medios cultivo generales + suplemento salino
 - NB, TSB, TSB+20% NaCl+2% MgSO₄
 - medios específicos
 - Archaea, Bacteroidetes*
 - poblaciones microbianas composición conocida (datos ARN)
 - incubación diferentes temperaturas: 13° C, 28° C, 37° C

Monitorización de la colonización bacteriana en monumentos

Bacterias
<i>Arthrobacter histidinovorans</i> LMG 3822
<i>Arthrobacter oxydans</i> LMG 3816
<i>Bacillus megaterium</i> CECT 4313
<i>Bacillus pumilus</i> CECT 29
<i>Brevibacillus laterosporus</i> CECT 15
<i>Chromobacterium violaceum</i> CECT 494
<i>Halomonas halophila</i> LMG 6456
<i>Halococcus morrhuae</i> DSM 1307
<i>Kocuria rosea</i> CECT 52
<i>Methylobacterium extorquens</i> LMG 4250
<i>Micrococcus luteus</i> CECT 51
<i>Paenibacillus polymyxa</i> CECT 155
<i>Pseudomonas fluorescens</i> CECT 378
<i>Pseudomonas stutzeri</i> CECT 930

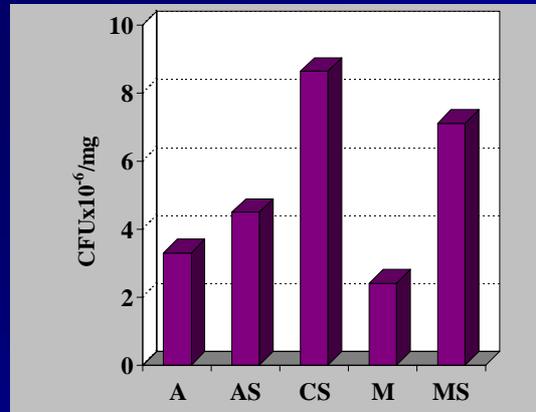
Laiz, L., Piñar, G., Lubitz, W., Saiz-Jimenez, C. 2003. Monitoring the colonization of monuments by bacteria: cultivation versus molecular methods. *Environ. Microbiol.* 5 (1): 72-75

* **CECT**: Colección Española de Cultivos Tipo, Burjasot, Valencia, Spain.

* **DSM**: Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zell Kulturen GmbH, Braunschweig, Germany.

* **LMG**: Laboratorium voor Microbiologie Universiteit Gent, Faculteit der Wetenschappen, Gent, Belgium.

MONITORIZACIÓN DE LA COLONIZACIÓN BACTERIANA. Sistemas experimentales



A: Arenisca
 AS: Arenisca + sales
 CS: Caliza + sales
 M: mortero
 MS: Mortero + sales

CFU DESPUÉS DE 6 MESES DE CRECIMIENTO

MONITORIZACIÓN DE LA COLONIZACIÓN BACTERIANA. Sistemas experimentales

Poblaciones microbianas a los 6 meses de incubación

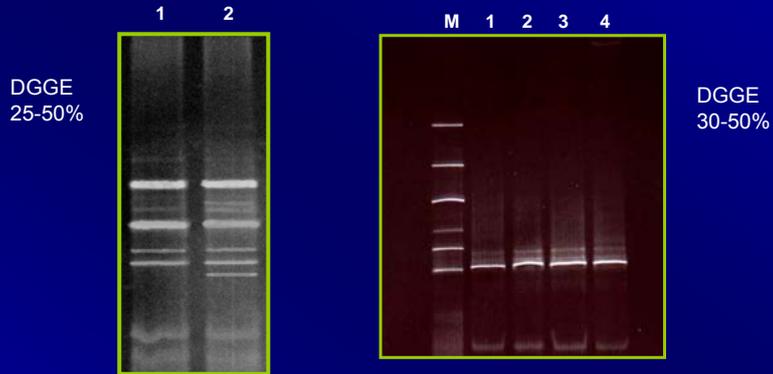
1 2 3 4 5 6 7 8 M 9 10 11



DGGE
 30-50%

1: *Paenibacillus polymyxa*
 2: *Brevibacillus laterosporus*
 3: *Pseudomonas fluorescens*
 4: *Bacillus pumilus*
 5: *Arthrobacter oxydans*
 6: *Chromobacterium violaceum*
 7: Arenisca
 8: Mortero
 M: Marcador
 9: *Halomonas halophila*
 10: Caliza + sales
 11: Arenisca + sales

DGGE: detección de Archaea



DGGE
25-50%

DGGE
30-50%

Extracción de ADN: Arenisca + sales.

- 1: Método de Ausubel et al. (1991)
- 2: Método de Schabereiter-Gutner et al. (2001a)

M: Marcador

- 1: Población microbiana (tiempo 0)
- 2: Caliza + sales (6 meses)
- 3: Mortero + sales (6 meses)
- 4: *Halococcus morrhuae* DSM1307

Monitorización de la colonización a los 6 meses

Bacterias detectadas en el sistema experimental a los seis meses de incubación

ARENISCA + TSBS		CALIZA + TSBS		ARENISCA + TSB		MORTERO + TSB	
DGGE	MIDI	DGGE	MIDI	DGGE	MIDI	DGGE	MIDI
<i>Pseudomonas</i>	<i>Brevibacillus laterosporus</i>	<i>Arthrobacter histidinolovorans</i>	<i>Brevibacillus laterosporus</i>	<i>Pseudomonas</i>		<i>Pseudomonas</i>	<i>Arthrobacter histidinolovorans</i>
<i>Bacillus</i> sp.	<i>Bacillus megaterium</i> <i>Bacillus pumilus</i>		<i>Bacillus pumilus</i>	<i>Bacillus</i> sp. <i>Micrococcus luteus</i> <i>Arthrobacter</i>	<i>Bacillus megaterium</i> <i>Bacillus pumilus</i>	<i>Bacillus</i> sp. <i>Micrococcus luteus</i> <i>Arthrobacter</i>	<i>Bacillus megaterium</i> <i>Bacillus pumilus</i>
<i>Halomonas halophila</i>	<i>Halomonas halophila</i>	<i>Halomonas halophila</i>	<i>Halomonas halophila</i>				
<i>Halococcus morrhuae</i>		<i>Halococcus morrhuae</i>					
Otros		Otros		Otros		Otros	

APLICACIONES PRÁCTICAS



1. CONTROL DE LAS RESTAURACIONES

Necrópolis de Carmona. Tumba de Servilia

2. RESTAURACIÓN DEL PAISAJE FACILITANDO LA FORMACIÓN DE BIOFILMS

Cantera de cuarzo

3. EVALUACIÓN DE LA BIO-RECEPTIVIDAD DE LOS MATERIALES

Tejas de construcción

4. AUMENTO DE BASES DE DATOS DE PROCARIOTAS

Descripción de nuevas especies



Control de las restauraciones. Recolonización de la Tumba de Servilia

Necrópolis de Carmona, Sevilla
Tumba de Servilia



Año 2000

Año 2005

Bacterias metabólicamente activas

- * γ -Proteobacteria 41%: *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Salinisphaera*, *Acinetobacter*
- * Actinobacteria 26%: *Arthrobacter*, *Rubrobacter*, *Propionibacterium*, *Streptomyces*, *Saccharomonospora*, *Saccharothrix*, *Amycolatopsis*
- * β -Proteobacteria 17%: *Ralstonia*, *Janthinobacterium*
- * α -Proteobacteria 9%: *Ochrobactrum*, *Phyllobacterium*, *Sphingomonas*

Bacterias cultivadas

- * Firmicutes: *Bacillus*, *Halobacillus*, *Paenibacillus*, *Staphylococcus*, *Virgibacillus*
- * Actinobacteria: *Streptomyces*, *Cellulomonas*, *Micrococcus*, *Arthrobacter*, *Kocuria*, *Rubrobacter*, *Saccharopolyspora*
- * α -Proteobacteria: *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium*

Control de las restauraciones

Rubrobacter sp.: implicación en el biodeterioro

- { Cepa metabólicamente activa
- { Cepa moderadamente halófila
- { Colonias de color rosa

- *Rubrobacter* sp.: decoloración pinturas murales Castillo de Herberstein (Austria)
- *Rubrobacter* sp.: biofilms monumentos mayas realizados en caliza
 - biofilms interior: *Nevskia*, *Salinibacter*
 - biofilms exterior: *Rubrobacter*
- Distintas localizaciones de *Rubrobacter* sp.:

Necesidad de estudios microbiológicos para asesorar en los procesos de limpieza y restauración



Rubrobacter sp. TS-X24-S3

1. CONTROL DE LAS RESTAURACIONES

Necrópolis de Carmona. Tumba de Servilia

2. RESTAURACIÓN DEL PAISAJE FACILITANDO LA FORMACIÓN DE BIOFILMS

Cantera de cuarzo

3. EVALUACIÓN DE LA BIO-RECEPTIVIDAD DE LOS MATERIALES

Tejas de construcción

4. AUMENTO DE BASES DE DATOS DE PROCARIOTAS

Descripción de nuevas especies



Restauración del paisaje: Colonización de canteras de cuarzo

Prieto, B., Silva, B., Aira, N., Laiz, L. 2005. Induction of biofilms on quartz surfaces as a means of reducing the visual impact of quartz quarries. *Biofouling*. 21 (5/6): 237- 246



Corrección del impacto visual generado por las canteras de cuarzo

Cantera de cuarzo "Serrabal"
Santiago de Compostela



Piezas de cuarzo:
no inoculada e
inoculada (100 días)

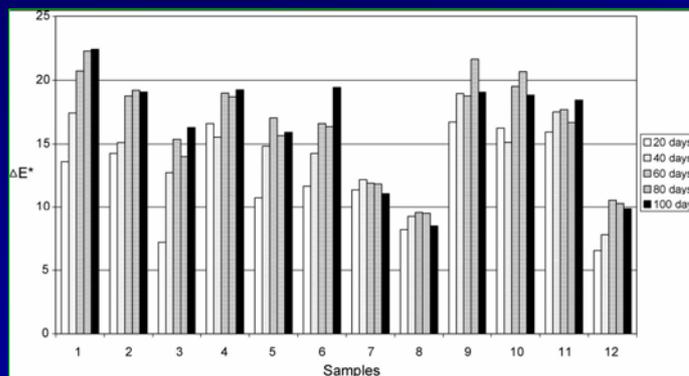
Organismos identificados en los biofilms del cuarzo

Pared A de la cantera	
Bacterias	(20%)
<i>Calothrix</i> sp.	(6.7%)
<i>Phormidium</i> sp.	(46.7%)
Otras cianobacterias	(26.6%)

Pared B de la cantera	
<i>Nostoc edaphicum</i>	(18.2%)
<i>Leptolyngbya</i> sp.	(9.1%)
<i>Phormidium</i> sp.	(54.5%)
<i>Physcomitrella</i> sp.	(9.1%)
Otras cianobacterias	(9.1%)

El éxito de la inducción de biofilms sobre la superficie de cuarzo indica que éste es un buen método para corregir el impacto visual producido por las canteras

Variación en color total de las muestras de cuarzo 20, 40, 60, 80 y 100 días después de la inoculación con los microorganismos



1. CONTROL DE LAS RESTAURACIONES

Necrópolis de Carmona. Tumba de Servilia

2. RESTAURACIÓN DEL PAISAJE FACILITANDO LA FORMACIÓN DE BIOFILMS

Cantera de cuarzo

3. EVALUACIÓN DE LA BIO-RECEPTIVIDAD DE LOS MATERIALES

Tejas de construcción

4. AUMENTO DE BASES DE DATOS DE PROCARIOTAS

Descripción de nuevas especies



Desarrollo de tejas de baja bio-receptividad

Laiz, L., Gonzalez, J.M., Portillo, M.C., Gazulla, M.F., Sanchez, E., Saiz-Jimenez, C. 2006. Microbial assessment of the biological colonization on roofing tiles. Heritage, Weathering and Conservation HWC-2006. ISBN 0-415-41272-2: 349-353. R. Fort, M. Alvarez de Buergo, M. Gomez-Heras y C. Vazquez-Calvo, eds. Taylor & Francis Group, London

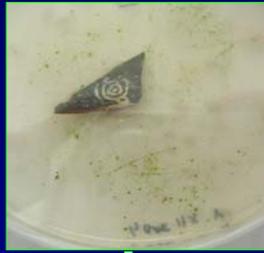


Tejas. Oporto



Tejas. Vigo

Crecimiento y aislamiento de microorganismos



Bacterias aisladas

- Alcaligenes*
- Arthrobacter*
- Azospirillum*
- Bacillus*
- Brevundimonas*
- Brevibacterium*
- Cellulomonas*
- Deinococcus*
- Frigoribacterium*
- Kocuria*
- Kineococcus*
- Methylobacterium*
- Microbacterium*
- Myxococcus*
- Paenibacillus*
- Pseudomonas*
- Streptomyces*

Hongos aislados

- Coprinopsis atramentaria*
- Rhodotorula slooffiae*
- Lopharia mirabilis*
- Pleospora*
- Fusarium oxysporum*
- Lecythophora mutabilis*
- Penicillium purpurogenum*
- Clathrospora diplospora*
- Penicillium chrysogenum*
- Ustilago maydis*



2 días



1 mes

Ensayos de colonización acelerada Cultivos puros

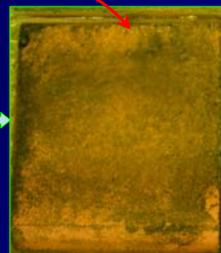
Streptomyces T2A-S15

Ensayos de colonización acelerada Cultivos complejos

Comunidad natural T2
(*Chlorella*)



4 meses (T2)



1 mes

1. CONTROL DE LAS RESTAURACIONES

Necrópolis de Carmona. Tumba de Servilia

2. RESTAURACIÓN DEL PAISAJE FACILITANDO LA FORMACIÓN DE BIOFILMS

Cantera de cuarzo

3. EVALUACIÓN DE LA BIO-RECEPTIVIDAD DE LOS MATERIALES

Tejas de construcción

4. AUMENTO DE BASES DE DATOS DE PROCARIOTAS

Descripción de nuevas especies



Aumento de las bases de datos de procariotas y descripción de nuevas especies

- Mejora del **inventario de especies procariotas** descritas
 - se considera prioritaria
 - continuamente aparecen nuevos taxones
 - realización estudios medioambientales y biotecnológicos
- Técnicas moleculares = **inventario** de especies procariotas es muy **deficiente**
 - deficiencia notable en el caso de los sustratos líticos de monumentos
 - hábitats relativamente poco estudiados
- **Colecciones de cultivo**
 - garantía de conservación de la biodiversidad
 - aplicaciones derivadas de la utilización de los recursos genéticos microbianos
- Nuestra colección de bacterias aisladas de sustratos líticos contiene **544 cepas**

Aumento de las bases de datos de procariontas y descripción de nuevas especies

Clase Firmicutes 23,7%

Bacillus
Paenibacillus
Virgibacillus
Halobacillus
Brevibacillus

α - Proteobacteria 4,4%

O. Rhizobiales
Azospirillum
Brevibacterium
Sphingomonas

β - Proteobacteria 2,4%

Ralstonia
Alcaligenes
Varivorax

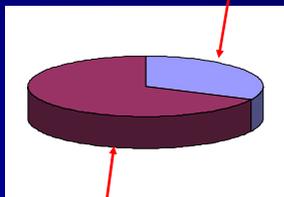
γ - Proteobacteria 8,5%

Pseudomonas
Acinetobacter
Halomonas
Stenotrophomonas
Lysobacter

Abundancia de *Streptomyces* en cuevas

Altamira

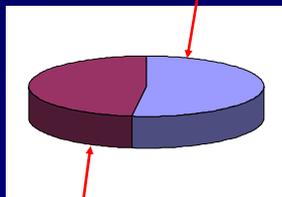
Streptomyces spp.



Otras bacterias

Tito Bustillo

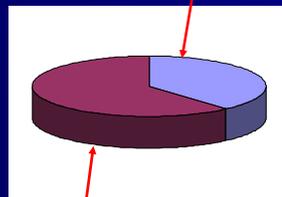
Streptomyces spp.



Otras bacterias

Grotta dei Cervi

Streptomyces spp.



Otras bacterias

Aumento de las bases de datos de procariontas y descripción de nuevas especies

Clase Actinobacteria 36,3%

<u>Streptomycetaceae</u>	(14%)
Streptomyces	
Kitasatospora	
<u>Microbacteriaceae</u>	(7,5%)
Agromyces	
Microbacterium	
Frigoribacterium	
<u>Pseudonocardiaceae</u>	(2,6%)
Amycolatopsis	
Kibdelosporangium	
Pseudonocardia	
<u>Micrococcaceae</u>	(3,1%)
Arthrobacter	
Kocuria	

Clase Actinobacteria 36,3%

<u>Actinosynnemataceae</u>	(1,3%)
Lechevalieria	
Lentzea	
Saccharothrix	
<u>Brevibacteraceae</u>	(1,2%)
Brevibacterium	
Microbacterium	
<u>Nocardiaceae</u>	(1,1%)
Nocardia	
Rhodococcus	
<u>Micromonosporineae</u>	(1,1%)
Micromonospora	
Catenuloplanes	

Caracterización de cepas productoras de sustancias bioactivas

- Búsqueda continua de bacterias productoras de antibióticos
- Ensayos preliminares con 74 cepas productoras de **sustancias bioactivas**

Porcentaje cepas productoras de sustancias bioactivas

Streptomyces	10,8%
Bacillus	4,1%
Lechevalieria	4,1%
Lentzea	4,1%
Kibdelosporangium	2,7%
Cellulomonas	1,4%
Kitasatospora	1,4%

Bio-restauración enzimática

- Actividad metabólica bacterias vivas + Actividad enzimática proteasa
- Ventajas: - método no destructivo
- eliminación selectiva sustancias extrañas
- bacterias no patógenas para el restaurador
- Futuro: evaluación riesgos medioambientales



Restauración de los frescos del Camposanto Monumental de Pisa (Italia)
"Conversione di S. Efsio e battaglia" (siglo XIV)



Pseudomonas stutzeri
strain A29
Barra: 4 µm

Ranalli et al. 2005. Biotechnology applied to cultural heritage: biorestation of frescoes using viable bacterial cells and enzymes. Journal of Applied Microbiology, 98: 73-83

1. Características de los biocidas

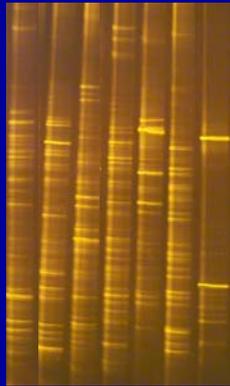
- Eficacia = nivel de acción frente a los agentes que producen el biodeterioro
alta a dosis mínimas // amplio rango de microorganismos susceptibles // larga duración
- Interacciones con el sustrato
no interferencia química o física con el sustrato lítico
- Propiedades toxicológicas
tóxicos en mayor o menor grado
evaluación del riesgo para restauradores y medio ambiente
modificación el ecosistema: organismos resistentes al biocida

2. Control microbiológico de los tratamientos empleados

- Estudios preliminares
importancia cultural de la **diversidad biológica de la comunidad**
factores ecológicos que pueden favorecer la recolonización
- Monitorización de la restauración
 - * Castillo Herberstein. Tratamientos Clotrimazol, Jergal HS21, Preventol R50
DGGE: Clotrimazol, apropiado. Preventol, aumento de la diversidad
 - * Templete Mudéjar, Monasterio de Guadalupe: Algophase

Electroforesis en gel de gradiente desnaturalizante: DGGE, TGGE

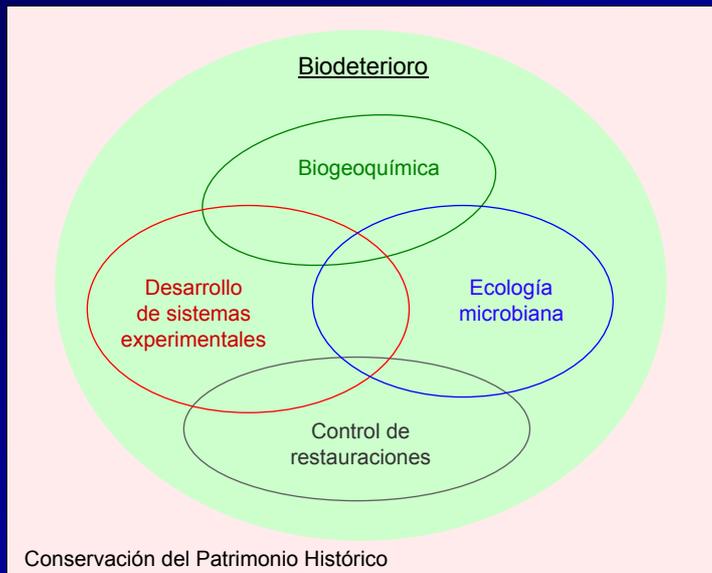
DGGE 30-50%



Parque arqueológico de Palenque, México

DGGE: gradiente de desnaturalizantes químico

- Separación de fragmentos de ADN de idéntica longitud (bp), pero distinta secuencia (punto desnaturalización)
- Análisis de la complejidad de las comunidades microbianas:
 - Se obtiene un patrón de bandas
 - Cada banda representa un taxón microbiano
 - Análisis simultáneo de muchas muestras



Leonila Laiz Trobajo
(leo@irnase.csic.es)

Instituto Recursos Naturales y Agrobiología
CSIC, Sevilla



RED TEMÁTICA DE PATRIMONIO HISTÓRICO Y CULTURAL