

## Microbiología y Patrimonio Cultural

M.A. Rogerio Candelera, C. Sáiz Jiménez

*Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS-CSIC), Avda. Reina Mercedes, 10, 41012 Sevilla*

### Los inicios

El estudio de las causas del deterioro que experimentaban las pinturas murales de Vázquez Díaz en el Monasterio de Santa María de la Rábida marcó, en el año 1979, (Saiz-Jimenez y Samson 1981) el punto de partida de una ya larga trayectoria investigadora dedicada a la resolución de problemas de conservación del Patrimonio Cultural. Desde aquel primer momento a nuestros días, los distintos integrantes del grupo han centrado su interés investigador en muchos otros elementos, muebles e inmuebles, del Patrimonio Cultural. Esta actividad investigadora se ha estructurado en cuatro líneas principales: i) biodeterioro de materiales; ii) conservación de conjuntos arqueológicos; iii) efectos de la contaminación atmosférica sobre los monumentos; y iv) conservación de pinturas rupestres en cuevas y abrigos. Estas cuatro líneas básicas han encontrado financiación en más de cincuenta proyectos de investigación obtenidos en convocatorias competitivas tanto de carácter internacional, como nacional y bilateral desde 1986 a la actualidad.

### El grupo de investigación

El grupo tiene un marcado carácter transdisciplinar, que viene dado por la formación de sus componentes. Así, además de una mayoría de biólogos, en el grupo se integran en la actualidad dos químicos, un arqueólogo, una conservadora-restauradora y una ingeniera de materiales. La transdisciplinariedad del grupo se expresa en la aproximación a los problemas desde un lenguaje común que engloba diferentes perspectivas, para favorecer la comprensión global de los mismos y la aportación de soluciones integradoras que aprovechen las posibilidades de los distintos puntos de vista y las sinergias generadas.

### Bienes del Patrimonio Cultural estudiados

Durante esta treintena larga de años, el grupo de investigación ha intervenido en una gran cantidad de bienes inmuebles del Patrimonio Cultural, encuadrables en la categoría de monumentos o de patrimonio arqueológico. Entre los monumentos más significativos podemos incluir las catedrales de Sevilla, Salamanca, Toledo, Florencia y Malinas, la basílica de Saint-Denis, en París (Francia), el Palácio Nacional da Pena (Sintra, Portugal) o los relieves sasánidas de Fars (Irán). Entre los yacimientos arqueológicos cabe destacar los conjuntos arqueológicos de Itálica, Baelo Claudia y la necrópolis romana de Carmona, en Andalucía, la villa imperial del Casale en Piazza Armerina (Sicilia), varias tumbas de las necrópolis etruscas de Tarquinia, Cerveteri y Chiusi (Italia), o las catacumbas de San Calixto y Domitila en Roma. Entre las cuevas con representaciones rupestres estudiadas podemos destacar Altamira (Santillana del

Mar, Cantabria), Tito Bustillo (Ribadesella, Asturias), La Garma (Omoño, Cantabria), Santimamiñe (Kortezubi, Vizcaya), el abrigo profundo de Fuente del Trucho (Colungo, Huesca), Doña Trinidad (Ardales, Málaga) o la cueva de los Murciélagos (Zuheros, Córdoba), en España, además de Lascaux (Montignac, Francia) y Grotta dei Cervi (Porto Badisco, Italia). Además de estas cuevas, se han estudiado los abrigos con arte rupestre del Tajo de las Figuras y Cueva del Arco (Benalup-Casas Viejas, Cádiz), Atlanterra (Tarifa, Cádiz), Peñas de Cabrera (Casabermeja, Málaga), cueva de Los Letreros (Vélez-Blanco, Almería), La Graja (Jimena, Jaén), y el Encajero (Quesada, Jaén) en Andalucía, el abrigo de Muriecho L (Colungo, Huesca), los del Tío Campano, Prado del Navazo y Cabras Blancas en el Parque Cultural de Albarracín (Teruel) y fuera de España, los núcleos de arte rupestre de Faia (Cidadelhe, Portugal) y de Cachão da Rapa (Anciães, Portugal).

### Técnicas

El abanico de técnicas empleadas para el estudio de los diferentes bienes culturales abarca desde las propias de la microbiología clásica (aislamiento, cultivo e identificación) a las de biología molecular: extracción de ADN, PCR, DGGE, secuenciación y análisis bioinformático para la identificación de los miembros de las comunidades microbianas, tanto los presentes (mediante técnicas moleculares basadas en el ADN) como los metabólicamente activos (utilizando técnicas basadas en el ARN). Entre las diversas técnicas moleculares que desarrollamos se encuentra también la pirosecuenciación o secuenciación 454. Tales estudios se complementan con microscopía, que incluyen FESEM, SEM-FIB, CLSM, TEM, etc. El grupo está especializado en la descripción de nuevos géneros y especies de bacterias (Jurado et al. 2011) y hongos y en la caracterización quimiotaxonómica de microorganismos.

Recientemente, se emplea el análisis digital de imágenes desarrollando protocolos propios que adaptan métodos procedentes de la teledetección ambiental para la detección y estudio de pinturas rupestres y murales, así como para la cuantificación de crecimientos microbianos (Rogerio-Candelera et al. 2011). Las técnicas de análisis químico orgánico que posee nuestro grupo nos permiten la detección de compuestos de interés para el estudio de la degradación y biodeterioro del Patrimonio Histórico. La cromatografía de gases, la cromatografía de gases-espectrometría de masas y la técnica combinada pirólisis-cromatografía de gases espectrometría de masas, son muy útiles para el estudio de compuestos orgánicos, macromoléculas naturales y sintéticas, biomarcadores (Pereira de Oliveira et al. 2011), análisis de contaminantes ambientales y combustibles fósiles, etc.

### Algunos estudios recientes

*¿Deterioro antropogénico o biodeterioro? Los relieves sasánidas de Bishapur (Fars, Irán)*

Durante la Guerra del Golfo de 1991 el ejército iraquí incendió en su retirada casi la mitad de los aproximadamente 1000 pozos petrolíferos de Kuwait, estimándose que se quemaron alrededor de 5-6 millones de barriles de crudo y entre 70 y 100 millones de metros cúbicos de gas natural por día. Durante el

tiempo que duraron los incendios e incluso después de que se extinguieran se señaló la aparición de fenómenos de lluvia negra/ácida que alcanzaron el interior de Irán, lo que motivó la protesta de este estado y la correspondiente petición de compensaciones por el deterioro que gran parte de su patrimonio cultural había sufrido, en particular mediante la formación de costras negras sobre monumentos pétreos (Figura 1). Para dilucidar si el deterioro se debía a esta causa o, por el contrario, a otras, se llevó a cabo un trabajo en colaboración con el CNR (Bonazza et al. 2007).



Figura 1. Relieve número 4 de Bishapur, en la provincia de Fars (Irán) que describe la recepción del rey sasánida Bahram II a una delegación de árabes. Se aprecian pátinas negras atribuidas por el gobierno iraní a los incendios producidos en los pozos petrolíferos kuwaitíes durante la Primera Guerra del Golfo.

Los análisis de estas costras efectuados mediante termoquemólisis y cromatografía de gases/espectrometría de masas detectaron la presencia de una cantidad considerable de lípidos, en los que se observó un alto grado de insaturación. Los datos apuntaban, así, a la presencia de microorganismos fototróficos. En particular, la presencia de pristenos, fitenos, fitadienos y fitol señalaba a la presencia de cianobacterias como causantes del ennegrecimiento de los relieves. El uso de técnicas de biología molecular permitió identificar secuencias de ADN relacionadas con los géneros *Nostoc*, *Anabaena* y *Cylindrospermum*, confirmando que las costras negras se debían al desarrollo de cianobacterias sobre los relieves.

#### *Altamira y Lascaux, dos casos de deterioro de cuevas con arte rupestre*

Los problemas de conservación de las manifestaciones rupestres de Altamira y Lascaux vienen marcados por el impacto de las visitas turísticas ya que los sistemas subterráneos son muy frágiles (Saiz-Jimenez 2010). Los cambios en las condiciones ambientales pueden producir alteraciones de gran importancia en el

ecosistema, favoreciendo la expansión de unas especies sobre otras, o la aparición de especies invasoras.

La expansión incontrolada de un brote fúngico en Lascaux en 2001 y su evolución posterior tras los tratamientos empleados para su eliminación motivó la intervención del grupo de investigación en la cavidad. Los diferentes trabajos desarrollados en la cueva permiten concluir que la intervención antrópica continuada desde su descubrimiento ha sometido a la misma a cambios drásticos en sus condiciones que han propiciado la sucesión de especies, en buena medida seleccionadas por su resistencia a los tratamientos biocidas (Bastian et al. 2010).

El caso de Altamira es ligeramente distinto, tras dos episodios de cierre al público (en 1977 y 2002 respectivamente). Los estudios llevados a cabo por el grupo en colaboración con el Museo Nacional de Ciencias Naturales (Cuezva et al. 2010) llevan a concluir que, si bien existen indicios de recuperación tras el cierre de 2002, la presencia de hongos en la cueva ha de ser tenida en cuenta (Jurado et al. 2009). El peligro de desequilibrio ecológico permanece (Porca et al. 2011), por lo que una nueva apertura de la cueva podría llevar a repetir situaciones como la que atraviesa Lascaux, de resultados impredecibles.

## Referencias

- Bastian, F., Jurado, V., Nováková, A., Alabouvette, C., Saiz-Jimenez, C. (2010) The microbiology of Lascaux Cave. *Microbiology* 156, 644-652.
- Bonazza, A., Sabbioni, C., Ghedini, N., Hermosin, B., Jurado, V., Gonzalez, J.M., Saiz-Jimenez, C. (2007) Did smoke from the Kuwait oil well fires affect Iranian archaeological heritage? *Environmental Science and Technology* 41, 2378-2386.
- Cuezva, S., Sanchez-Moral, S., Saiz-Jimenez, C., Cañaveras, J.C. (2009) Microbial communities and associated mineral fabrics in Altamira Cave, Spain. *International Journal of Speleology* 38, 83-92.
- Jurado, V., Fernandez-Cortes, A., Cuezva, S., Laiz, L., Cañaveras, J.C., Sanchez-Moral, S., Saiz-Jimenez, C. (2009) The fungal colonization of rock art caves. *Naturwissenschaften* 96, 1027-1034.
- Jurado, V., Laiz, L., Ortiz-Martinez, A., Groth, I., Saiz-Jimenez, C. (2011) *Pseudokineococcus lusitanus* gen. nov., sp. nov., and reclassification of *Kineococcus marinus* Lee 2006 as *Pseudokineococcus marinus* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, DOI: 10.1099/ijs.0.026195-0.
- Pereira de Oliveira, B., de la Rosa, J.M., Miller, A.Z., Saiz-Jimenez, C., Gómez-Bolea, A., Sequeira Braga, M.A., Dionísio, A. (2011) An integrated approach to assess the origins of black films on a granite monument. *Environmental Earth Science*, DOI: 10.1007/s12665-010-0773-2.
- Porca, E., Jurado, V., Martin-Sanchez, P.M., Hermosin, B., Bastian, F., Alabouvette, C., Saiz-Jimenez, C. (2011) Aerobiology: an ecological indicator for early detection and control of fungal outbreaks in caves. *Ecological Indicators*, DOI: 10.1016/j.ecolind.2011.04.003.
- Rogério-Candelerá, M.A., Jurado, V., Laiz, L., Saiz-Jimenez, C. (2011) Laboratory and in situ assays of digital image analysis based protocols for biodeteriorated rock and mural paintings recording. *Journal of Archaeological Science*, DOI: 10.1016/j.jas.2011.04.020.
- Saiz-Jimenez, C. (2010) Painted Materials. En: *Cultural Heritage Microbiology*. R. Mitchell, C.J. McNamara, (eds), pp. 3-13, ASM Press, Washington, DC.
- Saiz-Jimenez, C., Samson, R.A. (1981) Microorganisms and environmental pollution as deteriorating agents of the frescoes of "Santa María de la Rábida", Huelva, Spain. En: *6<sup>th</sup> Triennial Meeting ICOM, Committee for Conservation*. Ottawa, paper 81/15/5.