

## Ecología microbiana y geomicrobiología: ECOGEO

Ascaso, C., Cámara, B., Speranza, M., Wierzchos, J. Pérez-Ortega, S., de los Ríos, A.

*MNCN-CSIC, Serrano 115, 28006 Madrid.* E-mail: ascaso@mncn.csic.es

El grupo ECOGEO que pertenece en la actualidad a El Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC), comenzó sus trabajos de investigación en las interfaces talo líquénico-sustrato lítico, hace casi cuatro décadas.

En este momento el grupo esta formado por 11 miembros entre personal investigador y de apoyo en plantilla, personal en formación y contratados posdoctorales. Las investigaciones sobre la alteración de monumentos comenzaron a finales de los años ochenta con el estudio de los capiteles del monasterio de Silos en una colaboración con el Ministerio de Cultura.

A principios de 1990 una nueva técnica de investigación se puso a punto por parte de miembros del grupo actual, para el estudio de la interfase talo líquénico-sustrato en microscopia electrónica de barrido. Básicamente dicha técnica consiste en aumentar el número atómico de los componentes biológicos de los talos líquénicos y/o de la microbiota epi- o endolítica y de esa forma aprovechar las ventajas del detector de electrones retrodispersados para visualizar perfectamente el estado ultraestructural tanto de los componentes de los talos líquénicos (algas o cianobacterias y hongos) y de la microbiota: bacterias no fotosintéticas, cianobacterias, algas y hongos de vida libre. Mas adelante diversos monumentos fueron estudiados ya con la técnica citada, como la catedral de Jaca, la Torre de Belem en Lisboa y el monasterio de los Jerónimos en esa misma ciudad. El Monasterio de los Jerónimos iba a ser restaurado y el Instituto de Ingeniería Civil de Lisboa, estaba haciendo ensayos con distintos biocidas sobre la cubierta del monasterio para conocer el mas adecuado, para su aplicación en la restauración. Hay que destacar que en ese momento, se llevó a cabo por primera vez por parte de nuestro grupo, la evaluación in situ del efecto de biocidas sobre los líquenes y microbiota que alteraban la piedra (Ascaso et al. 2002). Con posterioridad, fue estudiado el biodeterioro de cuatro iglesias románicas de Segovia, tales como La Vera Cruz, San Martin, San Millán y San Lorenzo (de los Ríos et al. 2009), se identificaron los líquenes mas comunes y se hicieron cultivos de los hongos que se caracterizaron posteriormente.

Más recientemente el claustro de la Catedral también ha sido objeto del trabajo del grupo. En el caso de la Catedral hemos evaluado in situ la acción de biocidas, aplicados por la empresa restauradora. Se aplicaron dos tratamientos seguidos por limpieza mecánica. Aunque ambos tratamientos fueron eficaces en la eliminación de los talos líquénicos epilíticos, su acción sobre la microbiota endolítica presentó diferencias entre un tratamiento y otro (de los Ríos et al. En revisión).

Se podría resumir diciendo que durante estos años pasados hemos trabajado en el diagnóstico de las características de la alteración de la piedra por agentes biológicos (De los Ríos y Ascaso, 2005), que en ciertos casos hemos determinado la capacidad biocida de diversas sustancias químicas utilizadas habitualmente por

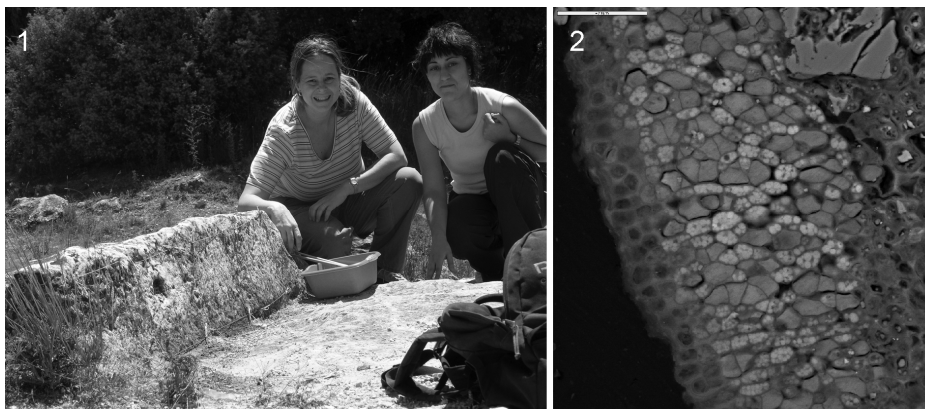
las empresas restauradoras y que hemos realizado también algún trabajo de biorreceptividad de diferentes materiales pétreos.

El grupo ha tenido para estas tareas de investigación diferentes vías de financiación, siendo necesario destacar como más importantes, la recibida de la Junta de Castilla-León y los dos proyectos de la CAM. Desarrollamos un subproyecto del proyecto Maternas, sobre durabilidad y conservación de materiales tradicionales naturales del Patrimonio arquitectónico y en la actualidad tenemos un subproyecto en el proyecto Geomateriales.

Durante el desarrollo del proyecto Maternas, la empresa THOR SA actuó como EPO de un contrato I3P y se llevó a cabo una experimentación en las canteras de Redueña cerca de Madrid (Figura 1), siguiendo el protocolo que la empresa recomienda a sus clientes. Los resultados de esa investigación han sido publicados en *Microbial Ecology*, por Cámara et al. (2011).

En la actualidad trabajamos en el proyecto Geomateriales y también tenemos un proyecto financiado por la fundación Carolina para estudios sobre biodeterioro en la Ciudadela de Machu Picchu. En el caso de los estudios en Machu Picchu, se van analizar los resultados del efecto de la aplicación de diferentes biocidas y de limpieza con láser, sobre la microbiota lítica que coloniza las piedras de las canteras de Machu Picchu. Después del análisis conjunto de todos los resultados será posible dar las conclusiones al diagnóstico realizado y proponer estrategias de actuación. En coordinación con la dirección del Parque, se planificarán y llevarán a cabo ensayos *in situ*, de tratamientos para eliminar procesos de biodeterioro, en las Canteras de Machu Picchu. Estos experimentos comenzarán antes de la finalización del Proyecto financiado por la Fundación Carolina (Estudios sobre Machu Picchu: cooperación cultural y científica Perú-España para su conservación y preservación como recurso al desarrollo-CaALCI 03/10). Sin embargo, la evaluación de la efectividad se prolongará al término del citado proyecto y continuará dentro del Programa GEOMATERIALES, ya que esta efectividad tiene que ser evaluada, tanto a corto, como a largo plazo.

En el proyecto Geomateriales - Durabilidad y conservación de geomateriales del patrimonio construido, se ha emprendido por parte del grupo un nuevo desafío y es la evaluación, sobre materiales pétreos, que presentan colonización por líquenes (Figura 2) y microbiota epilítica y endolítica del efecto de los tratamientos que emplean las empresas restauradoras y también del biocida Koretrell y la comparación de estos resultados con la efectividad de los tratamientos con láser. Para ello colaboramos muy estrechamente con investigadores expertos en tecnología láser pertenecientes también al CSIC, que forman otro subproyecto dentro del proyecto Geomateriales.



Figuras. 1. En las canteras de Redueña (Madrid). 2. Colonización líquénica sobre materiales pétreos.

Al estudiar el efecto del biocida Koretrell en un frente de cantera de dolomías cretácicas colonizadas por *Verrucaria nigrescens*, se evaluó la acción del biocida en el sistema fotosintético del fotobionte durante 30 días utilizando un fluorímetro portable, detectándose una inactividad total del mismo a las 4 horas de la aplicación. Estos resultados concuerdan con las severas modificaciones estructurales y ultraestructurales de los fotobiontes observadas por SEM-BSE y TEM al final del ensayo.

La limpieza con láser de la piedra es una técnica bien establecida en el ámbito del patrimonio cultural, aunque orientada principalmente a la remoción de costras inorgánicas. Dolomías cretácicas con colonización epilítica y endolítica fueron irradiadas utilizando un Q-switched Nd: YAG láser con dos longitudes de onda (355 y 1064), variando la cantidad de energía por pulso y la frecuencia. En condiciones seleccionadas de irradiación se obtuvo la fotoablación del talo líquénico, no detectándose mediante Raman daños en la piedra. Mediante SEM-BSE se observó que tanto el fotobionte como el micobionte de *V. nigrescens* sufrieron cambios ultraestructurales.

En estos años hemos aprendido algunas cosas. Entre ellas cabría destacar que la colonización epilítica y el biodeterioro que ocasiona dicha colonización resulta fácil de detectar mediante técnicas convencionales, pero no la colonización endolítica de líquenes y microorganismos. Las prácticas comunes en el control del biodeterioro están orientadas a la eliminación mecánica y/o química de la colonización epilítica y presentan limitaciones como, los daños irreversibles en el material pétreo o los peligros ambientales asociados a las sustancias tóxicas utilizadas. Además se ha demostrado, mediante el diagnóstico *in situ* del biodeterioro con SEM-BSE, que estos métodos no resultan del todo eficaces en el control de la colonización endolítica.

#### Referencias

Ascaso, C., Wierzchos, J., Souza-Egipsy, V. De los Rios, A. and Delgado Rodrigues, J. *In situ* evaluation of the biodeteriorating action of microorganisms and the effects of

- biocides on carbonate rock of the Jeronimos Monastery (Lisbon). *International Biodeterioration and Biodegradation*, 49, 1-12 (2002).
- Cámara, B., De los Ríos, A., Urizal, M., Álvarez de Buergo, M., Varas, M.J., Fort, R., Ascaso, C. (2011) Characterizing the microbial colonization of a dolostone quarry: implications for stone biodeterioration and response to biocide treatments. *Microbial Ecology*, DOI: 10.1007/s00248-011-9815-x
- De los Ríos, A. and Ascaso, C. Contributions of in situ microscopy to current understanding of stone biodeterioration. Research review. *International Microbiology*. 8 (3): 181-188 (2005).
- De los Ríos, A., Cámara, B., García del Cura, M.A., Jiménez Rico, V., Galván, V., Ascaso C. (2009) Deteriorating effects of lichen and microbial colonization of carbonate building rocks in the Romanesque churches of Segovia (Spain) *Science of the Total Environment* 407, 1123-1134.
- De los Ríos, A., Pérez-Ortega, S., Wierzbos, J. and Ascaso, C. Differential effects of biocide treatments on saxicolous communities: case study of the Segovia cathedral cloister (Spain). En revisión