

L E BIOTECNOLOGIE MOLECOLARI PER LA CARATTERIZZAZIONE E LA VALUTAZIONE DEL RUOLO DEI MICRORGANISMI NEI PROCESSI DI DEGRADO DI MANUFATTI DI INTERESSE STORICO ARTISTICO

Franco Palla

Dipartimento di Scienze Botaniche, Laboratorio di Biologia Molecolare
Università degli Studi di Palermo

1. Introduzione

La caratterizzazione delle comunità batteriche che colonizzano le opere d'arte basata sulle metodologie standard già da tempo si è rivelata inadeguata [1-3] in quanto solo l'1% dei batteri presenti in un habitat possono essere coltivati in laboratorio, non essendo possibile ripristinare le condizioni ambientali ottimali oppure perché appartengono alla porzione costituita da batteri non-coltivabili. Uno dei vantaggi, fornito dalle metodologie molecolari è rappresentato dalla possibilità di studiare la diversità e la composizione delle specie che costituiscono le comunità microbiche senza ricorrere alla crescita su terreni di coltura. La biologia molecolare e, in particolare, la "tecnologia del DNA ricombinante" ha fornito le tecniche per la manipolazione sia delle cellule sia delle macromolecole quali DNA, RNA e proteine [4]. Specifiche sequenze del DNA genomico (marcatori molecolari) permettono di identificare le specie microbiche presenti in un campione [5-7], l'analisi dell'RNA fornisce informazioni sulle attività metaboliche e sulla funzione delle sequenze nucleotidiche, mentre lo studio della struttura delle proteine permette di ottenere informazioni sulla loro funzione. La continua innovazione biotecnologica, applicabile al campo dei beni culturali, apre nuovi scenari per una corretta e completa comprensione del fenomeno del *biodeterioramento* dei beni culturali [8,9].

Inoltre, l'implementazione e l'uso semplificato di metodi computazionali e bioinformatici [10-12], che permettono di confrontare un numero in continua crescita di genomi microbici, permettono uno studio sempre più preciso delle specie che compongono la comunità microbica presente in un determinato habitat.

Sinora, tra le tecniche di biologia molecolare che si sono rivelate estremamente utili e facilmente applicabili allo studio e alla caratterizzazione dei batteri che colonizzano le opere d'arte, possiamo senz'altro riportare quelle che permettono di estrarre il DNA genomico, di isolare (clonaggio) e/o amplificare (Polymerase Chain Reaction) specifiche porzioni bersaglio di DNA e di determinarne la composizione nucleotidica (sequenziamento). In questi ultimi anni altre tecniche molecolari, come la DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) [13] permettono di completare ulteriormente le indagini operando anche su un numero elevato di campioni.

Nell'approccio molecolare il primo passaggio prevede l'estrazione del DNA genomico batterico in quantità adeguate e con un elevato grado di purezza mediante metodiche messe a punto nei laboratori di ricerca o per mezzo di kit commerciali, che permettono di estrarre DNA da minime quantità (0.2-5 mg) di campione, di natura sia inorganica che organica, in quantità e qualità ottimale [14-17] per le successive reazioni di amplificazione *in vitro* mediante la tecnica della Reazione a Catena della Polimerasi (PCR). Per mezzo della metodologia PCR è possibile amplificare *in vitro* specifiche sequenze bersaglio con elevata specificità e in tempi molto brevi. In particolare, i geni del DNA ribosomiale 16S e le rispettive porzioni intergeniche 16S-23S (ITS, da Intergenic Transcribed Spacer), costituiscono il target di queste reazioni [18-21]. Successivamente, determinata la composizione in basi dei singoli frammenti amplificati, si ricorre all'analisi delle omologie tra queste sequenze e quelle dei genomi batterici già noti depositate nelle Banche dati internazionali, identificando il genere/specie batterica di appartenenza.

Inoltre, la possibilità di caratterizzare diverse e specifiche porzioni del DNA batterico fornisce ulteriori informazioni sulla diversità genomica dei componenti il consorzio microbico, rivelando anche nuove specie batteriche.

2. Casi di studio

Le metodologie molecolari su citate sono state utilizzate nell'ambito di progetti atti a valutare lo stato di conservazione sia di substrati lapidei, calcareniti, superfici marmoree [18, 24], sia per valutare il biodeterioramento di materiali organici [25].

2.1. I mosaici della villa del casale

Nell'ambito di questo progetto sono stati considerati dieci siti di campionamento dove le alterazioni del mosaico si manifestano sotto forma di "vulcanelli" (cioè un sollevamento macroscopico delle tessere) e, dove, inoltre, le singole tessere presentavano un'alterazione della struttura simile ad una esfoliazione. Considerando un ampio repertorio di

metodologie per l'estrazione del DNA batterico da substrati inorganici e ricorrendo al kit della Qiagen (QIAamp DNA stool kit), abbiamo estratto circa 500 ng di DNA genomico batterico per grammo di campione prelevato dalla superficie o da strati di allettamento del mosaico prelevati a diversa profondità (mediante microcarotatrice).

La qualità e la quantità del DNA estratto è stata saggiata mediante elettroforesi su gel di agarosio (0.8%), come mostrato in fig. 1.

Il DNA genomico estratto dai campioni o dalle singole colonie batteriche, diviso in aliquote, è stato utilizzato come molecola stampo per le reazioni di amplificazione *in vitro* (PCR). Le sequenze bersaglio dei genomi batterici sono state amplificate scegliendo le condizioni di reazione e gli inneschi molecolari specifici per ciascun genere o specie batterica ricercata.

I prodotti dell'amplificazione delle porzioni di DNA bersaglio (rDNA 16S) sono stati separati mediante elettroforesi su gel di agarosio al 2%, e, ricorrendo ad opportuni marcatori di peso molecolare, è stato possibile determinarne le dimensioni (fig. 2).

L'analisi dell'omologia con le analoghe porzioni di genoma delle specie batteriche depositate nelle Banche dati NCBI-NHI—USA e EMBL - Germania, ha permesso di identificare le seguenti specie batteriche: *Acinetobacter* (AF 188302); *Arthrobacter* (ASP 491108); *Bacillus* FP (AY 124766); *Planococcus orange* (AF 242541); *Pseudomonas* (AY014805). Tra parentesi sono riportati i codici di accesso alle banche dati.

I risultati di questo lavoro mostrano la presenza di almeno cinque differenti generi batterici nelle aree di campionatura dei mosaici della Villa del Casale, che la caratterizzazione molecolare ha permesso di classificare come *Arthrobacter*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Planococcus*, *Pseudomonas*. Dalla letteratura si evince che questi generi batterici sono in grado di produrre diverse tipologie di degrado delle opere d'arte come pig-

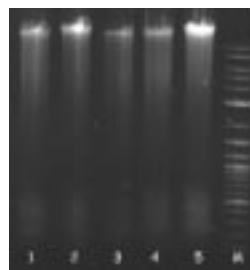


Figura 1. DNA estratto da 0.2 g di campione lapideo (1-5) M = DNA marker di peso molecolare.

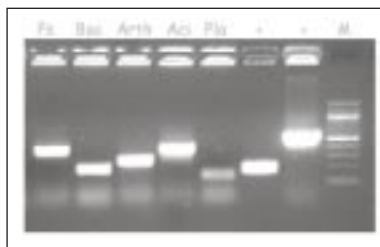


Figura 2. Frammenti di DNA ottenuti dalle reazioni di PCR, le dimensioni (in paia di basi, bp) corrispondono a quelle attese: *Arthrobacter* = 239bp; *Acinetobacter* = 351bp; *Bacillus* = 181bp; *Planococcus* = 137bp; *Pseudomonas* = 338bp. M = Marker di peso molecolare di DNA; (+) = controllo positivo della reazione.

mentazione o perdita di colore, efflorescenze, patine. I batteri che sono in grado di produrre spore, come *Bacillus* o oligotrofici facoltativi, come *Arthrobacter*, sono in grado di resistere anche per lungo tempo a condizioni ambientali sfavorevoli. Inoltre, batteri appartenenti ai generi *Bacillus* e *Acinetobacter*, sono in grado di indurre dei precipitati cristallini di carbonato e fosfato, che permettono di ipotizzare anche un potenziale contributo geomicrobiologico ai processi di degrado, in particolare per il fenomeno della separazione in strati delle singole tessere.

Infine, è risultato evidente che i batteri non sono gli unici microrganismi presenti nei campioni analizzati, ma si deve senz'altro tenere conto delle diverse specie di funghi e muffe che compongono i consorzi microbici presenti nei siti della Villa del Casale.

2.2. La biblioteca comunale di S. Agostino in Taormina

Il biodeterioramento dei materiali organici indotto da microrganismi costituisce un problema diffuso in biblioteche, archivi, musei, presentando diversa entità in relazione alle condizioni ambientali, e, in particolare, alla temperatura e all'umidità relativa (UR). Molti manufatti d'interesse storico-artistico sono costituiti prevalentemente da materiali organici che subiscono l'attacco di organismi e microrganismi eterotrofi deteriorandosi anche in base alla loro composizione chimica. Nei manufatti di natura organica dove è possibile distinguere materiali d'origine vegetale (carta, legno, cotone, canapa) e animale (pergamena, pelle, seta) il deterioramento si manifesta sotto diverse forme. Le alterazioni indotte su substrati organici come carta, legno e pergamena, possono essere così riassunte: variazione delle caratteristiche meccaniche, perdita di resistenza, macchie.

Per i composti d'origine vegetale i componenti principali che si riscontrano sono lignina, emicellulosa e cellulosa; quest'ultima costituita da una lunga catena polisaccaridica lineare in cui l'unità fondamentale, fig. 3A (D-glucosio, costituito da atomi di carbonio, idrogeno e ossigeno) è ripetuta numerose volte, fig. 3B.

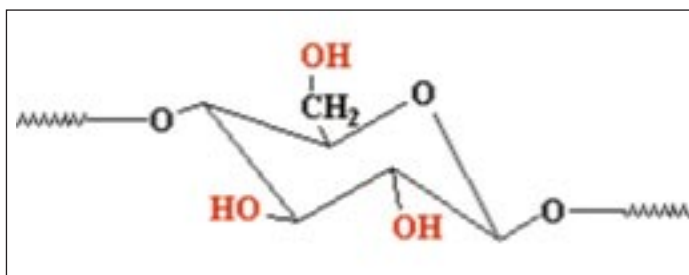


Figura 3A. Monomero della cellulosa.

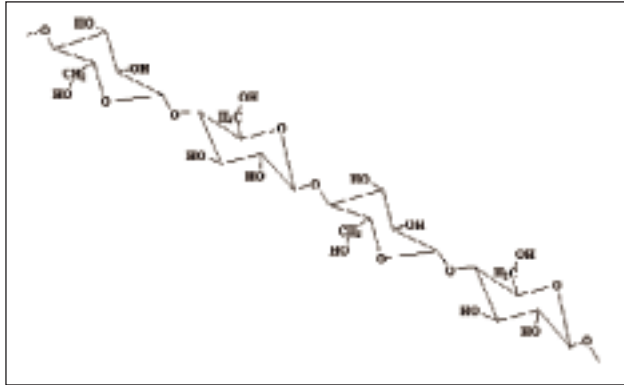


Figura 3B. Polimero della cellulosa.

Nella carta oltre la cellulosa sono presenti lignina, pectine, cere, tannini, proteine e minerali.

Nel tempo, la produzione della carta ha subito profonde modificazioni tanto che nel Medioevo si otteneva da stracci di cotone (cellulosa quasi pura), mentre dal XVII secolo si produceva industrialmente dalla polpa di legno e altri materiali non fibrosi diversi dalla cellulosa. Questo fa sì che la carta moderna risulta più vulnerabile all'attacco dei microrganismi di quanto non lo sia quella antica. La carta oltre a rappresentare essa stessa fonte di carbonio organico, è spesso associata con colle animali e vegetali, pigmenti, legature, costituendo un'eccellente fonte nutrizionale per molti microrganismi la cui crescita sarà indotta quando si avranno condizioni favorevoli, come la presenza di un elevato contenuto d'acqua (data l'igroscopicità della carta: condizione molto frequente).

Il biodeterioramento della cellulosa è causato principalmente da batteri, microfunghi e Attinomiceti, alcuni con attività cellulolitica in grado di produrre un complesso di attività enzimatiche (complesso delle cellulasi) e di rompere i legami del polimero della cellulosa sino a ridurlo ai singoli monomeri di glucosio.

La maggior parte dei funghi cellulolitici isolati da materiale cartaceo deteriorato appartiene ai Deteuromiceti (*Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* etc), agli Ascomiceti (*Chaetomium*) o agli Zigomiceti (*Mucor*, *Rhizopus*), e le alterazioni appaiono come macchie di diversa morfologia e colore (giallo, marrone, nero, rosso, violetto e altri). La pigmentazione prodotta da uno stesso ceppo fungino può variare a seconda della crescita e dalle caratteristiche della carta (pH, presenza di amido e gelatine, e di metalli).

Anche gli insetti hanno un ruolo molto importante nel deterioramento della carta in quanto utilizzano come fonte nutrizionale la cellulosa o gli altri materiali che costituiscono l'opera.

Per quanto concerne i batteri, sono state isolate colonie che appartengono sia a specie cellulolitiche come *Cellulomonas*, *Cellvibrio*, *Cytophaga* che a diverse altre. Un'ampia panoramica sugli aspetti microbiologici e molecolari dei microrganismi che utilizzano la cellulosa, oltre che dei fenomeni biochimici che regolano il processo d'idrolisi, è riportata da Lynd e collaboratori [26]. Durante i loro processi metabolici i microrganismi rilasciano sul substrato acidi organici (ossalico, fumarico, succinico, citrico) che, abbassando il pH, favoriscono un attacco secondario da parte di funghi o altri batteri.

Riguardo la biblioteca di S. Agostino in Taormina, è stato valutato lo stato di conservazione del "Fondo antico", dove sia i libri sia le vetrine lignee in cui erano custoditi presentavano alterazioni causate dalla presenza di un ampio repertorio di microrganismi, oltre che un evidente attacco da parte di termiti.

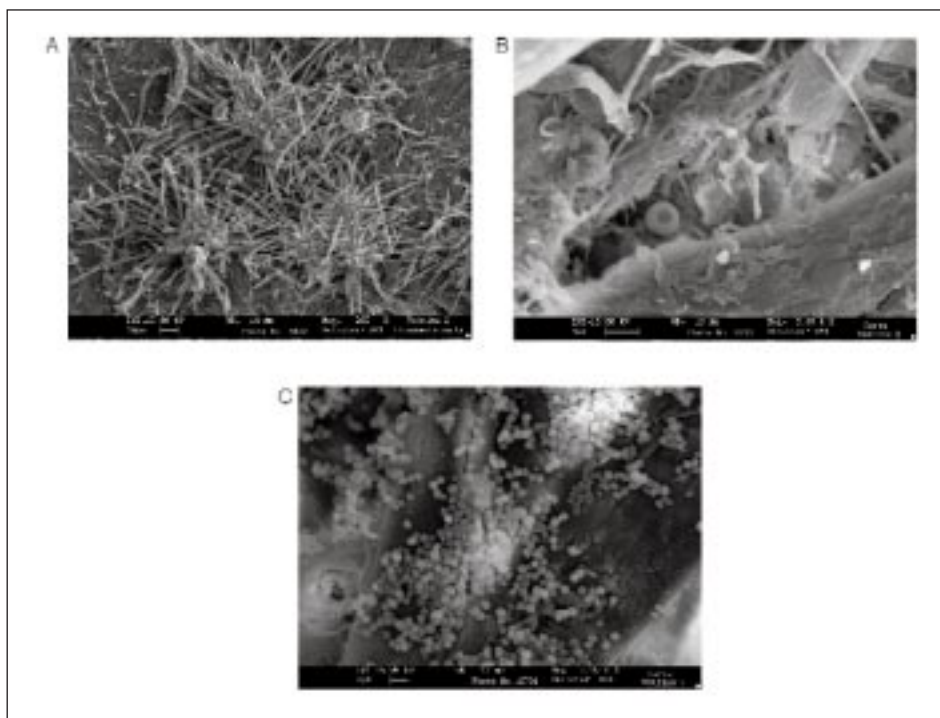


Figura 4A, B e C. Micrografie di consorzi microbici presenti in frammenti da libri degradati.

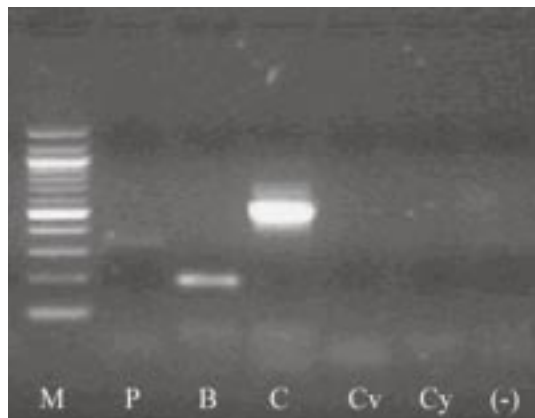


Figura 6. Gel 2% agarosio . M = Marker di DNA di peso molecolare; reazioni per *Pseudomonas* = P, *Bacillus* = B, *Cellulomonas* = C, *Cellvibrio* = Cv, *Cytophaga* = Cy; (-) controllo negativo della reazione di amplificazione.

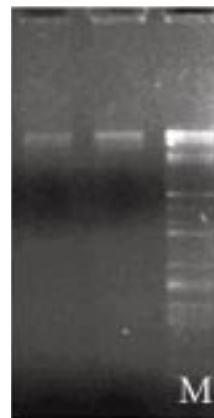


Figura 5. DNA genomico batterico estratto da alcuni frammenti di carta. M = marker di DNA di peso molecolare.

L'analisi al microscopio elettronico a scansione (SEM), micrografie in fig. 4 (A-C), di piccoli frammenti da libri mostra una panoramica dei consorzi microbici presenti.

In fig. 5 è riportata l'analisi qualitativa del DNA genomico batterico, estratto da alcuni campioni, mediante elettroforesi su gel di agarosio.

Successivamente, per mezzo della tecnica PCR sono amplificate le sequenze bersaglio corrispondenti al gene per l'rRNA 16S e alla regione intergenica (ITS) presente tra i geni 16S-23S.

L'analisi molecolare condotta sui campioni di S. Agostino ha permesso di identificare batteri appartenenti ai generi *Pseudomonas* (P), *Bacillus* (B), *Cellulomonas* (C), mentre non è stata riscontrata la presenza di *Cellvibrio* (Cv) e *Cytophaga* (Cy).

L'elettroforesi su gel di agarosio ha permesso di separare e determinare il peso molecolare delle bande di DNA ottenute dalle reazioni di PCR (fig. 6). Ciascuna banda di DNA corrisponde ad una specifica tipologia batterica, confermata anche dalla determinazione della sequenza nucleotidica, riconducibile a batteri delle specie *Bacillus*, *Pseudomonas* e *Cellulomonas*.

3. Conclusioni

Le tecniche di biologia molecolare utilizzate in questo lavoro sono solo alcune di quel-

le potenzialmente applicabili nel campo dei beni culturali, e si basano sull'analisi delle sequenze specie-specifiche del DNA ribosomale (16S e ITS) di genomi batterici. Altre tecniche molecolari, utilizzate per lo studio del biodeterioramento dei beni culturali come l'analisi mediante DGGE (*Denaturing Gradient Gel Electrophoresis*), SSCP (*Single Strand Conformation Polymorphism*), FISH (*Fluorescent In Situ Hybridization*), o la costruzione di genoteche di cloni del rDNA 16S batterico, hanno dato ottimi risultati. Anche lo studio delle molecole dell'RNA (Genomica funzionale) e delle Proteine (Proteomica), che caratterizzano le popolazioni batteriche dal punto di vista funzionale, potranno fornire delle strategie sempre più precise per la comprensione dei fenomeni biologici che inducono il deterioramento dei beni culturali. Inoltre, in questi ultimi anni un notevole apporto alle biotecnologie è stato fornito dalla Bioinformatica che ha permesso la realizzazione delle Banche dati internazionali ed ha fornito i software e la metodologia per consultare questo enorme numero di informazioni sul DNA genomico di numerosi microrganismi, permettendo la realizzazione di allineamenti genomici e di numerosi studi di filogenesi molecolare.

In conclusione possiamo affermare che, rispetto alle classiche metodologie microbiologiche di coltura, le biotecnologie molecolari forniscono una visione più realistica delle popolazioni microbiche presenti in un'opera d'arte, permettendo la rivelazione anche delle specie che non possono essere identificate mediante colture *in vitro*; e possono essere applicate anche quando il degrado non è ancora visibile. Sotto questa luce, le biotecnologie molecolari si rivelano essenziali anche per una diagnosi preventiva al processo di biodeterioramento indotto da microrganismi ancor prima che il degrado del substrato sia evidente e l'eventuale danno irreparabile.

Infine, le biotecnologie molecolari ritornano utili anche nel campo del monitoraggio aerobiologico: in particolare per gli ambienti indoor, essenziale sia per una corretta conservazione delle opere d'arte sia per gli aspetti connessi con i fruitori e gli operatori. È noto che in ambienti confinati quali archivi, biblioteche, musei sono presenti complessi consorzi microbici, potenziale causa del deterioramento dei beni culturali custoditi oltre che, essi stessi o i prodotti derivanti dal loro metabolismo, patogeni per l'uomo [27-29].

Ringraziamenti

Particolari ringraziamenti vanno al Centro Regionale per la Progettazione e il Restauro della Regione Siciliana, per la proficua collaborazione e per avere fornito i campioni utilizzati oltre ad avere parzialmente finanziato questi studi.

Bibliografia

- [1] ROSSELLO-MORA R., AMANN R. 2001, *The species concept for prokaryotes*. FEMS Microbiol. Rev. 25, 39-67.
- [2] STALEY J.T., KONOPKA 1985, *Measurements of in situ activities of nonphotosynthetic microorganisms in aquatic and terrestrial habitats*. Ann. Rev. Microbiol. 65, 4375-4384.
- [3] AMANN R.I., LUDWIG W., SCHLEIFFER K.H. 1995, *Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cell without cultivation*. Microbiol. Rev. 59, 143-169.
- [4] SAMBROOK J., RUSSELL D.W. 2001, *Molecular Cloning a laboratory manual*, New York, Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- [5] WARD D.M, WELLER R., BATESON M.M. 1990, 16S rRNA sequences reveal numerous uncultured microorganisms in a natural community. Nature 345, 63-65.
- [6] FEDERICO C., RUSSO R., ANELLO L., PALLA F. 1999, *Biotechnologies tools to test biodeteriogens in stone specimens*, in Of Microbes and Art. The Role of Microbial Communities in the Degradation and Protection of Cultural Heritage: (Florence ,16-19 June 1999) Firenze, Consiglio Nazionale delle Ricerche.
- [7] GURTNER C., LUBITZ W. , RÖLLEKE S. 1999, *Advanced strategies in the identification of potential biodeteriorating microorganisms by molecular means*. Of Microbes and Art. The Role of Microbial Communities in the Degradation and Protection of Cultural Heritage: (Florence,16-19 June 1999) Firenze, Consiglio Nazionale delle Ricerche.
- [8] MUYZER G. 2002, *Advantages of molecular approaches versus other techniques: reliability and results*. Coalition 5, 2-4.
- [9] GONZALEZ J.M. 2003, *Overview on existing molecular techniques with potential interest in cultural heritage*. C. Saiz-Jimenez (ed), Molecular Biology and Cultural Heritage: 3-13. Lisse/Abingdon/Exton (PA)/Tokyo: A.A: Balkema Publishers.
- [10] ALTSCHUL S.F., MADDEN T.L., SCHÄFFER A.A., ZHANG J., ZHANG Z., MILLER W., LIPMAN D.J. 1997, *Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs*. Nucleic Acids Res. 25, 3389-3402.
- [11] STRAUSS E.J., FALKOW. S. 1997, *Microbial pathogenesis: Genomics and beyond*. Science 276: 707-712.
- [12] LUSCOMBE N.M., GREENBAUM D., GERSTEIN M. 2001, *What is bioinformatics? A proposed definition and overview of the field*. Meth Inf Med 40: 346-358.
- [13] RÖLLEKE S., MUYZER, G., WAWER, C., WANNER, G. & LUBITZ, W. 1996, *Identification of bacteria in biodegraded wall painting by DGGE of PCR-amplified gene fragments coding for 16S rRNA*. Appl Environ Microbiol 62: 2059-2065.
- [14] SMALLA K., CRESSWELL N., MENDOCA-HAGLER L.C., WOLTERS A., VAN ELSAS J.D. 1993, *Rapid DNA extraction protocol from soil for polymerase chain reaction-mediated amplification*. J Appl Bacteriol 74: 78-85.

- [15] KUSKE C.R., BANTON K.L., ADORADA D.L., STARK P., HILL K.K., JACKSON P.J. 1998, *Small-scale DNA sample preparation method for field PCR detection of microbial cells and spores in soil*. Appl Environ Microbiol 64: 2463-2472.
- [16] MILLER D.N., BRYANT J.E., MADSEN E.L., GHIORSE W.C. 1999, *Evaluation and optimisation of DNA extraction and purification procedure for soil and sediment samples*. Appl Environ Microbiol 65: 4715-4724.
- [17] ZHOU J., BRUNS A.M., TIEDJE J.M. 1996, *DNA recovery from soils of diverse composition*. Appl Environ Microbiol 62: 316-322.
- [18] PALLA F., FEDERICO C., RUSSO R., ANELLO L. 2002, *Identification of Nocardia restricta in biodegraded sandstone monuments by PCR and nested-PCR DNA amplification*. FEMS Microbiol Ecol 39: 85-89.
- [19] PALLA F., ANELLO L., PECORELLA S., RUSSO R., DAMIANI F. 2003, *Characterisation of bacterial communities on stone monuments by molecular biology tools*. C. Saiz-Jimenez (ed), Molecular Biology and Cultural Heritage: 115-118. Lisse/Abingdon/Exton (PA)/Tokyo: A.A: Balkema Publishers.
- [20] WEINBURG W.G., BARNS S.M., PELLETIER D.A., LANE D.J. 1991, *16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study*. J. Bacteriol 173: 697-703.
- [21] JENSON M.A., WEBSTER J.A., STRAUS N. 1993, *Rapid identification of bacteria on the basis of polymerase chain reaction-amplified ribosomal DNA spacer polymorphisms*. Appl. Environ. Microbiol. 59, 945-952.
- [22] CARDINALE M., BRUSETTI L., QUATRINI P., BORIN S., PUGLIA A.M., RIZZI A., ZANARDINI E., SORLINI C., CORSELLI C., DAFFONCHIO D. 2004, *Comparison of Different Primer Sets for Use in Automated Ribosomal Intergenic Spacer Analysis of Complex Bacterial Communities*. Appl Environ Microbiol. 70, 6147-6156.
- [23] SCHEINERT P., KRAUSSE R., ULLMAN U. SÖLLER R., KRUPP G. 1996, *Molecular differentiation of bacteria by PCR amplification of the 16S-23S rRNA spacer region*. J. Microbiol. Methods 26, 103-117.
- [24] PALLA F. 2005, *Analisi per l'identificazione di microrganismi deteriogeni sulle superfici marmoree delle statue di Fontana Pretoria in Palermo*. La Fontana Restituita, Soprintendenza per i BB.CC.AA. Palermo (in corso di stampa).
- [25] PALLA F. 2003, *La biblioteca Comunale S.Agostino: laboratorio di applicazione delle biotecnologie molecolari per la identificazione di specie batteriche deteriogene. Interventi per la salvaguardia e la conservazione del patrimonio* (Taormina, 7 febbraio 2003), 63-69.
- [26] LYND L.R., WEIMER P.J., VAN ZYL W.H., PRETORIUS I.S. 2002. *Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology*. Microbiol and Mol. Biol. Reviews 66: 506-577.
- [27] VALENTIN N. 2003, *Microbial contamination in museum collections: Organic material*. In Molecular Biology and Cultural Heritage: (C. Saiz-Jimenez ed.) pp. 85-91 A.A: Balkema Publishers.
- [28] SINGH A., GANGULI M., SING A.B. 1995, *Fungal spores are an important component of library air*. Aerobiologia 11, 231-237.

[29] PELTOLA J., ANDERSSON M.A., HAAHTELA T., MUSSALO-RAUHAMAA H., RAINEY F.A., KROPPENSTEDT M., SAMSON R.A., SALKINOJA-SALONEN S. 2001, *Toxic-metabolite-producing bacteria and fungus in an indoor environment*. Appl. Environ. Microbiol. 67, 3269-3274.

Riassunto

Questo studio mostra alcune delle tecniche di biologia molecolare interessanti per lo studio del bio-deterioramento dei beni culturali. Queste metodologie si sono rivelate estremamente utili per la caratterizzazione delle comunità microbiche che colonizzano i beni culturali e per definirne il loro coinvolgimento nei processi di deterioramento. Notevole importanza riveste la possibilità di caratterizzare i consorzi microbici senza ricorrere all'uso delle colture in vitro e indipendentemente dalla natura organica o inorganica del campione. In futuro, le metodologie molecolari ricopriranno un ruolo essenziale per la diagnosi di colonizzazioni microbiche in progetti di conservazione e restauro dei beni culturali.

Summary

This work presents the application of some molecular biology techniques with high interest in cultural heritage field. These methodologies have proved to be extremely useful to characterize microbial communities colonization and their potential involvement in deterioration processes, mainly because it become possible carried out cultural-independent studies of microorganisms in both organic or inorganic substrates. These methods can be easily suited to study the biodeterioration of cultural heritage and, in the future, their application will be essential in conservation and/or restoration projects.

Résumé

Cette étude montre certaines des techniques de biologie moléculaire intéressantes pour l'étude de la bio-détérioration des biens culturels. Ces méthodologies se sont révélées extrêmement utiles pour la caractérisation des communautés microbiennes qui colonisent les biens culturels et pour en définir l'implication dans les processus de détérioration. Une considérable importance revêt la possibilité de caractériser les consortiums microbiens sans recourir à l'emploi des cultures in vitro et indépendamment de la nature organique ou inorganique de l'échantillon. Dans le futur, les méthodologies moléculaires recouvrent un rôle essentiel pour le diagnostic de colonisations microbiennes dans des projets de conservation et restauration des biens culturels.

Zusammenfassung

Diese Studie zeigt einige Techniken von molekularer Biologie, die für die Analyse des Bioverderbens der Kulturgüter interessant sind. Diese Methodologien waren sehr nützlich, um die mikrobiellen Gemeinschaften zu charakterisieren, die die Kulturgüter kolonisieren, und um zu bestimmen, welche Rolle sie in den Verderbensverfahren spielen. Es ist sehr wichtig, die Möglichkeit zu haben, die mikrobiellen Gruppen herauszufinden, ohne in vitro Kulturen zu benutzen und unabhängig von der organischen oder anorganischen Natur des Mustern. In der Zukunft werden die Molekularmethodologien eine wesentliche Rolle spielen, um mikrobielle Kolonisationen in Projekten für die Erhaltung und die Restaurierung von Kulturgüter zu diagnostizieren.

Resumen

Este estudio muestra algunas de las técnicas de biología molecular interesantes para el estudio del biodeterioro de los bienes culturales. Estas metodologías se han demostrado extremadamente útiles para la caracterización de las comunidades microbianas que colonizan los bienes culturales,

así como para definir su implicación en los procesos de deterioro. De particular importancia es la posibilidad de caracterizar los consorcios microbianos sin recurrir al uso de cultivos in vitro e independientemente de la naturaleza orgánica o inorgánica de la muestra. En el futuro, las metodologías moleculares desempeñarán un papel esencial en la diagnosis de colonizaciones microbianas en proyectos de conservación y restauración de los bienes culturales.

Резюме

Это исследование показывает некоторые технологии молекулярной биологии, представляющие интерес для изучения биологического разрушения культурных ценностей. Эти технологии являются эффективными при оценке видов микробов, присутствующих на предметах, имеющих культурную ценность, и для определения роли микробов в разрушении этих культурных ценностей. Очень существенной является возможность дать характеристику группе микробов, без их разведения в пробирках, и независимо от органической или неорганической структуры образца. В будущем, молекулярные методологии будут играть решающую роль в выявлении микробных скоплений, что необходимо в деле сохранения и реставрации культурных ценностей.