



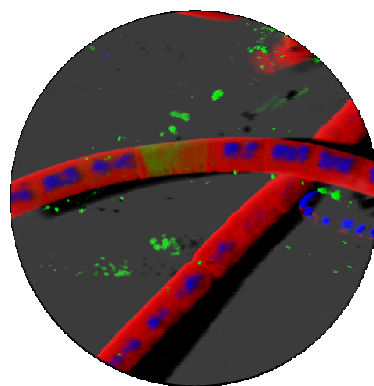
**Facultat de Farmàcia**  
**Dept. de Productes Naturals, Biologia Vegetal i Edafologia**

# **Caracterització de biofilms fototròfics d'ambients hipogeus**

**MÒNICA ROLDÁN MOLINA**

**2008**

# Projecte d'investigació





## Capítol 2

# Projecte d'investigació

---

|                                   |    |
|-----------------------------------|----|
| 2.1. Objectius                    | 47 |
| 2.2. Desenvolupament del projecte | 48 |



## 2.1. Objectius

La present memòria inclou l'estudi d'un conjunt de biofilms en ambients amb baixa il·luminació, tal com coves o monuments hipogeus. El primer objectiu fou la caracterització dels biofilms fototròfics d'ambients de poca il·luminació, buscant nous mètodes per esbrinar els processos i les conseqüències del seu creixement. Entre les tècniques usades cal destacar la microscòpia de rastreig làser confocal. El segon objectiu fou avaluar la validesa i l'aplicabilitat de diferents estratègies no destructives per controlar i/o prevenir el creixement d'aquests biofilms en monuments hipogeus que formen part del patrimoni cultural. Els objectius més específics es poden resumir en els punts següents:

- Identificació dels cianobacteris i les microalgues que contribueixen a la formació de biofilms dels ambients hipogeus i comprovar l'efecte de paràmetres abiòtics sobre la seva distribució.
- Caracterització de l'estructura dels biofilms presents en aquests ambients: l'organització espacial dels microorganismes, la distribució de substàncies polimèriques extracel·lulars i la interacció dels microorganismes amb les superfícies colonitzades.
- Adhesió de cianobacteris i microalgues.
- Identificació dels pigments que pertanyen a les espècies més representatives mitjançant una tècnica original basada en la microscòpia de rastreig làser confocal espectral.
- Identificació de diferents tipus d'il·luminació, triats per disminuir el creixement dels microorganismes fotosintètics colonitzadors i formadors de biofilms.
- Recerca de tecnologies innovadores i no destructives per limitar i prevenir el desenvolupament descontrol·lat de biofilms fotosintètics a les superfícies que siguin de baix manteniment i aplicables en condicions de camp.

- Realització d'un seguiment de l'evolució al llarg del temps de les poblacions que formen part dels biofilms en cadascú dels tractaments aplicats.

## **2.2. Desenvolupament del projecte**

El patrimoni cultural que es troba en ambients hipogeu està colonitzat per comunitats microbianes que afecten la conservació dels suports on es desenvolupen, especialment en el cas d'estucs i pintures murals. Aquestes comunitats excreten polímers extracel·lulars, que actuen unint els organismes entre si i facilitant-ne l'adhesió als substrats, i són parcialment responsables de la complexa estructura dels biofilms i dels seus efectes. Els processos de formació de biofilms i les relacions entre els seus components són poc conegudes. Si afegim a aquest desconeixement que les comunitats microbianes juguen un important paper en el biodeteriorament del patrimoni històric cultural, particularment quan hi intervenen microorganismes fotòtrofs, tenim un marc d'activitat científica de gran interès. S'ha descrit en diversos ambients que l'activitat metabòlica dels biofilms, formats per cianobacteris, microalgues i d'altres microorganismes associats, porta a terme la biotransformació o bioerosió dels substrats. En els monuments arqueològics d'ambients hipogeu, els mecanismes que causen deterioració, principalment en substrats calcaris i, que porten conseqüentment al desenvolupament de microorganismes fototròfics i heterotròfics, encara es desconeixen. D'acord amb això, aquesta memòria pretén respondre a qüestions essencials per, posteriorment, poder desenvolupar estratègies de control i prevenció:

Quins són els organismes fototròfics formadors de biofilms en aquests ambients hipogeu?

Quines condicions limiten el creixement dels cianobacteris i les microalgues que poden ser aplicats al seu control en ambients hipogeu, com per exemple les catacumbes o les coves?

Per respondre a aquestes qüestions, el treball presentat es va estructurar en tres grans blocs, cadascun dels quals presenta diferents capítols que són pròpiament els articles presentats.

En el primer bloc es descriu la metodologia posada a punt per tal de caracteritzar els biofilms fototròfics i els pigments presents en aquestes comunitats.

En el segon bloc es presenten les comunitats fototròfiques que són presents en diferents ambients hipogeus. Es cataloga la riquesa florística que s'hi desenvolupa i es relaciona amb les condicions abiòtiques. També s'estudia l'adhesió dels microorganismes al substrat i es caracteritza l'estructura d'aquests biofilms.

En el tercer bloc s'avalua, tant al laboratori com *in situ*, un nou sistema d'il·luminació utilitzant longituds d'ona poc absorbides per cianobacteris i microalgues per tal de trobar les condicions que poden disminuir el creixement d'aquests microorganismes i, per tant, la quantitat de matèria orgànica disponible per les poblacions de microorganismes heteròtrofs associats. També s'ha estudiat l'efecte sinèrgic que es produeix quan s'aplica aquesta il·luminació monocromàtica juntament a diferents tipus de biocides.

Una discussió general, seguida de les conclusions que es desprenen del treball realitzat, completen el contingut d'aquesta memòria. Finalment, s'ha afegit un annex on consta una descripció ampliada de les tècniques utilitzades i el programa realitzat expressament per a la quantificació de diferents variables significatives en la descripció de les comunitats fototròfiques. Aquest programa es va realitzar conjuntament amb la Unitat de Llenguatges i Sistemes Informàtics de la Universitat Politècnica de Catalunya, sota la direcció del Dr. Josep Vilaplana.



La memòria presentada ha estat donada a conèixer en les publicacions següents:

Akatova E., Roldán M., Hernández-Mariné M., Gonzalez J. M. & Saiz-Jiménez C. (En prensa): On the efficiency of biocides and cleaning treatments in restoration works of subterranean monuments. *Science and Cultural Heritage in the Mediterranean Area. Diagnostic and conservation experiences and proposals for a risk map*. Regione Siciliana Assessorato beni Culturali e Ambientali e Pubblica Istruzione.

Roldán M. i Hernández-Mariné M. (En prensa): The influence of green light on cyanobacterial fine structure: applicability for dim environments. *Arch. Hydrobiol./Suppl. Algological studies* 126: 159-171.

Roldán M., Oliva F., González del Valle M., Saiz-Jiménez C. & Hernández-Mariné M. (2006): Does green light have an influence on the fluorescence properties and structure of phototrophic biofilms? *Appl. Environ. Microbiol.* 72 (4): 3026-3031.

Hernández Mariné M. & Roldán M. (2005): Adherence of hormogonia to substrata is mediated by polisaccharides produced by necridic cells. *Arch. Hydrobiol./Suppl. Algological studies*. 117: 239-249.

Hernández Mariné M., Clavero E. & Roldán M. (2004): Microscopy methods applied to cyanobacteria. *Limnetica*. 23 (1-2): 179-185.

Roldán M., Thomas F., Castel S., Quesada A., Hernández-Mariné M. (2004): Non invasive pigment identification in living phototrophic biofilms by confocal imaging spectrofluorometry. *Appl. Environ. Microbiol.* 70 (6): 3745-3750.

Roldán M., Clavero E., Canals T., Ariño X., Gómez-Bolea A., Ariño X. & Hernández-Mariné M. (2004): Distribution of phototrophic biofilms in cavities (Garraf, Spain). *Nova Hedwigia* 78 (3-4): 329-351.

Roldán M., Clavero E., Castel S. & Hernández-Mariné M. (2004): Biofilms fluorescence and image analysis in hypogean monuments research. - *Arch. Hydrobiol./Suppl. Algological studies* 111: 127-143.

Hernández-Mariné M.; Clavero E. & Roldán M. (2003): Why there is such luxurious growth in the hypogean environments?. *Arch. Hydrobiol. Algological studies* 109: 229-240.

Hernández-Mariné M.; Roldán M.; Clavero E.; Canals A. & Ariño X. (2001): Phototrophic biofilm morphology in dim light. The case of the Puigmoltó sinkhole. *Nova Hedwigia, Beih.* 123: 237-253.

