

BIOCOLONIZACIÓN DE PATRIMONIO EN PIEDRA: UNA REVISIÓN.



AUTOR

Ginary García Garzón

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de:

BIOLOGÍA APLICADA.

Director:

María Camila Patiño.

Codirector:

Maribeb Castro González.

**UNIVERSIDAD MILITAR NUEVA GRANADA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS Y APLICADAS
PROGRAMA DE BIOLOGÍA APLICADA
CAJICÁ, 25 DE ENERO DE 2021**

BIOCOLONIZACIÓN DE PATRIMONIO EN PIEDRA: UNA REVISIÓN.

BIOCOLONIZATION OF STONE STRUCTURES, A REVIEW.

Ginary García.

ABSTRACT.

The purpose of this paper was to gather information of biodeterioration stone heritage, therefore it was investigated the bio receptivity in the stone, which is determined by the characteristics and composition of the stone substrate as well as by the environmental factors that surround it; If the conditions are favorable, there will be biological colonization, which according to what was found and the approach of this review, includes photosynthetic microorganisms, and non photosynthetic microorganisms, which cause the disintegration of the rocky material and loss of information, this if it is analyzed from the point of view of biodeterioration and not of "bioprotection" view. It's Also taken into account for this review that regardless of the current followed, biocolonizing organisms can be studied using different techniques, such as classical culture media, as well as independent culture methods involving different omic technologies that include, among others, amplification of specific genes for the detection of organisms, DNA hybridization, restriction fragment analysis, metagenomics, proteomics, metabolomics and transcriptomics. These methods allow elucidating the most appropriate way to control or prevent biodeterioration, finally the paper presents some of the ways which control methods can be evaluated, taking into account the efficiency of treatments and the compatibility of the procedure with the material under study.

Key words: Biocolonization, biodeterioration, bioprotection, microorganisms, stone.

RESUMEN.

El fin de este escrito fue recopilar información sobre la biocolonización en patrimonio pétreo, por ende se indagó sobre la biorreceptividad en piedra, la cual está determinada por las características y composición del sustrato pétreo así como por los factores ambientales que le rodean; si las condiciones son propicias habrá colonización biológica, que de acuerdo a lo encontrado y al alcance de la revisión, abarca microorganismos fotosintéticos y microorganismos no fotosintéticos, los cuales causan disgregación del material rocoso y pérdida de información, esto si se analiza desde el punto de vista del biodeterioro y no de la "bioprotección". También se tiene en cuenta para esta revisión, que sin importar la corriente seguida, los organismos biocolonizadores pueden estudiarse empleando diferentes técnicas, como los medios de cultivo clásicos, ó los métodos independientes de cultivo que involucran diferentes tecnologías ómicas que incluyen entre otras, la amplificación de genes específicos para la detección de organismos, la hibridación de ADN, análisis de fragmentos de restricción, la metagenómica, la proteómica, metabolómica y transcriptómica. Estos métodos permiten dilucidar la forma más apropiada de controlar el biodeterioro o prevenir el mismo, finalmente el escrito presenta algunas de las formas en las que se puede evaluar los métodos de control, teniendo en cuenta la eficiencia de los tratamientos y la compatibilidad del procedimiento con el material bajo estudio.

Palabras Clave: Biocolonización, biodeterioro, bioprotección, microorganismos, pétreo.

INTRODUCCIÓN.

La piedra se considera uno de los materiales más resistentes, por ello ha sido utilizada como un componente de construcción, sin embargo, las condiciones medioambientales (radiación solar, humedad relativa, luminosidad, temperatura, polución, etc) pueden provocar modificaciones en sus características iniciales (Esbert *et al.* 1991). Dichas modificaciones pueden estar relacionadas a la proliferación de organismos cuya biología se ve favorecida por las circunstancias en las que se encuentran las estructuras (Morillas *et al.* 2019).

Los biofilms que crecen sobre las rocas pueden tener un efecto deteriorante o protector, esto dependerá de la visión del investigador. El primer término se define como cualquier cambio indeseado en las propiedades de un material, como consecuencia de las actividades metabólicas de distintos organismos (Wei *et al.* 2013). Por otro lado, la opción de bioprotección afirma que las biopelículas actuarán como barrera protectora frente a la lluvia, la polución, entre otros factores (Morillas *et al.* 2019). El presente escrito tuvo una orientación hacia el deterioro causado por las colonizaciones biológicas, sin embargo el concepto de bioprotección se toma en cuenta dentro del desarrollo del texto.

El biodeterioro pétreo no solo ha afectado la estética de los bienes patrimoniales, también ha impulsado la degradación de los mismos (Gómez de Saravia *et al.* 2012) perjudicando la expresión cultural de diferentes civilizaciones, por ende, su estudio y preservación está ligado al mérito artístico, cultural, al valor económico o a su connotación actual en el medio en el que se encuentra (Reyes y Valderrama. 2013), pero también representa una oportunidad para el mejoramiento de las características de los materiales utilizados no solo en las rocas de interés escultural, sino también para la cimentación de áreas urbanas.

El alcance y enfoque de esta revisión estuvo relacionado a la información general de los microorganismos colonizadores de superficies pétreas. Teniendo en cuenta lo anterior los objetivos planteados fueron: identificar los principales microorganismos involucrados en la biocolonización y sus estrategias de asentamiento; describir las principales herramientas metodológicas para el estudio de la biocolonización; y reconocer los técnicas de erradicación de colonización biológica.

BIORRECEPTIVIDAD DE LA PIEDRA.

La colonización biológica está determinada por las características de las estructuras rocosas, por ello en 1995, Guillitte, definió la biorreceptividad como el potencial que tiene un material para ser colonizado por organismos vivos (Cruz-Biel. 2018). En rocas, dicho potencial está determinado por características como la rugosidad, la porosidad, la textura y la naturaleza mineralógica que influyen en la adhesión y formación de biofilms en las superficies rocosas (Ramírez-Vázquez. 2012).

La presencia de poros internos ($>5\text{m}^2/\text{g}$), es el resultado de una alta porosidad o la presencia de minerales arcillosos, que facilitan la biomovilización de microorganismos dentro del sistema. Una alta porosidad (alrededor del 14% en volumen con un radio de poro promedio entre 1 y 10 mm) permite una penetración profunda de humedad, preparando el camino para la colonización biológica (Warscheid y Braams. 2000).

En el 2008, Cámara y colaboradores desarrollaron un estudio sobre biorreceptividad de tres tipos de roca caliza a la colonización fúngica, cada uno de los tipos de calizas mostró diferencias en el tamaño de los cristales y en la dimensión de los poros. Los resultados mostraron que la distribución de los hongos litobióticos está condicionada por la magnitud y tipo de porosidad, los tipos de piedra con alta porosidad tanto inter como intracristalina presentaron mayor colonización con respecto a las que solo presentaban porosidad intercristalina. Los investigadores afirmaron que el tamaño del poro estaba relacionado con la capacidad de las calizas para retener el agua y agregaron las tres fases de colonización fúngica en la roca en cuestión, siendo:

1. Penetración intercristalina.
2. Penetración intracristalina.
3. Disgregación cristalina total.

La mayor parte de las construcciones que hacen parte del patrimonio histórico fueron edificadas a partir de piedra calcárea, la cual ofrece un sustrato alcalino, que en algunas zonas favorece la aparición de algas, las cuales mantienen una humedad constante, estableciéndose posteriormente musgos y hepáticas que conforman mosaicos de colores variables (Novelo *et al.* 2011). Por lo general los indicadores de biodeterioro son fácilmente distinguibles a simple vista, no obstante, la colonización no se da solamente a nivel de superficie (epilítica) también se da en el interior de la roca (endolítica).

Los microorganismos que se desarrollan en cada una de las condiciones provocarán alteraciones gracias a las interacciones geofísicas y geoquímicas que se establecen con el sustrato lítico (Cámara *et al.* 2008). La colonización endolítica y/o epilítica puede estar determinada por condiciones ambientales adversas, como la desecación, la intensa radiación solar, la falta de nutrientes y las fluctuaciones de humedad, siendo la colonización endolítica una de las estrategias empleadas para sobrevivir (Miller *et al.* 2012).

Los factores externos que determinan el biodeterioro de los materiales son: la humedad relativa, la temperatura, el pH, la luz, el oxígeno y los contaminantes atmosféricos, los cuales fomentan el asentamiento biológico (Avendaño-Restrepo *et al.* 2007). Existen otros parámetros que afectan la biorreceptividad de un sustrato, como la higroscopicidad, el color del material ó el albedo (Manso *et al.* 2014). Este último se ha definido como la fracción de energía reflejada por la superficie de la tierra (Rodríguez y Balibrea. 2008).

Las diferencias en las temperaturas superficiales y la biorreceptividad de diferentes tipos de estructuras rocosas, es una función de las diferentes propiedades térmicas de los minerales que los componen, que bajo ciertas condiciones de temperatura pueden generar o no desagregación granular. Es necesario añadir que la temperatura de las superficies no es solo consecuencia de la radiación solar, está determinada también por el color como una sustitución del albedo (Gómez-Heras. 2005).

Las condiciones mencionadas anteriormente no solo influyen en la biorreceptividad de un material expuesto, también afectan la biodiversidad que se desarrolla sobre el mismo. Los monumentos que no reciben la misma cantidad de radiación solar, tienen temperaturas dispares, demostrando ciclos desiguales de calentamiento-enfriamiento y humedecimiento-secado al mes, ello influirá en tasas diferenciales de deterioro y sesgará los organismos que se pueden desarrollar en los monumentos, por ejemplo, las cianobacterias poseen pigmentos y

vainas que las protegen de la radiación ultravioleta. Las algas por otro lado, son más sensibles a la radiación solar por lo que se desarrollarán mejor en zonas sombreadas y húmedas (Adamson *et al.* 2013), sin embargo, también pueden desarrollarse bajo la biocapa de cianobacterias o bajo la superficie de las rocas (Barón-Vélez *et al.* 2011).

Lo anterior fue demostrado en América Latina, en donde se evidenció que las cianobacterias son los organismos dominantes sobre las rocas, seguidas por los hongos. En Europa por el contrario, las algas son la biomasa predominante en todos los sustratos, evidenciando cómo la radiación solar directa influye en el tipo de colonización (Adamson *et al.* 2013).

Notoriamente el entorno a escala de las ciudades juega un papel importante, pero el entorno local afecta directamente las modificaciones, debido a que no todas las zonas son homogéneas, adicionalmente la alteración en un solo monumento puede variar, en función del porcentaje de exposición (lados expuestos y lados protegidos), la altura, la arquitectura, la materialidad, entre otros (Saheb *et al.* 2016).

La biorreceptividad también está determinada por la denominada “biorreceptividad secundaria”, la cual se presenta en entornos urbanos contaminados, donde el deterioro químico y mecánico propician la colonización biológica. En un estudio realizado en Barranquilla, Colombia, se observó un aumento en la colonización de granito a medida que se aumentaba la rugosidad y la porosidad de la superficie, este estado estaba determinado directamente por las condiciones ambientales (Gulotta *et al.* 2018).

Actualmente la polución ha provocado un detrimento en la conservación del patrimonio pétreo, puesto que las emisiones atmosféricas pueden acumularse sobre los monumentos. Dentro de los contaminantes orgánicos se encuentran los hidrocarburos aromáticos policíclicos, formiatos, acetatos y oxalatos; los gases ácidos y las sales presentes en aerosoles marinos pueden contribuir a la colonización biológica, causando o agravando el deterioro preexistente (Gallego-Cartagena *et al.* 2020).

Las cualidades propias de cada tipo de superficies, sumadas a las condiciones meteorológicas de los diferentes lugares, propician el asentamiento biológico, a continuación, se describen los principales microorganismos involucrados en dicha colonización.

ORGANISMOS ASOCIADOS A LA BIOCOLONIZACIÓN.

Desde el momento en el que la roca es extraída de la cantera, actúan sobre ella factores físicos, químicos y biológicos, cuya acción conjunta permitirá la eventual colonización por parte de distintos microorganismos (de los Ríos *et al.* 2012), los cuales forman consorcios que son frecuentes sobre superficies colonizadas.

Las colonizaciones biológicas están determinadas por las condiciones ambientales, como la humedad relativa, la temperatura y la polución antropogénica y natural que interactúan con el material en deterioro, propiciando entornos convenientes para el desarrollo de biota y microbiota (Herrera *et al.* 2004). Adicionalmente la meteorización propia del material, correspondiente a los fenómenos climáticos de las áreas específicas, causan pérdidas de dureza, de masa, de superficie, de forma, de color, entre otros (Tatis-Castro y Barbosa-López. 2012), haciéndolos susceptibles a la biocolonización de organismos temporales o permanentes que pueden o no causar deterioro sobre las estructuras (Saíz-Jiménez y Ariño. 1995). Ellos usan la matriz de piedra, rica en sustratos de tipo inorgánico como fuente

de nutrientes, a su vez liberan metabolitos alcalinos o ácidos que deterioran las estructuras progresivamente (Tatis-Castro y Barbosa-López. 2012).

Las comunidades microbiológicas asociadas al biodeterioro crecen bajo la forma de biofilms, los cuales están constituidos por células microbianas, material polimérico extracelular de naturaleza polisacárida, partículas de diversos orígenes, y un alto porcentaje de agua (95% del peso del biofilm), formando películas mucilaginosas que degradan el material y afectan el aspecto estético. Los biofilms que crecen sobre roca pueden causar deterioro físico o químico por medio de diferentes mecanismos biogeoquímicos. Dentro de dichos procesos, el más frecuente es la producción de ácidos tanto orgánicos como inorgánicos que disuelven la matriz del sustrato por un proceso de biolixiviación de ciertos componentes minerales de la estructura (Giúdice *et al.* 2002). Los efectos del biodeterioro pueden causar pigmentaciones, microfisuras y estrés mecánico generado por sustancias poliméricas extracelulares (EPS), que producen el debilitamiento de la estructura mineral por los ciclos de contracción y dilatación de los biofilms dentro del sistema rocoso (Villalba-Corredor. 2009). Estos procesos afectan la estética de los bienes patrimoniales, induciendo la degradación de los mismos y provocando pérdidas tanto materiales como económicas (Gómez de Saravia *et al.* 2012).

La diversidad microbiana en piedras como la caliza, la dolomita, la arenisca y el granito, entre otros tipos de roca, incluye cianobacterias, hongos, bacterias, algas, protozoos y plantas. Las cianobacterias son organismos fotolitoautótrofos, capaces de sobrevivir ciclos repetidos de deshidratación y rehidratación, así como soportar altos niveles de radiación UV, estas características les permiten ser colonizadores primarios en superficies expuestas (Ortega-Morales. 2006). En los ambientes tropicales, las condiciones favorecen el desarrollo de los microorganismos, en especial de las algas, puesto que la humedad relativa alta, las temperaturas elevadas y la radiación solar constante durante todo el año propician su desarrollo, especialmente en áreas en contacto directo con el aire (Novelo *et al.* 2011). Las comunidades fotosintéticas son productores primarios, con gran capacidad de adaptación y amplio espectro de distribución, al colonizar superficies pétreas exteriores pueden formar ácido carbónico como resultado de la reacción entre el dióxido de carbono, productos de la respiración, y el agua en las proximidades de la célula. La producción de este y otros tipos de ácidos han sido relacionados con la disolución de la calcita en rocas calcáreas (Ramírez-Vázquez. 2012). Las cianobacterias y las algas, están asociadas a ecosistemas acuáticos, no obstante, están ampliamente extendidas en sustratos pétreos. Uno de los géneros más representativos de las cianobacterias es *Haematococcus*, mientras que de las algas destaca el género *Klebsormidium* (Mingarro-Martín. 1996) (Diríjase a la Tabla 1 para mayor información).

Con respecto a los hongos, también se consideran organismos erosivos que causan transformaciones sobre las estructuras colonizadas, ello está determinado por el tipo de colonización, la cual puede ser superficial (epilitos) o intrínseca (endolitos) (Mohammadi y Maghbolli-Balasjin. 2014). Los hongos han sido reportados tanto en rocas de origen ígneo como sedimentario y en diferentes tipos de piedra como arenisca, caliza, granito, mármol y yeso (Burford *et al.* 2003). También se han aislado de minerales como la calcita, el feldespato y el cuarzo, sin embargo los hongos levaduriformes hallados endolíticamente en este estudio, no tienen precedentes (Corzo-Acosta. 2018).

Los organismos fúngicos (libres o en consorcio) están involucrados de forma natural en la meteorización de rocas, promoviendo la diagénesis mineral (Burford *et al.* 2003), este tipo de deterioro involucra tanto mecanismos físicos como químicos. Las alteraciones bioquímicas pueden ocasionar disrupción topológica y disolución de los minerales, debido principalmente a sustancias mucilaginosas, metabolitos, ácidos y compuestos metalo quelantes (Trovao *et al.* 2019).

Hay dos grupos morfológicos y ecológicos de hongos que habitan la piedra, los primeros son los hifomicetos, que se encuentran más ampliamente distribuidos en las zonas tropicales y húmedas. En ambientes áridos y semiáridos, las condiciones climáticas son demasiado extremas para la mayoría de los hifomicetos, por lo que las comunidades representativas son las levaduras negras y los hongos micro coloniales (Sterflinger y Piñar. 2013). Los principales microorganismos descritos, asociados a la colonización de materiales patrimoniales son *Aspergillus* y *Cladosporium*, los cuales se han asociado con el envejecimiento y decoloración de estructuras pétreas, también se han aislado géneros como *Alternaria*, *Penicillium* y *Fusarium*, entre otros (Abdel-Ghany *et al.* 2019).

Las bacterias por otro lado, crecen cuando el contenido de humedad es alto; su desarrollo es evidente gracias a la formación de costras negras, pátinas marrones y exfoliación de los monumentos calcáreos. Las bacterias juegan un papel importante en la meteorización de las rocas, ya que pueden producir ácido nítrico o sulfúrico, responsable de la solubilización del calcio, degradación de los carbonatos, aluminatos y silicatos, pese a ello, también contribuyen a la consolidación de las piedras y el yeso, debido al aumento de la precipitación del carbonato de calcio, por procesos activos y pasivos (De Turris *et al.* 2013). De acuerdo a Páramo-Aguilera *et al.* (2015) en su estudio titulado “La bioprecipitación de carbonato de calcio por la biota nativa como un método de restauración”, las bacterias del género *Bacillus* sp son las que más destacan por la capacidad de bio precipitar carbonatos. Las especies que sobresalieron fueron: *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis* y *Pantoea agglomerans*.

Hay cuatro tipos principales de bacterias colonizantes: actinomicetos, cianobacterias, bacterias nitrificantes y bacterias oxidantes de sulfuro (Tatis-castro y Barbosa-López. 2012) (Sterflinger y Piñar. 2013). A diferencia de los hongos, el deterioro bacteriano a las estructuras rocosas es solo por vía química, causando acidificación del sustrato, y evidenciándose costras negras, pulverizaciones, exfoliaciones y solubilizaciones, así como cambios en la coloración de los monumentos (Sameño-Puerto. 2018). La actividad de las bacterias heterótrofas está determinada por la disponibilidad de materia orgánica adecuada, que puede provenir de la deposición de partículas transportadas por el viento, polvo, tierra o los productos metabólicos de otros organismos (De Turris *et al.* 2013). Los géneros más representativos son, *Thiobacillus* y *Acidithiobacillus* etc, que pueden convertir la piedra caliza en yeso, evidenciándose coloraciones oscuras en las estructuras (Scheerer *et al.* 2009) (Wei *et al.* 2013).

Pero ¿qué se sabe de la forma en la que se establece la comunidad microbiana en la piedra? Numerosos estudios indican que se da gracias a procesos de sucesión microbiana (Sameño-Puerto. 2018), por ejemplo, en materiales como el concreto, la sucesión microbiana comienza con la reducción del pH de la superficie, debido principalmente a la hidratación,

corrosión y meteorización del espacio, una vez el pH cae por debajo de 9 y hay disponibilidad de nutrientes, oxígeno y humedad, empieza la colonización de diferentes organismos, dentro de los cuales el precursor es *Thiobacillus* spp (Wei *et al.* 2013).

Así como los microorganismos mencionados previamente, los musgos hacen parte de procesos sucesionales discernibles en espacio y tiempo. Los líquenes pueden invadir las colonias de musgos favoreciendo la acumulación de materia orgánica que posteriormente es utilizada por otros microorganismos (Parrado *et al.* 2008) favoreciendo así, los procesos de deterioro, ya que el talo liquénico produce ácido oxálico, sílvico y fúlvico que penetran la superficie de las rocas. El ácido oxálico tiene capacidades lixiviantes, es decir, desmineraliza el sustrato pétreo, por otro lado, los ácidos sílvico y fúlvico son formadores de suelo, es decir producirán lo necesario para que posteriormente se establezcan plantas vasculares (Puy-Alquiza *et al.* 2015).

Todos los aspectos sobre el biodeterioro que se mencionaron previamente corresponden a fenómenos que ocurren en estructuras expuestas al aire libre, sin embargo, este fenómeno también ha sido reportado en patrimonio sumergido, a continuación se mencionan los aspectos más relevantes y los organismos involucrados.

BIOCOLONIZACIÓN DE PATRIMONIO SUMERGIDO.

El biodeterioro pétreo es diferente para los materiales al aire libre y los que se encuentran sumergidos, debido principalmente a las condiciones ambientales. En entornos marinos, el biodeterioro no ha sido entendido por completo, gracias al número de procesos que ocurren simultáneamente, dentro de dichos procesos se resaltan las variables hidrodinámicas, las características hidroquímicas, las dinámicas de sedimentación y la interacción con comunidades biológicas (Cámara *et al.* 2017).

El biodeterioro que toma lugar en superficies sumergidas se conoce como “Biofouling” que se define como la acumulación indeseada de depósitos bióticos (tanto macroorganismos como microorganismos) (Curt-Flemming. 1991). El grupo de los microfouling está compuesto por bacterias, microalgas y protozoos, su establecimiento permite el asentamiento del grupo de los macrofouling (percebes, mejillones, serpúlidos etc). Esta sucesión ecológica comienza con el desarrollo de una comunidad de microorganismos que eventualmente es modificada por los mismos organismos que la componen y por el ambiente, posteriormente se forma una biomasa, que varía de acuerdo a las especies, a la tasa de acumulación, al tipo de sustrato, a la estación o época del año, a la región geográfica, a los ciclos reproductivos (de los micro y macro fouling) y a la profundidad de la columna de agua (Nandakumar y Yano. 2003).

Distintos factores ambientales afectan la tasa de formación y dominancia de los organismos del fouling, estos factores pueden ser la temperatura, la presión, el estrés, la composición del sustrato y el diseño del mismo, puesto que puede afectar la adherencia. Los biofilms se desarrollan diferente cuando se forman sobre una superficie corroída e hidratada, que sobre una con poca humedad, de la misma manera si el agua es fría o caliente, debido a que se modifica la química y la biología de los organismos (Hasson y Crowe. 1988).

Dentro de los especímenes más comúnmente reportados se encuentran las algas marinas las cuales son abundantes en las zonas costeras, se adhieren a las estructuras fácilmente, gracias a la acción abrasiva del agua, de la arena y las piedras. Las algas pioneras son las macro algas filamentosas, las cuales son capaces de obtener por medio de la solubilización, calcio, aluminio, silicio y hierro; este proceso involucra la producción de ácidos orgánicos, los cuales se han descrito como biodeteriogenos del concreto (Jayakumar y Saravanane. 2009). Los fotosintéticos como las algas, algunas bacterias y las diatomeas, así como las levaduras, no son las únicas responsables de la formación de biofilms sobre estructuras rocosas, ya que de acuerdo a estudios realizados por Francesco *et al* (2013) en la estatua de mármol “Tritone Barbato” también se encontraron depósitos relacionados a briozoos, elementos esqueléticos de esponjas endolíticas, oxeas, serpúlidos, gasterópodos, entre otros.

A continuación, se menciona un ejemplo de colonización por parte de organismos similares a los encontrados por Francesco y colaboradores, sin embargo, se hace distinción de preferencia por los diferentes sustratos pétreos, lo que resulta relevante dada la escasez de artículos relacionados.

Un estudio realizado en el parque arqueológico submarino de Baia en Nápoles Italia, concretamente en los relictos sumergidos de las antiguas ciudades de Baiae y Portus Iulius, mostró que de los diferentes materiales analizados (mármoles, calizas, ignimbritas y ladrillos), la caliza y los mármoles fueron los sustratos con mayor proporción de colonización, presentando incrustaciones y formas de degradación de más del 90%. Los organismos presentes en el deterioro de estos materiales fueron: serpúlidos, briozoos, percebes, organismos endolíticos marinos, que en conjunto producen depósitos carbonáticos asociados a sus esqueletos y los cuales están presentes sobre las muestras (Aloise *et al.* 2014).

Síntesis de información de los principales organismos aislados de patrimonio pétreo.

La Tabla 1, presenta una recopilación de los organismos reportados en literatura sobre colonización en sustratos pétreos con el fin de que los lectores puedan encontrar referencias actualizadas, puesto que muchas de las caracterizaciones biológicas realizadas en la era pre molecular no ofrecen un panorama completo y renovado de los organismos presentes en un biofilm, adicionalmente la Tabla 1 ofrece información global sobre diferentes phylums de microorganismos colonizadores de roca.

Tabla 1. Información colectada sobre la biota con capacidad de biocolonizar estructuras pétreas.

Biota identificada.	Descripción del sustrato.	Autor(es) / año / título.
<i>Scytonema julianum</i> ; <i>Symphyonemopsis</i> sp; <i>Leptolyngbya</i> sp; <i>Oculatella subterranean</i> ; <i>Fischerella</i> sp (cianobacterias). <i>Diademsis</i> sp (diatomea). <i>Chlorella</i> sp (alga)	Catatumbras de piedra (no se especifica el tipo de roca) ubicadas en Italia, con pasajes iluminados artificialmente.	Bruno <i>et al</i> (2019). Biodeterioration of Roman hypogea: the case study of the Catacombs of SS. Marcellino and Pietro (Rome, Italy).

<i>Bagliettoa baldensis</i>; <i>Calogaya decipiens</i>; <i>Calogaya pusilla</i>; <i>Candelariella aurella</i>; <i>Circinaria calcarea</i>; <i>Circinaria contorta</i>; <i>Favoplaca polycarpa</i>; <i>Lepraria sp</i>; <i>Myriolecis albescens</i>; <i>Myriolecis dispersa</i>; <i>Myriolecis pruinosa</i>; <i>Physconia muscigena</i>; <i>Pyrenodesmia erodens</i>; <i>Variospora aurantia</i>; <i>Verrucaria ochrostoma</i> (líquenes).	Rocas carbonatadas, ubicadas en una municipalidad en Betania, las rocas están expuestas al ambiente.	Matteucci <i>et al</i> (2019). Lichens and other lithobionts on the carbonate rock surfaces of the heritage site of the tomb of Lazarus (Palestinian territories): diversity, biodeterioration, and control issues in a semi-arid environment.
<i>Oscillatoria sp</i>; <i>Lyngbya sp</i>; <i>Leptolyngbya sp</i>. (cianobacterias). <i>Aspergillus niger</i>; <i>Aspergillus fumigatus</i>; <i>Penicillium sp</i>; <i>Fusarium sp</i> (hongos)	Morteros de roca calcárea, pertenecientes a construcciones de interés cultural en Barranquilla (Colombia).	Gallego-Cartagena <i>et al</i> (2020). A comprehensive study of biofilms growing on the built heritage of a Caribbean industrial city in correlation with construction materials.
<i>Klebsormidium flaccidum</i>; <i>Trebouxia spp</i>; <i>Stichococcus bacillaris</i>; <i>Chlorosarcinopsis minor</i>; <i>Chlorella mirabilis</i> (algas). <i>Cyanosarcina parthenonensis</i>; <i>Chroococcus lithophilus</i>; <i>Gloeocapsa sanguínea</i>; <i>Calothrix pulvinata</i>; <i>Leptolyngbya foveolarum</i>; <i>Phormidium corium</i> (cianobacterias).	Morteros, concreto, pintura y acabados orgánicos de fachadas de apartamentos en Francia.	Barberousse <i>et al</i> (2006). Diversity of algae and cyanobacteria growing on buildings facades in France.
<i>Aphanocapsa muscicola</i>; <i>Gleocapsa novacekii</i>; <i>Leptolyngbya sp</i>; <i>Phormidium sp</i> (cianobacterias). <i>Planothidium frequentissimum</i> var. <i>magnum</i>; <i>Navicula veneta</i>; <i>Luticola luticopsis</i>; <i>Nitzschia communis</i>; <i>Nitzschia inconspicua</i>; <i>Nitzschia frustulum</i>; <i>Haematococcus pluvialis</i>; <i>Desmococcus olivaceus</i>; <i>Cylindrocystis brebissonii</i>; <i>Microspora sp</i>;		Ljaljevic-Grbic <i>et al</i> (2010).

<i>Cylindrocapsa</i> sp (algas). <i>Alternaria</i> spp; <i>Cladosporium cladosporioides</i>; <i>Cladosporium sphaerospermum</i>; <i>Epicoccum purpurascens</i>; <i>Fusarium</i> sp; <i>Mycelia sterilia</i>; <i>Alternaria</i> sp; <i>Aspergillus flavus</i>; <i>Aspergillus versicolor</i>; <i>Cunninghamella echinulata</i>; <i>Drechlera dematoidea</i>; <i>Mucor</i> sp; <i>Aureobasidium pullulans</i> var. <i>melanigerum</i>; <i>Fusarium oxysporum</i>; <i>Mucor racemosus</i>; <i>Paecilomyces varioti</i>; <i>Penicillium verrucosum</i> var. <i>cyclopium</i>; <i>Penicillium</i> sp; <i>Phoma</i> sp (hongos).	Rocas de arenisca y granito del “Monumento del héroe desconocido” en Belgrado (Serbia).	Biofilm forming cyanobacteria, algae and fungi in two historic monuments in Belgrade, Serbia.
<i>Phormidium</i> sp; <i>Nostoc</i> sp; <i>Microcoleus</i> sp; <i>Plectonema</i> sp (cianobacteria). <i>Stichococcus</i> sp; <i>Chlorella</i> sp (clorofita). <i>Navicula</i> sp; <i>Nitzschia</i> sp (diatomea). (Los géneros mencionados fueron los más comunes, consulte el artículo para mayor información).	Roca calcárea, silícea y artificial proveniente de monumentos del Jardín de Boboli, Florencia (Italia).	Tomaselli <i>et al</i> (2000). Biodiversity Of Photosynthetic Microorganisms Dwelling on stone monuments.
<i>Aspergillus versicolor</i>; <i>Cladosporium cladosporioides</i>; <i>C.sphaerospermum</i>; <i>C. tenuissimum</i>; <i>Epicoccum nigrum</i>; <i>Parengyodontium album</i>; <i>Penicillium brevicompactum</i>; <i>P. crustosum</i>; <i>P. glabrum</i>; <i>Talaromyces amestolkiae</i>; <i>T. stollii</i> (hongos).	Caliza dolomítica amarilla, perteneciente a la Catedral de Coimbra, en Coimbra (portugal).	Trovao <i>et al</i> (2019). Fungal diversity and distribution across distinct biodeterioration phenomena in limestone walls of the old cathedral of Coimbra, UNESCO World Heritage Site
<i>Streptomyces albidofuscus</i>; <i>S. ambofaciens</i>; <i>S. canarius</i>; <i>S. chibaensis</i>; <i>S. coelicolor</i>; <i>S. corchorusii</i>; <i>S. nigrifaciens</i>; <i>S. parvullus</i> (bacteria).	Tumbas de Ankh, Ihy, Ist y Osorkon en Egipto.	Abdel-Hallem <i>et al</i> (2013). Characterization of <i>Streptomyces</i> isolates causing colour changes of mural paintings in ancient Egyptian tombs.
<i>Acidomyces</i> sp; <i>Acremonium</i>		

sp; <i>Alternaria</i> sp; <i>Aspergillus</i> sp; <i>Aureobasidium</i> sp; <i>Cladosporium</i> sp; <i>Curvularia</i> sp; <i>Cylindrocarpon</i> sp; <i>Drechslera</i> sp; <i>Echinocatena</i> sp; <i>Elasticomyces</i> sp; <i>Exophiala</i> sp; <i>Fusarium</i> sp; <i>Gliomastix</i> sp; <i>Heteroconium</i> sp; <i>Humicola</i> sp; <i>Hyalodendron</i> sp; <i>Minimedusa</i> sp; <i>Monodictys</i> sp; <i>Papulospora</i> sp; <i>Penicillium</i> sp; <i>Phialophora</i> sp; <i>Scolecobasidium</i> sp; <i>Septoria</i> sp; <i>Taeniolella</i> sp; <i>Trichosporon</i> sp; <i>Tritirachium</i> sp (hongos). (Para mayor información sobre las especies, consultar el artículo).	Piedra caliza compacta y porosa de un sitio arqueológico en Becán (México).	Gómez-Cornelio <i>et al</i> (2012). Succession of fungi colonizing porous and compact limestone exposed to subtropical environments.
---	---	---

A pesar de que la mayoría de los trabajos científicos se enfocan en el tema del biodeterioro causado por los organismos biológicos en la piedra, existe otra corriente de estudios denominada “Bioprotección”, la cual plantea un concepto opuesto al biodeterioro. A continuación se habla del tema de forma somera, debido a que esta corriente requeriría un escrito completo, sin embargo es inevitable no hablar del tema, ya que es un asunto que hace parte de la biocolonización.

BIOPROTECCIÓN.

Se ha desarrollado una línea de pensamiento alrededor de la idea de que los organismos no poseen una acción “deteriorante” sino protectora. Algunos autores han resaltado la acción de los organismos colonizadores por su actividad bioprotectora en las estructuras pétreas. Los biofilms maduros se caracterizan por la producción de sustancias poliméricas extracelulares, polisacáridos, proteínas, lípidos y pigmentos que actúan como protección contra las condiciones ambientales adversas, que causan la meteorización de los monumentos (Soffritti *et al.* 2019). Los líquenes son uno de los organismos sobre los que existe más debate, debido a que, aunque su efecto perjudicial ha sido bien documentado, también se ha registrado su acción bioprotectora contra la degradación abiótica. El rol protector de los líquenes está asociado a la reducción de los poros de la piedra, que minimiza el intercambio de agua de la estructura con el ambiente, así como la incidencia de otros agentes como la polución, el viento o la desagregación de los componentes rocosos (Salvadori y Municchia. 2016).

En la mayoría de los casos los microorganismos han sido asociados únicamente a los casos de biodeterioro, biocorrosión o biomineralización, sin embargo, las mismas vías metabólicas relacionadas con estos procesos pueden aprovecharse para incrementar la estabilidad de los

materiales (Junier y Joseph. 2017). Por ejemplo, algunas especies del género *Bacillus sp*, tienen la capacidad de precipitar la calcita mediante la conversión de urea en amoníaco y dióxido de carbono. En piedra caliza, Dick y colaboradores (2006), evaluaron dicha capacidad en cepas de *Bacillus sphaericus* (5 cepas de la 55-59) y *Bacillus lentus* (1 cepa, la 60), los resultados mostraron que las cepas de *B. sphaericus* (57 y 59) eran las que más producían agregados cristalinos, y la cepa de *B. lentus* la que menos.

En edificios de piedra caliza se ha demostrado que los carbonatos inducidos por bacterias reducen eficientemente la capacidad de absorción de agua y en inmuebles de interés histórico las bacterias han pasado de ser un problema a una solución, puesto que algunos investigadores han empleado las bacterias anaerobias reductoras de sulfato biotecnológicamente manipuladas *Desulfovibrio desulfuricans* y *D. vulgaris* en la remoción de las costras de sulfato negro que se producen en el exterior de esta clase de edificios (Dhami *et al.* 2013).

No está de más aclarar que los microorganismos pueden tener efectos tanto positivos como negativos sobre las superficies, ello está determinado por la materialidad de los monumentos y por el tipo de microorganismo empleado, puesto que la actividad metabólica de los microorganismos varía (De Turris *et al.* 2013).

Sin importar la corriente de investigación que siga el investigador (biodeterioro/bioprotección), es imprescindible estudiar las biopelículas establecidas sobre un material rocoso y el metabolismo de sus miembros, por ello a continuación se mencionan algunas de las últimas tecnologías en el estudio de la biocolonización.

HERRAMIENTAS PARA ESTUDIAR LA BIOCOLONIZACIÓN.

Las técnicas de aislamiento e identificación de microorganismos en los diferentes estudios están determinadas por el objetivo del estudio y por el presupuesto del mismo.

Adicionalmente, el lector debe tener en cuenta que los métodos que se mencionan a continuación no son una receta, son solamente variantes de varias técnicas utilizadas en el campo, que bien pueden ser extrapoladas a otros campos de acción o no, sumado a ello, no todas las metodologías pueden ser utilizadas sobre todos los tipos de superficies debido a la historia particular de cada monumento. Teniendo este precedente, a continuación, se mencionan algunos de los últimos métodos en el estudio de la colonización biológica.

La metodología clásica fue la desarrollada en el estudio de Ljaljevic-Grbic *et al* (2010) la cual se basó en tomar muestras a partir de materiales pétreos con alteración evidente, usando un método de cinta adhesiva no destructiva. La cinta se rehidrató en un medio modificado Knops y posteriormente fue analizado con el estereomicroscopio y el microscopio de luz.

Organismos como cianobacterias y algas fueron identificadas mediante información previamente publicada. Con respecto a la identificación de los hongos, Ljaljevic-Grbic y colaboradores tomaron muestras con hisopos estériles, los sumergieron en agua destilada y los agitaron durante 10 minutos. La suspensión se inoculó en un agar de estreptomicina de malta. Las colonias aisladas a partir del medio anterior se sembraron en medio PDA y se identificaron por observación macroscópica y microscópica de las estructuras. En este

estudio se reconocieron cinco taxas de cianobacterias, cinco de algas verdes, seis de diatomeas y 23 taxas fúngicas.

De acuerdo con lo expuesto en el artículo de Kotu *et al* (2019) las técnicas basadas en cultivo no ofrecen una buena representación de los organismos que componen un biofilm, ya que solo una pequeña fracción del total de microorganismos (0,1-1%) es cultivable, e incluso, si fuera posible a través de medios de cultivo específicos para cepas, no resultaría práctico para enumerar especies diferentes. Sin embargo, no se debe descartar la metodología clásica de los cultivos, ya que los microorganismos aislados se pueden utilizar para modelados de acuerdo con los postulados de Koch (Beata. 2020). Es decir, los diferentes aislados pueden utilizarse para corroborar la acción deteriorante o protectora de una determinada especie (si su cultivo es posible) sobre una superficie de interés.

En países como Colombia las técnicas basadas en cultivos continúan siendo populares, ya que las metodologías moleculares no están al alcance de todos, siendo los medios de cultivo una opción viable para las investigaciones con bajo presupuesto. Otras ciencias implementadas en el país se mencionan a continuación.

En Colombia Villalba y Malagón (2011) obtuvieron información sobre los biofilms desarrollados sobre la fuente de Lavapatas en el Huila, mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) y EDAX. Estas tecnologías les permitió corroborar el proceso de biodeterioro sobre la roca por las microalgas y líquenes crustáceos. En las áreas con presencia de líquenes se evidenció alto porcentaje de calcio y en las áreas con pátinas algales hubo mayor cantidad de silicio, entre otros elementos que ratificaron la acción biológica sobre la piedra.

Las herramientas mencionadas en el párrafo anterior también fueron utilizadas por Corzo-Acosta (2018) para detectar la relación entre comunidades microbianas endolíticas nativas y tres minerales formadores de roca, adicionalmente implementó las tecnologías de fluorescencia de rayos X y la Petrografía, así como el uso de medios de cultivo. Los resultados le permitieron dilucidar la identidad de los minerales y los organismos adheridos a cada uno de ellos.

Actualmente se han desarrollado metodologías moleculares más eficientes y rápidas, sin embargo, muchas de ellas no han sido aplicadas en el país. Por ejemplo, Cutler *et al* (2013) realizaron una caracterización de las comunidades microbianas eucariotas en edificios de arenisca utilizando el método TRFLP (análisis de fragmentos de restricción terminal obtenidos a partir de amplicones del gen ARNr 18S) y pirosecuenciación 454, que permiten secuenciar de forma paralela y masiva muchos fragmentos de ADN.

Los resultados mostraron que para los hongos, 28 de las 55 muestras tuvieron reacciones exitosas, mientras que las algas tuvieron 39 de 55, en ambos casos el fracaso estuvo relacionado a las fallas en la extracción de ADN. No obstante, gracias al método TRFLP fue posible saber el porcentaje de semejanza de las algas y los hongos en las diferentes áreas muestreadas, basándose en presencia/ausencia y abundancia. Por medio de la pirosecuenciación los investigadores encontraron más de 120 Unidades Taxonómicas Operacionales (OTUs) algales que pudieron resolverse por lo menos a nivel de género, con respecto a los hongos, encontraron 371 OTUs, de los cuales 274 pudieron identificarse por lo

menos a nivel de género.

Otras metodologías implementadas son las de hibridación fluorescente *in situ* (FISH) y microarrays, las cuales han sido utilizados en el estudio de microorganismos causantes de corrosión, sin embargo, estas técnicas pueden implementarse en la investigación de los organismos asociados al biodeterioro lítico. Los procedimientos mencionados se basan en la hibridación de ADN con ADN o ARN extraída de la comunidad microbiana, con el fin de identificar a los organismos que lo componen; adicionalmente con la técnica de FISH se puede obtener la distribución espacial de microorganismos específicos en una biopelícula, sin alterar la estructura de la misma. Respecto a los microarrays de ADN, los genes correspondientes a múltiples genes diana se disponen en una superficie al cual se hibridará el ARN de los microorganismos (Kotu *et al.* 2019). Los microarrays de ADN se han utilizado ya que permiten comprender la formación de las biopelículas, pues este modo de crecimiento requiere un cambio significativo en la expresión genética para que la célula pueda adherirse al soporte (Zhang *et al.* 2007).

En el 2017, Marquez-Costa utilizó la hibridación *in situ* con sondas fluorescentes para comprobar la especificidad de una sonda diseñada para la detección de una cepa de *Pseudomonas stutzeri* utilizada para tratamientos de biolimpieza en obras de arte. Los resultados mostraron que la sonda no es específica para la cepa para la que fue diseñada, presentando complementariedad con otras cepas.

Actualmente el estudio de las comunidades asociadas al biodeterioro está muy enfocado al metaboloma de los miembros, debido a los productos metabólicos necesarios para establecerse en una comunidad en donde se dan interacciones de competencia. Las ciencias ómicas (transcriptómica, metagenómica, proteómica y metabolómica) se han empezado a utilizar en el estudio del biodeterioro del patrimonio. Por ejemplo la genómica (secuenciación de ADN) puede usarse para identificar microorganismos cultivables; la metagenómica (secuenciación de tercera y cuarta generación junto con la ya no utilizada pirosecuenciación) puede usarse para identificar microorganismos no cultivables; la transcriptómica (secuenciación de ARN y RT-PCR), se utiliza para el análisis fenotípico de los microorganismos la actividad de los mismos; la metabolómica (HPLC MS / MS, GC MS / MS, SALDI TOF MS), sirve para identificar metabolitos y vías metabólicas implicadas en el biodeterioro; y la proteómica (MALDI ToF, MALDI ToF / ToF, MALDIQ-ToF, ESI- Q-ToF, cristalografía de rayos X), sirve para identificar biomarcadores y para la identificación de enzimas (Beata.2020).

Si el lector está interesado en aprender las bases teóricas y prácticas de la metagenómica, puede remitirse al artículo de Schabereiter-Gurtner *et al* (2001) quienes utilizaron ADNr 16S para identificar comunidades bacterianas en objetos artísticos, dicho artículo se basa en una explicación detallada del proceso de extracción del ADN a partir de colonizaciones de piezas delicadas, donde la cantidad de muestra que puede tomarse es mínima.

Algunas de las tecnologías ómicas o de tercera generación pueden ser costosas, es por ello que Piñar *et al* (2020) emplearon la tecnología del Nanopore, esta técnica de secuenciación lee los nucleótidos incorporados mientras el ADN pasa a través del nanoporo interno de 1 nm de diámetro. Esta tecnología requiere el uso de nanoporos de proteínas, incrustadas en

una membrana, sin embargo, no requiere ampliación por PCR o un marcaje químico previo, adicionalmente la tecnología ofrece un dispositivo MinION que permite los análisis *in situ* por un valor de 900 dólares. Los resultados obtenidos en este trabajo permitieron evidenciar una alta biodiversidad en cada una de las pinturas analizadas revelando diferencias entre superficies agrietadas y enmohecidas, complementariamente los investigadores fueron capaces de establecer el porcentaje de eucariotas, bacterias, arqueas y virus, presentes en cada pintura.

Es menester aclarar que las arqueas y los virus no causan biodeterioro en las superficies, la mención de estos organismos reafirma la sensibilidad del equipo MinION en la detección de huellas genéticas.

Los estudios ecológicos y ambientales, así como las diferentes metodologías de identificación (incluidas las ciencias ómicas) han permitido reconocer los principales mecanismos y agentes del biodeterioro. Sin embargo, se ha demostrado que, dentro de los consorcios microbiológicos causantes de deterioro en monumentos e inmuebles pétreos, no todos los organismos tienen los metabolitos necesarios para causar biodeterioro, adicionalmente se han encontrado discrepancias en los organismos detectados al usarse métodos dependientes e independientes de medios de cultivo, que a la vez están relacionados con el tipo de muestreo (López-Miras *et al.* 2013). Lo anterior fue demostrado por Szulc y colaboradores en el 2017, quienes querían comparar los perfiles metabólicos de seis cepas de hongos bajo condiciones modelo, en los medios de cultivo: MEA y CGB, y los perfiles metabólicos de una cepa individual y en consorcio. El análisis del metaboloma se realizó mediante espectrometría de masas basado en una placa AuNPET, los resultados con esta prueba demostraron que los hongos no producen la misma cantidad de metabolitos en los dos tipos de medios (algunos metabolitos estaban solo en CGB), así mismo, el metabolismo difirió si los hongos eran sembrados aisladamente o en consorcio.

Reconocer a los organismos, así como sus vías metabólicas, proteínas, metabolitos primarios y secundarios, etc, causantes del biodeterioro les permitirá a los investigadores formular mejores estrategias para proteger al patrimonio en piedra. Teniendo en cuenta lo anterior, a continuación se exponen algunas de las técnicas implementadas para controlar la colonización microbiológica, una vez que se conoce la identidad de los organismos involucrados.

TÉCNICAS DE CONTROL DE LA BIOCOLONIZACIÓN.

El principal método para controlar la colonización biológica es prevenir que suceda, es decir, prestar atención especial a las condiciones ambientales en las que se desarrolla el objeto (Sameño-Puerto. 2018). La prevención tiene como objetivo identificar, evaluar, detectar y controlar riesgos de deterioro para los diferentes objetos, pero sobre todo eliminar o minimizar los riesgos evitando el desgaste, la pérdida o la necesidad de invertir en costosos tratamientos (Herráez *et al.* 2017).

La prevención es viable cuando las estructuras se encuentran en recintos cerrados, donde las condiciones ambientales pueden controlarse, no obstante, muchas esculturas están en exteriores, por ello la Secretaría de cultura de México y el Instituto Nacional de Antropología

e Historia (2014) ha planteado dos acciones que pueden llevarse a cabo en estructuras pétreas de exteriores:

1. Acciones de mantenimiento preventivo, sin intervención de especialistas:
Desyerbar, podar el césped, evitar la acumulación de basura, podar las ramas de árboles adyacentes al inmueble, revisar y limpiar los sistemas de drenaje (naturales y artificiales), retirar la hojarasca, revisar los sistemas eléctricos/gas/agua, evitar la interacción con animales y elaborar una bitácora que contenga la historia constructiva del inmueble con los reportes de las obras realizadas en él.
2. Acciones de mantenimiento preventivo, que requieren la intervención de especialistas y el permiso de la autoridad: Impermeabilización de azoteas, retiro de las hierbas que crecen sobre los muros y cuyas raíces ya penetraron en la mampostería, cuando la estructura ya está afectada apuntalar mientras se define un plan de intervención, fumigación de objetos de madera, consolidación y reintegración de aplanados, consolidación de muros expuestos a la intemperie y tratamiento de oquedades, fisuras o grietas.

Las condiciones mencionadas anteriormente también se conocen como métodos indirectos de control, no obstante, hay situaciones en las que es necesario intervenir las estructuras, dadas sus condiciones de biodeterioro. La intervención se denomina “método directo de control” y hace referencia a la aplicación de un tratamiento que permita la erradicación de los organismos.

Vale la pena destacar que, previo a la intervención se deben considerar algunos aspectos: establecer si el deterioro es de origen biológico; determinar cuán oportuno es intervenir el monumento, ya que hay riesgos asociados a la intervención; se debe valorar el daño y cuantificarlo teniendo en cuenta las características ecológicas, fisiológicas, morfológicas y estructurales de las especies implicadas, y en base a ello plantear una metodología; determinar la duración del tratamiento; y las consecuencias del tratamiento a nivel ecosistémico y finalmente evaluar los riesgos para el bien cultural (Sameño-Puerto. 2018).

Las consideraciones mencionadas por Sameño-Puerto (2018), son tan solo algunos de los aspectos que se deben tener en cuenta a la hora de tomar una decisión relacionada a la intervención del patrimonio. Existen otros fundamentos igualmente válidos, cuya determinación dependerá del investigador y de la obra.

Gran parte de los métodos utilizados para erradicar la colonización sobre piedra tienen un origen químico los cuales se caracterizan por la agresividad de sus componentes, actualmente la conciencia ambiental ha posibilitado la implementación de métodos de control más amigables con el ambiente, como los extractos naturales con propiedades biocidas. La actividad antimicrobiana de algunas plantas se debe a la presencia de compuestos fenólicos, terpenos, alcoholes alifáticos, aldehídos, cetonas, etc, los cuales actúan como reguladores e intermediarios metabólicos, activadores y desbloqueadores de reacciones enzimáticas e incluso pueden alterar la estructura de las membranas. No obstante, se debe tener en cuenta que las respuestas antimicrobianas dependen del tipo de planta empleada y también del microorganismo (Gómez de Saravia *et al.* 2012).

Un ejemplo, es la limpieza de travertino, un tipo de piedra utilizada en los monumentos romanos, sobre la cual se han probado aceites con propiedades biocidas provenientes de la familia Lamiaceae (*Calamintha nepeta*, *Origanum vulgare*, *Thymus vulgaris*), cuyos efectos antibacterianos, antifúngicos y antioxidantes han sido demostrados en varios campos incluido la conservación del patrimonio cultural. Sin embargo, se ha de tener en cuenta que la efectividad de este tipo de biocidas está determinada por factores como: el área de crecimiento de las plantas, la parte de la planta empleada y el tiempo de cosecha (Genova *et al.* 2020). Otra de las características limitantes en el uso y aprovechamiento de los aceites, son el color, la solubilidad en agua, la alta volatilidad, la sensibilidad al oxígeno, a la luz o al calor (Romano *et al.* 2020) que podrían interactuar de manera negativa con los monumentos.

En un estudio realizado en Roma, Italia, por Bruno y colaboradores (2019), se evaluó la efectividad de dos extractos esenciales (*Lavandula angustifolia* y *Thymus vulgaris*) en tres diferentes concentraciones (10, 1 y 0.1) sobre biopelículas de microorganismos fotosintéticos. Los resultados mostraron liberación y degradación de pigmentos, directamente proporcional con las concentraciones utilizadas, se observó además, gran rapidez en la afectación de biopelículas, puesto que después de un minuto de la aplicación se evidenció una reducción del 82, 50 y el 45% del rendimiento de las biopelículas.

Con la concentración más alta el rendimiento se redujo rápidamente, dicha reducción fue más lenta en las dos concentraciones restantes. Los investigadores afirmaron que la emulsión tiene un período efectivo relativamente corto, sin embargo y debido a que hay pocos estudios relacionados al efecto de aceites esenciales sobre biofilms de microorganismos fotosintéticos el efecto no fue comparado.

Otra de las metodologías que se han desarrollado para la conservación del patrimonio es el uso de emulsiones de nanopartículas, las cuales aportan a los materiales protección y consolidación.

La plata es uno de los minerales más utilizados en nanopartículas, ya que ha demostrado un amplio efecto de actividad antimicrobiana, debido presuntamente, a la alteración de: la membrana celular, del ADN, de las proteínas celulares, del transporte de electrones, de la absorción de nutrientes, la oxidación de proteínas, del potencial de membrana, o la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), que conducen a la muerte celular (Barberia-Roque *et al.* 2019). Adicionalmente la plata se ha reconocido por su estabilidad físico-química, una baja toxicidad para las células humanas, amigable con el ambiente y se ha evidenciado que su efecto biocida no induce resistencia en los microorganismos (Carrillo-González *et al.* 2016).

Dentro de las últimas tecnologías empleadas para el control de biodeterioro y el deterioro es la nanoencapsulación de compuestos activos, esta técnica permite proteger los compuestos bioactivos de las condiciones ambientales desfavorables, mejorando también la compatibilidad del color, disminuyendo la volatilidad, aumentando la solubilidad y la estabilidad física (Romano *et al.* 2020), en síntesis esta tecnología engloba el uso de nanopartículas y de aceites naturales que se mencionó previamente.

Los materiales empleados como encapsuladores son generalmente goma arábica, maltodextrina, carbometilcelulosas y almidón. En Colombia se ha empleado el almidón de diferentes fuentes, que tras procedimientos micro tecnológicos son eficientes en la encapsulación de diferentes aceites esenciales. En el estudio en cuestión el almidón de ñame encapsuló esencia de tomillo, el cual tiene propiedades antibacterianas en cepas relacionadas con el acné (Matiz-Melo *et al.* 2015).

En la sección de “Organismos causantes de biodeterioro” se mencionó el deterioro de las estructuras pétreas sumergidas, para ese caso particular, en la Convención de la Protección del Patrimonio Submarino (2001), la UNESCO estableció que en la medida de lo posible la conservación de este tipo de acervos debe hacerse *in situ*, por ende los estudios que involucran conservación, primero se someten a un proceso de control del biodeterioro, que por lo general se basa en la eliminación de los agentes biodeteriorantes usando métodos físicos de remoción, sin embargo en años recientes se ha implementado la micro amoladora neumática (Bruno *et al.* 2015).

Como alternativa se han utilizado materiales nanoestructurados para prevenir la formación del fouling, las nanopartículas utilizadas regularmente son TiO₂, ZnO y Ag, estos materiales se dispersan en cera de siloxano (lacera facilita la aplicación bajo el agua). Las nanopartículas se han testeado en mármol y toba y los resultados demostraron inhibición del crecimiento biológico y buenas propiedades hidrofóbicas en ambos tipos de roca (Bruno *et al.* 2016). Otra de las medidas utilizadas para la erradicación del biofouling es el plasma no térmico a presión atmosférica (APNTP). De acuerdo a estudios realizados por Alkawareek *et al* (2014) los resultados son prometedores en ambientes marinos y no marinos en la eliminación de la bioincrustación o biofouling, sin embargo las fuentes de APNTP son pequeñas por lo que su aprovechamiento ha sido limitado.

Comparación de los métodos de control de la biocolonización.

A continuación en la Tabla 2, se muestran otras técnicas de control y prevención, con sus respectivas ventajas y desventajas manifestadas por cada autor, que le brindarán al interesado elementos para seleccionar un tratamiento para el control del biodeterioro. Debe tener en cuenta que los procedimientos mencionados no son utilizables sobre todos los sustratos, ya que, como se ha mencionado anteriormente, no todas las superficies ni sus historias son iguales.

Tabla 2. Métodos de control de biodeterioro, ventajas y desventajas.

Método de control.	Ventaja.	Desventaja.	Autor/ año/ Título.
--------------------	----------	-------------	------------------------

Iluminación artificial, mediante tecnología LED.	Disipación cromática; amplia gama de colores; alta durabilidad; programación sencilla; este método no perjudica el material lítico.	Su uso es exclusivo para cuevas o zonas que estén en permanente oscuridad.	Álvarez-Gómez <i>et al</i> (2016). Selección de sistemas de iluminación LEDs en cuevas basado en los espectros de acción de la fotosíntesis: reducción del biodeterioro de espeleotemas por biofilms de algas y cianobacterias
Sales de amonio en formulación con pintura.	Actualmente muchas obras de interés histórico tienen	Las pinturas son susceptibles al ataque	Belloti <i>et al</i> (2013). Evaluación de la actividad antifúngica
	pintura; actualmente estas pinturas tienen una base acuosa que limitan la emisión de compuestos orgánicos volátiles.	microbiológico dado que en su composición están presentes polímeros espesantes y celulósicos.	de una sal de amonio cuaternario para su aplicación en pinturas.
Radiación UV	Contrarresta el crecimiento de algas, hongos y bacterias. No tiene efectos adversos en el medio ambiente. Tiene un tiempo de acción largo.	Es peligroso para el usuario.	Pfendler <i>et al</i> (2018). Comparison of biocides, allelopathic substances and UV- C as treatments for biofilm proliferation on heritage monuments. Kakakhele <i>et al</i> (2019). Controlling biodeterioration of cultural

			heritage objects with biocides: A review.
Tratamientos aleloquímicos.	Tiene efectos eficaces y ecológicos para eliminar microalgas.	La eficiencia depende de la cepa algal; de la concentración de plomo en el lugar; del uso en sinergia con otros aleloquímicos. Podrían ser utilizadas en patrimonio peronohan sido empleados en biopelículassobreroca.	Pfendleret <i>al</i> (2018). Comparison of biocides, allelopathic substances and UV- C as treatments for biofilm proliferation on heritage monuments. Zuoet <i>al</i> (2016). Antialgal effects of five individual allelochemicals and their mixtures in low level pollution conditions
TiO2 como agente antimicrobiano.	Eficiente para prevenir la colonización microbiana; no es tóxico y es de bajo costo; la combinación con metales alcalino térreos permiten que tengan un espectro	Su aplicación está restringida a ciertas circunstancias (interiores), debido a que su actividad está restringida a una longitud de onda de la región UV.	La Russaet <i>al</i> (2014). Testing the antibacterial activity of doped TiO2 for preventing biodeterioration of cultural heritage building materials.

	catalítico más grande.		
--	------------------------	--	--

EVALUACIÓN DE LOS MÉTODOS DE CONTROL.

De acuerdo con de Rosario-Amado (2017), al evaluar un tratamiento se deben tener en cuenta tres aspectos: eficiencia del tratamiento; compatibilidad del tratamiento con el material y el ambiente que lo rodea; y resistencia del tratamiento a los agentes de alteración. Una de las metodologías empleadas para evaluar la eficiencia de los biocidas en líquenes (aunque puede extrapolarse a otros organismos fotosintéticos) es la medición de la fluorescencia de la clorofila a, en donde las emisiones incrementan de F0, cuando todos los centros de reacción del PSII están abiertos, hasta FM, cuando todos los centros de reacción están cerrados. Los resultados se deben expresar como FV=FM, indicando el campo cuántico máximo primario fotoquímico, y el PIABS, un indicador del desempeño fotosintético (Vannini *et al.* 2018).

Otro método para evaluar la efectividad de los protocolos de limpieza, es la espectrofotometría de color que desde 1990 se usa para evaluar *in situ* el crecimiento de microorganismos y eventualmente la efectividad y durabilidad de los tratamientos de protección (Pozo-Antonio *et al.* 2017). La espectrofotometría permite obtener curvas espectrales, resultado de la combinación de la absorción de radiación de cada una de las bandas de color del espectro de luz visible (Sánchez. 1999).

Cuando se trabaja con organismos heterótrofos, una de las metodologías empleadas, es el muestreo pre y post intervención, este tipo de muestreo lo empleó Guiamet *et al* (2009), para evaluar la eficiencia biocida del cloruro de benzalconio aplicada a monumentos pétreos, los resultados correspondientes a las UFC antes y después de la aplicación del biocida evidenciaron la actividad antimicrobiana del cloruro de benzalconio.

Li y colaboradores en 2019, evaluaron la efectividad de seis biocidas (Cloruro de benzalconio y su producto comercial ACTICIDE; octilina y su producto comercial AW-600; tebuconazole y tiabendazol) en el control de microorganismos aislados de los monumentos de Feilanfeng (China), en este caso particular, los investigadores determinaron la actividad antimicrobiana de cada uno de los biocidas, estableciendo el MIC (Concentración mínima inhibitoria) por medio de micro y macro dilución. Posteriormente utilizaron discos de papel embebidos en los respectivos biocidas, y los sembraron en medios con los microorganismos aislados, lo anterior les permitió comparar la eficiencia de los biocidas y con base a los resultados,

seleccionaron dos biocidas que serían evaluado *sin situ* (AW-600 y octilina). La aplicación de los biocidas *in situ*, se llevó a cabo humedeciendo un trozo de tela de 3 cm x 5 cm, con la solución de biocidas durante una hora, luego se dispuso sobre la superficie y una hora más tarde se removió del lugar. Posteriormente se tomaron muestras con algodón estéril (A los 1, 5, 10 y 30 días).

En la evaluación de los métodos del control de biodeterioro también se ha empleado las técnicas de microscopía óptica de barrido (SEM-BSE), ya que permite evaluar el efecto de los tratamientos en superficies colonizadas tanto por organismos fotosintéticos como heterótrofos, con este método es posible detectar relictos endolíticos de microhábitats, en donde los microorganismos puedan persistir después de los tratamientos, el uso de SEM-BSE permite estudiar los monumentos sin causar disrupción del material (de los Ríos *et al.* 2012).

Todas y cada una de las metodologías mencionadas son una recopilación de alternativas estudiadas en la literatura, siempre están sujetas a modificaciones de acuerdo con las expectativas y objetivos de cada uno de los estudios.

CONCLUSIONES Y REFLEXIONES DEL AUTOR.

De acuerdo con la información recopilada se concluye que los organismos preponderantes en una determinada estructura estarán determinados por las condiciones propias de la piedra y del ambiente en el que se desarrolla. Con respecto a las herramientas usadas en el estudio del biodeterioro, es posible afirmar que las técnicas ómicas y moleculares son las más utilizadas en la actualidad, debido a precisión en la identificación de microorganismos o sus derivados metabólicos. En relación con los métodos del control del biodeterioro, se determinó que existen numerosas metodologías cuya elección depende del grado de afectación de la superficie, de los organismos colonizadores y la pertinencia de intervención.

El tema abordado es muy amplio para abarcar todos los aspectos, sin embargo, la información consultada me permite mencionar los temas en los cuales hace falta mayor profundización. El primero es la bioprotección, ya que son pocos los artículos relacionados exclusivamente con el tema, la mayoría de las veces, se hace mención a la materia dentro de artículos sobre biodeterioro.

El segundo tema que necesitaría más investigación es el biodeterioro del patrimonio pétreo sumergido, ya que existe más literatura relacionada con el deterioro físico químico de estructuras de madera y metálicas, posiblemente debido a la cantidad de navíos sumergidos, por un lado y al interés comercial asociado a las estructuras metálicas, por el otro. Sumado a esto hay poca información relacionada con los tipos de roca que son más susceptibles a la biocolonización, en dichas condiciones.

Los estudios relacionados con los diferentes tiempos de recolonización en superficies de piedra que han recibido algún tipo de tratamiento de control de biodeterioro, también son escasos. Muchos de los estudios consultados exponen solo uno o dos tiempos de evaluación de la recolonización, pero considero que evaluar una mayor cantidad de tiempos le

permitirá a los científicos determinar no solamente la efectividad del producto como biocida a corto plazo, sino también el efecto del medio ambiente en la efectividad del procedimiento.

La cuarta consideración de este escrito, es señalar la falta de interdisciplinariedad de las publicaciones. La mayoría de ellas enfocadas solo en una rama de la investigación, olvidando que la información debe ser entendida por el colectivo interesado para que pueda llevarse a la práctica.

AGRADECIMIENTOS.

Tras un año fortuito e inesperado he finalizado este trabajo de grado satisfactoriamente, sin embargo no hubiese sido posible sin la dirección de la microbióloga María Camila Patiño (directora) y de la bióloga Maribeb Castro González (codirectora), quienes con paciencia guiaron y corrigieron cada paso de esta etapa. Agradezco también a la Universidad Militar Nueva Granada, cuyas bases informáticas fueron la base para la construcción de este escrito. Finalmente, pero no menos importante, a mi familia ya que sin ellos esta meta no hubiese sido posible.

REFERENCIAS.

1. Aloise, P., Ricca, M., Russa, M. F., Ruffolo, S. A., Belfiore, C. M., Padeletti, G., & Crisci, G. M. (2013). Diagnostic analysis of stone materials from underwater excavations: the case study of the Roman archaeological site of Baia(Naples, Italy). *Applied PhysicsA*,114(3), 655–662. <https://doi.org/10.1007/s00339-013-7890-1>
2. Abdel-Ghany, T. M., Omar,A.M., Elwkeel, F. M., Al Abboud, M. A., & Alawlaqi, M. M. (2019). Fungal deterioration of limestone false-door monument. *Heliyon*, 5(10), e02673. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02673>
3. Abdel-Haliem, M. E. F., Sakr,A.A.,Ali,M. F.,Ghaly,M. F., & Sohlenkamp, C. (2013). Characterization of *Streptomyces* isolates causing colour changes in mural paintings in ancient Egyptian tombs. *Microbiological Research*, 168(7), 428–437. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.02.004>
4. Adamson, C., McCabe, S., Warke, P. A., McAllister, D., & Smith, B. J. (2013).The influence of aspect on the biological colonization of stone in Northern Ireland. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 84, 357–366. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.05.023>
5. Alkawareek, M. Y., Gorman, S. P., Graham, W. G., & Gilmore, B. F. (2014). Eradication of marine biofilms by atmospheric pressure non-thermal plasma: A potential approach to control biofouling? *International Biodeterioration & Biodegradation*, 86, 14–18. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.05.030>
6. Álvarez-Gómez, F., del Rosal, Y., Gúzman, R., Mohamed, S., Merino, S., Hernández-Mariné, M., Korbee, N & Figueroa, F. L. (2016). Selección de sistemas de iluminación LEDs en Cuevas basado en los espectros de acción de la fotosíntesis: reducción del biodeterioro de espeleotemas por biofilms de algas y cianobacterias. *Cueva. VI Congreso español sobre Cuevas Turísticas . El Karst y el hombre: las cuevas como Patrimonio de la humanidad*. Editores: Bartolomé Andreo Navarro y Juan José Durán

Valsero. pp, 71-79. Edita Asociación Española de Cuevas Turísticas (ACTE), 528 p ISBN:978-84-617-4702-3.

7. Avendaño-Restrepo, C.A., Londoño-Echeverri, C.A & Vela-Rosero, M.A.(2007). Patologías por la humedad en los materiales para construcción. Scientia et Technica Año XIII, No 36. Universidad Tecnológica de Pereira. ISSN0122-1701.
8. Barberia-Roque, L., Gámez-Espinosa, E., Viera, M., & Bellotti, N. (2019). Assessment of three plant extracts to obtain silver nanoparticles as alternative additive to control biodeterioration of coatings. International Biodeterioration & Biodegradation, 141, 52–61. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2018.06.011>
9. Barberousse, H., Tell, G., Yéprémian, C., & Couté, A. (2006). Diversity of algae and cyanobacteria growing on building facades in France. Algological Studies/Archiv Für Hydrobiologie, Supplement Volumes, 120, 81–105. <https://doi.org/10.1127/1864-1318/2006/0120-0081>
10. Barón-Vélez, J., Cohen-Daza, D., Fernández-Reguera, M.O., Garcés-Mora, J. A y Saab-Monroy, F. (2011). Las ciencias experimentales como herramienta para la conservación de las murallas de Cartagena de Indias, Colombia. OCOCC Lisbon.
11. Beata, G. (2020). The use of -omics tools for assessing biodeterioration of cultural heritage: A review. Journal of Cultural Heritage, 45, 351–361. <https://doi.org/10.1016/j.culher.2020.03.006>
12. Bellotti, N., Bogdan, S., Deyá, M. C., Amo, D., & Romagnoli, R. (2013). Evaluación de la actividad antifúngica de una sal de amonio cuaternario para su aplicación en pinturas. Unlp.Edu.Ar. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/44483>
13. Brenes-Villatoro, M & Cuevas-Sarria, B. (2017). Aproximación al plan de conservación preventiva de la Colegiata de Osuna. Cuadernos de los Museos de los Amigos de Osuna, No. 19. ISSN 1697-1019. pp.184-189.
14. Bruno, F., Muzzupappa, M., Barbieri, L., Gallo, A., Ritacco, G., Lagudi, A., Guida, R. (2016). The CoMAS Project: New Materials and Tools for Improving the In situ Documentation, Restoration, and Conservation of Underwater Archaeological Remains. Marine Technology Society Journal, 50(4), 108–118. <https://doi.org/10.4031/mts.j.50.4.2>
15. Bruno, F., Muzzupappa, M., Gallo, A., Barbieri, L., Galati, D., Spadafora, F., ... Petriaggi, R. (2015). Electromechanical devices for supporting the restoration of underwater archaeological artefacts. OCEANS 2015 – Genova. <https://doi.org/10.1109/oceans-genova.2015.7271597>
16. Bruno, L., Rugnini, L., Spizzichino, V., Caneve, L., Canini, A., & Ellwood, N. T.W. (2019). Biodeterioration of Roman hypogea: the case study of the Catacombs of SS. Marcellino and Pietro (Rome, Italy). Annals of Microbiology, 69(10), 1023–1032. <https://doi.org/10.1007/s13213-019-01460-z>
17. Burford, E, P., Kierans, M & Gadd, G, M. (2003). Geomycology: Fungi in mineral substrata. Mycologist, Volume 17 , Part 3. © Cambridge University Press Printed in the United Kingdom. DOI:10.1017/S0269915X03003112.
18. Cámara, B., de Buergo, M. Á., Bethencourt, M., Fernández-Montblanc, T., La Russa, M. F., Ricca, M., & Fort, R. (2017). Biodeterioration of marble in an underwater environment. Science of The Total Environment, 609, 109–122.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.07.103>

19. Cámara, B., de los Ríos, A., García del Cura, M, A., Galván, V & Ascaso, C.(2008). Biorreceptividad de las dolomías a la colonización fúngica. *Materiales de Construcción* Vol. 58, 289-290, 113-124 enero-junio 2008 ISSN:0465-2746.
20. Carrillo-González, R., Martínez-Gómez, M. A., González-Chávez, Ma. del C. A., & Mendoza Hernández, J. C. (2016). Inhibition of microorganisms involved in deterioration of an archaeological site by silver nanoparticles produced by a green synthesis method. *Science of The Total Environment*, 565, 872–881.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.02.110>
21. Corzo-Acosta, J.A.(2018). Bacterias endolíticas cultivables en minerales (Cuarzo, Feldespato y Calcita) provenientes de muestreos geológicos en áreas de Villa de Leyva, Boyacá y Pescadero, Santander (Colombia). Tesis de investigación de maestría para optar por el título de: Máster en Ciencias-Geología. Facultad de Ciencias, Departamento de Geociencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá- Colombia.
22. Cruz-Biel,A.(2018).Balance de CO₂ asociada a la biorreceptividad de diferentes morteros. Trabajo de Máster de Ingeniería estructural y construcción.Departamento de Ingeniería Civil y Ambiental. UPH Barcelona tech.
23. Curt-Flemming, H. (1991). Biofouling in Water Treatment. In book: Biofouling and Biocorrosion in Industrial Water Systems. DOI:10.1007/978-3-642-76543-8_4
24. Cutler, N. A., Oliver,A.E., Viles, H. A.,Ahmad,S., & Whiteley,A.S. (2013). The characterisation of eukaryotic microbial communities on sandstone buildings Belfast, UK, using TRFLP and 454 pyrosequencing. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 82, 124–133. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.03.010>
25. de los Ríos, A., Pérez-Ortega, S., Wierzechos, J., & Ascaso, C. (2012). Differential effects of biocide treatments on saxicolous communities: Case study of the Segovia cathedral cloister (Spain). *International Biodeterioration & Biodegradation*, 67,64–72. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2011.10.010>
26. de Rosario-Amado, I. (2017). Eficacia de consolidantes e hidrofugantes de nueva síntesis en rocas graníticas: Optimización de métodos de evaluación. Tesis de doctorado. Universidad de Vigo.
27. de Turris, A., Ocando, L., de Romero, M, F & Fernández, M. (2013). ¿Pueden los microorganismos impactar los materiales de construcción? Una revisión. I.S.N.N. Nro. 1856-9560 / Volumen Nro.10.
28. Dhami, N. K.,Reddy,M. S., & Mukherjee,A.(2013). Biomineralization of calcium carbonates and their engineered applications: a review. *Frontiers in Microbiology*, 4. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00314>
29. Dick, J., De Windt, W., De Graef, B., Saveyn, H., Van der Meeren, P., DeBelie,N., & Verstraete,W.(2006). Bio-deposition of calcium carbonate layer on degraded limestone by *Bacillus* species. *Biodegradation*, 17(4), 357–367.
<https://doi.org/10.1007/s10532-005-9006-x>
30. Esbert, R, A., Montoto, M & Ordaz, J. (1991). La piedra como material de construcción: durabilidad, deterioro y conservación. *Materiales de construcción*, Vol. 41, n.º 221.

31. Francesco, M., Silvestro Antonio Ruffolo, Ricci, S., Davide, B., Donatella Barca, Michela Ricca & Capristo, V. (2013). A multidisciplinary approach for the study of underwater artefacts: the case of Tritone Barbato marble statue (Grotta Azzurra, Island of Capri, Naples). *Periodico di mineralogia*, 82(1).
<https://doi.org/10.2451/2013PM0006>
32. Gallego-Cartagena, E., Morillas, H., Maguregui, M., Patiño-Camelo, K., Marcaida, I., Morgado-Gamero, W., ... Madariaga, J. M. (2020). A comprehensive study of biofilms growing on the built heritage of a Caribbean industrial city in correlation with construction materials. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 147, 104874. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2019.104874>
33. Genova, C., Grottoli, A., Zoppis, E., Cencetti, C., Matricardi, P., & Favero, G. (2020). An integrated approach to the recovery of travertine biodegradation by combining phyto-cleaning with genomic characterization. *Microchemical Journal*, 156, 104918.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.104918>
34. Giúdice, C., Moya, S & Videla, H. (2002). *Jornadas Científicas Tecnológicas sobre Preservación y Protección del Patrimonio Cultural Iberoamericano del Biodeterioro Ambiental: memorias*. Editorial: Buro Grafic. ISBN 8469977466.
35. Gómez-Cornelio, S., Mendoza-Vega, J., Gaylarde, C. C., Reyes-Estebanez, M., Morón-Ríos, A., DelaRosa-García, S. C & Ortega-Morales, B. O. (2012). Succession of fungi colonizing porous and compact limestone exposed to subtropical environments. *Fungal Biology* 116 (2012) 1064-1072 <http://dx.doi.org/10.1016/j.funbio.2012.07.01>
36. Gómez-de Saravia, S., Borrego, S., Lavin, P., Valdés, O., Vivar, I., Battistoni, P & Guimet, P. (2012). Productos ambientalmente amigables de origen vegetal empleados en el control de microorganismos intervinientes en el biodeterioro del patrimonio cultural. *Acta 7mo Congreso de Medio Ambiente AUGM*.
<http://naturalis.fcnym.unlp.edu.ar/repositorio/documentos/sipcyt/bfa005006.pdf>
37. Gómez-Heras, M. (2005). *Procesos y formas de deterioro térmico en piedra natural del patrimonio arquitectónico*. Trabajo para optar al grado de Doctor. Departamento de Petrología y Geoquímica, Facultad de Ciencias Geológicas, Universidad Complutense de Madrid.
38. Gómez-Villalba, L. S. (s.a). *Nanopartículas para la conservación del patrimonio*. Recuperado de:
https://digital.csic.es/bitstream/10261/46811/1/Curso_Geomateriales_171_180.pdf
39. Guimet, P. S., Crespo, M., Lavin, P., Ponce, M. B & Gómez de Saravia, S. G. (2009). Estudio de biodeterioro pre y post intervención de esculturas funerarias integrantes del patrimonio del cementerio de la Recoleta. 1er. Congreso Iberoamericano y VIII Jornada "Técnicas de Restauración y Conservación del Patrimonio" 10 y 11 de Septiembre – La Plata, Buenos Aires, Argentina.
40. Gulotta, D., Villa, F., Cappitelli, F & Toniolo, L. (2018). Colonización de biopelículas de litotipos metamórficos de una catedral renacentista expuesta a la atmósfera

urbana. Science of The Total Environment. Volume 639, 15 October 2018, Pages 1480-1490. 15 October 2018, Pages 1480-1490.

41. Hasson, D. F., & Crowe, C.R. (Eds.). (1988). Marine Biofouling [Libro electrónico]. En Materials for marine systems and structures (Vol. 28, pp. 90-91). Academic Press, Inc.
<https://books.google.com.co/books?hl=es&lr=&id=DHAVBQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA89&dq=macrofouling+and+macrofouling+in+deterioration+of+stones&ots=ugJsP445Qt&sig=usEOuihGtWOTRD3JKxDg2VuWt8o#v=onepage&q&f=false>
42. Herráez, J, A., Durán, D & García-Martínez, E. (2017). Fundamentos de conservación preventiva. Departamento de Conservación Preventiva Área de Investigación y Formación Instituto del Patrimonio Cultural de España (IPCE).
43. Herrera, L. K., Arroyave, C., Guimet, P., de Saravia, S. G., & Videla, H. (2004). Biodeterioration of peridotite and other construction materials in building of the Colombian cultural heritage. International Biodeterioration & Biodegradation, 54(2– 3), 135–141. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2004.06.001>
44. Jayakumar, S., & Saravanane, R. (2009). Biodeterioration of coastal concrete structures by Macro algae - Chaetomorpha antennina. Materials Research, 12(4), 465– 472. <https://doi.org/10.1590/s1516-14392009000400015>
45. Junier, P., & Joseph, E. (2017). Microbial biotechnology approaches mitigating the deterioration of construction and heritage materials. Microbial Biotechnology, 10(5), 1145–1148. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12795>
46. Kakakhel, M. A., Wu, F., Gu, J.-D., Feng, H., Shah, K., & Wang, W. (2019). Controlling biodeterioration of cultural heritage objects with biocides: A Review. International Biodeterioration & Biodegradation, 143, 104721. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2019.104721>
47. Kotu, S. P., Mannan, M. S., & Jayaraman, A. (2019). Emerging molecular techniques for studying microbial community composition and function microbiologically influenced corrosion. International Biodeterioration & Biodegradation, 144, 104722. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2019.104722>
48. La Convención de 2001 | Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura. (s. f.). Patrimonio Cultural Subacuático. Recuperado de: <http://www.unesco.org/new/es/culture/themes/underwater-cultural-heritage/2001-convention/#:%7E:text=La%20Convenci%C3%B3n%20de%202001%20es,a%20cabo%20esa%20protecci%C3%B3n%20y>
49. La Russa, M. F., Macchia, A., Ruffolo, S. A., De Leo, F., Barberio, M., Barone, P., ... Urzì, C. (2014). Testing the antibacterial activity of doped TiO₂ for preventing biodeterioration of cultural heritage building materials. International Biodeterioration & Biodegradation, 96, 87–96. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.10.002>
50. Li, T., Hu, Y., & Zhang, B. (2020). Evaluation Efficiency of Six biocides against microorganisms commonly found on Feilaifeng Limestone, China. Journal of Cultural Heritage, 43, 45–50. <https://doi.org/10.1016/j.culher.2019.11.006>
51. Ljaljevic-Grbic, M., Vukojevic, J., Subakov-Simic, G., Krizmanic, J & Stupar, M. (2010).

- Biofilm forming cyanobacteria, algae and fungi on two historic monuments in Belgrade, Serbia. Arch. Biol. Sci., Belgrade, 62 (3), 625–631.
52. López-Miras, M. del M., Martín-Sánchez, I., Yebra-Rodríguez, Á., Romero-Noguera, J., Bolívar-Galiano, F., Ettenauer, J & Piñar, G. (2013). Contribution of the Microbial Communities Detected on an Oil Painting on Canvas to Its Biodeterioration. PLoS ONE, 8(11), e80198. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080198>
 53. Manso, S., De Muynck, W., Segura, I., Aguado, A., Steppe, K., Boon, N., & DeBelie, N. (2014). Bioreceptivity evaluation of cementitious materials designed to stimulate biological growth. Science of The Total Environment, 481, 232–241. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.02.059>
 54. Marquez-Costa, R. (2017). Aplicación de la técnica FISH en la detección de *Pseudomonas stutzeri* utilizada para tratamientos de biolimpieza en obras de arte. Trabajo final de grado en Biotecnología. Universidad Politécnica de Valencia, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural (ETSIAMN). Valencia-España.
 55. Matiz-Melo, G. E., Fuentes-López, K & León-Méndez, G. (2015). Microencapsulación de aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris*) en matrices poliméricas de almidón de ñame (*Dioscorea rotundata*) modificado. Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm., Vol. 44(2), págs 189-207.
 56. Matteucci, E., Scarcella, A.V., Croveri, P., Marengo, A., Borghi, A., Benelli, C., ... Favero-Longo, S. E. (2019). Lichens and other lithobionts on the carbonate rock surfaces of the heritage site of the tomb of Lazarus (Palestinian territories): diversity, biodeterioration, and control issues in a semi-arid environment. Annals of Microbiology, 69(10), 1033–1046. <https://doi.org/10.1007/s13213-019-01465-8>
 57. Miller, A.Z., Sanmartín, P., Pereira-Pardo, L., Dionísio, A., Saiz-Jimenez, C., Macedo, M. F., & Prieto, B. (2012). Bioreceptivity of building stones: A review. Science of The Total Environment, 426, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.03.026>
 58. Mingarro-Martín, F. (1996). Degradación y conservación del patrimonio arquitectónico. Recuperado de: <https://books.google.com.co/books?id=gdUzPqg2ViYC&pg=PA400&lpg=PA400&dq=g%C3%A9neros+de+algas+aislados+de+monumentos&source=bl&ots=hHimWAYx79&sig=ACfU3U2gb6OpUFBcQV26-U7X2oohrvSyLQ&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjU1IChutbmAhVPwlkKHWk4DQ8Q6AEwAHoECAkQAQ#v=onepage&q=g%C3%A9neros%20de%20algas%20aislados%20de%20monumentos&f=false>
 59. Mohammadi, P. & Maghbolli-Balasjin, N. (2014). Aislamiento e identificación molecular de hongos deteriorados de las piedras funerarias de Ciro el Grande. Revista iraní de microbiología, 6 (5), págs 361–370.
 60. Morillas, H., Maguregui, M., Gallego-Cartagena, E., Huallparimachi, G., Marcaida, I., Salcedo, I., ... Astete, F. (2019). Evaluation of the role of biocolonization in the conservation state of Machu Picchu (Peru): The Sacred Rock. Science of the Total Environment, 654, 1379–1388. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.299>
 61. Nandakumar, K., & Yano, T. (2003). Biofouling and Its Prevention: A

Comprehensive Overview. *Biocontrol Science*, 8(4), 133–144.

<https://doi.org/10.4265/bio.8.133>

62. Novelo, E., Tavera, R., & Vidal, G. (2011). Las algas en los sitios arqueológicos mayas, biología y conservación del patrimonio. *Ciencia*, 104, págs 26-35.
63. Ortega-Morales, O. (2006). Biopelículas microbianas asociadas a monumentos mayas en México y su papel en el deterioro. *Rev. Latinoam. Microbiol.* 48 págs 188-195.
64. Páramo-Aguilera, L.A., Narvaez-Zapata, J. A y Ortega-Morales, B. O. (2015). La bioprecipitación de carbonato de calcio por la biota nativa como un método de restauración. *Nexo Vol.28, No. 01, pp.25-40/Junio 2015*
DOI:<http://dx.doi.org/10.5377/nexo.v28i01.1779>
65. Parrado, M. F., Hladki, A., Biasuso, A.B., & Mirande, V. (2016). Identificación de los agentes causantes de biodeterioro en un monumento histórico (Tucumán, Argentina). *Lilloa*, 86–95. Recuperado de:
<http://www.lillo.org.ar/journals/index.php/lilloa/article/view/466>
66. Pfendler, S., Borderie, F., Boust, F., Alaoui-Sosse, L., Alaoui-Sosse, B., & Aleya, L. (2018). Comparison of biocides, allelopathic substances and UV-C as treatments for biofilm proliferation on heritage monuments. *Journal of Cultural Heritage*, 33, 117–124. <https://doi.org/10.1016/j.culher.2018.03.016>
67. Piñar, G., Poyntner, C., Lopandic, K., Tafer, H., & Sterflinger, K. (2020). Rapid diagnosis of biological colonization in cultural artefacts using the MinION nanopore sequencing technology. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 148, 104908. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2020.104908>
68. Pozo-Antonio, J. S., Montojo, C., López de Silanes, M. E., de Rosario, I., & Rivas, T. (2017). In situ evaluation by colour spectrophotometry of cleaning and protective treatments in granitic Cultural Heritage. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 123, 251–261. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.07.004>
69. Puy-Alquiza, M. J. Gómez-Peralta, M., Miranda-Avilés, R., Reyes-Zamudio, V., Salazar-Hernández, Ma. del C., & Ordaz Zubia, V. Y. (2015). El rol de las comunidades de líquenes en el deterioro superficial de su substrato rocoso: estudio de interfase líquen-roca en dos monumentos históricos de la ciudad de Guanajuato, México. *Acta Universitaria*, 25(4), 35–47. <https://doi.org/10.15174/au.2015.781>
70. Ramírez-Vázquez, M. (2012). Biodeterioro algal en monumentos históricos mayas de la zona tropical húmeda: Palenque, Yaxchilán y Bonampak (Chiapas, México). Tesis doctoral. Departamento de Fisiología vegetal y Productos naturales de la Universitat de Barcelona.
71. Reyes, L & Valderrama, L. (2013). Biodeterioro del patrimonio cultural: El sorprendente apetito de algunos organismos por el arte y la historia. Hipótesis, Apuntes científicos uniandinos, núm.15, noviembre del 2013. Universidad de los Andes, Facultad de Ciencias.
72. Rodríguez, A.R., & Balibrea, L. M. T. (2008). Tríadas. Nuevas Lecturas en Ciencia y Tecnología. Netbiblo.
73. Romano, I., Granata, G., Poli, A., Finore, I., Napoli, E., & Geraci, C. (2020). Inhibition of bacterial growth on marble stone of the 18th century by treatment of

- nanoencapsulated essential oils. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 148, 104909. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2020.104909>
74. Saheb, M., Chabas, A., Mertz, J.-D., Colas, E., Rozenbaum, O., Sizun, J.-P., ... Verney-Carron, A. (2016). Weathering of limestone after several decades in an urban environment. *Corrosion Science*, 111, 742–752. <https://doi.org/10.1016/j.corsci.2016.06.015>
 75. Sáiz-Jiménez, C & Ariño, X. (1995). Colonización biológica y deterioro de morteros por organismos fotótrofos. *Materiales de construcción*, Vol 45. no, 240. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. <http://dx.doi.org/10.3989/mc.1995.v45.i240>
 76. Salvadori, O & Municchia, A. C. (2016). The Role of Fungi and Lichens in the Biodeterioration of Stone Monuments. Publisher Id: TOPROJ-7-2-39. DOI: 10.2174/2210289201607020039
 77. Sameño-Puerto, M. (2018). El biodeterioro en edificios del patrimonio cultural. Metodología de evaluación de tratamientos biocidas. Tesis Doctoral. Dpto. Ingeniería Química y Ambiental. Escuela Técnica Superior de Ingeniería (US). Instituto Andaluz del Patrimonio Histórico (IAPH). Junta de Andalucía.
 78. Sánchez, F. (1999). La espectrofotometría UV-VIS aplicada al estudio del color y estabilidad en morteros coloreados. *Materiales de Construcción*. Vol. 49, 254.
 79. Schabereiter-Gurtner, C., Piñar, G., Lubitz, W., & Rölleke, S. (2001). An advanced molecular strategy to identify bacterial communities on art objects. *Journal of Microbiological Methods*, 45(2), 77–87. [https://doi.org/10.1016/S0167-7012\(01\)00227-5](https://doi.org/10.1016/S0167-7012(01)00227-5)
 80. Scheerer, S., Ortega-Morales, O., & Gaylarde, C. (2009). Chapter 5 Microbial Deterioration of Stone Monuments—An Updated Overview. *Advances in Applied Microbiology*, 97–139. [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(08\)00805-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(08)00805-8)
 81. Secretaría de Cultura de México e Instituto Nacional de Antropología e Historia. (2014). Conservación preventiva para todos. Recuperado de: <https://restauracionpatrimonio.cultura.gob.mx/assets/uploads/publicaciones/conservacion-preventiva.pdf>
 82. Soffritti, I., D'Accolti, M., Lanzoni, L., Volta, A., Bisi, M., Mazzacane, S & Caselli, E. (2019). The Potential Use of Microorganisms as Restorative Agents: An Update. Review. *Sustainability* 2019, 11, 3853; DOI:10.3390/su11143853.
 83. Sterflinger, K., & Piñar, G. (2013). Microbial deterioration of cultural heritage and works of art — tilting at windmills? *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(22), 9637–9646. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5283-1>
 84. Szulc, J., Ruman, T., & Gutarowska, B. (2017). Metabolome profiles moulds on carton-gypsum board and malt extract agar medium obtained using an AuNPET SALDI-ToF-MS method. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 125, 13–23. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.08.002>
 85. Tatis-Castro, R. D & Barbosa-López, A. L. (2012). Enfoque químico del deterioro y biodeterioro de rocas calcáreas conformantes de monumentos patrimoniales de importancia histórica y patrimonial. *Luna Azul* ISSN 1909-2474.
 86. Tomaselli, L., Lamenti, G., Bosco, M., & Tiano, P. (2000). Biodiversity Of

Photosynthetic microorganisms dwelling on stone monuments. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 46(3), 251–258.

[https://doi.org/10.1016/s0964-8305\(00\)00078-0](https://doi.org/10.1016/s0964-8305(00)00078-0)

87. Trovão, J., Portugal, A., Soares, F., Paiva, D., S., Mesquita, N., Coelho, C., ...Tiago, I. (2019). Fungal diversity and distribution across distinct biodeterioration phenomena in limestone walls of the old cathedral of Coimbra, UNESCO World Heritage Site. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 142, 91–102. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2019.05.008>
88. Vannini, A., Contardo, T., Paoli, L., Scattoni, M., Favero-Longo, S. E., & Loppi, S. (2018). Application of commercial biocides to lichens: Does a physiological recovery occur over time? *International Biodeterioration & Biodegradation*, 129, 189–194. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2018.02.010>
89. Villalba-Corredor, L. (2009). Evaluación y selección de biocidas para el control del biodeterioro de la fuente de Lavapatas parque arqueológico de San Agustín-Huila. Instituto Colombiano de Antropología e Historia (ICANH). Recuperado de: https://www.icanh.gov.co/recursos_user//ICANH%20PORTAL/SUBDIRECCI%C3%93N%20CIENT%C3%8DFICA/PATRIMONIO/4.%20parques%20arqueol%C3%B3gicos/Conservacion%20parques/evaluacion%20de%20biocidas%20para%20lavapatas.pdf
90. Villalba-Corredor, L. E y Malagón-Forero, A. (2011). Biodeterioro de la fuente de Lavapatas, parque arqueológico de San Agustín-Huila. Colombia. *Ge-conservación* n.º 2 ~ 2011 pp. 65-80 ISSN:1989-8568.
91. Warscheid, Th., & Braams, J. (2000). Biodeterioration of stone: a review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 46(4), 343–368. [https://doi.org/10.1016/s0964-8305\(00\)00109-8](https://doi.org/10.1016/s0964-8305(00)00109-8)
92. Wei, S., Jiang, Z., Liu, H., Zhou, D., & Sanchez-Silva, M. (2013). Microbiologically induced deterioration of concrete: a review. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(4), 1001–1007. <https://doi.org/10.1590/s1517-83822014005000006>
93. Zhang, W., Culley, D. E., Nie, L., & Scholten, J. C. M. (2007). Comparative transcriptome analysis of *Desulfovibrio vulgaris* grown in planktonic culture and mature biofilm on a steel surface. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 76(2), 447–457. <https://doi.org/10.1007/s00253-007-1014-9>
94. Zuo, S., Zhou, S., Ye, L., Ding, Y., & Jiang, X. (2016). Antialgal effects of five individual allelochemicals and their mixtures in low level pollution conditions. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(15), 15703–15711. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6770-6>