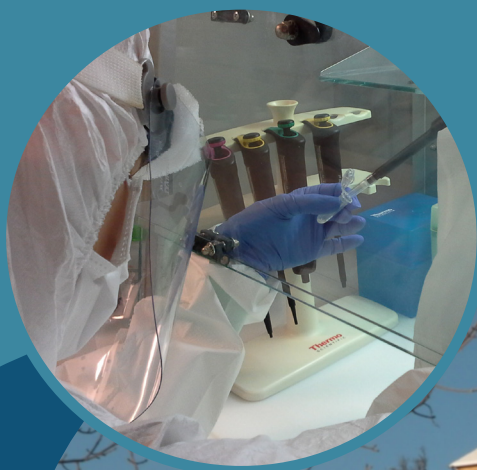


Le Mummie di Roccapelago

Un progetto pilota di ricerca interdisciplinare
tra archeologia, antropologia,
storia e scienze applicate



Le Mummie di Roccapelago

Un progetto pilota di ricerca interdisciplinare tra archeologia, antropologia, storia e scienze applicate

a cura di Elisabetta Cilli, Mirko Traversari

© 2020

Coordinamento editoriale

Fiamma Lenzi

Progetto grafico

Monica Chili

Stampato nel mese di maggio 2020

dal Centro Stampa Regione Emilia-Romagna (Bologna)

In copertina:

Veduta invernale della chiesa di Roccapelago edificata nel XVI secolo sui resti dell'antica rocca medievale; operazioni di campionamento all'interno della cripta sepolcrale della chiesa di Roccapelago; attività di analisi all'interno del Laboratorio del DNA antico nel Dipartimento di Beni Culturali dall'Università di Bologna (Campus di Ravenna).

IBC

Via Galliera, 21 40121 Bologna

Tel. 0039 051 527 6600

Fax 0039 051 232599

www.ibc.regione.emilia-romagna.it

Questo volume raccoglie le relazioni scientifiche di due convegni:

Le Mummie di Roccapelago: archeologia, antropologia e scienze applicate a confronto (Modena, 15 febbraio 2014) e *Le Mummie di Roccapelago 3.0: la rinascita degli antichi abitanti attraverso cinque anni di studi* (Ravenna, 24 marzo 2017).

ISBN 9788897281962

Le Mummie di Roccapelago

Un progetto pilota di ricerca interdisciplinare
tra archeologia, antropologia,
storia e scienze applicate

a cura di

Elisabetta Cilli
Mirko Traversari

Indice

Presentazione..... 9
Roberto Balzani

Lo studio delle mummie di Roccapelago: un modello di ricerca interdisciplinare 11
Giorgio Gruppioni, Donato Labate

Parte prima

Le Mummie di Roccapelago: archeologia, antropologia e scienze applicate a confronto

Convegno a cura di Donato Labate, Giorgio Gruppioni, Mirko Traversari

Modena, 15 febbraio 2014

Palazzo dei Musei, Musei Civici - Sala Crespellani

Il Museo di Roccapelago. Percorsi virtuali nella storia di una comunità dell'Appennino modenese 19
Antonino Vazzana, Simone Zambruno, Marco Orlandi

Roccapelago: una comunità appenninica tra Ducato estense e Repubblica di Lucca 26
Raffaele Savigni

Tracce di mais dalla cripta: testimonianze polliniche e paleonutrizionali 38
Giovanna Bosi, Federico Lugli, Paola Torri, Rossella Rinaldi, Marta Bandini Mazzanti

Monsampolo del Tronto e Roccapelago: due piccole comunità e le loro vesti fra XVI e XIX secolo..... 43
Valeria David

Abiti e sudari delle mummie di Roccapelago ed altre esperienze di recupero di abiti da sepolture 47
Annalisa Biselli, Ivana Micheletti

Un protocollo unificato per tessili e abiti provenienti da sepolture 61
Thessy Schoenholzer Nichols

Le mummie di Roccapelago: ricostruzione delle attività occupazionali in una piccola comunità dall'alto Appennino modenese del XVIII secolo attraverso gli indicatori scheletrici di carico biomeccanico e con l'ausilio di tecnologie virtuali 3D..... 71
Mirko Traversari, Caterina Minghetti, Vania Milani, Mélanie A. Frelat, Colin N. Shaw,
Giorgio Gruppioni

Studio dei resti ossei infantili rinvenuti nella cripta della chiesa di Roccapelago..... 83
Giulio Cosseddu, Maria Catena Merlo, Mélanie Agnes Frelat

<i>Il DNA delle mummie di Roccapelago: risultati preliminari</i>	92
Elisabetta Cilli, Alessio Zedde, Patrizia Serventi, Sara De Fanti, Andrea Quagliariello, Stefania Sarno, Giulia Graffi, Monica Mosconi, Mirko Traversari, Donata Luiselli, Giorgio Gruppioni	
<i>Nuove risultanze delle analisi paleonutrizionali sulle mummie di Roccapelago</i>	99
Massimo Andretta, Darinn Cam, Giancarlo Righetti	
<i>I resti umani di Roccapelago: analisi istologiche dei tessuti mummificati per la diagnostica paleopatologica e la conservazione dei reperti</i>	106
Ezio Fulcheri, Giulia Mari, Jessica Marcato, Giorgio Gruppioni, Rosa Boano	
<i>Analisi dei tessuti cutaneo e osseo delle mummie di Roccapelago mediante spettrofotometria infrarossa a trasformata di Fourier</i>	118
Maria Grazia Bridelli, Chiaramaria Stani, Roberta Bedotti, Mara Bertolotti, Raffaella Tomasini, Mirko Traversari	
<i>Programma del convegno</i>	128

Parte seconda

Le Mummie di Roccapelago 3.0: la rinascita degli antichi abitanti attraverso cinque anni di studi

Convegno a cura di Stefano Benazzi, Elisabetta Cilli, Giorgio Gruppioni, Mirko Traversari
Ravenna, 24 marzo 2017

Università di Bologna - Campus di Ravenna, Dipartimento di Beni Culturali, Sala Conferenze

<i>Mortalità infantile a Roccapelago: tra analisi antropologiche e archivi storici</i>	133
Carla Figus, Giorgio Gruppioni, Mirko Traversari	
<i>Nozze a Roccapelago, tra endogamia, esogamia ed isonimia</i>	140
Mirko Traversari	
<i>Paleogenetica e paleodemografia degli antichi abitanti di Roccapelago</i>	149
Elisabetta Cilli, Mirko Traversari, Sara De Fanti, Patrizia Serventi, Stefania Sarno, Andrea Quagliariello, Chiara Panicucci, Marta Maria Ciucani, Gianmarco Ferri, Donata Luiselli, Giorgio Gruppioni	
<i>Dieta e pratiche di foraggiamento a Roccapelago: analisi degli isotopi stabili e degli elementi in traccia</i>	158
Federico Lugli	
<i>Variabilità del microbiota e dieta nelle mummie di Roccapelago</i>	163
Elisabetta Cilli, Donata Luiselli, Mirko Traversari, Andrea Quagliariello, Federico Lugli, Patrizia Serventi, Maria Francesca Viola, Lorenzo Pavarini, Sara De Fanti, Anna Cipriani, Carlotta De Filippo, Giorgio Gruppioni	

<i>“Resistere al tempo”: analisi fisico-chimiche sui tessuti biologici delle mummie di Roccapelago</i>	171
Maria Grazia Bridelli, Chiaramaria Stani, Victor Erokin, Mirko Traversari	
<i>Indagine morfologica e molecolare sui reperti entomologici di Roccapelago</i>	182
Stefano Vanin, Sara Bortolini, Giorgia Giordani, Fabiola Tuccia	
<i>Uso e riuso di un indumento: l'esempio di alcune camicie recuperate nel contesto funerario di Roccapelago</i>	188
Thessy Schoenholzer Nichols	
<i>Programma del convegno</i>	195

Elisabetta Cilli*, Donata Luiselli***, Mirko Traversari*, Andrea Quagliariello**,
Federico Lugli***, Patrizia Serventi***, Maria Francesca Viola**, Lorenzo Pavarini****,
Sara De Fanti**, Anna Cipriani***, Carlotta De Filippo****, Giorgio Gruppioni*

Variabilità del microbiota e dieta nelle mummie di Roccapelago

Introduzione

Le mummie di Roccapelago (MO) rappresentano un eccezionale ritrovamento archeologico, sia perché costituiscono un raro esempio di preservazione naturale dei membri di un'intera comunità montana di umile estrazione, vissuti in un arco temporale di circa due secoli, sia a motivo dell'eccezionale stato di conservazione degli inumati¹. Lo scavo archeologico nella cripta della Chiesa della Conversione di S. Paolo Apostolo a Roccapelago ha infatti permesso di recuperare i resti di oltre 400 individui, di cui circa 60 almeno parzialmente mummificati. La datazione dei reperti, effettuata sulla base della cultura materiale e dei registri parrocchiali, è stata circoscritta ad un arco temporale compreso tra la fine del XVI e la fine del XVIII secolo². Il processo di mummificazione che ha interessato una parte degli inumati è da attribuire plausibilmente alle peculiari condizioni microclimatiche della cripta, caratterizzate dall'aria secca e dalla particolare ventilazione, assicurata da due

piccole finestre aperte sulla vallata³. Le analisi preliminari sullo stato di conservazione dei tessuti molli mummificati, condotte mediante Spettroscopia Infrarossa in Trasformata di Fourier (FTIR) e Microscopia Elettronica a Scansione (SEM), hanno evidenziato, in generale, una buona conservazione delle strutture anatomiche e parziali alterazioni dei tessuti, preservati dalle condizioni chimico-fisiche dell'ambiente di deposizione⁴. Le analisi antropologiche e paleopatologiche eseguite sui medesimi reperti hanno rivelato aspetti interessanti relativi alle caratteristiche fisiche e alle condizioni di vita e di salute dell'antica popolazione di Roccapelago, tra cui la notevole longevità di numerosi suoi membri, nonché il parziale isolamento geografico che ha caratterizzato la storia di questa comunità⁵. Le peculiari condizioni di conservazione di una parte delle mummie di Roccapelago hanno permesso di effettuare l'analisi molecolare del microbiota umano, cioè delle comunità di microrganismi presenti in diversi tessuti di alcuni individui vissuti tra il XVI e il XVIII secolo.

* Dipartimento di Beni Culturali, Laboratorio del DNA antico (aDNA Lab), Università di Bologna, Campus di Ravenna.

** Laboratorio di Antropologia Molecolare e Centre for Genome Biology, Dipartimento di Scienze Biologiche, Geologiche e Ambientali, Università di Bologna, Bologna, Italia.

*** Dipartimento di Scienze Chimiche e Geologiche, Università di Modena e Reggio Emilia.

**** Istituto di Biologia e Biotecnologia Agraria, CNR, Pisa.

1 GRUPPIONI *et al.* 2011.

2 BIVIANO *et al.* 2016; TRAVERSARI *et al.* 2016.

3 Vedi nota 1.

4 BRIDELLI *et al.* 2016.

5 CILLI *et al.* 2015.

Il corpo umano è costituito infatti dalle proprie cellule somatiche, il cui numero è stato stimato intorno a $3,7 \times 10^{13}$ cellule⁶, ma ospita anche sulla superficie cutanea, nel tubo digerente e in altri organi una grande varietà di cellule microbiche che costituiscono nell'insieme il cosiddetto microbiota umano. Fino a qualche tempo fa si stimava che il rapporto tra cellule microbiche e cellule umane fosse di 10:1 o addirittura di 100:1, ma, secondo una ricerca recente, si è calcolato che esso sia approssimativamente di 1:1⁷. Il termine microbiota è stato introdotto per la prima volta nel 2001⁸ per indicare l'insieme dei microrganismi presenti in un determinato ambiente, come appunto il corpo umano⁹, dove essi vivono in stretto e mutualistico rapporto. I microrganismi che costituiscono il microbiota umano, sono dotati di un'immensa diversità genetica e interagiscono direttamente con il metabolismo e le funzioni biologiche dell'uomo con profonde implicazioni per la salute e per lo sviluppo delle malattie¹⁰. In particolare il microbiota svolge un ruolo cruciale nella biologia umana, avendo funzioni chiave nella digestione, nello sviluppo e nell'immunità, con ripercussioni anche sul comportamento e sull'umore, oltre che in una serie di malattie acute e croniche¹¹.

Nel corso dell'evoluzione umana, le differenze nei tipi di risorse alimentari disponibili, insieme ai cambiamenti nelle pratiche culturali, in particolare conseguenti all'introduzione dell'agricol-

tura, hanno comportato variazioni nella dieta nel tempo e fra le diverse popolazioni umane, a cui si sono aggiunti, in tempi più recenti, gli effetti dovuti all'industrializzazione, all'introduzione di pratiche di sanificazione e all'uso di farmaci, in particolare degli antibiotici¹². A questo riguardo, recentemente, è stato ipotizzato che la microflora intestinale negli uomini delle società industrializzate non si trovi in condizioni di equilibrio ecologico (disbiosi) e si è anche postulata una possibile relazione tra la composizione della microflora intestinale e l'elevata incidenza delle cosiddette malattie della civiltà (es. diabete, allergie, obesità, asma, malattie infiammatorie intestinali e cancro del colon-retto)¹³. Tuttavia si sa ancora molto poco sul cosiddetto microbiota intestinale ancestrale, cioè quello di individui vissuti nel passato più o meno remoto, su come si è modificata la sua composizione nel tempo e sul processo di co-evoluzione che esso ha avuto con l'ospite. Per poter rispondere a questi interrogativi, risulta di fondamentale importanza, da un lato, lo studio del microbiota intestinale nelle popolazioni moderne che vivono in ambienti rurali non industrializzati¹⁴ o che praticano regimi alimentari basati sulla caccia-raccolta (ad esempio il popolo Hazda della Tanzania¹⁵), e dall'altro, l'esame del microbiota in popolazioni del passato, mediante l'analisi del DNA antico (aDNA), che fornisce un'opportunità unica per

⁶ BIANCONI *et al.* 2013.

⁷ SENDER *et al.* 2016.

⁸ LEDERBERG, MCCRAY 2001.

⁹ MARCHESI, RAVEL 2015.

¹⁰ QIN *et al.* 2010; LI *et al.* 2014.

¹¹ WANG *et al.* 2017.

¹² CORDAIN *et al.* 2005.

¹³ CARDING *et al.* 2015.

¹⁴ DE FILIPPO *et al.* 2010.

¹⁵ SCHNORR *et al.* 2014.

far luce sulla sua composizione ancestrale e per ricostruirne i processi co-evolutivi.

Fino ad ora è stata dimostrata la possibilità di ricostruire il microbiota intestinale di individui appartenenti a popolazioni del passato a partire dall'esame dei coproliti¹⁶, mentre l'analisi del microbiota da tessuti intestinali mummificati ha prodotto risultati incerti e limitati¹⁷. Infatti negli studi pubblicati, la maggior parte (68,3%-96,2%) delle sequenze di DNA recuperate da tessuti intestinali antichi, sono risultate attribuibili a specie batteriche del genere *Clostridium*, a causa della contaminazione da parte del suolo, dei processi di decomposizione o della diversa persistenza nel tempo del DNA dei differenti batteri¹⁸.

Nel presente lavoro vengono presentati i risultati preliminari dell'analisi del microbiota condotta su campioni di tessuto intestinale prelevati da 10 mummie, fra le meglio conservate, provenienti da Roccapelago. L'analisi del DNA è stata eseguita tramite sequenziamento massivo della regione V3 del gene 16S rRNA e ha avuto lo scopo di fornire un contributo alla ricostruzione del microbiota intestinale ancestrale prima dell'introduzione degli antibiotici e della dieta moderna. Per i necessari confronti, nei medesimi individui è stata ricostruita la paleodieta mediante l'analisi nel tessuto osseo degli isotopi stabili del carbonio e dell'azoto ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$)¹⁹.

Più specificamente, gli obiettivi del presente studio sono stati: 1) testare la possibilità di recuperare dati sulla composizione del microbiota intestinale da campioni mummificati; 2) *set up* di un protocollo mirato di analisi (estrazione del DNA antico, amplificazione di una regione del gene

16S rRNA e sequenziamento NGS (*Next Generation Sequencing*); 3) screening del microbiota intestinale in un campione di individui della comunità antica di Roccapelago; 4) evidenziare la possibile correlazione fra la composizione del microbiota intestinale e la dieta, dedotta dall'analisi degli isotopi.

Per consentire i necessari confronti, volti a monitorare sia il livello dei processi di decomposizione dei tessuti stessi, sia l'effetto della contaminazione da parte dell'ambiente circostante, è stato eseguito in parallelo anche l'esame del microbiota presente nel tessuto muscolare e cutaneo, nonché quello presente su frammenti di vestiti e su campioni di terreno repertati nella cripta.

Poiché l'analisi e la elaborazione dei dati ottenuti sono ancora in corso, vengono qui presentati i risultati parziali e preliminari finora conseguiti.

Materiali e metodi

Il design del campionamento è stato predisposto in modo da includere, oltre ai campioni intestinali, anche altri tipi di tessuti umani, nonché frammenti di vestiti e campioni di terreno repertati nella cripta. In totale sono stati prelevati ed analizzati 10 campioni di tessuto intestinale, 10 di pelle e 10 di muscolo prelevati da ciascuna delle mummie, nonché 2 frammenti tessili provenienti dal vestiario delle stesse mummie e 2 campioni di suolo prelevati dalla cripta. Inoltre, per l'analisi della paleodieta, sono stati raccolti 10 campioni di tessuto osseo compatto prelevati dalle diafisi femorali dei medesimi inumati.

¹⁶ TITO *et al.* 2008, 2012; SANTIAGO-RODRIGUEZ *et al.* 2013, 2015; APPELT *et al.* 2014; CANO *et al.* 2014.

¹⁷ UBALDI *et al.* 1998; ROLLO, MAROTA 1999; ROLLO *et al.* 2000, 2006; CANO *et al.* 2000; SANTIAGO-RODRIGUEZ *et al.* 2015.

¹⁸ WILLERSLEV *et al.* 2004.

¹⁹ SCHWARCZ, SCHOENINGER 2012.

L'analisi del DNA in reperti antichi presenta problematiche connesse principalmente con lo stato di conservazione del materiale genetico che consistono, in particolare, nella degradazione e nella ridotta concentrazione di DNA endogeno e nella possibile contaminazione da DNA esogeno²⁰. Per questi motivi le analisi devono essere eseguite in laboratori appositamente attrezzati ed esclusivamente dedicati alla manipolazione di DNA degradato secondo rigorose procedure all'uopo stabilite. Le prime fasi di analisi dei tessuti intestinali prelevati dalle mummie, che consistono nella decontaminazione e preparazione dei campioni, nell'estrazione del DNA e nella preparazione delle reazioni di amplificazione, sono state effettuate presso il Laboratorio del DNA antico del Dipartimento di Beni Culturali dell'Università di Bologna (Campus di Ravenna), nelle aree di lavoro esclusivamente dedicate all'analisi del DNA antico (*clean-lab*) e in condizioni di elevata sterilità, secondo i rigorosi standard previsti in questo settore di ricerca²¹. I ricercatori che operano in questi laboratori indossano apposite tute con copricapo, sovramaniche, stivali, guanti, mascherina e visiera, al fine di evitare contaminazioni da DNA moderno. In ogni fase di lavoro vengono utilizzati materiali sterili, reagenti DNA-free, puntali con filtro ed inoltre il piano di lavoro e gli strumenti vengono regolarmente sterilizzati. Vengono inoltre analizzati in parallelo controlli negativi (provette che contengono solo i reagenti utilizzati nelle varie fasi di analisi, ma non i materiali biologici o il DNA) sia nelle

fasi di estrazione che di amplificazione, al fine di monitorare eventuali contaminazioni.

I campioni sono stati decontaminati tramite l'esposizione a raggi UVC e l'estrazione del DNA è stata effettuata tramite specifiche colonnine con membrana di silice che permette di legare gli acidi nucleici alla propria matrice, utilizzando un protocollo ottimizzato per questa particolare applicazione, partendo da un metodo pubblicato in letteratura²².

Le reazioni di amplificazione del DNA (*polimerase chain reaction* o PCR) sono state effettuate in triplicato, in un laboratorio post-PCR, localizzato lontano dalla zona del clean-lab, al fine di evitare contaminazioni. Il sequenziamento dei prodotti dell'amplificazione è avvenuto su piattaforma 454 Life Sciences Genome Sequencer FLX instrument (Roche).

Le reads ottenute dal sequenziamento sono state processate attraverso la pipeline MICCA²³. Le analisi sono state effettuate tramite software, algoritmi e pacchetti dedicati (es. R, PICRUST, LefSe)²⁴.

Ai fini della ricostruzione della paleodieta sono stati analizzati gli isotopi stabili del carbonio e dell'azoto ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$) su campioni di osso compatto (150-200 mg) prelevati dai resti scheletrici. L'analisi è stata effettuata sulla porzione organica dell'osso (collagene) dopo aver separato quest'ultima dalla frazione minerale del reperto osteologico. L'estrazione del collagene è stata eseguita secondo le metodiche standardizzate in uso per questo tipo di ricerca²⁵. I campioni sono stati quindi analizzati tramite un analizzatore

²⁰ DABNEY *et al.* 2013.

²¹ COOPER, POINAR 2000; FULTON 2012; KNAPP *et al.* 2011, 2015.

²² DABNEY *et al.* 2013.

²³ ALBANESE *et al.* 2015.

²⁴ R CORE TEAM 2013; LANGILLE *et al.* 2013; SEGATA *et al.* 2011.

²⁵ LUGLI *et al.* 2017.

elementale (Carlo Erba EA1110 CHN) accoppiato ad uno spettrometro di massa Finnigan Delta S, presso il laboratorio di Geochimica Isotopica dell'Università di Parma²⁶.

Risultati

È stato possibile estrarre e amplificare DNA da tutti i campioni esaminati e i controlli di estrazione e di amplificazione sono risultati negativi in tutte le fasi di analisi, confermando l'elevato livello di sterilità dei locali, delle procedure e dei reagenti utilizzati. Il sequenziamento ha prodotto una elevata quantità di sequenze per campione (in media 24.643 reads), mentre i due controlli di estrazione hanno fornito un risultato, in numero di reads, praticamente trascurabile (N=28 e N=617).

L'analisi della composizione del microbiota nelle varie tipologie di campioni analizzati ha dimostrato come i Firmicutes siano il phylum di microrganismi più rappresentato in tutti i tessuti, seguiti da Actinobacteria, Bacteroidetes e Proteobacteria per i quali si registrano percentuali diverse nelle varie tipologie di campioni. Le differenze tra i vari tessuti sono evidenti soprattutto a livello di famiglia.

Dall'analisi della diversità e abbondanza relativa dei vari taxa, si apprezzano differenze significative tra le varie tipologie di campioni analizzati, in particolare tra i campioni di intestino e di suolo. Gli indici di biodiversità rivelano un'alta variabilità per ciascun gruppo. Il suolo è il campione con una maggiore biodiversità, mentre il tessuto intestinale è, tra quelli umani, quello che presenta la più alta variabilità, al contrario della pelle che presenta la variabilità minore.

Al fine di indagare con maggior dettaglio le differenze tra questi gruppi, sono state identificate specifiche Unità Tassonomiche Operative (OTU) caratteristiche di ciascun gruppo a vari livelli tassonomici. Confrontando ad esempio tutti i tessuti umani rispetto al suolo, si individuano due famiglie microbiche che li distinguono, costituite da Staphylococcaceae (in particolare i generi *Salinicoccus* e *Jeotgalicoccus*) e la famiglia delle Alcanivoracaceae (in particolare il genere *Alvanivorax*).

Tra i campioni di microbiota intestinale è inoltre possibile osservare una chiara discrepanza nel rapporto Firmicutes/Bacteroidetes. A questo riguardo, in svariati studi incentrati sul microbiota²⁷ questo rapporto è solitamente utilizzato a causa delle forti implicazioni che l'abbondanza relativa di questi due phyla ha con la dieta e le condizioni di salute. In particolare, quattro campioni sono caratterizzati da una elevata presenza di Bacteroidetes (GM 1, GM 2, GM 4, GM 5), mentre gli altri mostrano una alta presenza di Firmicutes.

L'analisi della paleodieta ha evidenziato che gli individui analizzati si differenziano tra loro per un diverso apporto di proteine nella dieta e per un diverso apporto di alimenti provenienti direttamente o indirettamente da piante C3 e C4. In particolare, gli individui GM1 e GM9 presentano una dieta con maggior apporto proteico, gli individui GM2, GM6, GM7, GM8, GM10 e GM11 si posizionano in una situazione intermedia, mentre gli individui GM4 e GM5 presentano un basso *intake* proteico. A questo riguardo sono in corso analisi approfondite volte alla interpretazione delle complesse relazioni tra la composizione del microbiota intestinale e la

²⁶ IACUMIN *et al.* 2014.

²⁷ MARIAT *et al.* 2009; VOREADES *et al.* 2014.

paleodieta che saranno oggetto di una prossima pubblicazione scientifica.

Discussione e conclusioni

La presente ricerca sulla composizione del microbiota nelle mummie di Roccapelago ha portato, innanzitutto, alla messa a punto di un protocollo di analisi del microbiota da tessuti mummificati antichi, consentendo di ottenere dati realisticamente in linea con la composizione del microbiota nei tessuti omologhi di individui viventi.

Sono emerse significative differenze nei vari tessuti analizzati in termini di abbondanza relativa di batteri ed inoltre non sono state rilevate contaminazioni da parte del suolo o dei microrganismi che intervengono nei processi di decomposizione del cadavere (“thanatomiocrobiota”).

La ricostruzione della paleodieta, effettuata mediante l’analisi degli isotopi stabili del carbonio e dell’azoto, depone per una dieta diversificata, con un differente riscontro nei *pathways* metabolici individuati, tuttavia sarà necessaria una indagine più approfondita per meglio correlare i dati della paleodieta con la composizione del microbiota.

Ai fini di questo tipo di studi, tra i primi finora condotti, le mummie di Roccapelago hanno costituito un campione unico e peculiare che, grazie soprattutto alle condizioni di preservazione, ha permesso di ritrovare e analizzare la composizione di un microbiota intestinale ancestrale, presente negli individui prima dell’introduzione delle terapie farmacologiche e della dieta delle società occidentali moderne.

Bibliografia

ALBANESE A., FONTANA F., DE FILIPPO C., CAVALIERI D., DONATI C. 2015, *MICCA: a complete and accurate software for taxonomic profiling of metagenomic data*, «Sci Rep.», 5, 9743.

APPELT S., ARMOUGOM F., LE BAILLY M., ROBERT C., DRANCOURT M. 2014, *Polyphasic analysis of a middle ages coprolite microbiota, Belgium*, «PLoS One», 9 (2), e88376.

BIANCONI E., PIOVESAN A., FACCHIN A., BERAUDI A., CASADEI R., FRABETTI F., VITALE L., PELLER M.C., TASSANI S., PIVA F., PEREZ-AMODIO S., STRIPPOLI P., CANAI- DER S. 2013, *An estimation of the number of cells in the human body*, «Ann Hum Biol.», 40, pp. 463-71.

BIVIANO G., TRAVERSARI M., GRUPPIONI G., FRELAT M.A. 2016, *Analisi antropologiche e paleopatologiche sulle sepolture più antiche della cripta*, in BADIALI F. (a cura di), *Roccapelago e le sue mummie. Studio integrato della vita di una piccola comunità dell’Appennino tra XVI e XVIII secolo*, Atti dei Convegni di Studi (Roccapelago 24 settembre 2011 e 22 settembre 2012), Accademia “Lo Scoltenna”, Pievepelago, pp. 211-216.

BRIDELLI M.G., STANI C., EROKHIN V., TRAVERSARI M., CILLI E. 2016, *Tissue preservation of 16-18th century mummies of Roccapelago (Modena, Italy): a SEM and FTIR study*, in *12th Biennial IRUG Conference (Infrared and Raman Group)*, Book of Abstracts, pp. 80-81.

CANO R.J., TIEFENBRUNNER F., UBALDI M., DEL CUETO C., LUCIANI S., COX T., ORKAND P., KUNZEL K.H., ROLLO F. 2000, *Sequence analysis of bacterial DNA in the colon and stomach of the Tyrolean Iceman*, «Am J Phys Anthropol.», 112 (3), pp. 297-309.

CANO R.J., RIVERA-PEREZ J., TORANZOS G.A., SANTIAGO-RODRIGUEZ T.M., NARGANES-STORDE Y.M., CHANLATTE-BAIK L., GARCÍA-ROLDÁN E., BUNKLEY-WILLIAMS L., MASSEY S.E. 2014, *Paleomicrobiology: revealing fecal microbiomes of ancient indigenous cultures*, «PLoS One», 9 (9), e106833.

CARDING S., VERBEKE K., VIPOND D.T., CORFE B.M., OWEN L.J. 2015, *Dysbiosis of the gut microbiota in disease*, «Microb Ecol Health Dis.», 26, 26191.

CILLI E., DE FANTI S., QUAGLIARIELLO A., SARNO S., SERVENTI P., TRAVERSARI M., ZEDDE A., LUISELLI D., GRUPPIONI G. 2015, *Genetic analysis of the population of Roccapelago - Modena (Italy) (XVI - XVIII c.)*, in OLIVEIRA C., MORAIS R., MORILLO CERDAN A. (Eds.), *Proceedings*

- of the *Archaeoanalytics Congress - Chromatography and DNA analysis in archaeology*, Esposende, pp 247-254.
- COOPER A., POINAR H.N. 2000, *Ancient DNA: Do It Right or Not at All*, «Science», CCLXXXIX, p. 1139.
- CORDAIN L., EATON S.B., SEBASTIAN A., MANN N., LINDEBERG S., WATKINS B.A., O'KEEFE J.H., BRAND-MILLER J. 2005, *Origins and evolution of the Western diet: health implications for the 21st century*, «Am J Clin Nut», 81 (2), pp. 341-354.
- DABNEY J., KNAPP M., GLOCKE I., GANSAUGE M.-T., WEIHMANN A., NICKEL B., VALDIOSERA C., GARCÍA N., PÄÄBO S., ARSUAGA J.-L., MEYER M. 2013, *Complete mitochondrial genome sequence of a Middle Pleistocene cave bear reconstructed from ultrashort DNA fragments*, «Pnas», 110 (39), pp. 15758-15763.
- DABNEY J., MEYER M., PÄÄBO S. 2013, *Ancient DNA Damage*, «Cold Spring Harbor Perspectives in Biology», 5 (7), a012567.
- DE FILIPPO C., CAVALIERI D., DI PAOLA M., RAMAZZOTTI M., POULLET J.B., MASSART S., COLLINI S., PIERACCINI G., LIONETTI P. 2010, *Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa*, «Proc Natl Acad Sci USA», 107 (33), pp. 14691-6.
- FULTON T.L. 2012, *Setting Up an Ancient DNA Laboratory*, «Methods in molecular biology», 840, pp. 1-11.
- GRUPPIONI G., LABATE D., MERCURI L., MILANI V., TRAVERSARI M., VERNIA B. 2011, *Gli scavi della Chiesa di San Paolo di Roccapelago nell'Appennino modenese. La cripta con i corpi mummificati naturalmente*, «Pagani e Cristiani. Forme e attestazioni di religiosità del mondo antico in Emilia», X, pp. 219-245.
- KNAPP M., CLARKE A.C., HORSBURGH K.A., MATISOO-SMITH E.A. 2011, *Setting the Stage - Building and Working in an Ancient DNA Laboratory*, «Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger», 194 (1), pp. 3-6.
- KNAPP M., LALUEZA-FOX C., HOFREITER M. 2015, *Re-Inventing Ancient Human DNA*, «Investigative Genetics», 6, p. 4.
- IACUMIN P., GALLI E., CAVALLI F., CECERE M. 2014, *C4-consumers in southern Europe: the case of Friuli V.G. (NE-Italy) during early and central Middle Ages*, «Am J Phys Anthropol.», 154 (4), pp. 561-74.
- JULIAN R., MARCHESI J.R., JACQUES RAVEL J. 2015, *The vocabulary of microbiome research: a proposal*, «Microbiome», 3, p. 31.
- LANGILLE M.G.I., ZANEVELD J., CAPORASO J.G., McDONALD D., KNIGHTS D., REYES J.A., CLEMENTE J.C., BURKEPILE D.E., VEGA THURBER R.L., KNIGHT R., BEIKO R.G., HUTTENHOWER C. 2013, *Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences*, «Nature Biotechnology», pp. 1-10.
- LEDERBERG J., MCCRAY A.T. 2001, *'Ome Sweet 'Omic - a genealogical treasury of words*, «Scientist», 5 (7), p. 8.
- LI J., JIA H., CAI X., ZHONG H., FENG Q., SUNAGAWA S., ARUMUGAM M., JENS KULTIMA J.R., PRIFTI E., NIELSEN T., SIERAKOWSKA JUNCKER A., MANICHANH C., CHEN B., ZHANG W., LEVENEZ F., WANG J., XU X., XIAO L., LIANG S., ZHANG D., ZHANG Z., CHEN W., ZHAO H., AL-AAMA J.J., EDRIS S., YANG H., WANG J., HANSEN T., NIELSEN H.B., BRUNAK S., KRISTIANSEN K., GUARNER F., PEDERSEN O., DORÉ J., DUSKO EHRlich S., METAHIT CONSORTIUM, BORK P., WANG J. 2014, *An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome*, «Nature Biotechnology», 32, pp. 834-841.
- LUGLI F., BRUNELLI D., CIPRIANI A., BOSI G., TRAVERSARI M., GRUPPIONI G. 2017, *C4-Plant Foraging in Northern Italy: Stable Isotopes, Sr/Ca and Ba/Ca Data of Human Osteological Samples from Roccapelago (16th-18th Centuries AD)*, «Archaeometry», 59, pp. 1119-1134.
- MARIAT D., FIRMESSE O., LEVENEZ F., GUIMARÃES V.D., SOKOL H., DORÉ J., CORTHER G., FURET J.-P. 2009, *The Firmicutes/Bacteroidetes ratio of the human microbiota changes with age*, «BMC Microbiology», 9, p. 123.
- QIN J., LI R., RAES J., ARUMUGAM, KRISTOFFER SOLVSTEN BURG DORF M., MANICHANH C., TRINE NIELSEN, PONS N., LEVENEZ F., YAMADA T., MENDE D.R., LI J., XU J., LI S., DONGFANG LI, CAO J., WANG B., LIANG H., ZHENG H., XIE Y., TAP J., LEPAGE P., BERTALAN M., BATTO J.-M., HANSEN T., LE PASLIER D., LINNEBERG A., BJØRN NIELSEN H., PELLETIER E., RENAULT P., SICHERITZ-PONTEN T., TURNER K., ZHU H., YU C., LI S., JIAN M., ZHOU Y., LI Y., ZHANG X., LI S., QIN N., YANG H., WANG J., BRUNAK S., DORÉ J., GUARNER F., KRISTIANSEN K., PEDERSEN O., PARKHILL J., WEISSEN BACH J., METAHIT CONSORTIUM, BORK P., DUSKO EHRlich S., WANG J. 2010, *A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing*, «Nature», 464, pp. 59-65.

- R CORE TEAM 2013, *R: A language and environment for statistical computing*, R Foundation for Statistical Computing, Vienna.
- ROLLO F., ERMINI E., LUCIANI S., MAROTA I., OLIVIERI C. 2006, *Studies on the preservation of the intestinal microbiota's DNA in human mummies from cold environments*, «Med Secoli», 18 (3), pp. 725-740.
- ROLLO F., LUCIANI S., CANAPA A., MAROTA I. 2000, *Analysis of bacterial DNA in skin and muscle of the Tyrolean iceman offers new insight into the mummification process*, «Am J Phys Anthropol.», 111 (2), pp. 211-219.
- ROLLO F., MAROTA I. 1999, *How microbial ancient DNA, found in association with human remains, can be interpreted*, «Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.», 1, 354 (1379), pp. 111-9.
- SANTIAGO-RODRIGUEZ T.M., FORNACIARI G., LUCIANI S., DOWD S.E., TORANZOS G.A., MAROTA I., CANO R.J. 2015, *Gut Microbiome of an 11th Century A.D. Pre-Columbian Andean Mummy*, «PLoS One», 10 (9), e0138135.
- SANTIAGO-RODRIGUEZ T.M., NARGANES-STORDE Y.M., CHANLATTE L., CRESPO-TORRES E., TORANZOS G.A., JIMENEZ-FLORES R., HAMRICK A., CANO R.J. 2013, *Microbial communities in pre-columbian coprolites*, «PLoS One», 8 (6), e65191.
- SCHNORR S.L., CANDELA M., RAMPPELLI S., CENTANNI M., CONSOLANDI C., BASAGLIA G., TURRONI S., BIAGI E., PEANO C., SEVERGNINI M., FIORI J., GOTTI R., DE BELLIS G., LUISELLI D., BRIGIDI P., MABULLA A., MARLOWE F., HENRY A.G., CRITTENDEN A.N. 2014, *Gut microbiome of the Hadza hunter-gatherers*, «Nat Commun.», 5, 3654.
- SCHWARCZ H.P., SCHOENINGER M.J. 2012, *Stable Isotopes of Carbon and Nitrogen as Tracers for Paleo-Diet Reconstruction*, in: BASKARAN M. (Ed.), *Handbook of Environmental Isotope Geochemistry. Advances in Isotope Geochemistry*, Springer, Berlin, Heidelberg.
- SEGATA N., IZARD J., WALDRON L., GEVERS D., MIROPOLSKY L., GARRETT W.S., HUTTENHOWER C. 2011, *Metagenomic biomarker discovery and explanation*, «Genome Biology», 12, R60.
- SENDER R., FUCHS S., MILO R. 2016, *Are we really vastly outnumbered? Revisiting the ratio of bacterial to host cells in humans*, «Cell», 164, pp. 337-340.
- TITO R.Y., KNIGHTS D., METCALF J., OBREGON-TITO A.J., CLEELAND L., NAJAR F., ROE B., REINHARD K., SOBOLIK K., BELKNAP S., FOSTER M., SPICER P., KNIGHT R., LEWIS C.M. JR. 2012, *Insights from Characterizing Extinct Human Gut Microbiomes*, «PLoS One», 7 (12), e51146.
- TITO R.Y., MACMIL S., WILEY G., NAJAR F., CLEELAND L., QU C., WANG P., ROMAGNE F., LEONARD S., JIMÉNEZ RUIZ A., REINHARD K., ROE B.A., LEWIS C.M. JR. 2008, *Phylotyping and functional analysis of two ancient human microbiomes*, «PLoS One», 3 (11), e3703.
- TRAVERSARI M., MINGHETTI C., MILANI V., GRUPPIONI G., FRELAT M.A. 2016, *Gli ultimi inumati mummificati della cripta: osservazioni antropologiche preliminari*, in BADIALI F. (a cura di), *Roccapelago e le sue mummie. Studio integrato della vita di una piccola comunità dell'Appennino tra XVI e XVIII secolo*, Atti dei Convegni di Studi (Roccapelago 24 settembre 2011 e 22 settembre 2012), Accademia "Lo Scoltenna", Pievepelago, pp. 217-224.
- UBALDI M., LUCIANI S., MAROTA I., FORNACIARI G., CANO R.J., ROLLO F. 1988, *Sequence analysis of bacterial DNA in the colon of an Andean mummy*, «Am J Phys Anthropol», 107 (3), pp. 285-95.
- VOREADES N., KOZIL A., WEIR T.L. 2014, *Diet and the development of the human intestinal microbiome*, «Front Microbiol.», 22, 5, p. 494.
- WANG B., YAO M., LV L., LING Z., LI L. 2017, *The Human Microbiota in Health and Disease*, «Engineering», 3, pp. 71-82.
- WILLERSLEV E., HANSEN A.J., RØNN R., BRAND T.B., BARNES I., WIUF C., GILICHINSKY D., MITCHELL D., COOPER A. 2004, *Long-term persistence of bacterial DNA*, «Curr Biol.», 14 (1), R9-10.