Archive of SID

قارچهای جدا شده از منطقه تخت جمشید، مطالعه ای برای شناسایی عوامل فرسایش زیستی میراث فرهنگی کشور

پریسا محمدی*[۱]، آنا گوریوشینا[۲] یورگن مارکوات[۲]، و ولفگانگ الیزابت کرومباین[۲]

[۱]تهران، دانشگاه الزهرا، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

[۲] Geomicrobiology, ICBM, Carl von Ossietzky University, Oldenburg, Germany

تاریخ دریافت: ۸۶/۹/۳ تاریخ پذیرش: ۸۸/۸/۳

چکیده

مشکل فرسودگی زیستی آثار باستانی در کشورهایی با تاریخ کهن و داشتن بناهای تاریخی مورد توجه بسیاری از دانشمندان قرار گرفته است. گلسنگها و قارچها به عنوان یکی از مهم ترین عوامل تخریب کننده سنگها شناخته شده اند. با توجه به اینکه در زمینه فرسودگی زیستی آثار تاریخی و هنری ایران کارهای بیولوژیکی جدی انجام نشده است پژوهش حاضر تعریف گردید. در این مطالعه آسیبهای فیزیکی ایجاد شده با استفاده ازمیکروسکوپ نوری، استرئومیکروسکوپ، میکروسکوپ الکترونی، تکنیک Maceration بررسی شد. حضور تشکیلات بیولوژیکی داخل سنگ با تهیه برشهای نازک سنگی و رنگ آمیزی آنها به روش اسید شیفت پریودیک اثبات گردید. نتایج بررسیها نفوذ میسلیومهای قارچی و همچنین سلولهای قارچی را در داخل سنگها نشان داد. قارچهای ساکن صخره ای این منطقه با استفاده از روشهای کلاسیک و روشهای مولکولی تا حد جنس و در صورت امکان *گونه* شناسایی گردید. با استفاده از آغازگرهای ITS1& ITS4 و تعیین توالی محصول PCR مربوط به ناحیه ITS *Cladophialophora minourae, Sarcinomyces* sp. , *Bellemerea alpine* و *Rhinocladiella* sp. شناسایی گردید. این گروه از قارچها تعداد زیادی از قارچهای سیاه ساکن سنگها را در رده Ascomycota در بر می گیرد.

واژه های کلیدی: فرسودگی زیستی، قارچ، میراث فرهنگی و تخت جمشید

* نویسنده مسئول، تلفن تماس: ۰۹۱۲۷۹۵۵۶۸۲، پست الکترونیکی: p.mohammadi@alzahra.ac.ir

مقدمه

علی رغم اینکه صخره ها، سنگها، بناهای تاریخی و مجسمه های سنگی و هنری محیطهای سر سختی برای زندگی میکروارگانیسمهاست ولی تعداد زیادی از موجودات ماکرو و میکروسکپی از چنین بسترهایی جدا شده است (۳، ۱۲، ۱۴ و۱۸). تغییرات شدید رطوبت، حرارت، محدودیت مواد غذایی قابل دسترس و غلظت بالای الکترولیتهای مختلف از جمله ویژگیهای چنین محیطهایی است. صخره ها و سنگها همچنین در معرض تابش شدید اشعه های خورشیدی هستند. با وجود چنین شرایط سخت فعالیت بیولوژیکی در سطح و در داخل صخره هایی که در تماس با اتمسفر قرار می گیرند به وفور دیده می‌شود (۵). تحقیقات نشان داده است که نه تنها انواع مختلفی از باکتریها، قارچهای آزاد و گلسنگها بر روی صخره های برهنه می‌توانند تثبیت شوند، بلکه اجتماعات اندولیتیک آنها در لایه های تحتانی سنگها نیز مشاهده شده که در تشدید عوا مل فرسایش زیستی نقش مهمی دارند. بیوتای ساکن صخره ها دو اثر متفاوت بر مجموعه های آهکی – سنگی به جای می گذارند. از یک طرف عمل فرسایش را تشدید می‌کنند و از طرف دیگر با ایجاد پوششی محافظ بر روی بسترهای خود تأثیر عوامل

www.SID.ir

Archive of SID

فرسایشی محیطی همانند بارانهای اسیدی، نوسانات رطوبت و حرارت و... را تقلیل می دهند (۱۱). قارچهایی که در فرسایش زیستی سنگها و صخره ها شرکت می‌کنند از نظر اکولوژیکی و تاکسونومیکی بیشتر متعلق به Zygomycota, Basidiomycota, Ascomycota و Glomeromycota هستند. این دسته از قارچها از نظر پتانسیل ایجاد فرسایش به پنج گروه تقسیم می شوند:

۱) قارچهای تشکیل دهنده گلسنگها: این گروه به طور همزیست با جلبکها و سیانوباکتریها زندگی می‌کنند واز آنجایی که شریک قارچی یا مایکوبیونت بواسطه ساختمان رشته ای، ارتباط تنگاتنگی با مواد معدنی دارد، لذا نقش بارزتری را از شریک فتوبیونت خود در فرسایش زیستی ایفا می کند (۹).

۲) *Mycorrhiza* به خصوص *Ectomycorrhiza* و قارچهای *Ericoid mycorrhiza* در سالهای اخیر به عنوان عوامل فرسایش معرفی شده اند (۸ و ۹).

۳) قارچهای ساپروفیت همانند *Aspergillus niger* که از منابع کربوهیدراتی نسبتاً ساده استفاده می‌کنند و در شرایط مناسب به ویژه در بسترهای چوبی به سرعت تکثیر می یابند و در فرسایش زیستی مؤثرند.

۴) مخمرهای مریستماتیک سیاه و آسکومیستهای ساپروفیت مقاوم به استرسهای محیطی که از منابع کربوهیدراتی استفاده می کنند و با تماس مستقیم بطور فیزیکوشیمیایی بستر خود را تحت تأثیر قرار می دهند (۱۸ و ۱۹).

۵) ارگانسیمهای ساپروفیتی که ترجیحاً از منابع پیچیده لیگنوسلولزی استفاده می‌کنند. این قارچها عامل فساد سفید و قهوه ای هستند و می توانند مقادیر فراوانی از آنیونهای آلی تولید کنند. این ترکیبات آنیونی جهت تولید پراکسید هیدروژن و تولید شلاتهای منگنز مورد استفاده قرار می گیرند که نهایتاً می تواند طیف وسیعی از ترکیبات فنلی را اکسید نمایند. لذا نقش آنان در فرسایش زیستی نباید نادیده گرفته شود.

هدف از این تحقیق مطالعه آسیبهای بیولوژیکی وارد شده به بناهای تاریخی تخت جمشید با تکیه بر شناسایی فلور قارچی حاضر بر روی سنگهای این منطقه بود.

مواد و روشها

محل نمونه برداری تخت جمشید، با دارا بودن شرایط اقلیمی نیمه خشک – نیمه استوایی در ارتفاع ۱۷۴۰ متری از سطح دریا قرار گرفته است. میزان درجه حرارت، رطوبت و نزولات جوی به ترتیب ۱۵/۸ درجه سانتی گراد، ۴۱ درصد و ۳۴۱/۱ میلی متر در سال می‌باشد. تعداد روزهای با برف و بوران ۲/۶ روز در سال است. این منطقه ۱۳۹/۹۶ روز آفتابی و ۶۴/۱ روز همراه با گرد و غبار را دارد http://www.weather. با استفاده از قلم و چکش سترون نمونه برداری انجام شد و ظرف مدت یک هفته نمونه ها به آزمایشگاه منتقل شد. برای مطالعه آسیبهای بیولوژیکی وارده بر سنگهای این منطقه آزمایشهای متعددی انجام شد. میکروسکوپ نوری و استرئو میکروسکوپ جهت نمایش و مطالعه پوشش بیولوژیکی نمونه ها استفاده گردید. عکسهای دیجیتالی از نمونه های مورد مطالعه گرفته شد. برای مطالعه ماهیت پوشش میکروارگانیسمهای موجود و تغییرات احتمالی ایجاد شده در حد فاصل فضای بین سنگها و میکروارگانسیمها میکروسکپ الکترونی مورد استفاده قرار گرفت.

از نمونه های سنگ با استفاده از دستگاه ماکروتوم و میکروتوم مطابق با روش گلوبیک و همکاران برشهای نازک تهیه گردید (۴). با این تکنیک مسیر اصلی حرکت و نفوذ تشکیلات زیستی و انواع مختلف الگوهای تخریب بررسی شد. برشهای تهیه شده همچنین با استفاده از رنگ اسید شیفت پریودیک رنگ آمیزی گردید تا نحوه استقرار ارگانسیمها و اجتماعات آنها درون سنگ نشان داده شود و

www.SID.ir

احیاناً مسیر نفوذ ریسه های قارچی در داخل نمونه ها رد یابی گردد. این مرحله مطابق روش ویتلاچ و جانسون انجام شد (۲۰).

با توجه به اینکه برخی از قارچهای ساکن صخره تولید میکرو کلنیهای رنگی می نمایند با استفاده از استرئومیکروسکوپ از نقاط رنگی و سیاه در محیط DRBC به روش روش ولنزین کشت داده شد (۲۱). در هر پلیت ۵-۳ تلقیح انجام شد. محیطهای کشت داده شده در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد تا ظهور کلنیهای قابل رؤیت گرما گذاری گردید. از کلنیهای به دست آمده بر روی محیط MEA کشت مجدد داده شد. شناسایی اولیه قارچهای جدا شده با مقایسه مشخصات ماکروسکوپی و میکروسکپی آنها مطابق با کتابهای "اطلس قارچهای پزشکی (۲) و «مقدمه ای بر قارچهای هوازی و غذایی» (۱۷) انجام شد.

همچنین شناسایی قارچها با روشهای مولکولی انجام گردید. DNA قارچی با استفاده از کیت اختصاصی Ultraclean ™ soil kit استخراج شد. تمام مراحل انجام آزمایش طبق دستور کارخانه سازنده انجام گردید و فقط قبل از استخراج DNA ۱۰ مرحله فریز – دفریز کردن سلولهای قارچی انجام شد. ناحیه ITS ژن rDNA جهت تهیه محصول PCR استفاده می گردد (۹ و ۱۰). برای این منظور از آغازگرهایی استفاده شد که انتهای ژن 18S rRNA را تا ناحیه آغاز ژن 28S rRNA تکثیر نماید. تکثیر و تعیین توالی DNA این منطقه از ژنوم اجازه تعیین هویت بسیاری از گونه های قارچی را می دهد. به منظور تهیه محصول PCR مراحل زیر انجام شد:

الف) ۵۰ میکرو لیتر Master mix دو برابر غلظت شامل *Taq* DNA polymerase 50 U/ml، ۴۰۰ میکرو لیتر از هر یک از چهار dNTPs و 3 mM کلرید منیزیم تهیه گردید.

ب) ۵۰ میکرولیتر آب مقطر سترون و ۰/۵ میکرو لیتر از هر یک از آغازگرهای ITS1F, ITS4 و DNA قارچی به مخلوط فوق اضافه شد.

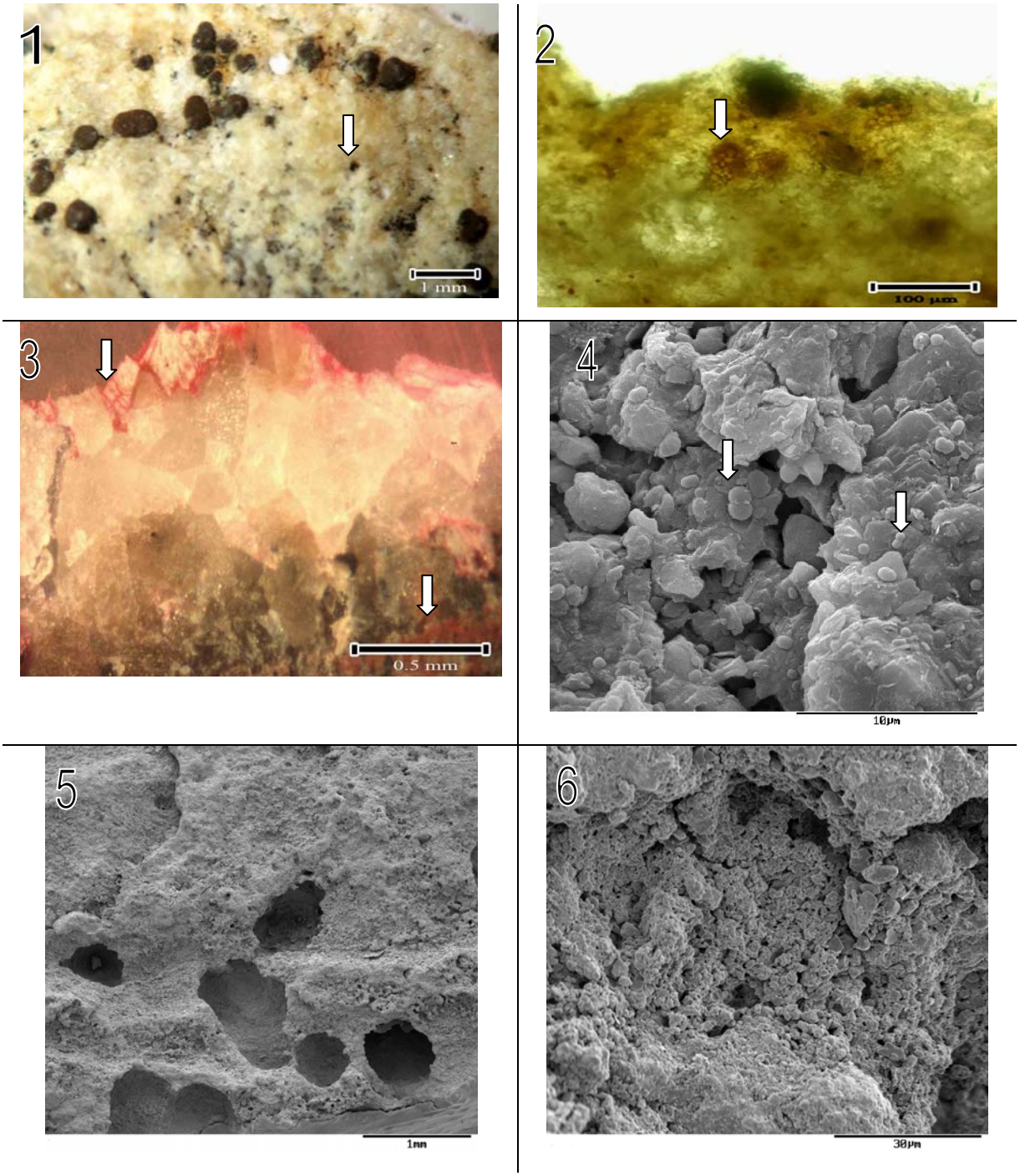
ج) پارامترهای چرخه PCR با ۴ دقیقه در ۹۴ درجه سانتی گراد آغاز شد و با ۳۰ دور کامل شامل یک دقیقه در ۹۴ درجه سانتی گراد، یک دقیقه در ۵۲ درجه سانتی گراد، یک دقیقه ۷۲ درجه سانتی گراد دنبال گردید. نهایتاً محصول به مدت ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی گراد قرار داده شد. محصول واکنش در درجه حرارت ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد. محصول PCR در ژل آگاروز الکتروفورز گردید و باندهای ایجاد شده با استفاده از رنگ اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی گردید. باندهای ایجاد شده با استفاده از ترانس لومیناتور مدل Hero lab آشکار سازی شد. محصول یک دستی از PCR با استفاده از کیت QIAGEN به دست آمد. محصول یک دست PCR جهت تشخیص توالی ، به آزمایشگاههای تخصصی فرستاده شد.

نتایج

مطالعه فرسودگی زیستی نمونه ها نشان می دهد که رنگ سطوح فرسوده شده با نواحی تازه شکسته سنگها تفاوت عمده ای دارد. وجود گلسنگها و لکه های کوچک سیاه و قهوه ای رنگ روی نمونه ها مشاهده شد (شکل ۱). همچنین پوشش یکنواخت و بعضاً غیر یکنواخت اپی لیتیک بیولوژیکی بر روی سنگها وجود داشت (شکلهای ۱و۲). ایجاد حفره و خلل و فرج بواسطه تشکیلات بیولوژیک، ایجاد نقوش مربوط به تشکیلات بیولوژیکی بر روی سنگ ها و ایجاد گسستگی بین دانه های سنگ بواسطه نفوذ و فعالیت میکروارگانیسم ها در درون سنگ، مهم ترین پدیده های فرسودگی نمونه های مورد مطالعه بود (شکلهای ۶-۴). بیومینرالیزاسیون ناشی از فعالیت شیمیایی میکروارگانیسمها موجب ظهور لایه ای به قطر ۸۱۰-۲۰۰ میکرومتر گردیده است (شکل ۳).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱) اندامهای زایشی گلسنگها در سطح سنگ نشان داده شده است. نقاط ریز قهوه ای و سیاه مربوط به کلنی قارچهای سیاه ساکن صخره است که به وسیله فلش نشان داده شده است ۲) فلش در تصویر مربوط به برش عمودی سنگ حضور توده هایی از قارچهای سیاه را در لایه های درونی سنگ نشان می دهد. ۳) روی برش عمودی سنگ که با اسید شیفت پریودیک رنگ آمیزی گردیده لایه ای از بیومینرال نشان داده شده است. میسلیوم قارچی بر سطح و در لابلای لایه بیومینرال که با فلش نشان داده شده است قابل مشاهده می باشد. ۴) پدیده Etching و نیز سلولهای باکتریایی در حال تقسیم در این تصویر به وسیله فلش نشان داده شده است. ۵) نمونه سنگ خیسانده شده در Eau De Javelle انواع مختلفی از الگوی Biopitting را نشان می دهد. در سمت چپ بالای تصویر محدوده اندام رویشی گلسنگ جوانی مشاهده می شود. ۶) ناحیه تخریب شده تولید کانالی را نموده که از چپ به راست کشیده شده است. در این ناحیه دانه های سنگ با اتصالات نه چندان محکمی در کنار همدیگر قرار گرفته اند در صورتی که نواحی دست نخورده ساختمان فشرده و صافی را نشان می دهد. به این پدیده *Crumbling* گویند.

www.SID.ir

Archive of SID

کربنات کلسیم، اکسالات کلسیم و سولفات کلسیم مهم ترین ترکیبات تشکیل دهنده این لایه است که به طریق میکروبی تولید می گردد. حفرات ایجاد شده بر روی سنگها از نظر اندازه با باکتریها، میسلیوم قارچها و اندامهای زایشی و رویشی گلسنگها مطابقت داشت. عکسهای میکروسکوپ الکترونی حکایت از انتشار وسیع قارچها بر روی نمونه های مورد مطالعه دارد. ریسه قارچها گاه ایجاد توده های به هم فشرده ای را در سطح سنگها می نمود و گاه با نفوذ به داخل سنگ موجب خوردگی و شکستگی سنگها می گردید.

نتایج کشت قارچها و جدا سازی سلولهای قارچی وجود ۸ کلنی را نشان داد. اولین قارچ جدا شده (PF1) *Stachybotrys chartarum* بود. این قارچ قادر به تولید متابولیتهای بسیار سمی satratoxin G&H است و به دلیل تولید چنین متابولیتهای سمی شناسایی مولکولی آن انجام نشد. PF4 دیگر قارچی بود که از سنگهای ناحیه تخت جمشید جدا شد. سلولهای این قارچ در مراحل تجدید کشت توانایی تکثیر خود را از دست داد. مطالعه مولکولی بر روی سایر DNA های سلولی انجام گردید.

جدول ۱ نتایج تعیین توالی ناحیه ITS را نشان می دهد. همان طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود تمام ایزوله های جدا شده متعلق به رده Ascomycota و خانواده *Chaetothyromycetes* و *Lecanoromycetes* است.

جدول۱ – نتایج شناسایی قارچهای جدا شده از منطقه تخت جمشید با روشهای مولکولی

Fungus	Identity	Blast match	Similarity (%)	Family
PF3	*Sarcinomyces* sp.	|AJ972815.1|	96	Chaetothyriomycetes
PF5	*Bellemerea alpina*	|AF332117|	95	Lecanoromycetes
PF6	*Sarcinomyces* sp.	|AJ972812|	90	Chaetothyriomycetes
PF7	*Rhinocladiella* sp.	|AJ972799|	97	Chaetothyriomycetes
PF8	*Cladophialophora minourae*	|AF393716|	100	Chaetothyriomycetes

بحث

تخریب سنگها و صخره ها توسط موجودات زنده از دیر باز شناخته شده است. موجودات زنده به طرق مختلفی موجب فرسودگی و تخریب بافت سنگی می شوند. برخی از میکروارگانیسمها با تولید اگزوپلی ساکاریدهای مترشحه موجب جذب ذرات معلق، آلاینده ها، دوده و گرد و غبار می گردد (۱۶). برخی با تولید متابولیتهای ناشی از فعالیت بیولوژیکی و همچنین نفوذ سلولهای رویشی به درون بافت سنگ باعث آسیبهای فیزیکی و شیمیایی می شوند (۳). با توجه به اینکه قارچها موجودات هتروتروفند نمی توانند اولین میکروارگانیسمهای مستقر بر روی سنگها و صخره ها باشند مگر اینکه منابع آلی در محل وجود داشته باشد. تحقیقات نشان داده است که ذرات آلی ناشی از آلاینده های صنعتی موجود در هوا می توانند تأمین کننده منبع کربن قارچها باشند (۱۳). هنگامی که با اجتماعات سلولهای میکروبی سر و کار دارید، کشت معمولی میکروبها و زمان گرما گذاری آنها نمی‌تواند انتشار واقعی میکروارگانسیمها را در شرایط خاص محیطی نشان دهد خصوصاً اینکه چنین میکروارگانیسمهایی تحت شرایط پویکیلوتروفی رشد می کنند. مشاهدات نشان می دهد که درصد زیادی از میکروارگانسیمهای خاک و صخره را نمی توان در محیطهای سنتتیک کشت داد اگرچه حضور آنها

www.SID.ir

توسط میکروسکوپ الکترونی و فعالیت آنها در آنالیز شیمیایی سنگها به اثبات رسیده است. بعبارتی طبیعت قادر به کشت تمام انواع میکروارگانسیمهاست هر چند که در آزمایشگاه قابل کشت نباشند.

نتایج عکسهای میکروسکوپی و ماکروسکوپی نمونه های تخت جمشید تنوع فراوانی از سلولهای مختلف را نشان داد. این در حالی است که تعداد قارچهای جدا شده از صخره ها کمتر از انتظار بود. با توجه به مطالب فوق چنین می توان نتیجه گرفت که تکنیکهای کشت برای این دسته از میکرو ارگانسیمهای پویکیلوتروف که خود را با شرایط سخت محیطی تطبیق داده اند باید اصلاح گردد. با انتخاب طیف وسیعی از درجات حرارت، غلظتهای مختلف نمکی و افزودن دوره تابش اشعه UV احتمالاً بتوان تعداد بیشتری از قارچهای ساکن صخره را جدا کرد. نکته قابل ذکر دیگر اینکه در پژوهش حاضر از تکنیک سوزنی برای جدا سازی و کشت میکروارگانیسمها استفاده شد. لذا این تحقیق بر روی قارچهای اپی لیتیک و غیر مایکو بیونتی متمرکز شد که رشد آهسته ای دارند. به این ترتیب قارچهای اندولیتیک از حوزه مطالعه خارج گردید. یکی دیگراز دلایل تعداد کم سلولهای قارچی جدا شده پایین بودن رطوبت منطقه است. کانوا و همکاران مهم ترین عامل محدود کننده رشد میکروارگانسیمها را رطوبت گزارش نمودند (۱). میزان رطوبت منطقه تخت جمشید بسیار پایین تر از موارد گزارش شده در مناطق با آب و هوای مدیترانه‌ای است. به نظر می رسد که با تغییرات جزیی و کلی اقلیمی منطقه و پس از حفاریهای انجام شده و احتمالاً افزایش آلاینده های صنعتی ناشی از کارخانجات و صنایع موجود در منطقه فرسودگی زیستی میکروبهای مهاجم افزایش یافته است. گزارشاتی مبنی بر افزایش میزان تخریب سنگها با صنعتی شدن شهرها وجود دارد (۷). شاخه Ascomycota بیش از ۹۸ درصد گونه های قارچی ناشناخته گلسنگها را در بر می‌گیرد. درصد زیادی از این گونه ها متعلق به رده *Lecanoromycetes* است. مطالعات نشان داده است تجمع پیچیده و متنوعی از آسکومیستها خصوصاً گونه هایی از رده *Cheatothyriomycetes* و *Dothideomycetes* بر سطح صخره ها ساکن می‌شود (۱۴). بسیاری از قارچهای ساکن صخره به دلیل تشابهات مورفولوژیکی و یا اکولوژیکی و یا وجود ساختار پلئومورفیسم با روشهای کلاسیک رده بندی قابل شناسایی نیستند. لذا روشهای مولکولی برای تشخیص آنها ضروری به نظر می رسد. در مطالعات مولکولی آغازگر ITS1F به انتهای ´۳ SSU rDNA و آغازگر ITS4 به ناحیه ´۵ LSU rDNA متصل می شود. این جفت پرایمر قادر به تکثیر ناحیه ITS در هر دو گروه از قارچهای آسکومسیتها و بازیدیومیستها است. در مطالعه و بررسی منطقه تخت جمشید قارچهایی از صخره جداسازی گردید. دراین بررسیها مایکوبیونت متعلق به گلسنگها نیز شناسایی شد. سابق بر این تصور می شد که مایکوبیونتها به تنهایی قادر به سکونت بر سطوح سنگها نمی باشند در صورتی که این نتایج خلاف آن را ثابت کرد. این نتایج مطابق با کارهای کوندراتیوا و رویبال بود (۶ و ۱۵). به طور کلی چنین می توان نتیجه گیری کرد که بنای تخت جمشید که در یک منطقه نیمه خشک- نیمه استوایی قرار گرفته است واجد اجتماعات میکروبی فراوانی است. حضور اجتماعات میکروبی نه تنها در سطح که در عمق سنگها نیز به اثبات رسید. *Biopitting, Crumbling* و *Etching* مهم ترین پدیده های مخرب این بنا گزارش گردید. اگرچه حضور گلسنگها و سایر میکروارگانیسمها به وفور در سطوح بنا مشاهده گردید ولی با تکنیکهای به کار رفته تعداد کمی قارچ جدا شد.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه الزهرا و دانشگاه الدنبورگ آلمان که زمینه انجام این پژوهش را فراهم آوردند تشکر و قدردانی می گردد.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

1. Canova, G., E. Gori and T. Montefinale (1995). "Biodeterioration of Monuments in Relation to Climatic Changes in Rome between 19-20th Centuries." Science of the Total Environment 167: 205-214.
2. De Hoog, G., S., Guarro, J., Gene, J., and Figueras, M.J. (2000) Atlas of Clinical Fungi (2nd Edition): 1-10
3. Gehrmann, C.K. (1995) On the biopitting corrosion by epilithic and endolithic lichens on carbonate rocks: biophysical and biochemical weathering Ph-D aspects, thesis, university of Oldenburg, Germany
4. Golubic, S., G. Brent and Lecampion. T (1970). "Scanning Electron Microscopy of Endolithic Algae and Fungi Using a Multipurpose Casting-Embedding Technique." Lethaia 3(2): 203-209.
5. Gorbushina, A.A., and Krumbein, W.E. (2000) Subaerial microbial mats and their effects on soil and rock. In: Riding RE and Awramik SE (eds). Microbial Sediments, Springer, Berlin: 161-170
6. Kondratyeva, I. A., A. A. Gorbushina and A. I. Boikova (2006). " Biodeterioration of construction materials." Glass Physics and Chemistry 32(2): 254-256.
7. Krumbein, W.E. (1988) Microbial interaction with mineral materials, Elsvier, Applied Science, London and New York
8. Landeweert, R., Hoffland, E., Finlay, R.D., Kuyper, T.W., and van Breemen, N. (2001) Linking plants to rocks: ectomycorrhizal fungi mobilize nutrients from minerals. Trends in Ecology & Evolution **16**: 248-254
9. Landeweert, R., Leeflang, P., Kuyper, T.W., Hoffland, E., Rosling, A., Wernars, K., and Smit, E. (2003) Molecular identification of ectomycorrhizal mycelium in soil horizons. Applied and Environmental Microbiology **69**: 327-333
10. Mesquita, N, A. Portugal , S. Videira , S. Rodriuez-Echeverria M.J.A. Santos , H. Freitas, A.M.L.Bandeira (2009).Fungal diversity in ancient documents .A case studyon the Archive of the University of Coimbra, International Biodeterioration & Biodegradation **63**:626–629
11. Mottershead, D., Gorbushina, A.A., Lucas, G., and Wright, J. (2003) The influence of marine salts, aspect and microbes in the weathering of sandstone in two historic structures, Building and Environment **38**: 1193-1204
12. Nascimben, J, O. Salvador (2008) Lichen recolonization on restored calcareous statues of three Venetian villas, International Biodeterioration & Biodegradatio **62**:313–318
13. Prenafeta-Boldu, F.X., Summerbell, R., and de Hoog, G.S. (2006) Fungi growing on aromatic hydrocarbons: biotechnology's unexpected encounter with biohazard, Fems Microbiology Reviews **30**: 109-130
14. Ruibal, C., Platas, G., and Bills, G. (2005) Isolation and characterization of melanized fungi from limestone formation in Mallorca. In Mycological Progress, Vol. 4, pp. 23-38
15. Ruibal, V.C. (2004). "Isolation and Characterization of melanized, slow-growing fungal from semiarid rock surfaces of central Spain and Mallorca. "PhD thesis, university of Autonoma de Madrid, Spain.
16. Saiz -Jimenez, C. (2003) Coalition **6**: 5-9
17. Samson, R.A., Hoekstra, E.S., Frisvad, J.C., and Filtenborg, O. (2000) "Introduction to food-and airborne fungi"(6th Edition)
18. Staley, J.T., Palmer, F., and Adams, J.B. (1982) Microcolonial Fungi - Common Inhabitants on Desert Rocks. Science **215**: 1093-1095
19. Sterflinger, K., and Krumbein, W.E. (1997) Dematiaceous fungi as a major agent for biopitting on Mediterranean marbles and limestones. Geomicrobiology Journal **14**: 219-230
20. Witlach, R.B. and R. G. Johnson (1974). "Methods for staining organic matter in marine sediments." Journal of Sedimentary Petrology 44: 1310-1312.
21. Wollenzien, U., G. S. de Hoog, W. E. Krumbein and C. Urzi (1995). "On the isolation of microcolonial fungi occurring on and in marble and other calcareous rocks." Science of the Total Environment 167(1-3): 287-294.

www.SID.ir

Archive of SID

Isolated Fungi From Persepolis Rocks; A Study To Identify The Biodeteriorating Agents of Cultural Heritage In Iran

Mohammadi P.[1], Gorbushina A.[2]Marquadt J.[2], and Krumbein WE.[2]

[1] Biology Dept., Faculty of Science, Al-Zahra University, Tehran, I.R. of IRAN

[2] Geomicrobiology, ICBM, Carl von Ossietzky University, Oldenburg, Germany

Abstract

The problem of the deterioration of monuments made of rock is particularly relevant incountries like Iran being rich in such cultural heritage. Stone surface of monuments can be considered as extreme environments that are exposed to high solar radiation, changing temperatures, low nutrient content and sporadic availability of sufficient moisture. These surfaces are colonized by diverse microbial communities which are frequently dominated by stress-tolerant Ascomycota. The ruins of Persepolis are covered by a well microbial growth. Lichens and fungi are known to actively decompose stone surfaces through both physical and chemical processes. Physical alteration of stones was studied by using light microscope, stereomicroscope, scanning electron microscope, maceration technique and periodic acid Schiff staining. In this work, penetration of hyphal bundle as well as individual fungi was observed. Biopitting, Etching, and Crumbling were the most biodeteriorating patterns which were detected in stones of Persepolis. Furthermore, rock inhabiting fungi from Persepolis was isolated. Morphologic, microscopic and molecular characterization of fungal isolates was carried out by using the classic method, DNA extraction and PCR. The results show that the black fungal isolates belong to the Chaetothyriomycetes and Lecanoromycetes which embrace most of black rock inhabiting fungi of Ascomycota. According to molecular analysis,*Sarcinomyces* sp., *Bellemerea alpine*, *Rhinocladiella* sp. and *Cladophialophoraminourae* was identified. These microorganisms can affect the substratum.

Key words: Biodeterioration, Fungi, Cultural heritage and Persepolis

www.SID.ir