Archive of SID

قارچها به عنوان یکی از عوامل فرسودگی زیستی بنای سنگی پاسارگاد

نسیم مقبولی بلاسجین و پریسا محمدی*

تهران، دانشگاه الزهرا(س)، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۰/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۳/۹/۸

چکیده

پاسارگاد، پایتخت سلسله هخامنشیان در زمان کوروش کبیر است که زمان ساخت آن به قرن ۶ قبل از میلاد مسیح برمی‌گردد. از مهم ترین آثار باستانی پاسارگاد، مقبره کوروش کبیر است که عمده آن از سنگهای آهکی ساخته شده است. پاسارگاد، دومین بنای تاریخی بزرگ بعد از پرسپولیس می باشد. این بنا توسط UNESCO به عنوان میراث فرهنگی جهانی شناخته شده است. این مطالعه به شناسایی قارچهای عامل فرسودگی زیستی این بنا که برای اولین بار در ایران انجام گرفته است می پردازد. به طور کلی با استفاده از محیطهای کشت Potato Dextrose Agar و Sabouraud Dextrose Agar، ۳۳ جدایه از سطوح سنگی پاسارگاد به دست آمد. جدایه ها کشت مجدد شدند. برای مشاهده میکروسکوپی ساختارهای زایشی و رویشی قارچ، از تکنیک اسلاید کالچر استفاده شد و قارچها بر اساس خصوصیات شکلی میکروسکوپی و ماکروسکوپی شناسایی شدند. در این بررسی قارچ‌های رنگی و مخمر ها جدا شدند. قارچهای *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp., *Ulocladium* sp., *Fusarium* sp., *Humicula* sp., *Arthirinium* sp. و مخمر ها از جمله قارچهای غالب جدا شده از سطوح مذکور بودند. میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) برای مشاهده روند فرسودگی زیستی سنگ توسط قارچها استفاده شد و پدیده هایی مانند ایجاد حفره های زیستی، شکرزدگی و سنگ شویی به خوبی قابل رؤیت بود. این تغییرات در اثر رشد میسلیوم قارچها و نفوذ آنها به درون سنگ و ترشح متابولیسم‌های قارچی رخ می دهند. جداسازی و شناسایی جدایه ها، اولین قدم در محافظت از سطوح آثار باستانی می‌باشد.

واژه های کلیدی: پاسارگاد، قارچ، فرسودگی زیستی، میکروسکوپ الکترونی نگاره

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱۸۸۰۵۸۹۱۲، پست الکترونیکی: p.mohammadi@alzahra.ac.ir

مقدمه

فرسودگی زیستی، آسیب غیر قابل برگشتی است که توسط میکروارگانیسم ها بر آثار باستانی به وجود می آید. Hueck (۱۹۶۸-۱۹۶۵) فرسودگی زیستی را چنین تعریف کرد: "هر نوع تغییر نامطلوب در خواص مواد که به وسیله فعالیتهای حیاتی ارگانیسم های زنده رخ می دهد"(۲ و ۲۰).

سنگ ماده ای است که در ساخت بناهای تاریخی و مجسمه های کوچک به کار می‌رود. فرسایش سنگ و صخره و تبدیل آن به خاک، اثرات متفاوتی بر زمین می گذارد. از نگاهی دیگر، اثر فرسودگی زیستی بر آثار تاریخی، می تواند بر فرهنگ و تاریخ هر سرزمینی اثرات نامطلوب قابل توجهی بگذارد (۲۲).

میکروارگانیسمهای پویکیلوتروف یا خونسرد سبب فرسودگی زیستی می شوند و عمدتاً شامل باکتریها، سیانوباکتریها، مخمرها، بعضی گونه های جلبک و بسیاری از گونه‌های قارچی و گلسنگها می باشند. این میکروارگانیسمها دارای سوخت و ساز در محدوده های متنوع زیستی می باشند. همچنین اجتماعات اندولیتیک این میکروارگانیسم ها سبب تشدید فرسودگی زیستی می شود. کرومباین در سال ۱۹۶۶ برای اولین بار این دسته از

www.SID.ir

Archive of SID

میکروارگانیسم ها را جداسازی کرد (۱۳ و ۱۴). مطالعات نشان داده است که قارچها از جمله جمعیتهای غالب روی سطوح باستانی می باشند و بنابراین دارای اثرات مخرب بیشتری می‌باشند (۸). این قارچها عمدتاً متعلق Ascomycota, Basidiomycota, Zygomycota و Glomeromycota می باشند. بسیاری از سنگها مانند مرمر، گرانیت، آهک و سایر سنگها تحت تأثیر آسیبهای قارچی دچار فرسایش می شوند (۱۴ و ۲۰).

قارچها آنزیمهایی چون آمیلاز، کاتالاز و کازئیناز، اسیدهای آلی مانند اسید اگزالیک، اسید سیتریک، اسید استیک ، اسید گلوکونیک، اسید مالیک و اسید سوکسینیک و همچنین اسیدهای غیرآلی مانند اسید نیتریک، اسید سولفوریک، اسید سولفوروس و اسید نیتروس ترشح می کنند و سبب فرسایش سنگها می شوند. به علاوه، بدنبال رشد قارچی روی سنگ، میسلیومهای آن به داخل سنگ نفوذ می کنند. قارچهای تثبیت شده بر بسترهای سنگی از ترکیبات آلی ناشی از لاشه سایر موجودات و یا آلاینده های موجود در اتمسفر، جهت تامین منابع کربن استفاده می کنند. آنها به طور معمول اسیدهای آلی عامل خوردگی زیستی تولید می کنند و با اکسیداسیون فلزات Mn^{+2} و Fe^{+2} شبکه جدیدی از عناصر معدنی تولید می کنند که کانیهای زیستی نامیده شده‌اند. لازم بذکر است که در گلسنگهای ساکن بر بسترهای سنگی، قارچها از مواد غذایی آلی تولید شده توسط جلبکها استفاده می کنند و اسیدهای ترشحی قارچی موجب انحلال مواد معدنی بستر می شود. علاوه بر این، قارچها قادر به رشد بر روی ذرات گرد و غبار و لایه های سیمانی هستند و بدین طریق اسپورهایشان را در هوا و اطراف خود پراکنده می‌کنند. این موجودات قادر به تجزیه مواد غذایی، پارچه، چوب، پلاستیک، چرم، چسب و دیگر مواد می باشند. خاصیت تجزیه کنندگی قارچها، سبب بازگشت مواد به محیط می شود و این موجودات به عنوان پاک کننده های محیط زیست شناخته شده‌اند (۱، ۱۲، ۱۹ و ۲۳) .

در دهه های اخیر، به دنبال افزایش آلودگی هوا و فعالیتهای صنعتی ترکیب آلاینده های موجود در اتمسفر کره زمین تغییر یافته و شرایط برای رشد چنین موجوداتی افزایش یافته است. یکی از موادی که در هوای مناطق شهری فراوان است، دی اکسید سولفور می باشد که تشکیل پوسته‌هایی روی سنگ آهک می دهد. این پوسته، ماده‌ای کریستالی، خاکستری مایل به سیاه و سخت می‌باشد که روی سطوح سنگی تشکیل می شود که اگر چه توسط قارچ مستقیماً مورد استفاده قرار نمی گیرد بلکه با تأمین شرایط اسیدی محیط، عملاً به رشد قارچها به طور غیر مستقیم کمک می‌کند. مطابق مطالعات انجام شده قارچها از طریق به دام انداختن هیدروکربنها، می‌توانند سبب ایجاد پوسته های سیاه رنگ روی سطوح سنگی شوند (۳، ۴، ۵، ۱۰، ۱۷ و ۱۸).

در این مطالعه، بجداسازی و شناسایی قارچهای بنای تاریخی پاسارگاد به عنوان یکی از عوامل فرسودگیهای زیستی پرداخته شده است.

مواد و روشها

نمونه برداری به روش کلاسیک و با استفاده از سواب و اسکالپل استریل، از بنای پاسارگاد انجام شد (۷). نمونه ها در محیط کشت Potato Dextrose Agar (PDA) قرار داده شد و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل گردید.

جداسازی و شناسایی قارچها: محیطهای کشت: محیطهایی که در این مطالعه استفاده شد شامل Potato Dextrose Agar (PDA) و Sabouraud Dextrose Agar (SDA) برای کپکها و Corn Meal Agar (CMA)، Yeast Malt Agar (YMA) و Urea Agar برای شناسایی مخمرها می باشند. این محیطها بر اساس دستورالعمل کارخانه سازنده، آماده و مورد مصرف قرار گرفت.

www.SID.ir

Archive of SID

قارچها بر روی PDA و SDA کشت و در دمای ۲۵ تا ۲۸ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا کلنیهای خالص به دست آید.

برای مشاهده ساختار های رویشی و زایشی قارچها از روش اسلاید کالچر استفاده گردید. برای این منظور از محیط کشت PDA استفاده شد و در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد گرما گذاری گردید و اسلاید ها از طریق رنگ آمیزی لاکتو فنل بلو توسط میکروسکوپ نوری بررسی شدند. سطح رویی و پشتی کلنیها از طریق استریومیکروسکوپ بررسی گردید (۱).

علاوه بر روشهایی که در بالا اشاره شد، برای شناسایی اختصاصی مخمر ها از تستهای بیوشیمیایی استفاده گردید. این تستها شامل تست هیدرولیز اوره، تست دی بی بی (DBB)، تست تخمیر قندهاست که مطابق کتاب روشهای تئوری و آزمایشهای تخمیری انجام شد (۱۹) و از محیط کورن میل آگار برای بررسی تولید میسلیوم و نوع اسپور های به وجود آمده استفاده شد.

تست هیدرولیز اوره: مخمرها بر روی محیط اوره آگار کشت داده شد و به مدت ۴ روز در ۲۸ درجه سانتی‌گراد گرما گذاری شد. این تست قادر به جداسازی مخمرهایی است که هیدرولیز اوره را انجام می دهند.

محیط اوره شامل پپتون g/l ۱، NaCl g/l ۵، پتاسیم دی هیدروژن فسفات g/l ۲، فنل رد g/l ۰/۰۱ و آگار g/l ۱۵ می‌باشد (۲۱).

تست DBB: با تولید رنگ قرمز بر روی محیط کشت مربوطه بازیدیومیست‌ها از آسکومیست‌ها جدا می شود. برای این منظور از کشت ده روزه مخمر بر محیط کشت YMA استفاده گردید. سپس مخمر به مدت ۴ ساعت در ۵۵ درجه سانتی‌گراد گرما گذاری و پس از آن معرف رنگی DBB روی کشتها ریخته شد. کشتهایی که تغییر رنگ داده و قرمز شوند متعلق به گروه بازیدیومیست می باشند (۲۱).

محیط YMA شامل: عصاره مخمر g/l ۳، عصاره مالت g/l۳، پپتون g/l ۵، گلوکز g/l ۱۰ و آگار g/l ۲۰ می‌باشد.

تست تخمیر قند: اغلب مخمر ها قادر به تخمیر قند دکستروز در شرایط بی هوازی می باشند و گاز دی-اکسیدکربن تولید می‌کنند. بیشتر مخمر ها مقدار کمی اتانول و دی اکسیدکربن تولید می کنند. مخمر هایی که قادر به تخمیر نمی باشند مقادیر بسیار کمی اتانول و دی اکسید کربن تولید می‌کنند که تولید گاز با استفاده از لوله دورهام قابل تشخیص نمی باشد.

در این مطالعه، بررسی تخمیر برای ۷ قند گلوکز، گالاکتوز، سوکروز، مالتوز، لاکتوز، رافینوز و تره هالوز انجام شد. سوسپانسیون مخمری با غلظت 10^7 سلول تهیه و در محیطهای قندی تلقیح گردید. محیطها به مدت یک ماه در ۲۸ درجه سانتی‌گراد گرما گذاری شد و به طور هفتگی تغییرات آن بررسی شد (۲۱).

تست کورن میل آگار: مخمر ها در محیطهای کشت مخصوص مانند کورن میل آگار قادر به رشد رشته‌ای می باشند. برای این منظور از روش دالمن استفاده شد. در این آزمایش، مخمر ها به صورت دو نقطه در کنار و یک خط در وسط، در محیط مذکور کشت داده شدند. دو لامل استریل روی یک نقطه و در وسط خط قرار داده شد و محیطها به مدت یک هفته در ۲۸ درجه سانتی‌گراد گرما گذاری گردید. جهت مشاهده نحوه تولید میسلیومها، محیطها هر روز بررسی شد. مخمرهایی که میسلیوم تولید می کنند، قادر به تولید پرز بر روی لامل می باشند. بعد از یک هفته، اسلاید ها با کمک رنگ آمیزی لاکتوفنل بلو توسط میکروسکوپ نوری مشاهده شدند. گاهی اوقات آسکوکارپ ها، کلامیدوسپور ها و آرتروسپورها به خوبی قابل رویت می باشند (۲۱).

میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM): جهت مطالعات میکروسکوپ الکترونی نگاره از چند نمونه سنگ محوطه اطراف بنا که از لحاظ ساختمانی مشابه سنگ بنا بود

www.SID.ir

Archive of SID

استفاده شد. قبل از مشاهده با میکروسکوپ الکترونی، لازم است که سنگها آبگیری شوند. مراحل آبگیری از سنگ شامل فیکساسیون نمونه در محلول گلوتارآلدهید (w/v) ۲ درصد به مدت ۶۰ دقیقه، غوطه ور سازی نمونه در بافر فسفات ۰/۱۷۵ مولار با pH ۷/۵ به مدت ۳ تا ۵ دقیقه و مرحله آخر، آبگیری نمونه در اتانول ۳۰،۵۰،۷۰،۸۰،۹۰ درصد (w/v) و در نهایت اتانول مطلق می باشد که زمان هر مرحله آبگیری ۱۵ دقیقه می باشد.

نتایج و بحث

شناسایی قارچها: کپکها و مخمرها بطریق کشت و مشاهده میکروسکوپی ساختارهای رویشی و زایشی، شناسایی گردید. تعداد ۳۳ قارچ از سطوح بنای تاریخی پاسارگاد جدا شد. شناسایی مورفولوژیکی قارچها با استفاده از کتاب اطلس قارچ شناسی انجام شد (۱۵). بر طبق کلید شناسایی، قارچهای غالب روی سنگهای آهکی پاسارگاد شامل *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp., *Ulocladium* sp., *Fusarium* sp., *Humicula* sp., *Arthirinium* sp. و مخمرها می باشند که مطابق جدول ۱ خصوصیات کلیدی میکروسکوپی و ماکروسکوپی فهرست و تصاویر اسلاید کالچر آنها ارائه شده است (شکل ۱).

جدول ۱- ویژگیهای میکرو-ماکروسکوپی.مورد استفاده در شناسایی جدایه‌ها

نام قارچ	خصوصیات ماکروسکوپی	خصوصیات میکروسکوپی (مورفولوژی)
Alternaria sp. (Code: 9-1-n, 9-2* & 9-3)	قطر کلنی: ۲۵ سانتی متر ظاهر کلنی: تخت، پشمی و بوسیله ی هیف های در دیواره کنیدیوفور بوجود می آیند. دارای اسپور سبز، کوتاه و محیطی پوشیده شده اند. سطح کلنی: در ابتدا سبز و سفید است وسپس بسبز تیره یا زیتونی مایل بقهوه ای تغییر رنگ می‌جدید بوسیله ی انفصال دیواره، از طریق یک منفذ دهد. حاشیه کلنی: سفید پشت کلنی: قهوه ای متمایل بسیاه (علت: تولید پیگمان)	متعلق بگروه Porosporae: کنیدی ها از سوراخی های قهوه ای تیره می باشند که از کنیدیوفورها منشعب شده اند (ساده یا انشعاب دار). اسپورهای در نوک اسپور قبلی بوجود می آیند. اسپورها توسط دیواره های عرضی و طولی، بتعدادی سلول تقسیم شده اند. میسلیوم ها دارای دیواره های عرضی می باشند.
Cladosporium sp. (Code: 1-2, 6-2 & 5-3)	ظاهر کلنی: پرزی سطح کلنی: سبز پشت کلنی: سیاه نسبتاً کند رشد می باشد.	متعلق بگروه Blastosporae: کنیدی ها از جوانه زنی کنیدیوفور یا سلول های هیف بوجود آمده و اغلب بصورت زنجیره ای است. اسپور ها سیاه رنگ و بیضی شکل و تعداد کمی کروی می باشند و انشعابات از کنیدیوفور سیاه بوجود می آیند. جوان ترین اسپور در نوک زنجیره است. میسلیوم ها دارای دیواره های عرضی می باشند.
Sterile mycelia (Code: 5-2)	ظاهر کلنی: پنبه ای سطح کلنی: صورتی روشن پشت کلنی: صورتی روشن	در این نمونه فقط قسمت های رویشی قارچ مشاهده شد و ظاهر هیف ها نخ مانند می باشند.
Sterile mycelia (Code: 6-1-a & 6-3)	ظاهر کلنی: پنبه ای سطح کلنی: سفید پشت کلنی: زرد	در این نمونه فقط قسمت های رویشی قارچ مشاهده شد و ظاهر هیف ها نخ مانند می باشند.

www.SID.ir

Archive of SID

Ulocladium sp. (Code: 7-1, 6-1-b)	ظاهر کلنی: پرزی سطح کلنی: سبز تیره یا قهوه ای پشت کلنی: قهوه ای تیره حاشیه کلنی: سبز	متعلق بگروه Porosporae: کنیدی ها از سوراخی در دیواره کنیدیوفور بوجود می آیند. کنیدیوفورها تیره رنگ می باشند و از طریق منافذ زیادی که در طولشان است کنیدی را حمل می کنند. کنیدی قهوه ای تیره می باشند و شبه تخم مرغ تا استوانه ای شکل هستند و توسط تعداد زیادی دیواره ی طولی و عرضی بتعداد زیادی سلول تقسیم شده اند.
Fusarium sp. (Code: 8-b-3-n & 8-b-3)	ظاهر کلنی: پشمی و پرزی سطح کلنی: صورتی پشت کلنی: صورتی	متعلق بگروه Phialosporae: کنیدی ها بصورت زنجیره ای از فیالید تولید می شوند. کنیدی بدون رنگ هستند و بشکل "پای سلولی" مشخص در انتهای پایینی هستند و توسط دیواره-های عمودی، تقسیم شده است. کنیدیوفورها اغلب، خوشه ای هستند و اسپورودوکیا را تشکیل می دهند و تولید توده ی خمیری بزرگی از اسپور ها را می کنند که از فیالاید های مخروطی منشا می گیرند.
Arthrinium sp. (Code: 9-2 & 7-2)	ظاهر کلنی: پشمی سطح کلنی: سفید پشت کلنی: سفید با گذشت زمان، کلنی، قهوه ای مایل بسیاه می شود.	متعلق بگروه Blastosporae: کنیدی ها از جوانه زنی کونیدیوفورو یا سلولهای هیف و اغلب بصورت زنجیره ای بوجود می آیند. اسپورها گرد، کوچک، قهوه ای و معمولاً تخت می باشند. زمانی که اسپورها رشد می کنند، بصورت پوست حلزون می شکنند.

مطابق کتاب روشهای تئوری و آزمایشهای تخمیری (۱۹) و انجام آزمایشهای بیوشیمیایی، شناسایی مخمرها صورت گرفت. به طور کلی ۱۸ مخمر از منطقه مورد نظر جدا شد.

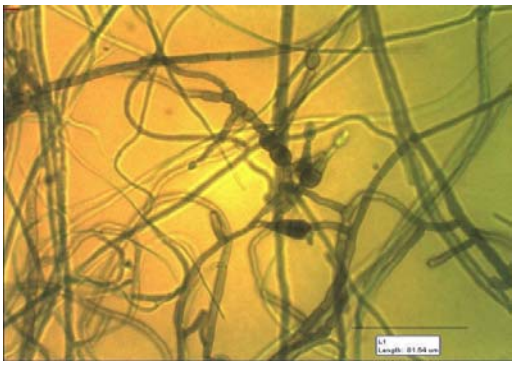
میکروسکوپ الکترونی نگاره: حضور و رشد میسلیومهای قارچی، پدیده های کریستالیزاسیون، ایجاد حفره‌های زیستی و شکرزدگی از طریق میکروسکوپ الکترونی نگاره بررسی شد (شکل ۲). این پدیده ها در سطوح سنگهای آهکی به علت رشد قارچها و همچنین تولید و ترشح آنزیمها و اسیدهای آلی و غیرآلی رخ می دهد. آنزیمهای غالبی که توسط قارچها تولید می شوند شامل آمیلاز، کاتالاز و کازئیناز می باشند. اسید اگزالیک، اسید گلوکونیک و اسید لاکتیک، اسید های معمولی هستند که توسط قارچهای مستقر بر سطوح سنگی ترشح می شوند. موارد ذکر شده سبب فرسودگی زیستی سنگ و کلاته کردن فلزاتی مانند کلسیم، آلومینیوم، سیلیسیوم، آهن، منگنز و منیزیم موجود در مواد سنگی می شوند (۷، ۹، ۱۰و ۱۱).

www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه گیری

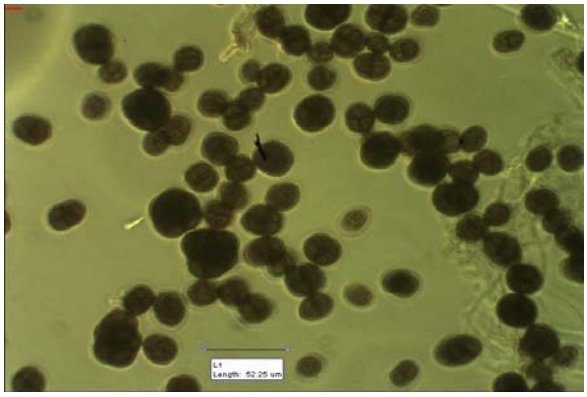
بناهای تاریخی در معرض تغییرات آب و هوایی مانند رطوبت، گرما، باران، نور خورشید، آلودگی هوا و همچنین انواع مواد شیمیایی مانند بیوساید ها، سورفاکتانت ها و ترکیبات آب دوست قرار دارند. موارد مذکور سبب مستعد شدن و گاه تحریک رشد عوامل زیستی در بناها می گردد.



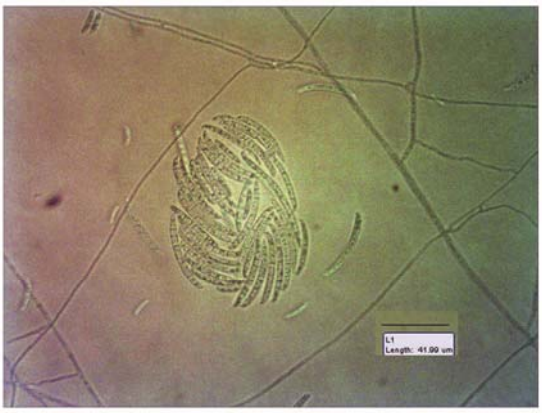
(الف)

(ب)

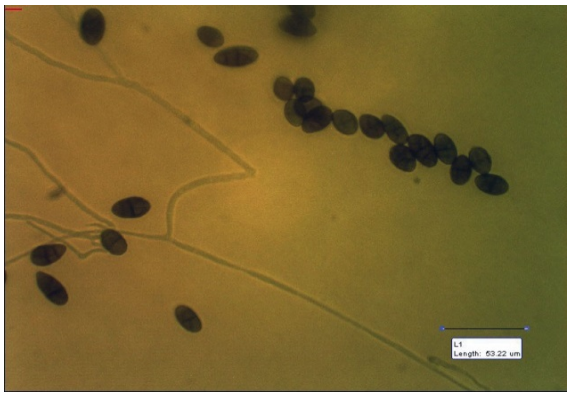
(ج)



(چ)



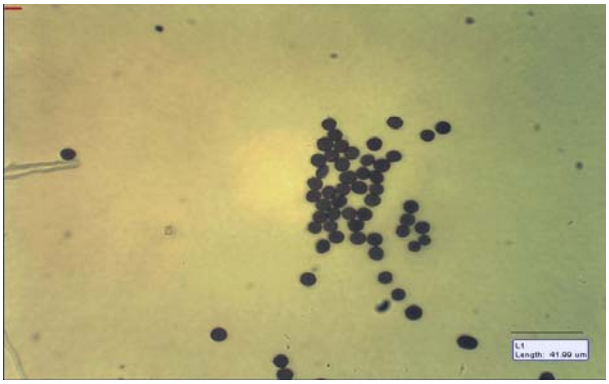
(ح)



(خ)

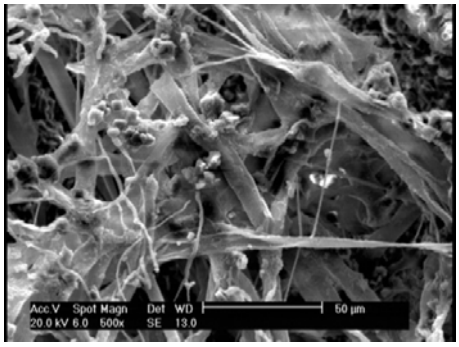
www.SID.ir

Archive of SID



(د)

شکل ۱- تصاویر میکروسکوپی از اسلاید کالچر نمونه های شناسایی شده قارچی. (الف) *Alternaria* sp.، (ب) *Cladosporium* sp.، (ج) *Cladosporium* sp.، (چ) *Ulocladium* sp.، (ح) *Fusarium* sp.، (خ) *Ulocladium* sp.، (د) *Arthrinium* sp.



شکل ۲- حضور میسلیومهای قارچی و بلورهای نمکی و نیز اکتینومیست ها، در شکل به خوبی مشاهده می شود.

در این مطالعه، ۶ جنس قارچی از سنگهای آهکی پاسارگاد جدا و شناسایی شد. این شناسایی بر اساس روشهای کشت و آزمونهای بیوشیمیایی انجام شد. با کمک میکروسکوپ الکترونی نگاره، تغییرات سطح سنگها، حضور قارچها و فرسودگی زیستی سنگهای آهکی پاسارگاد تأیید گردید. پدیده هایی مانند تشکیل حفره زیستی، کریستالیزاسیون و شکرزدگی در این سنگها مشاهده شد. می توان این گونه نتیجه گرفت که قارچها جمعیت غالب میکروارگانیسم‌های سطوح پاسارگاد را تشکیل می دهند و نقش آنها در فرسودگی زیستی قابل توجه است. در این مطالعه، در قدم اول بشناسایی عوامل زیستی با روشهای کلاسیک پرداخته شد و در مطالعات بعدی، با استفاده از تکنیکهای مولکولی بشناسایی جدایه‌ها در حد گونه پرداخته خواهد شد. قبل از حفاظت و مرمت آثار باستانی و تاریخی، شناسایی عوامل فرسودگی زیستی ضروری است.

تشکر و قدردانی

در انتها لازم است از ریاست محترم وقت پژوهشگاه میراث فرهنگی، صنایع دستی و گردشگری جناب آقای دکتر بذرگر و ریاست محترم وقت بنیاد پارسه و پاسارگاد دکتر طالبیان به دلیل فراهم آوردن امکان نمونه برداری از محل تقدیر و تشکر گردد. همچنین از همکاری و مساعدت کارشناسان، همکاران محترم و دوستان عزیز آزمایشگاههای میکروبیولوژی دانشگاه الزهراء (س) به خصوص خانمها یوسفی، فلاحی و قلی پور شهرکی به خاطر ایجاد فضای مناسب کاری تشکر و قدردانی می‌گردد. تمامی آزمایشهای میکروبیولوژی با هزینه طرح شماره ۸۸۰۰۱۶۹۲ صندوق حمایت از پژوهشگران جوان و در آزمایشگاه ملی میکروبیولوژی صنعتی دانشگاه الزهراء (س) انجام شد.

منابع

1- Aina V. O., Adewumi, A. A. J., Haruna, H., and Zakari, A. (2011). “Isolation and Identification of Fungi Associated with the Deterioration of Painted Wall surfaces within Kaduna Polytechnic”. *Asian Journal of Medical Sciences*, 3(6), 250-253.

www.SID.ir

Archive of SID

2- Allsopp, D., Seal, K. J., and Gaylarde, C. C. (2004). *Introduction to biodeterioration*. 2nd ed. Cambridge University Press. New York, USA.

3- Ascaso, C., Delgado Rodrigues, J., Rios, A., Souza-Egipsy, V., Wierzchos, J. (2002). "In situ evaluation of the biodeteriorating action of microorganisms and the effects of biocides on carbonate rock of the Jeronimos Monastery (Lisbon)". *International Biodeterioration & Biodegradation*, 49, 1-12.

4- Burford, E. P., Gadd, G. M., Kierans, M., (2003). "Geomycology: Fungal growth in mineral substrata". Mycologist, 17, 98-107.

5- Cappitelli, F., Pasquariello, G., Tarsitani, G., and Sorlini, C. (2010). "Scripta manent? Assessing microbial risk to paper heritage". *Trends in Microbiology*, 18.

6- Dakal, T. C., and Arora, P. K. (2012). "Evaluation of potential of molecular and physical techniques in studying biodeterioration". *Rev Environ Sci Biotechnol*, 11, 71-104.

7- González, J. M., and Saiz-Jiménez, C. (2005). "Application of molecular nucleic acid-based techniques for the study of microbial communities in monuments and artworks". *International Microbiology*, 8, 189-194.

8- Gorbushina, A. A., Heyrman, J., Dornieden, D., Gonzalez-Delvalle, M., Krumbein, W. E., Laiz, L., Petersen, K., Saiz-Jimenez, C., and Swings, J. (2004). "Bacterial and fungal diversity and biodeterioration problems in mural painting environments of St. Martins church (Greene–Kreiensen, Germany)". *International Biodeterioration and Biodegradation*, 53, 13-24.

9- Gutarowska, B., and Piotrowska, M. (2007). "Methods of mycological analysis in buildings". *Building and Environment*, 42, 1843-1850.

10- Griffin, P. S., Indictor, N., and Koestler, R. J. (1991). "The Biodeterioration of Stone: a Review of Deterioration Mechanisms, Conservation Case Histories, and Treatment". *International Biodeterioration*, 28, 187-207.

11- Ismail, M. A. (1993). "Degradative Enzymes and Fungal Flora Associated with the Egyptian Foodstuff Kishk". *International Biodeterioration and Biodegradation*, 31, 143-157.

12- Maheshwari, R. (2005). *Fungi Experimental Methods in Biology*. 2nd ed. CRC Press. USA.

13- Mohammadi, P. (2010). "Spectrofluorometry as a tool to evaluate biocide efficiency on deteriorating rock fungi". *Iranian Journal of Biology*, 24(6), 818- 825.

14- Mohammadi, P., Marakuat, Y., Korombien, W., Gerboshina, A. (2010). *Iranian Journal of Biology*, 23(5), 1-8.

15- Piñar, G., Lubitz, W. (2004). "Molecular Techniques: Aplication to the Analysis of Microbial Communities Colonising Art Works and to the Monitoring of Changes. Case Study: Wall Paintings of the Castle of Herberstein. In: European Research on Cultural Heritage". State-of-the-Art Studies. Vol.2. Ed, M Drdácký. Academy of Sciences of the Czech Republic, 1st Ed. Prague, Czech Republic, pp. 421-432.

16- Ruibal, C., Platas, G., and Bills, G.F. (2008). "High diversity and morphological convergence among melanised fungi from rock formations in the Central Mountain System of Spain". Persoonia 21, 93-110.

17- Saiz-Jimenez, C. (1993). "Deposition of airborne organic pollutants on historic buildings". *Atmosphere Enviroment*, 27B, 77-85.

18- Saiz-Jimenez, C. (1997). "Biodeterioration vs Biodegradation: the Role of Microorganisms in the Removal of Pollutants Deposited on Historic Buildings". *International Biodeterioration and Biodegredation*, 40, 225-232.

19- Scheerer, S., Ortega-Morales, O., and Gaylarde, C. (2009). "Microbial Deterioration of Stone Monuments-An Updated Overview". *Applied Microbiology*, 66.

20- Sharma, K., and Lanjewar, S. (2010). "Biodeterioration of ancient monument (Devarbija) of Chattisgarh by fungi". *Microbiology, Journal of Phytology*, 2(11), 47-49.

21- Soudi, M.R. (1999). Fermentation Processes, Theory and Applications. Alzahra University Press. Tehran, Iran.

22- Warscheid, Th., and Braams, J. (2000). "Biodeterioration of Stone: a review". *International Biodeterioration and Biodegredation*, 46, 34.

23- Webster, J., and Roland W.S. Weber, R. W.S. (2007). *Introduction to fungi*. 3rd ed. Cambridge University Press, United Kingdom.

www.SID.ir

Archive of SID

Fungi as a biodeteriorant of Pasargadae stone monuments

Maghbooli N. and Mohammadi P.

Biology Dept., Faculty of Sciences, Alzahra University, Tehran, I.R. of Iran

Abstract

Established by Cyrus the Great in the 6th century BC, Pasargadae is the first dynastic capital of the Achaemenid Empire. One of its most important stone monuments is the tomb of Cyrus the Great (559-530 BC) which was built with large pieces of limestone. Pasargadae is generally identified as the second largest archaeological site after the imperial palace complex of Persepolis. Today, this monument is entitled by UNESCO as a World Heritage Sites. This study aimed to survey the role of fungi in biodeterioration of Pasargadae stone monuments for the first time. In general, 33 fungal isolates were attained from stone surfaces of the Cyrus tomb. All the isolates were subcultured on Potato Dextrose Agar and Sabouraud Dextrose Agar. For microscopic observations, slide culture technique was carried out. The isolates were identified based on macro- and micromorphological characteristics. Overall, dematiaceous hyphomycetes and yeasts were isolated. Among the isolated fungal genera, *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp., *Ulocladium* sp., *Fusarium* sp., *Humicula* sp., *Arthirinium* sp. and yeasts were dominant. To observe the biodeterioration process caused by fungi, Scanning Electron Microscopy was used for stone samples. The results confirmm biopitting, sugaring and etching damages caused by growth of fungal hyphae on and inside the stone surfaces. The identity of the isolates will be examined by molecular sequence level data. Isolation and characterization of biodeteriorants are the first step for conservation of any stone surface of monuments.

Key words: Pasargadae, Fungi, Biodeterioration, SEM

www.SID.ir