بررسی قارچ‌های سیاه ساکن سنگ (Rock inhabiting fungi)

آرامگاه کورش کبیر

مهناز قلی‌پور شهرکی و پریسا محمدی*

تهران، دانشگاه الزهراء، دانشکده علوم زیستی، گروه میکروبیولوژی

تاریخ دریافت: ۹۶/۲/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۶/۵/۴

چکیده

قارچ‌های سیاه به دلیل توانایی بالایی که در تحمل شرایط سخت محیطی دارند از ساکنان اصلی سطوح سنگی در مناطق بیابانی و نیمه بیابانی به شمار می‌روند و طی رشد در سطح سنگ، اثرات مختلفی بر آن بجا می گذارند. مطالعه حاضر با هدف بررسی تاثیر قارچ‌های سیاه ساکن سنگ بر آرامگاه کورش کبیر به عنوان یکی از مهمترین بناهای تاریخی ایران انجام شد. با پایش اولیه بنا، حضور این میکروارگانیسم‌ها در جبهه‌های مختلف آرامگاه نشان داده شد. بمنظور ارزیابی کمی و کیفی تاثیر قارچ‌های سیاه بر بستر سنگی آرامگاه، از قطعات سنگ جدا شده از بنا و سنگ‌های دارای آثار مشابه از معدن سیوند، نمونه‌برداری انجام شد. تهیه مقطع عرضی، رنگ آمیزی PAS (Periodic Acid Schiff) و بررسی نتایج با نرم‌افزار ImageJ انجام گرفت. تأیید نتایج به‌دست آمده نیز با استفاده از تصویر برداری با میکروسکوپ الکترونی روبشی صورت پذیرفت. نتایج، حاکی از نفوذ قابل توجه این قارچ‌ها در بستر آرامگاه و تاثیر فیزیکی و شیمیایی ناشی از آن در سنگ بستر بود. با توجه به نتایج به‌دست آمده، چنین به نظر می‌رسد در تدوین و اجرای برنامه‌های حفاظت و مرمت بناهای تاریخی پاسارگاد، توجه به این میکروارگانیسم‌ها بسیار ضروری است.

واژه های کلیدی: قارچ‌های سیاه، آرامگاه کورش کبیر، فرسودگی زیستی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱۸۸۰۴۴۰۵۱ ، پست الکترونیکی: p.mohammadi@alzahra.ac.ir

مقدمه

قارچ‌های سیاه ساکن سنگ‌ها که به آن‌ها قارچ‌های میکروکلنی (Microcolony fungi) یا قارچ‌های مریستماتیک (Meristematic fungi) هم گفته می‌شود، گروه متنوعی از آسکومیست‌های تولید کننده ملانین هستند که ویژگی‌های ریخت‌شناختی ویژه‌ای دارند و بر همین اساس می‌توانند شرایط محیطی دشوار و استرس‌های محیطی را به خوبی تحمل کنند (۱۹). این قارچ‌ها، کلنی‌های سیاه و توده مانندی را تشکیل می‌دهند که در شکاف‌ها، منافذ، ترک‌ها و در ریزحفراتی که نتیجه فعالیت فرسایشی خودشان است؛ رشد می‌کنند. رطوبت، دما، تابش خورشید، آلاینده‌های آلی و معدنی و ترکیبات مغذی که در سطح سنگ رسوب می‌کنند در استقرار، رشد و افزایش آن‌ها در سطح سنگ موثر است (۳۱). همچنین قارچ‌ها از مخرب‌ترین میکروارگانیسم‌های ساکن سطوح سنگی به شمار می‌روند. آن‌ها با تغییر رنگ سطوح، باعث از بین رفتن زیبایی اثر شده و با رشد سلولی و ترشح اسیدهای آلی و معدنی در فرسایش فیزیکی و شیمیایی آثار سنگی نقش انکار ناپذیری ایفا می‌کنند (۶). اسیدهای آلی متنوعی مانند اسید اگزالیک، اسید سیتریک، اسید استیک، اسید فوماریک، اسید فرمیک، اسید گلوکونیک، اسید پیرورویک و غیره توسط قارچ‌ها تولید می‌شوند که به عنوان عوامل کلاته کننده (Chelating agent) عمل می‌کنند. در کنار این

Archive of SID

www.SID.ir

اسیدها، باید نقش اسید کربنیک را نیز در نظر گرفت که طی فرآیندهای تنفسی سلول ایجاد می‌شود. همه این ترکیبات می‌توانند با عناصر موجود در ساختار سنگ واکنش داده و در نهایت باعث فرسایش آن شوند (۲۲). رشد قارچ‌های سیاه محدود به سطح سنگ نیست. آن‌ها قابلیت نفوذ به عمق سنگ را دارند و نتیجه این عمل گسترش فرسودگی به عمق بستر است که باعث سست شدن ساختار سنگ و در نهایت جدا شدن لایه‌های سطحی آن می‌شود (۲۵). با در نظر گرفتن این قابلیت‌ها، قارچ‌های سیاه از مهم‌ترین میکروارگانیسم‌ها در حوزه فرسودگی زیستی آثار تاریخی سنگی قلمداد می‌شوند.

ایران، یکی از غنی‌ترین کشورهای جهان در حوزه آثار باستانی به شمار می‌رود. بناهای تاریخی منحصر به‌فردی در ایران وجود دارد که مجموعه باستانی پاسارگاد یکی از آن‌ها است که در فهرست میراث جهانی یونسکو قرار گرفته است. پاسارگاد، اولین اقامتگاه پادشاهی است که حدود ۲۵۰۰ سال قبل و پس از تأسیس امپراتوری هخامنشی توسط کورش کبیر ساخته شده است (۱۸). آرامگاه کورش کبیر مهم‌ترین و دست نخورده‌ترین بنا در مجموعه باستانی پاسارگاد است. در ساخت این آرامگاه با طول، عرض و ارتفاعی معادل ۱۱ × ۱۲/۳۰ × ۱۳/۲۵ متر از قطعات بزرگ سنگ آهک (Limestone) استفاده شده که مطالعات نشان داده‌اند منشأ آن‌ها، معدن سنگ سیوند است (۲۰). بر اساس مطالعات انجام شده سنگ آهک بیشتر از سایر انواع سنگ‌های مورد استفاده در آثار تاریخی در معرض تهاجم میکروارگانیسم‌ها قرار می‌گیرد (۵). جنس بستر آرامگاه کورش کبیر در کنار شرایط اقلیمی نیمه بیابانی منطقه، آن را تبدیل به بستر مناسبی برای رشد میکروارگانیسم‌های مقاوم در برابر شرایط دشوار محیطی، می‌نماید. علیرغم وجود مطالعات متعدد در مورد اهمیت قارچ‌های سیاه در فرسودگی آثار تاریخی سنگی و از طرف دیگر غنای این نوع آثار در ایران، تا کنون مطالعه گسترده و منسجمی در مورد این نوع میکروارگانیسم‌ها و تاثیر آن‌ها بر بناهای تاریخی کشورمان صورت نگرفته‌است. معدود مطالعات موجود در این زمینه، مربوط به قارچ‌های کپکی پاسارگاد و همچنین برخی کپک‌ها و قارچ‌های میکروکلنی پایگاه تخت‌جمشید بوده است (۲, ۱۲, ۱۶). در مطالعه حاضر سعی بر آن بوده است که حضور و نحوه تاثیر قارچ‌های سیاه بر بستر سنگی آرامگاه کورش کبیر مورد ارزیابی قرار گیرد تا نتایج حاصل از آن در تهیه و تدوین راهکارهای حفاظت و مرمت این بنای با ارزش بکار گرفته شود.

مواد و روشها

ویژگی‌های محل و نمونه برداری: بنای آرامگاه کورش کبیر دو بخش مجزا دارد. بخش اول متشکل از ۶ پله با ارتفاع‌های متفاوت و بخش دوم شامل اتاقکی با یک درب ورودی در نمای شمالی است (۲۶, ۲۷).

سه دسته سنگ آهک در بنا مورد استفاده قرار گرفته است. دسته اول که ۹۲/۵ ٪ از کل سنگ‌ها را در بر می‌گیرد، سنگ اولیه‌ای است که توسط سازندگان بنا مورد استفاده قرار گرفته است. دسته دوم و سوم را سنگ‌هایی تشکیل می‌دهند که بترتیب در مرمت‌های سال ۱۹۷۰ و ۲۰۰۶ میلادی به بنا افزوده شده‌اند. سنگ آهک مورد استفاده، دارای دانه بندی با اندازه کمتر از یک میلی‌متر با تخلخل شبکه‌ای (Fenestral porosity) بوده و عموماً از بلورهای کربنات کلسیم تشکیل شده است. ترکیبات حاوی آهن نیز در اطراف حفرات قابل مشاهده هستند (۲۱, ۲۶).

نمونه برداری: درک صحیح از میزان آسیب وارد شده به بنا، مستلزم بررسی میزان نفوذ میکروارگانیسم‌ها و تاثیر فیزیکی و شیمیایی آن‌ها بر بستر است (۴). به همین منظور نمونه برداری برای تهیه مقاطع عرضی و نازک، همچنین بررسی آسیب‌های فیزیکی و شیمیایی وارد شده به بستر انجام شد. از آنجایی که نمونه برداری از نمونه سنگ‌های آرامگاه، محدود به قطعات کوچک سنگ‌های جدا شده از

Archive of SID

www.SID.ir

بنا بود و در بسیاری از موارد این قطعات ضخامت کافی برای بررسی نفوذ میکروارگانیسم‌ها را نداشتند؛ همزمان نمونه برداری از معدن سنگ سیوند نیز انجام شد. نمونه سنگ‌های دارای آثار رشد قارچ‌های سیاه، شکسته شد و جهت انجام آزمایش‌ها به آزمایشگاه منتقل گردید. در مجموع ۵ نمونه از آرامگاه و تعداد ۱۰ نمونه سنگ از معدن سیوند تهیه شد.

تهیه مقطع نازک و رنگ آمیزی PAS : نفوذ میکروارگانیسم‌ها در بستر، از مهمترین عوامل گسترش فرسودگی در سنگ به شمار می‌رود. به همین دلیل ارزیابی عمق و مکانیسم نفوذ و سطح اشغال شده توسط میکروارگانیسم در بستر سنگ، در این نوع مطالعات از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. قطعات سنگ جمع آوری شده از محل‌های ذکر شده، با استفاده از دستگاه Struers Pronto press 10 در رزین تثبیت شد و برش‌های عرضی با قطر ۳۰ میکرومتر با کمک دستگاه Logitech CL40 تهیه شد. از مقاطع تهیه شده جهت رنگ آمیزی PAS استفاده شد.

بسیاری از تکنیک‌های رنگ‌آمیزی بمنظور تشخیص ترکیبات آلی در ساختار شیمیایی پیچیده سنگ و یا سایر کمپلکس‌های شیمیایی استفاده می‌شوند. رنگ‌آمیزی PAS یکی از این روش‌هاست که به تشخیص کربوهیدرات‌ها کمک می‌کند و در رنگ‌آمیزی بافت‌ها و سلول‌ها نیز استفاده می‌شود. این تکنیک در ارزیابی نفوذ میکروارگانیسم‌ها در بسترهای مختلف کاربرد دارد (۱۳)). مقاطع عرضی و نازک تهیه شده از نمونه سنگ‌های مختلف به مدت ۲ ساعت در متانول ۷۰ درصد نگهداری شد. تمام مراحل بعدی رنگ‌آمیزی برش‌های سنگی، با استفاده از شیکر مدل Kuhner با دور rpm ۶۰ انجام گرفت. در مرحله دوم نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه در اسید پریودیک قرار گرفت. مراحل بعدی شامل الکل ۷۰ درصد به مدت ۵ دقیقه، شستشو با آب مقطر به مدت ۵ دقیقه، محلول معرف شیف (Schiff reagent) به مدت ۱۰دقیقه، محلول متا بی سولفیت سدیم به مدت ۳ دقیقه، شستشو در آب مقطر ۵ دقیقه و اتانل ۷۰ درصد به مدت ۳۰ دقیقه بود (۲۹). همه نمونه‌ها پس از رنگ‌آمیزی با استفاده از میکروسکوپ نوری مدل نیکون بررسی شد و از هر نمونه ۵ عکس از مناطق تصادفی تهیه شد. عمق نفوذ و سطح کلونیزه شده هر کدام از تصاویر تهیه شده با استفاده از نرم‌افزار ImageJ محاسبه شد. میانگین نتایج به‌دست آمده به عنوان میزان نفوذ و سطح کلونیزه شده بستر گزارش گردید.

تصویر میکروسکوپ الکترونی: در مطالعات فرسودگی زیستی، تکنیک‌های میکروسکوپی متنوعی مورد استفاده قرار می‌گیرند. به عنوان مثال تکنیک SEM در بررسی‌های ریخت‌شناسی میکروارگانیسم‌های ساکن سنگ بکار می‌رود. با این تکنیک، امکان بررسی ناحیه کلونیزه شده سنگ در کنار ساختارهای سلولی فراهم می‌گردد (۳). جهت آماده‌سازی نمونه‌ها برای عکس برداری با میکروسکوپ الکترونی مراحل زیر انجام شد (۱۷).

قرار دادن نمونه‌ها در گلوتار آلدئید ۴ درصد؛ شستشو با بافر فسفات 0/1M؛ آب‌گیری از نمونه‌ها در محلول الکل با درصدهای متفاوت شامل: ۳۰، ۵۰، ۶۰، ۷۰ و ۸۰ درصد به مدت ۳۰ دقیقه و الکل ۹۰ درصد به مدت ۶۰ دقیقه و الکل ۱۰۰ درصد به مدت ۱۲ ساعت؛ خشک کردن نمونه‌ها در دستگاه فریز درایر (Freeze dryer) به مدت ۲ ساعت و در نهایت پس از آماده سازی نمونه‌ها، روی آن‌ها با پوشش طلا پوشانده شد و با استفاده از میکروسکوپ الکترونی (مدل TESCAN BEGA3S) تصویر برداری انجام شد.

نتایج

حضور قارچ‌های سیاه در بخش‌های مختلف بنا، قابل مشاهده بود. این قارچ‌ها به صورت کلنی‌های ریز سوزنی، کلنی‌هایی با اندازه بیشتر از یک میلی‌متر و یا پوشش‌هایی با گستردگی بیشتر از چند سانتی‌متر در سطح بنا مشاهده

Archive of SID

www.SID.ir

شدند (شکل ۱). تغییر رنگ سطح بنا (شکل 1B)، حفره حفره شدن (Biopitting)(شکل 1C) و در برخی موارد جدا شدن لایه‌های سطحی سنگ بنا (شکل 1D) از عوارض استقرار و رشد قارچ‌های سیاه در آرامگاه کورش کبیر بود. در بسیاری از موارد، این میکروارگانیسم‌ها در کنار گلسنگ‌ها مشاهده شدند (شکل 1C).

شکل ۱- حضور و رشد قارچ‌های سیاه در سطح آرامگاه کورش کبیر. A: نمای شمالی آرامگاه کورش کبیر. B: رشد گسترده قارچ‌های سیاه در نمای غربی سطح بنا با ستاره سیاه رنگ مشخص شده است. محل مشخص شده با پیکان سیاه رنگ، سطح مرطوب شده با آب را نشان می‌دهد که دلالت بر تغییر رنگ بستر دارد. C: نمای نزدیک از تصویر B. رشد قارچ‌های سیاه در کنار گلسنگ‌ها و حفره حفره شدن سطح سنگ مشاهده می‌شود. پیکان سفید رنگ دلالت بر قارچ‌های میکروکلنی دارد. D: رشد قارچ‌های سیاه (ستاره سفید رنگ) و کنده شدن لایه سطحی بستر ناشی از رشد میکروارگانیسم‌ها (پیکان سفید) نشان داده شده است. پیکان سیاه رنگ نشان دهنده حفرات کوچک ایجاد شده در اثر نفوذ و رشد میکروارگانیسم‌ها به‌درون بستر است.

برش گیری از مقطع عرضی سنگ‌های تهیه شده از محوطه باستانی پاسارگاد و معدن سیوند نشان دهنده نفوذ و تاثیر قارچ‌های سیاه در سنگ بستر بود. همانطور که قبلا نیز اشاره شد، استقرار میکروارگانیسم‌های درون‌سنگی در سنگ بستر، بستگی زیادی به ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آن دارد. بررسی نمونه سنگ‌های تهیه شده از مناطق ذکر شده در این پژوهش نیز نشان داد که علاوه بر جنس سنگ بستر و شرایط آب و هوایی منطقه، وجود ترک‌ها و حفرات سطح سنگ نیز در استقرار و رشد قارچ‌های سیاه در بستر نقش به‌سزایی دارد.

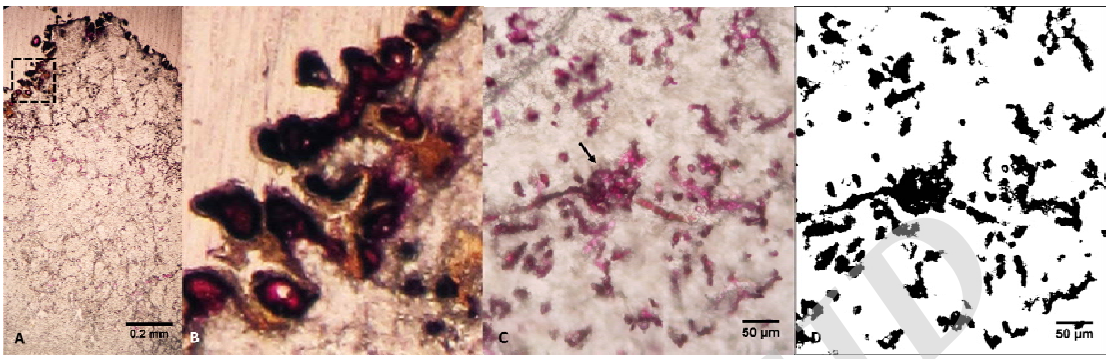
بررسی‌های انجام شده با نرم‌افزار ImageJ حاکی از نفوذ قارچ‌های سیاه تا عمق بیش از ۰/۶ میلی‌متر بود. آنالیز میزان استقرار قارچ‌های سیاه در عمق بستر نیز نشان داد که این میکروارگانیسم‌ها حدود ۲ ± ۱۵ درصد از سطح مورد بررسی را اشغال نموده‌اند (شکل۲).

تصاویر میکروسکوپ الکترونی نیز تأییدی بر نفوذ و تغییر فیزیکی وشیمیایی بستر، ناشی از رشد قارچ‌های سیاه دارد. همانطور که در شکل ۳ قابل مشاهده است کلنی‌های سوزنی قارچ‌های سیاه، حفراتی را درسطح بستر ایجاد نموده اند. در نمای نزدیک‌تر و در شکل 3B و 3C انحلال

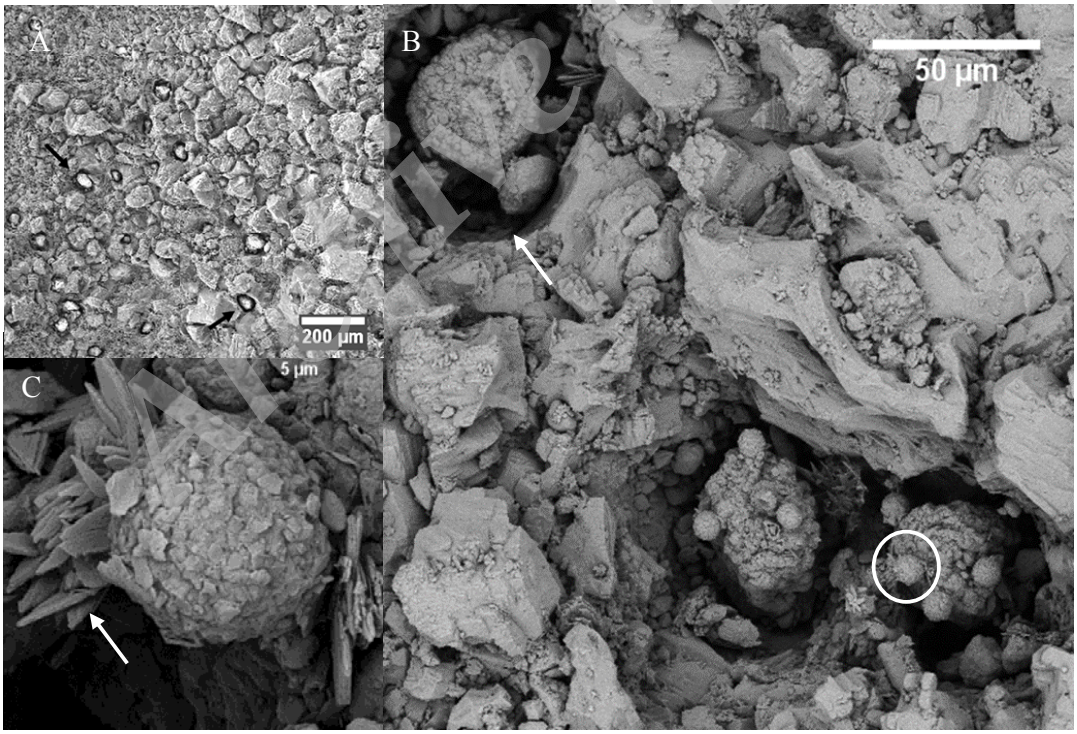
Archive of SID

www.SID.ir

و کریستالیزاسیون مجدد ترکیبات بستر به‌خوبی نشان داده شده است.



شکل ۲- مقطع عرضی تهیه شده از سنگ بنای آرامگاه پس از رنگ آمیزی با تکنیک PAS. A: استقرار قارچ‌های سیاه به صورت یک لایه ممتد در سطح سنگ و نفوذ آن‌ها تا عمق بیش از ۰/۶ میلیمتری سنگ بستر. B: بزرگنمایی بخش مشخص شده با مربع سیاه‌رنگ تصویر A و مشاهده نفوذ و تحلیل بستر در محل رشد قارچ‌های سیاه C: حضور هیف‌های قارچی در عمق مقطع عرضی. D: ارائه یک نمونه از آنالیز درصد استقرار قارچ‌های سیاه در بستر سنگ با استفاده از نرم‌افزار ImageJ.



شکل ۳- تصویر میکروسکوپ الکترونی از نفوذ قارچ‌های سیاه در بستر آرامگاه. A: حضور کلنی‌های قارچ‌های سیاه و حفره حفره شدن بستر در اثر رشد آن‌ها. B: بزرگنمایی شده حفره ایجاد شده در سنگ بنای آرامگاه در اطراف کلنی قارچ.C: بزرگنمایی محل مشخص شده در تصویر B با دایره سفید، ایجاد کانی‌های جدید با ظاهری متفاوت از بلورهای تشکیل دهنده سنگ بستر روی توده قارچی (فلش سفید).

www.SID.ir

بحث

سطح سنگ‌ها، زیستگاه طبیعی قارچ‌های سیاه محسوب می‌شود و حضور آن‌ها روی سنگ‌های اقلیم‌های بیابانی در سرتاسر جهان گزارش شده است. بخشی از این مطالعات با تمرکز بر جداسازی و شناسایی این گروه از میکروارگانیسم‌ها بوده(۱۰, ۲۳, ۲۴, ۲۸, ۳۰) و در ایران نیز گزارش‌هایی در این زمینه منتشر شده است (۱) نتایج این مطالعه نشان دهنده حضور و فعال بودن این میکروارگانیسم‌ها در بنای آرامگاه بود. این میکروارگانیسم‌ها جزء موجودات کند رشد هستند اما حضور و عملکرد آن‌ها در بناهای تاریخی به دلیل تاثیر مخربی که دارند، توسط محققان بسیاری مورد ارزیابی قرار گرفته است (۹, ۱۱, ۳۱). نتایج مطالعه مروسی و همکاران روی دو تندیس مرمرین در فلورانس نشان داد که حضور این میکروارگانیسم‌ها و تولید رنگدانه‌های سیاه توسط آن‌ها باعث از بین رفتن زیبایی ظاهری آثار شده است)۱۴(. نتایج این پژوهش نیز حاکی از تغییر رنگ بستر آرامگاه در اثر رشد قارچ‌های سیاه بود که زیبایی سطح آن را تحت الشعاع قرار داده است.

بر مبنای گزارش‌های قبلی، طی عملیات مرمت بنای آرامگاه در سال ۲۰۰۶ میلادی، سطح بنا، با استفاده از روش‌های فیزیکی پاکسازی شده است (۲۱). با وجود این، رشد و استقرار میکروارگانیسم‌های مختلف از جمله قارچ‌های سیاه در بخش‌های مختلف بنا، قابل مشاهده بوده و در برخی قسمت‌ها، وسعت زیادی را در بر می‌گرفت (شکل 1B). به نظر می‌رسد که پاکسازی صورت گرفته تاثیر چندانی در حذف قارچ‌های سیاه به عنوان یکی از عوامل بالقوه فرساینده بستر سنگی نداشته است.

نتایج همچنین نشان داد که قارچ‌های سیاه در فرسودگی فیزیکی و شیمیایی بستر آرامگاه نقش دارند (شکل ۲ و شکل ۳). چنین به نظر می‌رسد که این میکروارگانیسم‌ها علاوه بر نفوذ از طریق منافذ و ترک‌های موجود در سنگ بستر ، به تنهایی نیز قادر به فرسایش شیمیایی و ایجاد حفراتی در آن هستند (شکل 2B). این میکروارگانیسم‌ها علاوه بر نفوذ فیزیکی و استقرار در عمق سنگ، با تولید ترکیبات متنوع در تغییر رنگ (شکل 1B)، لایه لایه شدن (شکل 1D)، ایجاد حفرات میکروسکوپی (شکل 3A) و تشکیل کریستال‌های جدید در بستر سنگی (شکل 3C) نقش دارند. اولین مطالعه در مورد توانایی این دسته از قارچ‌ها در نفوذ فعال در بستر سنگ و تاثیر مستقیم آن‌ها در فرسودگی زیستی در سال ۱۹۹۷ منتشر شد)۲۵(. پس از آن در مطالعات متعددی به نقش قارچ‌های میکروکلنی در فرسایش سنگ‌ها پرداخته شده است. نتایج این مطالعات حاکی از نفوذ فیزیکی و فرسایش ناشی از آن در کنار تغییرات شیمیایی بستر در اثر رشد قارچ‌های میکروکلنی بود)۲۲, ۸, ۷(.

علاوه بر نوع میکروارگانیسم، ویژگی‌های فیزیکی بستر مانند زبری، تراکم، تخلخل و نفوذ پذیری در کنار ترکیب شیمیایی آن در استقرار میکروارگانیسم‌ها نقش تعیین کننده‌ای دارد. در واقع کاهش استحکام و یکپارچگی ساختار سنگ بهمراه افزایش تخلخل و حفرات در سطح آن منجر به افزایش شانس بقای میکروارگانیسم‌ها در آن می‌گردد) ۱۵(. نتایج این بررسی نیز نشان داد که فرسودگی فیزیکی سطح بستر سنگی، شرایط را برای استقرار قارچ‌های سیاه مناسب‌تر کرده است (شکل 1C). به نظر می‌رسد حفرات ایجاد شده در سطح سنگ در حفظ رطوبت نقش دارند و این مسئله در اقلیم نیمه بیابانی پاسارگاد اهمیت حیاتی برای میکروارگانیسم ها دارد. در واقع این امکان وجود دارد که حضور قارچ‌های سیاه به عنوان عوامل موثر در فرسایش زیستی در کنار شرایط مناسب ایجاد شده، این بنا را در معرض خطر فرسایش و آسیب‌های بیشتر قرار دهد. به طور کلی نتایج مطالعه حاضر حاکی از اهمیت قارچ‌های سیاه در فرسودگی زیستی آرامگاه است و به نظر می‌رسد در نظر گرفتن این

Archive of SID

www.SID.ir

میکروارگانیسم‌ها در برنامه‌های حفاظت و مرمت این بنای باستانی ضروری است.

سپاسگزاری

نویسندگان بر خود فرض می‌دانند که از دکتر بذرگر رئیس محترم وقت پژوهشگاه میراث فرهنگی و مدیر اجرایی وقت بنیاد پارسه آقای نصیری و پرسنل مجموعه به جهت فراهم آوردن امکان نمونه‌برداری قدردانی نمایند. این تحقیق با حمایت مالی صندوق حمایت از پژوهشگران ریاست جمهوری با شماره ۸۸۰۰۱۶۹۲ و در آزمایشگاه ملی میکروبیولوژی دکتر سپهر در دانشگاه الزهراء انجام شده است.

منابع

۱. قلی پور شهرکی، م. و پ. محمدی، ۱۳۹۳، جداسازی و شناسایی یک گونه قارچ سیاه از بستر سنگی آرامگاه کورش کبیر در: یازدهمین همایش حفاظت و مرمت اشیاء تاریخی-فرهنگی و تزیینات وابسته به معماری. دانشگاه هنر اسلامی تبریز.صفحه ۱۱۳.

۲. مقبولی بلاسجین، ن. و پ. محمدی، ۲۰۱۵، قارچ ها به عنوان یکی از عوامل فرسودگی زیستی بنای آرامگاه کوروش کبیر. مجله پژوهش‌های سلولی و مولکولی. ۲۸(۲): ص ۲۹۰-۲۹۸.

3. Ascaso, C. and J. Wierzchos, 1994, *Structural Aspects of the Lichen□Rock Interface Using Back□scattered Electron Imaging.* Botanica Acta. **107**(4): p. 251-256.

4. Casanova Municchia, A., et al., 2014, *Identification of endolithic traces on stone monuments and natural outcrops: preliminary evidences.* Journal of Raman Spectroscopy. **45**(11-12): p. 1180-1185.

5. Chen, J., H.-P. Blume, and L. Beyer, 2000, *Weathering of rocks induced by lichen colonization — a review.* CATENA. **39**(2): p. 121-146.

6. De Leo, F. and C. Urzì, 2003, *Fungal colonization on treated and untreated stone surfaces.* Molecular Biology and Cultural Heritage. Swets & Zeitlinger BV, Lisse, The Netherlands: p. 213-218.

7. Favero-Longo, S., et al., 2011, *Physical and chemical deterioration of silicate and carbonate rocks by meristematic microcolonial fungi and endolithic lichens (Chaetothyriomycetidae).* Geomicrobiology Journal. **28**(8): p. 732-744.

8. Gadd, G.M., 2007, *Geomycology: biogeochemical transformations of rocks, minerals, metals and radionuclides by fungi, bioweathering and bioremediation.* Mycological Research. **111**(1): p. 3-49.

9. Gaylarde, C., et al., 2017, *Analysis of dark crusts on the church of Nossa Senhora do Carmo in Rio de Janeiro, Brazil, using chemical, microscope and metabarcoding microbial identification techniques.* International Biodeterioration & Biodegradation. **117**: p. 60-67.

10. Gorbushina, A., 2003, *Microcolonial fungi: survival potential of terrestrial vegetative structures.* Astrobiology. **3**(3): p. 543-554.

11. Isola, D., et al., 2016, *Extremotolerant rock inhabiting black fungi from Italian monumental sites.* Fungal Diversity. **76**(1): p. 75-96.

12. Maghbooli Belasjin, N. and P. Mohammadi, 2015, *Fungi as a Biodeteriorant of Cyrus Tomb the Great Monument.* Journal of Cellular and Molecular Researches. **28**(2): p. 290-298.

13. Marques, J., et al., 2016, *On the dual nature of lichen-induced rock surface weathering in contrasting micro-environments.* Ecology. **97**(10): p. 2844-2857.

14. Marvasi, M., et al., 2012, *Black microcolonial fungi as deteriogens of two famous marble statues in Florence, Italy.* International Biodeterioration & Biodegradation. **68**: p. 36-44.

15. Miller, A.Z., et al., 2012, *Bioreceptivity of building stones: A review.* Science of The Total Environment. **426**: p. 1-12.

16. Mohammadi, P., et al., 2011, *Isolated Fungi From Persepolis Rocks; A Study To Identify The Biodeteriorating Agents of Cultural Heritage In Iran* Journal of cellular and Molecular Researches (Iranian Journal of Biology). **23**(5): p. 672-679.

17. Mohammadi, P. and W.E. Krumbein, 2008, *Biodeterioration of ancient stone materials from*

Archive of SID

www.SID.ir

the Persepolis monuments (Iran). Aerobiologia. **24**(1): p. 27-33.

18. Mozaffari, A., 2014, *World Heritage in Iran: Perspectives on Pasargadae*. Heritage, Culture and Identity, ed. B. Graham. Ashgate Publishing, Ltd.

19. Nai, C., et al., 2013, *Nutritional physiology of a rock-inhabiting, model microcolonial fungus from an ancestral lineage of the Chaetothyriales (Ascomycetes)*. Fungal Genetics and Biology. **56**: p. 54-66.

20. Rafiee Fanood, M., 2012, *The Debate on the Need for a Protective Shelter over the Mausoleum of Cyrus the Great*. Journal of Architectural Conservation. **18**(3): p. 53-70.

21. Rafiee Fanood, M. and F.M. Saradj, 2013, *Learning from the Past and Planning for the Future: Conditions and Proposals for Stone Conservation of the Mausoleum of Cyrus the Great in the World Heritage Site of Pasargadae.* International Journal of Architectural Heritage. **7**(4): p. 434-460.

22. Salvadori, O. and A.C. Municchia. *The Role of Fungi and Lichens in the Biodeterioration of Stone Monuments*. in *The Open Conference Proceedings Journal*. 2016.

23. Sert, H., H. Sümbül, and K. Sterflinger, 2007, *Microcolonial fungi from antique marbles in Perge/Side/Termessos (Antalya/Turkey)*. Antonie van Leeuwenhoek. **91**(3): p. 217-227.

24. Sterflinger, K., et al., 1997, *Coniosporium perforans and C. apollinis, two new rock-inhabiting fungi isolated from marble in the Sanctuary of Delos (Cyclades, Greece)*. Antonie van Leeuwenhoek. **72**(4): p. 349-363.

25. Sterflinger, K. and W.E. Krumbein, 1997, *Dematiaceous fungi as a major agent for biopitting on Mediterranean marbles and limestones*. Geomicrobiology Journal. **14**(3): p. 219-230.

27. Stronach, D., 1964, *Excavations at Pasargadae: Second Preliminary Report*. Iran. **2**: p. 21-39.

27. Stronach, D., 1965, *Excavations at Pasargadae: Third Preliminary Report*. Iran. **3**: p. 9-40.

28. Tsuneda, A., S. Hambleton, and R.S. Currah, 2011, *The anamorph genus Knufia and its phylogenetically allied species in Coniosporium, Sarcinomyces, and Phaeococcomyces.* Botany. **89**: p. 523-٥٣٦,

29. Whitlatch, R.B. and R.G. Johnson, 1974, *Methods for staining organic matter in marine sediments*. Journal of Sedimentary Research. **44**(4).

30. Wollenzien, U., et al., 1997, *Sarcinomyces petricola, a new microcolonial fungus from marble in the Mediterranean basin.* Antonie van Leeuwenhoek. **71**(3): p. 281-288.

31. Zakharova, K., et al., 2013, *Microcolonial Fungi on Rocks: A Life in Constant Drought?* Mycopathologia. **175**(5-6): p. 537-547.

Archive of SID

www.SID.ir

Investigation of the black rock inhabiting fungi of the tomb of Cyrus the Great

Gholipour Shahraki M. and Mohammadi P.

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

Abstract

Black fungi are considered as one of the original inhabitants of arid and semi-arid areas because of high ability to tolerate extreme environments. During the growth procedures, they alter the bedrocks. The present study was carried out to investigate the impacts of black rock inhabiting fungi on the tomb of Cyrus the Great bedrock. A preliminary monitoring of the tomb indicated to the presence of black fungi. Different samples of the tomb and Sivand quarry were prepared for qualitative and quantitative evaluations. The samples were evaluated with thin section preparations and Periodic Acid Schiff staining (PAS) and the results were analyzed by ImageJ software. Scanning electron microscopy technique (SEM) was used to confirm the results. The results show deep penetration of fungal hyphae into the bedrock and physico-chemical alteration of the substrate. According to the results, it seems that these microorganisms should be considered during the implementation of conservation and restoration programs.

Key words: Black fungi, tomb of Cyrus the Great, Biodeterioration

Archive of SID

www.SID.ir