

## قارچها به عنوان یکی از عوامل فرسودگی زیستی بنای سنگی پاسارگاد

نسیم مقبولی بلاسجین و پریسا محمدی\*

تهران، دانشگاه الزهراء<sup>(س)</sup>، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

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 مهم‌ترین آثار باستانی پاسارگاد، مقبره کوروش کبیر است که عمده آن از سنگهای آهکی ساخته شده است. پاسارگاد، دومین بنای تاریخی بزرگ بعد از پرسپولیس می‌باشد. 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 می‌پردازد. به طور کلی با استفاده از محیطهای کشت Potato Dextrose Agar و Sabouraud Dextrose Agar، جدایه از سطوح سنگی پاسارگاد به دست آمد. جدایه‌ها 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 مخمرها جدا شدند. قارچهای *Alternaria sp.*, *Cladosporium sp.*, *Ulocladium sp.*, *Fusarium sp.*، مخمرها *Humicola sp.*, *Arthirinium sp.* و جمله قارچهای غالب جدا شده از سطوح مذکور بودند. میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) برای مشاهده روند فرسودگی زیستی سنگ توسط قارچها استفاده شد و پدیده‌هایی مانند ایجاد حفره‌های زیستی، شکرزدگی و سنگ شویی به خوبی قابل رؤیت بود. این تغییرات در اثر رشد مسلیوم قارچها و نفوذ آنها به درون سنگ و ترشح متابولیسیم‌های قارچی رخ می‌دهند. جداسازی و شناسایی جدایه‌ها، اولین قدم در محافظت از سطوح آثار باستانی می‌باشد.

واژه‌های 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 میکروارگانیسم‌ها بر آثار باستانی به وجود می‌آید. Hueck (۱۹۶۵-۱۹۶۸) فرسودگی زیستی را چنین تعریف کرد: "هر نوع تغییر نامطلوب در خواص مواد که به وسیله فعالیتهای حیاتی ارگانیسم‌های زنده رخ می‌دهد" (۲) و (۲۰). سنگ ماده‌ای است که در ساخت بناهای تاریخی و مجسمه‌های کوچک به کار می‌رود. فرسایش سنگ و صخره و تبدیل آن به خاک، اثرات متفاوتی بر زمین می‌گذارد. از نگاهی دیگر، اثر فرسودگی زیستی بر آثار

تاریخی، می‌تواند بر فرهنگ و تاریخ هر سرزمینی اثرات نامطلوب قابل توجهی بگذارد (۲۲). میکروارگانیسمهای پویکیلوترف یا خونسرد سبب فرسودگی زیستی می‌شوند و عمدتاً شامل باکتریها، سیانوباکتریها، مخمرها، بعضی گونه‌های جلبک و بسیاری از گونه‌های قارچی و گل‌سنگها می‌باشند. این میکروارگانیسمها دارای سوخت و ساز در محدوده‌های متنوع زیستی می‌باشند. همچنین اجتماعات اندولیتیک این میکروارگانیسم‌ها سبب تشدید فرسودگی زیستی می‌شود. کرومباین در سال ۱۹۶۶ برای اولین بار این دسته از

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.

میکروارگانسیم 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 کازیناز، 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، میسلیمهای 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 ترشچی 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).

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 ساختارهای 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 گرما‌گذاری گردید و اسلایدها 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 مخمرها 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 میسلیموم و نوع اسپورهای 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 گرما‌گذاری شد. این تست قادر به جداسازی مخمرهایی است که هیدرولیز اوره را انجام می‌دهند.

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

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

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

تست تخمیر قند: اغلب مخمرها قادر به تخمیر قند دکستروز در شرایط بی‌هوایی می‌باشند و گاز دی-اکسیدکربن تولید می‌کنند. بیشتر مخمرها مقدار کمی اتانول و دی‌اکسیدکربن تولید می‌کنند. مخمرهایی که قادر به تخمیر نمی‌باشند مقادیر بسیار کمی اتانول و دی‌اکسید کربن تولید می‌کنند که تولید گاز با استفاده از لوله دورهام قابل تشخیص نمی‌باشد.

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

تست کورن میل آگار: مخمرها در محیطهای کشت مخصوص مانند کورن میل آگار قادر به رشد رشته‌ای می‌باشند. برای این منظور از روش دالمن استفاده شد. در این آزمایش، مخمرها 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 گرما‌گذاری گردید. جهت مشاهده نحوه تولید میسلیموما، محیطها هر روز بررسی شد. مخمرهایی که میسلیموم تولید می‌کنند، قادر به تولید پرز بر روی لامل می‌باشند. بعد از یک هفته، اسلایدها با کمک رنگ آمیزی لاکتوفنل بلو توسط میکروسکوپ نوری مشاهده شدند. گاهی اوقات آسکوکارپها، کلامیدوسپورها و آرتروسپورها به خوبی قابل رویت می‌باشند (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

**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 قارچ‌شناسی انجام شد (۱۵). بر طبق کلید شناسایی، قارچهای غالب روی سنگهای آهکی پاسارگاد شامل *Alternaria sp.*, *Cladosporium sp.*, *Ulocladium sp.*, *Fusarium sp.*, *Humicola sp.*, *Arthrinium sp.* و مخمرها می‌باشند که مطابق جدول ۱ خصوصیات کلیدی میکروسکوپی و ماکروسکوپی فهرست و تصاویر اسلاید کالچر آنها ارائه شده است (شکل ۱).

استفاده شد. قبل از مشاهده با میکروسکوپ الکترونی، لازم است که سنگها آگیری شوند. مراحل آگیری از سنگ شامل فیکساسیون نمونه در محلول گلو تارآلد هید (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، آگیری نمونه در اتانول ۳۰، ۵۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰ درصد در نهایت اتانول مطلق می‌باشد که زمان هر مرحله آگیری ۱۵ دقیقه می‌باشد.

## نتایج و بحث

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

نام قارچ	خصوصیات ماکروسکوپی	خصوصیات میکروسکوپی (مورفولوژی)
<i>Alternaria sp.</i> (Code: 9-1-n, 9-2* & 9-3)	ظهور کلنی: تخت، پشمی و بوسیله‌ی هیف‌های در دیواره کندیوفور بوجود می‌آیند. دارای اسپور سبز، کوتاه و محیطی پوشیده شده‌اند. سطح کلنی: در ابتدا سبز و سفید است و سپس بسبز تیره یا زیتونی مایل بقهوه‌ای تغییر رنگ می‌دهد. حاشیه کلنی: سفید پشت کلنی: قهوه‌ای متمایل بسیاه (علت: تولید میسلیوم‌ها دارای دیواره‌های عرضی می‌باشند.)	متعلق بگروه <i>Porosporae</i> : کندی‌ها از سوراخی متعلق بگروه <i>Blastosporae</i> : کندی‌ها از جوانه زنی کندیوفور یا سلول‌های هیف بوجود آمده و اغلب بصورت زنجیره‌ای است. اسپورها سیاه رنگ و بیضی شکل و تعداد کمی کروی می‌باشند و انشعابات از کندیوفور سیاه بوجود می‌آیند. جوان‌ترین اسپور در نوک زنجیره است. میسلیوم‌ها دارای دیواره‌های عرضی می‌باشند.
<i>Cladosporium sp.</i> (Code: 1-2, 6-2 & 5-3)	ظهور کلنی: پریزی سطح کلنی: سبز پشت کلنی: سیاه نسبتاً کند رشد می‌باشد.	در این نمونه فقط قسمت‌های رویشی قارچ مشاهده شد و ظاهر هیف‌ها نخ‌مانند می‌باشند.
<i>Sterile mycelia</i> (Code: 5-2)	ظهور کلنی: پنبه‌ای سطح کلنی: صورتی روشن پشت کلنی: صورتی روشن	در این نمونه فقط قسمت‌های رویشی قارچ مشاهده شد و ظاهر هیف‌ها نخ‌مانند می‌باشند.
<i>Sterile mycelia</i> (Code: 6-1-a & 6-3)	ظهور کلنی: پنبه‌ای سطح کلنی: سفید پشت کلنی: زرد	در این نمونه فقط قسمت‌های رویشی قارچ مشاهده شد و ظاهر هیف‌ها نخ‌مانند می‌باشند.

<p>متعلق بگروه <i>Porosporae</i>: کنیدی‌ها از سوراخی در دیواره کنیدیوفور بوجود می‌آیند.</p> <p>کنیدیوفورها تیره رنگ می‌باشند و از طریق منافذ زیادی که در طولشان است کنیدی را حمل می‌کنند. کنیدی قهوه‌ای تیره می‌باشند و شبه تخم مرغ تا استوانه‌ای شکل هستند و توسط تعداد زیادی دیواره‌ی طولی و عرضی بتعداد زیادی سلول تقسیم شده‌اند.</p>	<p><i>Ulocladium sp.</i> (Code: 7-1, 6-1-b) ظاهر کلنی: پرزی سطح کلنی: سبز تیره یا قهوه‌ای پشت کلنی: قهوه‌ای تیره حاشیه کلنی: سبز</p>
<p>متعلق بگروه <i>Phialosporae</i>: کنیدی‌ها بصورت زنجیره‌ای از فیالید تولید می‌شوند.</p> <p>کنیدی بدون رنگ هستند و بشکل "پای سلولی" مشخص در انتهای پایینی هستند و توسط دیواره‌های عمودی، تقسیم شده‌اند.</p> <p>کنیدیوفورها اغلب، خوشه‌ای هستند و اسپورودوکیا را تشکیل می‌دهند و تولید توده‌ی خمیری بزرگی از اسپورها را می‌کنند که از فیالیدهای مخروطی منشأ می‌گیرند.</p>	<p><i>Fusarium sp.</i> (Code: 8-b-3-n &amp; 8-b-3) ظاهر کلنی: پشمی و پرزی سطح کلنی: صورتی پشت کلنی: صورتی</p>
<p>متعلق بگروه <i>Blastosporae</i>: کنیدی‌ها از جوانه زنی کونیدیوفورو یا سلولهای هیف و اغلب بصورت زنجیره‌ای بوجود می‌آیند. اسپورها گرد، کوچک، قهوه‌ای و معمولاً تخت می‌باشند. زمانی که اسپورها رشد می‌کنند، بصورت پوست حلزون می‌شکنند.</p>	<p><i>Arthriniium sp.</i> (Code: 9-2 &amp; 7-2) ظاهر کلنی: پشمی سطح کلنی: سفید پشت کلنی: سفید با گذشت زمان، کلنی، قهوه‌ای مایل بسیاه می‌شود.</p>

آنزیمها و اسیدهای آلی و غیرآلی رخ می‌دهد. آنزیمهای غالبی که توسط قارچها تولید می‌شوند شامل آمیلاز، کاتالاز و کازئیناز می‌باشند. اسید اگزالیک، اسید گلوکونیک و اسید لاکتیک، اسیدهای معمولی هستند که توسط قارچهای مستقر بر سطوح سنگی ترشح می‌شوند. موارد ذکر شده سبب فرسودگی زیستی سنگ و کلاته کردن فلزاتی مانند کلسیم، آلومینیوم، سیلیسیوم، آهن، منگنز و منیزیم موجود در مواد سنگی می‌شوند (۷، ۹، ۱۰ و ۱۱).

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 میسلیمهای قارچی، پدیده‌های کریستالیزاسیون، ایجاد حفره‌های زیستی و شکرزدگی از طریق میکروسکوپ الکترونی نگاره بررسی شد (شکل ۲). این پدیده‌ها در سطوح سنگهای آهکی به علت رشد قارچها و همچنین تولید و ترشح

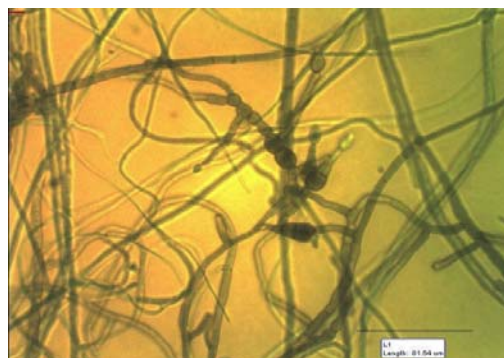
### نتیجه گیری

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

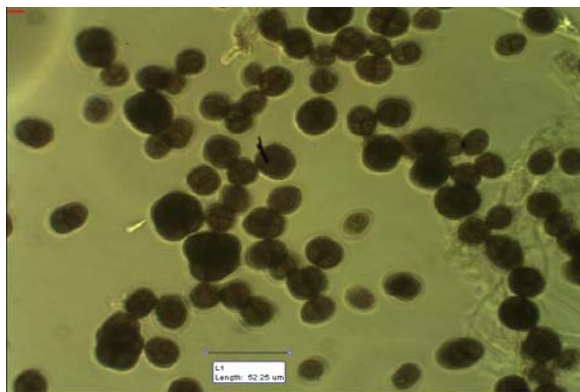
ترکیبات آب دوست قرار دارند. موارد مذکور سبب مستعد شدن و گاه تحریک رشد عوامل زیستی در بناها می گردد.



(ب)



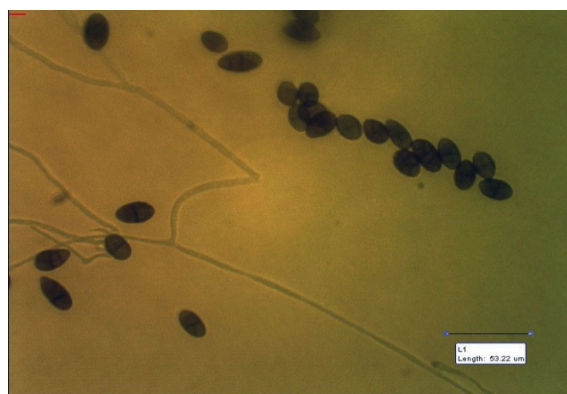
(الف)



(ج)



(ج)



(خ)



(ح)

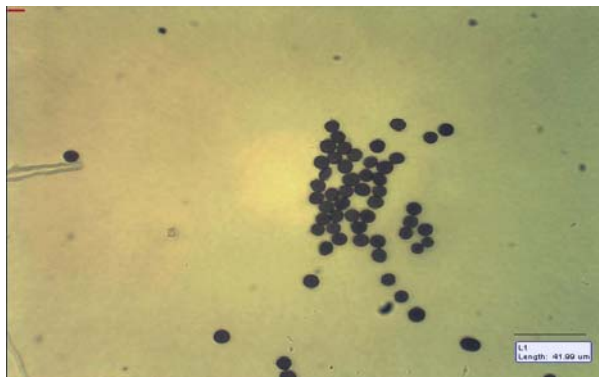
شکل ۱- تصاویر میکروسکوپی از اسلاید کالچر نمونه های

شناسایی شده قارچی. (الف) *Alternaria* sp. (ب)

*Cladosporium* sp. (ج) *Cladosporium* sp. (چ)

*Ulocladium* sp. (ح) *Fusarium* sp. (خ) *Ulocladium*

*Arthrinium* sp. (د) *sp.*

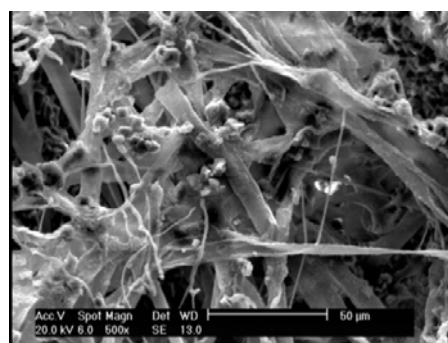


(د)

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.



شکل ۲- حضور میسلیمهای قارچی و بلورهای نمکی و نیز اکتینومیست ها، در شکل به خوبی مشاهده می‌شود.

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. پدیده‌هایی مانند تشکیل حفره زیستی، کریستالیزاسیون و شکرزدگی در این سنگها مشاهده شد. می‌توان این گونه نتیجه گرفت که قارچها جمعیت غالب میکروارگانیسم‌های سطوح پاسارگاد را تشکیل می‌دهند و نقش آنها در فرسودگی زیستی قابل توجه است. در این مطالعه، در قدم اول بشناسایی عوامل زیستی با روشهای کلاسیک پرداخته

#### 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.

- 2- Allsopp, D., Seal, K. J., and Gaylarde, C. C. (2004). *Introduction to biodeterioration*. 2<sup>nd</sup> ed. Cambridge University Press. New York, USA.
- 3- Ascaso, C., Delgado Rodrigues, J., Rios, A., Souza-Egipsy, V., Wierzechos, 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-Kreienstein, 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*. 2<sup>nd</sup> 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: Application 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 Drdácý. 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 Environment*, 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 Biodegradation*, 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 Biodegradation*, 46, 34.
- 23- Webster, J., and Roland W.S. Weber, R. W.S. (2007). *Introduction to fungi*. 3<sup>rd</sup> ed. Cambridge University Press, United Kingdom.



## **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 confirm 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