

جداسازی و شناسایی فتوتروف‌های عامل فرسودگی زیستی پاسارگاد

مرضیه متین‌فر^۱، پریسا محمدی^{۲*}، مهناز قلی‌پور شهرکی^۳، مصطفی نوروزی^۴

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۲/۱۲

تاریخ تصویب: ۹۲/۳/۵

چکیده

پاسارگاد مجموعه‌ای از سازه‌های باستانی باقی مانده از حکومت هخامنشی است که در استان فارس واقع شده است. آرامگاه کوروش بزرگ، که از سنگ‌های آهکی ساخته شده است در قسمت جنوبی این منطقه قرار گرفته است. سنگ‌های این ساختمان مانند هر سنگ دیگری، متاثر از عوامل فیزیکوشیمیایی و بیولوژیکی است. فرسودگی زیستی مواد فرآیندی برگشت ناپذیر است که طی آن مواد، تحت تاثیر ماکروارگانسیم ها و میکروارگانسیم ها قرار گرفته و باعث آسیب ها و هزینه‌های کلان اقتصادی می شود. تقریباً تمام انواع

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی دانشگاه الزهراء(س)، تهران

^۲ استادیار میکروبیولوژی، دانشگاه الزهراء(س)، تهران p.mohammadi@alzahra.ac.ir

^۳ کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه الزهراء(س)، تهران

^۴ استادیار جلبک‌شناسی، دانشگاه الزهراء(س)، تهران

میکروارگانسیم‌های محیطی بر سطوح خارجی بناهای تاریخی حضور دارند و میکروارگانسیم‌های فتوتروف شرایط مناسب برای رشد دیگر ارگانسیم‌ها را فراهم می‌کنند. اثرات این دسته از ارگانسیم‌ها به ویژه در فرسودگی‌های زیستی اهمیت دارد. بنابراین، مطالعه حاضر به منظور جداسازی و شناسایی میکروارگانسیم‌های موثر در فرسودگی انجام شد. از محیط‌های کشت ۱۱-BG، MKM و BBM برای جداسازی فتوتروف‌ها استفاده گردید. استرئومیکروسکوپ و میکروسکوپ الکترونی نگاره^۱ برای بررسی ساختار بیوفیلم‌ها و آسیب‌های بستر، مورد استفاده قرار گرفت. در طی این مطالعه، گونه‌های مختلفی از میکروارگانسیم‌ها، از جمله جلبک‌ها و سیانوباکتری‌ها جدا شد. بسیاری از این گونه‌های میکروبی از داخل آرامگاه که شرایط مناسب‌تری برای رشد فتوتروف‌ها داشت جدا گردید. مشاهدات استرئومیکروسکوپ و تصاویر میکروسکوپ الکترونی نگاره نشان داد که میکروارگانسیم‌ها درون حفرات سنگی که شدت نور مناسب را برای فتوتروف‌ها تامین می‌کند بهتر مستقر شده بودند. در این مطالعه، بیشترین نوع جلبک‌های جدا شده متعلق به جنس‌های *Trebouxia*، *Chlorococcum* و *Trentepohlia* بودند. از میان سیانوباکتری‌ها، جنس‌های *Chroococcus*، *Oscillatoria*، *Microcystis*، *Aphanothece* و *Lyngbya* باکتری‌های غالب بودند. اولین قدم در حذف و یا کنترل رشد میکروارگانسیم‌های مخرب تشخیص آنهاست. برای پیدا کردن بهترین روش تمیز کردن سطوح سنگ‌ها باید آزمایش‌های بیشتری انجام شود تا مناسب‌ترین روش برای حذف میکروارگانسیم‌های جدا شده انتخاب گردد.

واژه‌های کلیدی: جلبک، سیانوباکتری، میکروارگانسیم‌های فتوتروف، فرسودگی زیستی، پاسارگاد

¹ Scanning Electron Microscope (SEM)

مقدمه

پاسارگاد در دشتی مرتفع به ارتفاع ۱۹۰۰ متر از سطح دریا، در حصار کوهستان واقع شده است. شهر باستانی پاسارگاد در استان فارس قرار دارد. محوطه اصلی توسط یک منطقه طبیعی بزرگ احاطه شده است. مهم‌ترین اثر مجموعه پاسارگاد، بنای آرامگاه کورش است که در سال ۵۳۰ تا ۵۴۰ قبل از میلاد و از سنگ‌های آهکی سفید متمایل به زرد ساخته شده است (Hogan, 2008). این اثر در تاریخ ۲۴ شهریور ۱۳۱۰ خورشیدی ثبت ملی شده است (شکل ۱).



شکل ۱- آرامگاه کوروش کبیر در منطقه پاسارگاد

بناهای سنگی، مجسمه‌ها و ساختمان‌های تاریخی در معرض عوامل مخرب فیزیکوشیمیایی و بیولوژیکی هستند (Filomena & Macedo, 2009) که در کنار هم و به صورت سینرژیست و یا آنتاگونیست در فرسودگی سنگ موثرند (Valentin, 1993). آثار هنری سنگی می‌تواند توسط گروه‌های

مختلف میکروارگانیسم‌ها، از جمله باکتری‌ها، سیانوباکتری‌ها، جلبک‌ها و قارچ‌ها مورد حمله قرار گیرند. جمعیت میکروبی حاضر در لایه‌های سنگی، معمولاً نتیجه تثبیت پی در پی انواع میکروارگانیسم‌ها در طول چندین سال است. سیانوباکتری‌ها و جلبک‌های سبز^۱ به عنوان ساکنان پیشگام در تثبیت روی سنگ مطرح هستند. این میکروارگانیسم‌ها به علت ویژگی فتوتوتروفی شان، به راحتی روی سطوح سنگ حضور و گسترش پیدا می‌کنند و باعث برآمدن سطوح و پوسته شدن آن می‌شود. شناسایی میکروارگانیسم‌های موثر در فرسودگی زیستی یکی از مهمترین مراحل در مطالعه اکولوژی میکروبی سنگ‌های تاریخی است. این امر می‌تواند ما را به درک تنوع زیستی میکروبی، مراحل تثبیت میکروبی و ارتباط میان جمعیت‌ها روی سطوح و بین میکروارگانیسم‌ها و بستر کمک کند (Filomena & Macedo, 2009). میکروارگانیسم‌هایی که روی سطح سنگ رشد می‌کنند را اپی‌لیتیک می‌نامند، در صورتی که آنهایی که به عمق چند میلی‌متری منافذ سنگ نفوذ کنند در گروه اندولیتیک‌ها قرار می‌گیرند. عده‌ای بر این باورند که میکروارگانیسم‌های فتوتروف تنها آسیب به زیبایی بنا می‌زنند که این موضوع به دلیل تولید رنگدانه‌های آن‌ها در سطوح سنگ است و تاثیر مستقیمی بر فرسایش سنگ

¹ Chlorophyta

Microcoleus و *Lyngbya*، *Scytonema*، *Plectonema* دارای غلافی ژلاتینی هستند که مشاهدات نشان داده است که این غلاف به عنوان مخزن آب عمل می‌کند و وظیفه آن محافظت از سیانوباکتری‌ها در شرایط سخت و خشک محیط می‌باشد. *Chlorophyta* شایع‌ترین گروه از جلبک‌های تثبیت شده بر بسترهای باستانی و سنگی است (Ortega-Calvo, et al., 1991).

به دلیل آن‌که منبع اصلی میکروارگانیزم مورد نظر، خاک‌های اطراف بناهای تاریخی می‌باشد، این مسئله قابل پیش‌بینی است که سنگ‌ها طی مدت کوتاهی پس از استخراج از معادن مربوطه آلوده شوند. رسوب ذرات ریز معلق در هوا و نفوذ آب‌های زیر زمینی نیز منابع دیگری از میکروارگانیزم‌های بسترهای سنگی می‌باشند (Bartolini, et al., 2004).

Klebsormidium، *Stichococcus*، *Chlorella*، *Chlorococcum* و *Trentepohlia*، *Trebouxia* فراوان‌ترین جنس‌های جلبک‌های سبز بناهای تاریخی هستند. جنس *Trebouxia* در ۲۰ درصد از گلسنگ‌ها جدا شده است و به ندرت به صورت آزاد یافت می‌شود. چنین به نظر می‌رسد که وجود میکروچلبک‌هایی مانند *Trebouxia* و *Trentepohlia* می‌تواند در روند تثبیت گلسنگ‌ها موثر باشند.

فرسودگی زیستی به اشکال مختلفی دیده می‌شود. یکی از اشکال فرسودگی زیستی سنگ، تغییر رنگ آن در اثر رنگدانه‌های تولید

ندارد (Gaylarde&Morton, 2002). تثبیت میکروارگانیزم‌ها بر سنگ‌های متخلخل با جذب آب همراه است (Tomaselli, et al., 2000b&Tomaselli, 2003). رشد سیانوباکتری‌های اندولیتیک^۱ می‌تواند در شرایط آب و هوایی سخت مانند اکوسیستم‌های بیابانی داغ و سرد، انجام گیرد. سیانوباکتری‌ها به طور معمول بر سطح و یا در چند میلی‌متری تا چندین سانتی‌متری داخل سنگ‌ها ساکن می‌شوند (Crispim&Gaylard, 2005).

مشاهده رسوب املاح کلسیم روی سلول‌های سیانوباکتری در حال رشد، نشان دهنده مهاجرت کلسیم از قسمت‌های مجاور می‌باشد که یکی از مکانیزم‌های مهم در فرسودگی سنگ توسط این موجودات است. بررسی‌ها نشان داده است که ارگانیزم‌های فتوسنتزکننده در حضور نور، CaCO_3 را تولید کرده و به واسطه تغییر غلظت کربنات در شیب، آن را حاصل می‌کنند (Warscheid&Braams, 2001).

جنس‌های *Phormidium*، *Gloeocapsa*، *Chroococcus* و *Microcoleus* همه جای هستند و به همین دلیل حضورشان وابسته به جنس سنگ یا شرایط آب و هوایی خاص نمی‌باشد (Tomaselli, 2000). بسیاری از سیانوباکتری‌ها به عنوان مثال *Gloeocapsa*، *Chroococcus*، *Phormidium*، *Gloeotheca*

¹ Endolithic: رشد درون سنگی

مواد و روش کار محل نمونه برداری

آرامگاه کوروش کبیر در مختصات $30^{\circ}1138'$ شمالی و $53^{\circ}1002'$ شرقی واقع شده است. نمونه برداری در دو مرحله اردیبهشت و شهریور ماه سال ۱۳۹۰ انجام شد. دمای هوا در زمان های نمونه برداری ۲۸ درجه سانتی گراد بود. نمونه برداری با استفاده از سوآب و اسکالپل استریل انجام شد. اطلاعات نمونه ها با توجه به محل های مختلف نمونه گیری از سطح مقبره یادداشت شد. نمونه ها بلافاصله جهت مطالعات میکروبیولوژیکی تحت شرایط استریل به آزمایشگاه منتقل شد.

محیط های کشت

برای جداسازی فتوتروف های نمونه های سنگی از محیط های کشت ساختگی BG-11 و MKM و BBM استفاده شد. محیط BG-11 که از متداول ترین محیط های مورد استفاده برای جداسازی میکروارگانیسم های فتوتروف است که در هر لیتر آب دیونیزه آن حاوی $0.075\text{g MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ، 1.5g NaNO_3 ، $0.03\text{g K}_2\text{HPO}_4$ ، $0.036\text{g CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ، $0.02\text{g Na}_2\text{CO}_3$ ، $1\text{mg Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ و $6\text{mg C}_6\text{H}_8\text{FeNO}_7$ و ۱ میلی لیتر محلول مربوط به عناصر کمیاب (A₅ و CO) است. pH این محیط در محدوده خنثی تنظیم گردید.

شده به وسیله میکروارگانیسم هاست. مشکل دیگر تولید ترکیبات پلیمری خارج سلولی است. این ترکیبات با جذب آب و از دست دادن آن، به ساختار سنگ فشار مکانیکی وارد می کنند. در اثر فشار مکانیکی ایجاد شده اندازه منافذ سنگ تغییر می کند و این مسئله باعث تغییر در ظرفیت رطوبتی و در نتیجه واکنش سنگ به نوسانات دمایی می گردد. تشکیل بیوفیلم های فتوتروفی در سطح سنگ باعث افزایش تجمع آلودگی های اتمسفری می شود و به دنبال آن، افزایش فرسودگی ناشی از عملکرد اسیدها و یا اکسید کننده ها اتفاق می افتد (Warscheid&Braams,2001).

امروزه از روش های فیزیکی شیمیایی مختلفی برای تمیز کردن سطوح سنگی استفاده می گردد. اگرچه کاربرد مواد جدیدی مانند نانوذرات و کارآمدی آنها در حوزه آثار باستانی مورد توجه محققین قرار گرفته است (Mohammadi&Ejadpanah-Saravi,2011) ولی اولین قدم در مرمت و حفظ چنین بسترهای هنری و تاریخی شناخت میکروبیوتای^۱ سطوح است که در این مطالعه، به جداسازی و شناسایی فتوتروف های بسترهای سنگی پاسارگاد پرداخته شده است.

¹ پوشش میکروبی سطوح مختلف Microbiota

محیط‌های کشت مایع درون ارلن‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری توزیع و استریل گردید. پس از تلقیح، محیط‌های کشت تحت روشنایی ۳۵۰۰ لوکس در دوره‌های روشنایی - تاریکی ۱۶-۸ ساعت و روی شیکر با سرعت ۸۰ دور در دقیقه قرار گرفتند. دما در هنگام گرما‌گذاری ۲۵ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید (Ortega-Calvo, et al., 1991).

در طی مراحل کشت، همیشه امکان آلودگی‌های قارچی و باکتریایی محیط‌های کشت وجود دارد. از این‌رو از آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین و استرپتومایسین برای حذف آلودگی‌های باکتریایی و خالص‌سازی جلبک‌ها و از آنتی‌بیوتیک‌های ضد قارچ نیستاتین و سیکلوهمزامید جهت مهار رشد آلودگی‌های قارچی و خالص‌سازی سیانوباکتری‌ها استفاده شد. برای به دست آوردن کلنی تک فتوتروف‌ها، علاوه بر استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها، از روش‌های تهیه رقت‌های متوالی^۱ و کشت خطی^۲ نیز استفاده شد (Ferris & Hirsch, 1991).

شناسایی جدایه‌ها

همانطور که در مقالات اشاره شده است به دلیل اطلاعات ناکافی از شرایط محیطی و تغذیه‌ای تمام ارگانیزم‌ها، امکان رشد همه میکروارگانیزم‌های موجود در طبیعت در

محیط‌های کشت ساختگی وجود ندارد و بسیاری از آن‌ها در آزمایشگاه قابل کشت نیستند لذا می‌توان انتظار داشت تنها بخش کوچکی از میکروارگانیزم‌های موجود در آثار سنگی پاسارگاد کشت و جدا شوند. پس از رشد اولیه کلنی‌های جدا شده، میکروب‌های به دست آمده در محیط‌های جدید واکشت و خالص گردیدند و در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس، جدایه‌ها با استفاده از کلیدهای شناسایی و مطابق کتاب‌های Desikachary و Prescott و Whitford شناسایی گردید (Desikachary, 1959, Prescott, 1970, Whitford, 1983) برای مطالعه تغییرات سطوح سنگی و مشاهده ساختارهای بیوفیلمی و حضور آثار و بقایای زیستی از استرئومیکروسکوپ مدل Leica Ez4d استفاده گردید.

میکروسکوپ الکترونی (Phlips (XL 30) برای مشاهده و بررسی دقیق‌تر بیوفیلیم‌های میکروبی، ساختارهای زیستی و نیز تغییرات ایجاد شده در سطوح بستر آرامگاه استفاده شد.

با مشاهدات استرئومیکروسکوپی، نمونه‌های مناسب سنگ برای مطالعات میکروسکوپ الکترونی روبشی انتخاب گردید (Chand, et al., 2012). به منظور آماده‌سازی نمونه‌ها جهت تهیه تصاویر مورد نیاز، نمونه‌ها در محلول گلو تار آلدهید ۴٪ به

¹ Serial dilution

² Streak culture

نتایج

در این بررسی تعداد ۵ جدایه‌ی جلبکی و سیانوباکتریایی (*Trentepohlia lolithus* (L.) *Chroococcus varius* A.Braun, Wallrot *Lyngbya*, *Lyngbya birgei* G.M.Smith *Trebouxia glomerata penicillata* Kutz. Waren در مرحله اول و تعداد ۵ جدایه‌ی جلبکی و سیانوباکتریایی *Trebouxia glomerata* Waren *Microcystis aeruginosa*, *glomerata* Waren *Aphanothece castagnei* (de Breb.) Kuetz. *Lynbya* و *Phormidium inundatum* Kuetzing *major* Meneghini در مرحله دوم مطالعه و شناسایی شد (جدول ۱).

مدت ۳ ساعت قرار گرفت و پس از آن با استفاده از بافر فسفات ۱٪ شستشو داده شد. سپس به منظور آبیگری نمونه‌ها از سری‌های رقت اتانول ۳۰، ۵۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰٪ استفاده گردید. نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در هر رقت از اتانول قرار گرفت. در نهایت نمونه‌ها خشک و درون پلیت گذاشته شد. به منظور جلوگیری از جذب رطوبت، نمونه‌های سنگ تا زمان تصویر برداری در دسیکاتور حاوی کلرید کلسیم نگه‌داری گردید. قبل از تهیه تصاویر، نمونه‌های سنگ با طلا پوشش داده شد (شکل ۲).

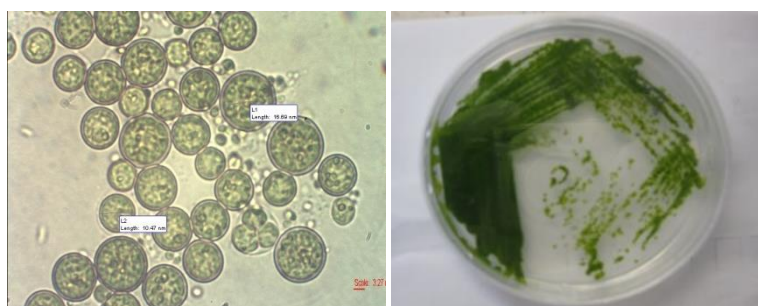
جدول ۱- جدایه‌های شناسایی شده از مرحله اول و دوم نمونه برداری

نام جدایه	ویژگی‌های مورفولوژیکی و میکروسکوپی
<i>Aphanothece castagnei</i> (de Breb.)	کلنی‌های گرد کوچک و در هم، سبز زیتونی، کمی برآمده، رشد در سطح آگار، سلول‌های گرد کشیده یا استوانه‌ای شکل، محتوی سلولی نسبتاً همگن، کروماتوپلاسم به سختی قابل دیدن است
<i>Chroococcus varius</i> A.Braun	کلنی گرد و شفاف، سبز کمرنگ، رشد در سطح آگار، لزج، دارای غلاف ژلاتینی، کلنی آن معمولاً از دو الی چهار سلول تشکیل می‌شود، اکثر سلول‌ها مشابه، کم و بیش کروی شکل و یکنواخت، اندازه سلول‌های پیر و جوان متفاوت است، سلول‌ها هرگز در یک ردیف قرار نمی‌گیرند
<i>Lyngbya birgei</i> G.M.Smith	کلنی با رشته‌های سبز کمرنگ و نسبتاً منظم، در داخل آگار فرو رفته، دارای لایه ژلاتینی، مسطح و لزج، سلول‌ها در انتها مرتب، دارای پروتوپلاست همگن
<i>Lynbya major</i> Meneghini	رشته‌های باریک فرو رفته در آگار، رشد نامنظم، رشته‌هایی با غلاف شفاف، غیر منشعب
<i>Lyngbya penicillata</i> Kutz.	رشته‌های غلاف دار کرک مانند، سلول‌ها بندرت منفرد و اغلب متصل به هم دیده می‌شوند
<i>Microcystis aeruginosa</i> Kuetz.	کلنی‌های گرد و شفاف، سبز پررنگ، رشد در سطح آگار و کلنی لزج و دارای غلاف ژلاتینی است، سلول‌ها دارای آرایش ۴-۲ سلولی، اندازه سلول‌های پیر و جوان متفاوت بوده و آرایش سلول‌ها در یک ردیف دیده نمی‌شوند

نام جدایه	ویژگی‌های مورفولوژیکی و میکروسکوپی
<i>Phormidium inundatum</i> Kuetzing	کلنی‌های تیره رنگ و انشعاب دار که در سطح آگار رشد می‌کنند، رشته‌های باریک و در هم، تصویر میکروسکوپی آن به شکل رشته‌ای و بدون هتروسیست، غیر منشعب و شبیه به هم مشاهده می‌شود
<i>Trebouxia glomerata</i> Waren	کلنی‌های گرد و برآمده، سبز روشن، سلول‌های تک و کروی، کلروپلاست به شکل چند لوبی و در حاشیه سلول دیده می‌شود
<i>Trentepohlia lolithus</i> (L.) Wallrot	کلنی با رشته‌های نسبتاً قطور و سبز پررنگ، منشعب بوده، سلول‌ها درشت، کشیده و با کلروپلاست مشبک دیده می‌شود

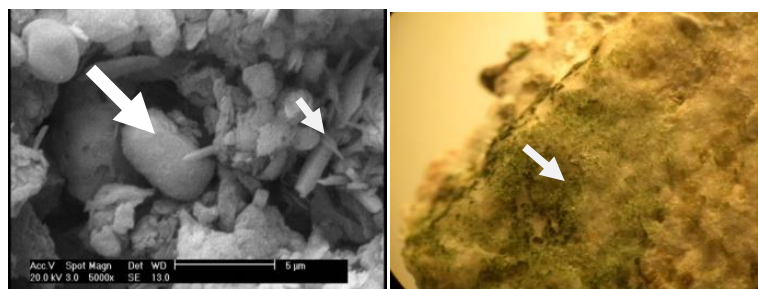
میکروارگانیزم‌ها بر سطح سنگ، معدنی شدن زیستی و در نتیجه آن ظهور انواع کریستال‌های نمکی به خوبی قابل مشاهده بود (شکل ۲).

در بررسی‌های استرئومیکروسکوپی، انواعی از ساختارهای زیستی شامل گل‌سنگ‌ها، جلبک‌ها، خزه‌ها مشاهده شد. در بافت سنگ تغییرات مختلفی مانند ایجاد لایه‌ی پودری، حفره دار شدن سطح بستر، حک شدن شکل



(ب)

(الف)



(د)

(ج)

شکل ۲- (الف) کشت و رشد جدایه‌ها درون محیط BG-11؛ (ب) تصویر میکروسکوپ نوری مربوط به نمونه‌ی شناسایی شده *Trebouxia glomerata* با بزرگنمایی 40X؛ (ج) تصویر استرئومیکروسکوپی از حضور فتوتروف‌ها (فلش) و کریستال‌های نمکی بر نمونه سنگ پاسارگاد؛ (د) تصویر میکروسکوپ الکترونی نگاره و مشاهده سلول درشت جلبکی (فلش بزرگتر) و کریستال‌های نمونه‌های سنگ پاسارگاد (فلش کوچکتر)

بحث و نتیجه‌گیری

به دلیل فراوانی اکوسیستم های طبیعی در آثار باستانی و تاریخی، انجام پژوهش های علمی در این زمینه ضرورت دارد. سطوح سنگی به علت خشکی و عدم وجود مواد غذایی کافی، زیستگاه مناسبی برای همه انواع میکروارگانیسم ها محسوب نمی شود و فقط گونه های خاصی از موجودات زنده قادرند در این محیط های سخت زندگی کنند. جهت ازدیاد و رشد سیانوباکتری ها و جلبک ها از محیط BG-11 و MKM استفاده شد. اولین بار Stainer و همکارانش محیط BG-11 را برای کشت سیانوباکتری ها معرفی نمودند (Stanier, et al., 1971).

در مطالعات بسیاری به اهمیت وجود سیانوباکتری ها و جلبک ها در بسترهای سنگی و رسوبی آثار باستانی و فعل و انفعالات بین آن‌ها و اهمیت شان در فرسودگی زیستی پرداخته شده است (Filomena&Macedo, 2009, Hogan, 2008).

Tomaselli و همکاران تنوع زیستی میکروارگانیسم های فتوسنتزکننده ساکن بر سنگ های باستانی را مورد بررسی قرار دادند و جنس سنگ بستر و اثر آن بر تنوع ارگانیسم های فتوسنتز کننده ساکن بستر را بررسی کردند. نتایج آنان نشان داد که جنس‌های *Myxosarcina*، *Chroococcus*، *chlorophyta*، *Scytonema*، *Pleurocapsa* و *Stichococcus* روی بسترهای آهکی بهتر

رشد کرده بودند (Tomaselli, 2000). در بررسی حاضر نیز جنس‌هایی مانند *Chroococcus*، *Trebouxia*، *Lynngbya*، *Trentepohlia*، *Phormidium*، *Aphanothece*، *Microcystis* جدا و شناسایی شدند که حاکی از این است که میکروارگانیسم ها می توانند به راحتی بستری از جنس سنگ آهک را برای رشد و سکونت خود انتخاب کنند.

در سال ۲۰۰۷ محمدی و کرومباین^۱ فرسودگی زیستی آثار سنگی تخت جمشید را مورد بررسی قرار دادند و در تصاویر میکروسکوپ الکترونی نگاره، حفره دار شدن سطح بستر، حک شدن شکل میکروارگانیسم‌ها بر سطح سنگ و معدنی شدن زیستی را گزارش کردند (Mohammadi, 2011, Mohammadi, et al., 2010). آسیب‌های مشابهی نیز در سنگ‌های آرامگاه مشاهده شد.

Sethi و همکارانش وجود سیانوباکتری ها و میکرو جلبک‌ها را در سطوح مختلف بررسی کردند و از آن جنس های *Aphanocapsa*، *Phormidium*، *Oscillatoria*، *Gloeocapsa*، *Calothrix*، *Anabaena*، *Nostoc*، *Fischerella*، *Scytonema*، *Cylindrospermum*، *Chlorella*، *Westiellopsis*، *Chlorococcum*، *Volvox*، *Pandorina*، *Microspora* جدا شدند. بررسی‌های آنان نشان می‌دهد که ترکیب و تنوع گونه ها در فصول مختلف سال متفاوت است (Sethi, 2012) که در این مطالعه نیز نتایج مشابهی حاصل شد.

¹ Krumbein

مرمت و حفاظت آثار باستانی و تاریخی است.

سپاسگزاری

نویسندگان بر خود فرض می‌دانند که از ریاست محترم وقت پژوهشگاه میراث فرهنگی و ریاست محترم بنیاد پارسه و پاسارگاد که امکان بررسی و نمونه برداری از محل را فراهم آوردند تقدیر و تشکر نمایند. همچنین در نهایت از همکاری و مساعدت کارشناسان محترم آزمایشگاه ملی میکروبیولوژی خانم‌ها یوسفی و جلیوند به خاطر راهنمایی‌های تکنیکی‌شان در انجام آزمایش‌های تشخیصی تشکر و قدردانی می‌گردد.

همچنین مشاهدات نشان داد که برخی از جنس‌ها مانند *Phormidium* که در فصول گرم جدا شده‌اند دارای غلاف قابل توجهی در اطراف سلول هستند لذا در آب و هوای خشک و نیمه خشک منطقه پاسارگاد به خوبی رشد دارند. شناسایی میکروارگانیسم‌های فتوتروف به عنوان عوامل فرسودگی زیستی، در کنترل و حفظ آثار باستانی و تاریخی اهمیت ویژه‌ای دارد. نتایج این مطالعه وجود جنس‌های مختلف سیانوباکتری‌ها و میکرو جلبک‌ها را نشان می‌دهد. بررسی‌های بیشتری باید انجام گیرد تا مکانیسم‌های فرسودگی توسط این موجودات در بسترهای سنگی پاسارگاد شناسایی گردد. شناسایی و بررسی مکانیسم‌های فرسودگی این موجودات اولین مرحله در کنترل رشد میکروارگانیسم‌ها،

References

- Bartolini, M., Ricci, S. Del Signore, G. (2004). "Release of photosynthetic pigments from epilithic biocenoses after biocide treatments". *In Proceedings of the 10th International Congress on Deterioration and Conservation of Stone*, pp. 519–526. Edited by D. Kwiatkowski & R. Lofvendahl. Stockholm, Sweden: ICOMOS.
- Crispim, C A. Gaylarde, C C. (2005). "Cyanobacteria and Biodeterioration of Cultural Heritage: A Review". *Microbial Ecology*, 49, 1-5
- Chand, T., Pankaj, D., Arora, K. (2012). "Evaluation of potential of molecular and physical techniques in studying biodeterioration". *Review Environment Science Biotechnology*, 11, 71–104
- Desikachery, T. V. Ph.D, Se. F. A. (1959). Botany Department, University of Madras, Indian Council of Agricultural Research New Delhi

- Ferris M. J and C. F. Hirsch (1991). "Method for Isolation and Purification of Cyanobacteria". *Applied and Environmental Microbiology*
- Filomena Ze, A. Macedo, M. (2009). "Biodiversity of Cyanobacteria and Green Algae on Monuments in the Mediterranean Basin: an overview". *Microbiology*, 155, 3476–3490
- Gaylarde, CC. Morton, LHG. (2002). "Biodeterioration of mineral materials". *Encyclopedia of Environmental Microbiology*, Wiley, New York, pp 516–527
- Hogan, C. M (2008), "Tomb of Cyrus", in Burnham, A, The Megalithic Portal
- Mohammadi, P., Krumbein, W.E. (2008). "Biodeterioration of Ancient Stone Materials from the Persepolis monuments (Iran)". *Aerobiologia*, 24, 27-33.
- Mohammadi P, J. Marquardt, W. E. Krumbein, A. A. Gorbushina. (2010). "Rock Inhabiting Fungi Isolated from Persepolis; A Study to Identify Biodeteriorating Agents of Cultural Heritages in Iran". *Iranian Journal of Biology*, 23, 78-89
- Mohammadi P. (2011). "Evaluation of Biocide Efficiency to Ban Biodeteriorating Rock Fungi by Using Fluorescents Dyes". *Iranian Journal of Biology*, 25, 119-128
- Mohammadi P, Ejadpanah-Saravi M, Ejadpanah-Saravi H, (2011). "Assay of Antifungal Effect of Synthetic Tio₂ Nanoparticle against Isolated Fungi from Ghajar Inscription". *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 2:140-143
- Ortega-Calvo J. J., Hernandez-Marine M & Saiz-Jimenez C. (1991). "Biodeterioration of Building Materials by Cyanobacteria and Algae". *International Biodeterioration*, 28, 165-185
- Prescott, G. W. Ph. D. (1970). *Algae of the Western Great Lakes Area*, brown company publishers 977
- Sethi, S K. Samad, L K. Adhikary, S P. (2012). "Cyanobacteria and Micro-Algae in Biological Crusts on Soil and Sub-Aerial Habitats of Eastern and North Eastern Region of India". *Phykos*, 42 (1), 1 – 9
- Stanier R.Y., Kunisawa R., Mandael M., Cohen-Blazire G. (1971). "Purification Properties of Unicellular Blue-Green Algae (order Chlorococcales)". *Bacteriol Rev*, 35(2), 171-205
- Tomaselli, L., Tiano, P. & Lamenti, G. (2000a). "Occurrence and Fluctuation in Photosynthetic Biocoenoses Dwelling on Stone monuments. In *Of Microbes and Art – The Role of Microbial Communities in the Degradation and Protection of Cultural Heritage*". pp. 63–76. Edited by O. Ciferri, P. Tiano & G. Mastromei. New York: Kluwer
- Tomaselli, L., Lamenti, G., Bosco, M. & Tiano, P. (2000b). "Biodiversity of Photosynthetic Micro-organisms Dwelling on Stone Monuments". *Int Biodeterior Biodegradation*, 46, 251–258