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: ۹۳/۳/۵

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 ماکروارگانیسم ها و میکروارگانیسم 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 جلبک شناسی، دانشگاه الزهراء(س)، تهران

میکروارگانیسم‌های محیطی بر سطوح خارجی بناهای تاریخی حضور دارند و میکروارگانیسم‌های فتوتروف شرایط مناسب برای رشد دیگر ارگانیسم‌ها را فراهم می‌کنند. اثرات این دسته از ارگانیسم‌ها به ویژه در فرسودگی‌های زیستی اهمیت دارد. بنابراین، مطالعه حاضر به منظور جداسازی و شناسایی میکروارگانیسم_های موثر در فرسودگی انجام شد. از محیط‌های کشت BG-۱۱، MKM و BBM برای جداسازی فتوتروف‌ها استفاده گردید. استرئومیکروسکوپ و میکروسکوپ الکترونی نگاره[1] برای بررسی ساختار بیوفیلم‌ها و آسیب‌های بستر، مورد استفاده قرار گرفت. در طی این مطالعه، گونه‌های مختلفی از میکروارگانیسم‌ها، از جمله جلبک‌ها و سیانوباکتری ها 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 میکروارگانیسم‌ها درون حفرات سنگی که شدت نور مناسب را برای فتوتروف‌ها تامین می‌کند بهتر مستقر شده بودند. در این مطالعه، بیشترین نوع جلبک‌های جداشده 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 میکروارگانیسم‌های مخرب تشخیص آنهاست. برای پیدا کردن بهترین روش تمیز کردن سطوح سنگ‌ها باید آزمایش‌های بیشتری انجام شود تا مناسب‌ترین روش برای حذف میکروارگانیسم‌های جدا شده انتخاب گردد.

واژه‌های کلیدی: جلبک، سیانوباکتری، میکروارگانیسم های 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 ۵٤۰ قبل از میلاد و از سنگ‌های آهکی سفید متمایل به زرد ساخته شده است (Hogan, 2008). این اثر در تاریخ ۲٤ شهریور ۱۳۱۰ خورشیدی ثبت ملی شده است (شکل۱).

شکل ۱- آرامگاه کوروش کبیر در منطقه پاسارگاد

بناهای سنگی، مجسمه ها و ساختمان های 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 می تواند توسط گروه های 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. سیانوباکتری ها و جلبک های سبز [1] 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 می کنند و باعث برآمدن سطوح و پوسته شدن آن می شود. شناسایی میکروارگانیسم های موثر در فرسودگی زیستی یکی از مهمترین مراحل در مطالعه اکولوژی میکروبی سنگ های تاریخی است. این امر می تواند ما را به درک تنوع زیستی میکروبی، مراحل تثبیت میکروبی و ارتباط میان جمعیت‌ها روی سطوح و بین میکروارگانیسم ها 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. عده ای بر این باورند که میکروارگانیسم های فتوتروف تنها آسیب به زیبایی بنا می زنند که این موضوع به دلیل تولید رنگدانه‌های آن ها در سطوح سنگ است و تاثیر مستقیمی بر فرسایش سنگ

[1] Chlorophyta

ندارد (Gaylarde&Morton,2002). تثبیت میکروارگانیسم ها بر سنگ‌های متخلخل با جذب آب همراه است (Tomaselli, et al., 2000b&Tomaselli,2003) رشد سیانوباکتری های اندولیتیک[1] می تواند در شرایط آب و هوایی سخت مانند اکوسیستم‌های بیابانی داغ و سرد، انجام گیرد. سیانوباکتری ها به طور معمول بر سطح و یا در چند میلی متری تا چندین سانتی متری داخل سنگ ها ساکن می‌شوند (Crispim&Gaylard,2005).

مشاهده رسوب املاح کلسیم روی سلول های سیانوباکتری در حال رشد، نشان دهنده مهاجرت کلسیم از قسمت های مجاور می باشد که یکی از مکانیسم های مهم در فرسودگی سنگ توسط این موجودات است. بررسی ها نشان داده است که ارگانیسم های فتوسنتزکننده در حضور نور، $CaCO_3$ را تولید کرده و به واسطه تغییر غلظت کربنات در شب، آن را حل می‌کنند (Warscheid&Braams,2001).

جنس‌های *Gloeocapsa*، *Phormidium*، *Chroococcus*و *Microcoleus* همه جایی هستند و به همین دلیل حضورشان وابسته به جنس سنگ یا شرایط آب و هوایی خاص نمی باشد (Tomaselli,2000). بسیاری از سیانوباکتری ها به عنوان مثال *Gloeocapsa*، *Gloeothece*، *Phormidium*، *Chroococcus*، *Plectonema*، *Scytonema*، *Lyngbya* و *Microcoleus* 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* شایع ترین گروه از جلبک‌های تثبیت شده بر بسترهای باستانی و سنگی است (Ortega-Calvo, et al.,1991).

به دلیل آن‌که منبع اصلی میکروارگانیسم مورد نظر، خاک های اطراف بناهای تاریخی می باشد، این مسئله قابل پیش بینی است که سنگ ها طی مدت کوتاهی پس از استخراج از معادن مربوطه آلوده شوند. رسوب ذرات ریز معلق در هوا و نفوذ آب های زیر زمینی نیز منابع دیگری از میکروارگانیسم های بسترهای سنگی می باشند (Bartolini, et al.,2004).

Chlorella، *Stichococcus*، *Klebsormidium*، *Trebouxia*، *Trentepohlia* و *Chlorococcum* فراوان‌ترین جنس‌های جلبک های سبز بناهای تاریخی هستند. جنس *Trebouxia* در ۲۰ درصد از گلسنگ ها جدا شده است و به ندرت به صورت آزاد یافت می شود. چنین به نظر می رسد که وجود میکروچلبک‌هایی مانند *Trebouxia* و *Trentepohlia* می‌تواند در روند تثبیت گلسنگ ها موثر باشند.

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

[1] Endolithic: رشد درون سنگی

شده به وسیله میکروارگانیسم‌هاست. مشکل دیگر تولید ترکیبات پلیمری خارج سلولی است. این ترکیبات با جذب آب و از دست دادن آن، به ساختار سنگ فشار مکانیکی وارد می‌کنند. در اثر فشار مکانیکی ایجاد شده اندازه منافذ سنگ تغییر می‌کند و این مسئله باعث تغییر در ظرفیت رطوبتی و در نتیجه واکنش سنگ به نوسانات دمایی می‌گردد. تشکیل بیوفیلم‌های فتوتروفی در سطح سنگ باعث افزایش تجمع آلودگی‌های اتمسفری می شود و به دنبال آن، افزایش فرسودگی ناشی از عملکرد اسیدها و یا اکسید کننده‌ها اتفاق میافتد (Warscheid&Braams,2001).

امروزه از روش‌های فیزیکوشیمیایی مختلفی برای تمیز کردن سطوح سنگی استفاده می‌گردد. 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[1] سطوح است که در این مطالعه، به جداسازی و شناسایی فتوتروف‌های بسترهای سنگی پاسارگاد پرداخته شده است.

مواد و روش کار

محل نمونه‌برداری

آرامگاه کوروش کبیر در مختصات ″1138˚30 شمالی و ″1002˚53 شرقی واقع شده است. نمونه‌برداری در دو مرحله اردیبهشت و شهریور ماه سال ۱۳۹۰ انجام شد. دمای هوا در زمان های نمونه برداری ۲۸ درجه سانتی گراد بود. نمونه‌برداری 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. نمونه‌ها بلافاصله جهت مطالعات میکروبیولوژیکی تحت شرایط استریل به آزمایشگاه منتقل شد.

محیط‌های 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 محیط‌های مورد استفاده برای جداسازی میکروارگانیسم های فتوتروف است که در هر لیتر آب دیونیزه آن حاوی $NaNo_3$ 1.5g، $MgSo_4.7H_2O$ 0.075g، $CaCl_2.2H_2O$ 0.036g، K_2HPO_4 0.03g، Na_2CO_3 0.02g، $Na_2EDTA.2H_2O$ 1mg، $C_6H_8FeNO_7$ 6mg و ۱ میلی لیتر محلول مربوط به عناصر کمیاب (CO و A_5) است. pH این محیط در محدوده خنثی تنظیم گردید.

[1] Microbiota: پوشش میکروبی سطوح مختلف

محیط‌های کشت مایع درون ارلن های ۱۰۰ میلی لیتری توزیع و استریل گردید. پس از تلقیح، محیط های کشت تحت روشنایی ۳۵۰۰ لوکس در دوره های روشنایی - تاریکی ۱۶-۸ ساعت و روی شیکر با سرعت ۸۰ دور در دقیقه قرار گرفتند. دما در هنگام گرما گذاری ۲۵ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید (Ortega-Calvo, et al.,1991).

در طی مراحل کشت، همیشه امکان آلودگی‌های قارچی و باکتریایی محیط های کشت وجود دارد. از این رو از آنتی‌بیوتیک‌های پنی سیلین و استرپتومایسین برای حذف آلودگی های باکتریایی و خالص سازی جلبک ها و از آنتی بیوتیک های ضد قارچ نیستاتین و سیکلوهگزامید جهت مهار رشد آلودگی های قارچی و خالص سازی سیانوباکتری ها استفاده شد. برای به دست آوردن کلنی تک فتوتروف ها، علاوه بر استفاده از آنتی بیوتیک ها، از روش های تهیه رقت های متوالی[1] و کشت خطی[2] 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 ارگانیسم ها، امکان رشد همه میکروارگانیسم های موجود در طبیعت در محیط های کشت ساختگی وجود ندارد و بسیاری از آن ها در آزمایشگاه قابل کشت نیستند لذا می توان انتظار داشت تنها بخش کوچکی از میکروارگانیسم‌های موجود در آثار سنگی پاسارگاد کشت و جدا شوند. پس از رشد اولیه کلنی‌های جدا شده، میکروب‌های به دست آمده در محیط های جدید واکشت و خالص گردیدند و در یخچال ٤ درجه سانتی گراد نگه‌داری شد. سپس، جدایه ها با استفاده از کلیدهای شناسایی و مطابق کتاب های Desikachary و Prescott و Whitford شناسایی گردید (Desikachery, 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 دقیق تر بیوفیلم های میکروبی، ساختارهای زیستی و نیز تغییرات ایجاد شده در سطوح بستر آرامگاه استفاده شد.

با مشاهدات استرئومیکروسکوپی، نمونه های مناسب سنگ برای مطالعات میکروسکوپ الکترونی روبشی انتخاب گردید (Chand, et al., 2012). به منظور آماده سازی نمونه ها جهت تهیه تصاویر مورد نیاز، نمونه ها در محلول گلوتارآلدهید ٤٪ به

[1] Serial dilution
[2] Streak culture

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

نتایج

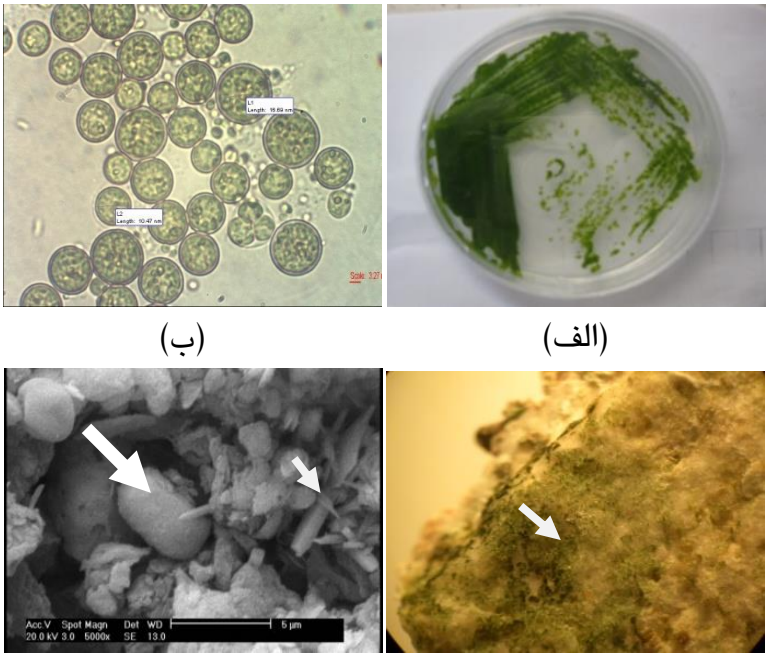
در این بررسی تعداد ۵ جدایه‌ی جلبکی و سیانوباکتریایی *Trentepohlia lolithus* (L.) Wallrot، *Chroococcus varius* A.Braun، *Lyngbya birgei* G.M.Smith، *Lyngbbya penicillata* Kutz. و *Trebouxia glomerata* Waren در مرحله اول و تعداد ۵ جدایه‌ی جلبکی و سیانوباکتریایی *Trebouxia glomerata* Waren، *Microcystis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

جدول۱- جدایه های شناسایی شده از مرحله اول و دوم نمونه برداری

ویژگی‌های مورفولوژیکی و میکروسکوپی	نام جدایه
کلنی های گرد کوچک و در هم، سبز زیتونی، کمی بر آمده، رشد در سطح آگار، سلول های گرد کشیده یا استوانه‌ای شکل، محتوی سلولی نسبتاً همگن، کروماتوپلاسم به سختی قابل دیدن است	*Aphanothece castagnei* (de Breb.)
کلنی گرد و شفاف، سبز کمرنگ، رشد در سطح آگار، لزج، دارای غلاف ژلاتینی، کلنی آن معمولا از دو الی چهار سلول تشکیل می‌شود، اکثر سلول ها مشابه، کم و بیش کروی شکل و یکنواخت، ندازه سلول های پیر و جوان متفاوت است، سلول ها هرگز در یک ردیف قرار نمی‌گیرند	*Chroococcus varius* A.Braun
کلنی با رشته های سبز کمرنگ و نسبتاً منظم، در داخل آگار فرو رفته، دارای لایه ژلاتینی، مسطح و لزج، سلول‌ها در انتها مرتب، دارای پروتوپلاست همگن	*Lyngbya birgei* G.M.Smith
رشته های باریک فرو رفته در آگار، رشد نا منظم، رشته هایی با غلاف شفاف، غیر منشعب	*Lynbya major* Meneghini
رشته های غلاف دار کرک مانند، سلول‌ها بندرت منفرد و اغلب متصل به هم دیده می شوند	*Lyngbya penicillata* Kutz.
کلنی‌های گرد و شفاف، سبز پر رنگ، رشد در سطح آگار و کلنی لزج و دارای غلاف ژلاتینی است، سلول ها دارای آرایش ٤-۲سلولی، اندازه سلول‌های پیر و جوان متفاوت بوده و آرایش سلول ها در یک ردیف دیده نمی‌شوند	*Microcystis aeruginosa* Kuetz.

ویژگی‌های مورفولوژیکی و میکروسکوپی	نام جدایه
کلنی های تیره رنگ و انشعاب دار که در سطح آگار رشد می کنند، رشته‌های باریک و در هم، تصویر میکروسکوپی آن به شکل رشته ای و بدون هتروسیست، غیر منشعب و شبیه به هم مشاهده می شود	*Phormidium inundatum* Kuetzing
کلنی های گرد و برآمده، سبز روشن، سلول‌های تک و کروی، کلروپلاست به شکل چند لوبی و در حاشیه سلول دیده می شود	*Trebouxia glomerata* Waren
کلنی با رشته های نسبتاً قطور و سبز پررنگ، منشعب بوده، سلول ها درشت، کشیده و با کلروپلاست مشبک دیده می شود	*Trentepohlia lolithus* (L.) Wallrot

در بررسی های استرئومیکروسکوپی، انواعی از ساختارهای زیستی شامل گلسنگ ها، جلبک ها، خزه ها مشاهده شد. در بافت سنگ تغییرات مختلفی مانند ایجاد لایه‌ی پودری، حفره دار شدن سطح بستر، حک شدن شکل میکروارگانیسم ها بر سطح سنگ، معدنی شدن زیستی و در نتیجه آن ظهور انواع کریستال های نمکی به خوبی قابل مشاهده بود (شکل ۲).



شکل ۲- الف) کشت و رشد جدایه ها درون محیط BG-11؛ ب) تصویر میکروسکوپ نوری مربوط به نمونه‌ی شناسایی شده *Trebouxia glomerata* با بزرگنمایی 40X؛ ج) تصویر استرئومیکروسکوپی از حضور فتوتروف ها (فلش) و کریستال های نمکی بر نمونه سنگ پاسارگاد؛ د) تصویر میکروسکوپ الکترونی نگاره و مشاهده سلول درشت جلبکی (فلش بزرگتر) و کریستال های نمونه های 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 *Chroococcus*، *Myxosarcina*، *Pleurocapsa*، *Scytonema* ، *chlorophyta* و *Stichococcus* روی بسترهای آهکی بهتر رشد کرده بودند (Tomaselli,2000). در بررسی حاضر نیز جنس‌هایی مانند *Chroococcus*، *Trentepohlia*، *Lyngbya*، *Trebouxia* ، *Microcystis*، *Aphanothece*، *Phormidium* 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[1] 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 میکروجلبک‌ها را در سطوح مختلف بررسی کردند و از آن جنس های *Aphanocapsa*، *Gloeocapsa*، *Oscillatoria*، *Phormidium*، *Calothrix*، *Anabaena*، *Nostoc*، *Cylindrospermum*، *Scytonema*، *Fischerella*، *Chlorococcum*، *Westiellopsis*، *Chlorella*، *Microspora*، *Pandorina*، *Volvox*، *Closterium* جدا شد. 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

همچنین مشاهدات نشان داد که برخی از جنس ها 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 میکروارگانیسم های فتوتروف به عنوان عوامل فرسودگی زیستی، در کنترل و حفظ آثار باستانی و تاریخی اهمیت ویژه ای دارد. نتایج این مطالعه وجود جنس های مختلف سیانوباکتری ها و میکروجلبک ها را نشان می دهد. 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، مرمت و حفاظت آثار باستانی و تاریخی است.

سپاسگزاری

نویسندگان بر خود فرض می دانند 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 جلیلوند به خاطر راهنمایی های تکنیکی‌شان در انجام آزمایش های تشخیصی تشکر و قدردانی می‌گردد.

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). Algea 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- BlazireG. (1971). “Purification Properties of Unicellular Blue-Green Algae (order Chlorococcaies)”. *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