

KÜLTÜREL YAPILARDA BİYOLOJİK BOZUNMA MEKANİZMALARI

Ayşe Dolar¹, Ebru Şebnem Yılmaz²

Özet:

Organizmalar ile yapı taşları her zaman etkileşim içerisindeydirler. Zaman içinde çeşitli etkenlerden dolayı (fiziksel, kimyasal ve biyolojik) bozunma ve aşınma görülür. Bu etkenlerden en önemlisi biyolojik bozunma olup, kompleks bir şekilde diğer ayrışma nedenleri ile birlikte ortaya çıkmaktadır. Kültürel mirasın korunması için giderek artan endişe bu yapıların üzerindeki biyolojik etkiye olan ilginin artmasına yol açmıştır. Ancak, etkin biyofilm oluşturan mikroorganizmalar nemin etkili olduğu her yerde karmaşık bir konsorsyumda dış cepheler üzerinde gelişebilmektedirler. Birçok araştırmacı, biyolojik ajanların taşın bozulmasında oynadıkları önemli rolleri aydınlatmak için çalışmalar başlatmışlardır. Özellikle doğal ışığın bulunduğu yeraltı yapı mağaralarında yer alan çeşitli taksonomik gruplardan fototrofik mikroorganizmalar ile birlikte biyofilm oluşturan farklı mikroorganizma topluluklarına rastlanılmıştır. Yapılan çalışmalarda kullanılan konfokal lazer tarama mikroskobu (CLSM) ve taramalı elektron mikroskobu (TEM), biyofilm oluşturan mikroorganizmaların ayrıntılı incelenmesine ve biyofilm oluşumunun üç boyutlu yapısı hakkında verilerin toplanmasına olanak sağlamıştır.

Anahtar kelimeler: Biyolojik bozunma, Biyofilm, Kayaçlar, Kültürel yapılar, Siyanobakteri.

GİRİŞ

İnsanlar tarihleri boyunca yapı malzemesi olarak taşları kullanmıştır. Doğal taşlar, doğada bol bulunmaları ve çalışılması kolay taşlar oldukları için, yüzyıllarca yaygınca kullanılan yapı malzemeleri olmuştur.

Çeşitli arkeolojik ve mimari eserlerin gelecek nesillere sağlıklı biçimde bırakılması kültür mirasının aktarılmasında önem taşımaktadır. Bu bağlamda, özellikle doğal kayaçlardan yapılan eserlerin ve yapıların korumasız ortamlarda ayrışma düzeylerinin saptanarak, koruma önlemlerinin alınması gerekmektedir. Koruma önlemlerinin etkisi ile olan değişimlerinin saptanması da ayrıca önem taşımaktadır.

^{1,2} Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Genel Biyoloji Anabilim Dalı, Antakya, Hatay. Bu çalışma, birinci yazarın yüksek lisans seminer özetidir. Yazışmadan sorumlu yazarın e-posta adresi: aysemulla@hotmail.com

BİYOLOJİK BOZUNMAYA SEBEP OLAN ORGANİZMALAR

Biyolojik bozunma terimi; üzerinde istenmeyen mikroorganizmaların veya farklı sistematik gruplara ait olan organizmaların varlığına işaret eden bir terim olmakla birlikte, fiziksel etmenlerle (asit yağmurları ve hava kirliliği nedeniyle bozunma) organik ve inorganik maddeler üzerinde önemli ölçüde hızlanan bir süreçtir.

Yapı taşlarının bozunmasında özellikle fiziksel ve kimyasal bozunmadan ziyade biyolojik bozunmanın önemi büyüktür. Yapıda kullanılan malzemenin uyumsuzluğu, yıpranma sürecini hızlandıran faktörler arasında yer alır. Taşların oluşumlarına bağlı olan özellikleri de (taşın rengi, dokusu, tane bileşimi, gözenekliliği gibi) dış etkenlerden etkilenecek tahribata neden olabilmektedirler (1) (Tablo-1).

Tablo 1. Çeşitli grupların doğal taşlar üzerinde oluşturdukları tahripler

Biyolojik Organizma Türü	Doğal Taşa Etkisi
Ototrof bakteriler	Siyah kabuklar, kahverengi siyah patinalar, pul pul dökülme, kabarma.
Heterotrof bakteriler	Siyah kabuklar, kahverengi siyah patinalar, pul pul dökülme, renk değişimi.
Actinomycetesler	Beyaz-gri kabartı, patinalar, pul pul dökülme, beyaz lekeler.
Mantarlar	Renklenmiş tabakalar, pul pul dökülme, çukurlar.
Yeşil yosunlar	Değişik renkli ince film tabakası oluşumu ve patinalar.
Likenler	Kabuklar, parça kabuklaşmalar, çukurlar.
Kara yosunları	Yeşil-gri renkte geniş yüzeyleri kaplayan tabakalar.
Yüksek bitkiler	Çimen, funda ve yarıklarda yetişen ağaçsı türler, malzemede kopma ve deformasyona neden olma.
Hayvanlar, böcekler, kuşlar	Tipik şekilli delikler, paslanmaya neden olabilecek maddelerin birikmesi, çatlaklar.

Doğadaki biyolojik bozunmalar devamlı birbirleriyle etkileşim içerisindeydirler. Örneğin; kayaların ve anıtsal taşların bozulması fiziksel ve kimyasal mekanizmaları içeren karmaşık bir süreçtir. Bu mekanizma genellikle yağmur, rüzgâr, güneş gibi benzer etkileriyle donma/çözülme döngülerinin sinerjik değişim süreçleri ile başlar. Böylece başlangıçtaki yumuşak ve temiz taş yüzeyinde kristal taneleri içinde mikro çatlaklar ve kırık bir oluşumu ile başlayan süreç sonunda yüzey giderek kaba ve daha gözenekli hale gelir.

Atmosferde bulunan artan konsantrasyondaki kirleticiler, parçacıklar şeklinde yarıklar, siyah lekeler ve taş yüzeylerde sekonder reaksiyon ürünleri bırakırlar. Bu da özellikle taş eserlerin bozulmasında dikkate alınması gereken bir süreçtir (2). Biyolojik aktivite de taşların bozunmasında önemli rol oynar. Alg ve liken gibi basit bitkiler, açıkta bulunan kayalar üzerinde yerleşerek gelişmeye başlarlar. Bunlar toz tanelerini yakalayıp fazla miktarda organik madde içeren ince bir zar oluştururlar. Bu ince zar, kayanın dayanıklılığının azalmasına yol açarak zamanla aşınmasına neden olur. Biyolojik aktivite; fiziksel faktörlerle birlikte (havanın etkisi, nütriet, ışık gibi) kompleks özelliklere etki ederek taş öğelerin bozulmasını hızlandırmaktadır (3).

Kayaç ve minerallerin dağılımı mikroorganizmalar, bitkiler ve hayvanlar tarafından kontrol edilmektedir (4).

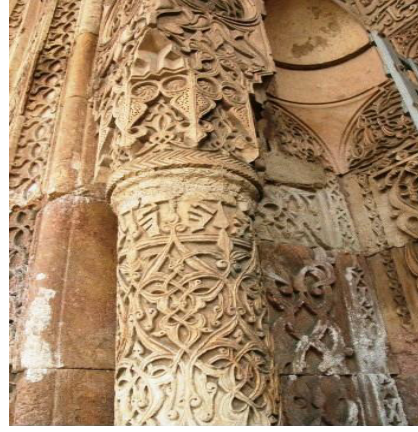
ANITSAL TAŞLARIN BİYOLOJİK BOZUNMASIYLA İLİŞKİLİ ORGANİZMALAR

Bakteriler

Bakteriler kimyasal aktivitelerinden dolayı taşla etkileşim içindedirler. Taştaki mikrobiyolojik bozunmalar da oldukça etkili mikroorganizmalardır. Mikrobiyal çoğalma özelliği daima taşın ortalama ağırlık kaybına yol açar. Değişmeler sonucunda, sadece kimyasal orijinde farklılık olmayıp, siyah tortu tabakası da oluşmaktadır (3). Ayrıca toz halinde parçalanma ve pul pul dökülmeler de görülebilmektedir (Şekil 1-3).



Şekil 1. Kumtaşında görülen, katmanların yaprağımsı toz halinde parçalanması (5)



Şekil 2. Kireç taşlarında mikroorganizmaların sebep olduğu pul pul dökülme şeklinde alterasyon (6)

Sülfür oksitleyen bakteriler de oldukça önemlidir (Tablo 2). Alçı taşının biyolojik formları daima kireç taşının aşınması sonucunda oluşmuş ürünleri arasında bulunur ve sülfür oksit oluşumunda bakterilerin önemli bir etkisi vardır (2). Aktinomisetler ise sık sık mantar, alg ve nitrifikasyon bakterileriyle birlikte ortaya çıkarlar (4) (Şekil 4).

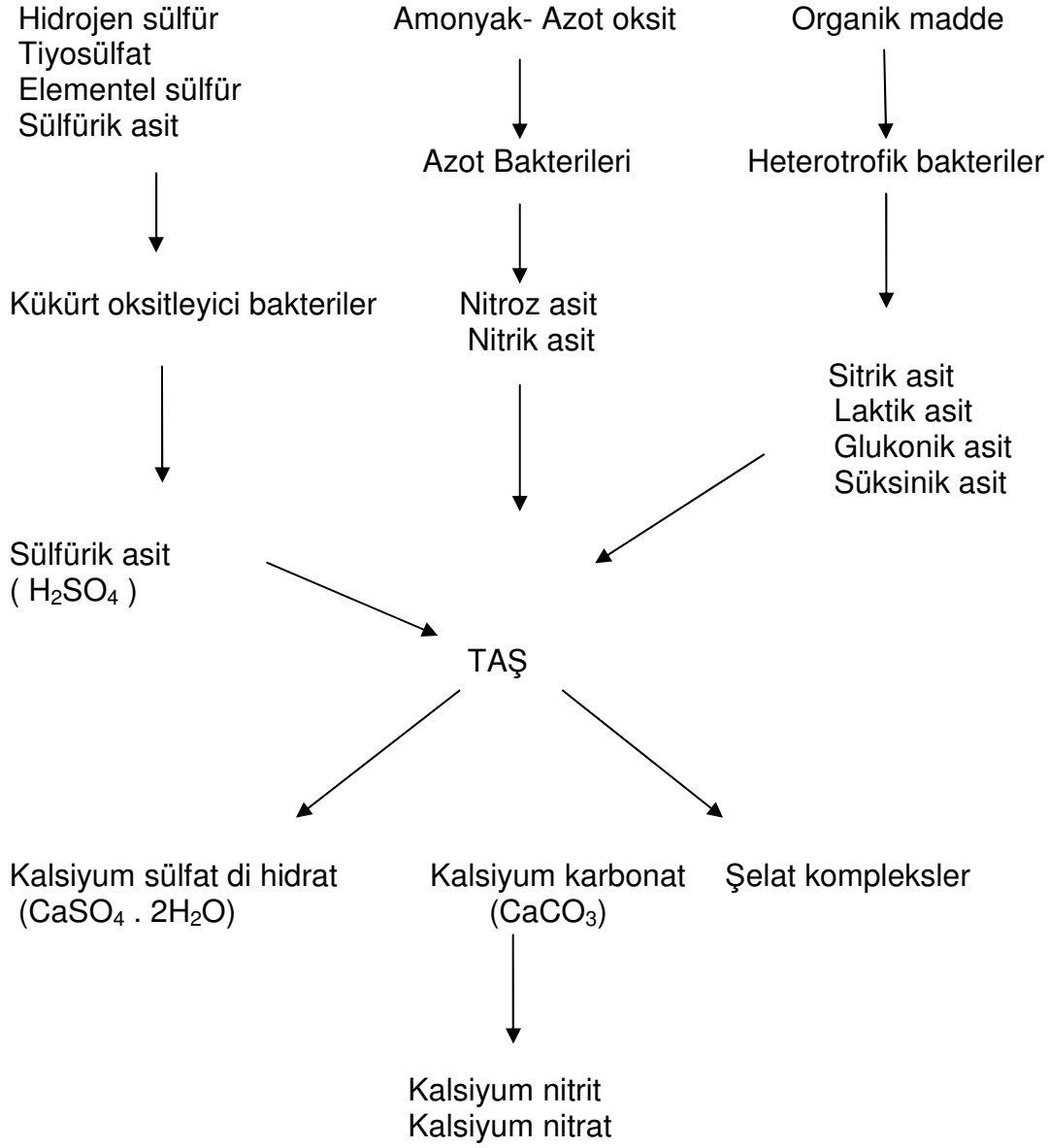


Şekil 3. Mikroorganizmaların sebep olduğu yüzeysel çözünmeler ve pul pul dökülmeler (1)



Şekil 4. Kireçtaşı üzerinde Aktinomisetlerin oluşturduğu alterasyonlar (7)

Tablo 2. Taş üzerinde ototrof ve heterotrof bakterilerin etkisi



Alg ve Siyanobakteriler

Taşlar üzerinde gelişen iki farklı sistematik grup bulunmaktadır. Bunlar Siyanobakteri ve Yeşil Algler'dir (3). Alg ve siyanobakteriler taş üzerinde öncül biyolojik sistemler olup ilk etkiyi yapmaktadırlar. Siyanobakteriler içinde en yaygın rastlanılan cinsler *Nostoc*, *Calothrix* ve *Hyella*'dır. En önemli faktörlerden olan ışık şiddeti, sıcaklık, pH ve nem; algler ve siyanobakteriler için optimum koşullar oluşturduğunda çoğalmaları için avantaj sağlarlar (2). Büyüme en çok ilkbahar ve sonbahar aylarında belirgindir. Bu organizmalar neme karşı çok duyarlıdırlar ve taş yüzeyinde gelişerek ürerler (Şekil 5,6). Yeterince nemli ve direk güneş ışığına maruz olmayan tüm alanlarda da üreyerek gerektiğinde likenik oluşum da gösterirler (8). Kireç taşları, diğer taş çeşitlerine oranla daha sıklıkta kolonizeye sahiptir (3, 9).

Taşlar üzerinde mikroorganizmanın türüne ve metabolik faaliyetlerine bağlı olarak koyu yeşil, kahverengi, gri ve pembe renkli patinalarda oluşabilmektedir (10). Kentsel atmosfer kirliliği zaman zaman alg ve diğer organizmaların gelişimini engelleyici etki yapabilmektedir (11).



Şekil 5. Edirne Bayezit Camii kalkerli bahçe duvarı üzerinde nem oranının yükseldiği kış aylarında ortaya çıkan, yazın uykuda kalan liken ve karayosunların oluşturduğu alterasyonlar (1)



Şekil 6. Bir kayayı kaplamış yapraklı kara yosunları (12)

Mantarlar

Mantarlar da gelişimleri için organik maddeye ihtiyaç duyarlar. Bunlar esas olarak, taş yüzeyinde bulunan mevcut mikrobiyal atıkları, metabolik ara ürünleri ve depolama malzemelerinden gelen polisakkaritleri kullanırlar. Çeşitli mantar türlerinin özellikle renkli ve anitsal yapılar üzerindeki hasarlı alanlarda olduğu gösterilmiştir. Bazı mantar türleri ise likenlerden daha çok biyokimyasal bozunma etkisi potansiyeline sahiptir. İncelenen anıtların üzerinde yoğun olduğu gösterilmiş olan cinslerden bazıları: *Cladosporium*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Fusarium* ve *Phoma*'dır (2).

Mantarlar heterotrofik türler olup gelişimlerini taş üzerinde organik kalıntılar vasıtasıyla gerçekleştirirler (3). Mantarlar ayrıca doğada önemli ayrıştırıcılar olup, diğer canlı gruplarıyla mutualist, simbiyotik ve patojen yaşam şekli oluşturup doğal taşların bozunmasında görev alırlar (13-15). Taş olduğu kadar, ağaç, plastik ve diğer yapı materyallerinde de aynı etkiyi gösterebilen mantarlar taş üzerinde bulunan mikrobiyal toplulukların önemli unsurlarıdır (15,16).

Mantarlar karbonat içeren kayalarda da oldukça geniş bir alanda bulunurlar. Ayrıca çevre değişimlerine bağlı olarak granit, mermer, kumtaşı, andezit, bazalt ve sabuntaşında da bulunabilirler (15,19). Kayaların içyapısına verdikleri zarar biyokimyasal ve direkt olarak biyomekanik hasar vasıtası ile olabilmektedir (3). İndirekt biyomekanik hasar ise mantar tarafından 'ekstraselüler musilaj' maddelerin etkisi ile ortaklaşa gerçekleşmektedir. En önemli bozunma ise mantarın biyokimyasal etkileşimleri sebebiyle olmaktadır (3).



Şekil 7. Mantarların taş duvar yüzeyinde sebep olduğu renk değiştirmeleri ve kararmalar şeklinde görülen mantar alterasyonları (17)



Şekil 8. Kaya üzerinde serbest bırakılan melaninden dolayı oluşan renk değişimi şeklindeki alterasyonlar (18)

Taşın ayrışması

Taşın biyokimyasal ayrışması, minerallerin mikrotopografisinin değişimi, oyuklaşma ve asitle aşınması ile minerallerin yer değiştirme reaksiyonları ve hatta tüm mineral taneciklerin dağılmasından kaynaklanır (20). Mantarlar mineralleri ve metal bileşiklerini asidolizis, kompleksleşme ve redoks tepkimeleri gibi çeşitli mekanizmalar vasıtasıyla çözebilirler (21). Mineral bozunmada mantarların ana etkisi; organik asit üretimine bağlı olarak asidolizis etkisidir (3). Mantarlar hem patina oluşumu hem de melaninin serbest bırakılmasına bağlı olarak taş yüzeyinde renk değişimine yol açar (Şekil 7,8) (22). Melaninler aminoasit ve tirozinden üretilen indochine türevi olmaları nedeniyle oldukça stabildir (3).

Bitkiler

Farklı bölgelerdeki iklim farklılaşması belirli bir bölgedeki bitki türlerinin gelişmesine neden olur. Bitkiler ve onlara eşlik eden mikrofauna ve makrofaunalar tüm dünyada verimli türleri içerirler. Substrat ve çevre koşulları elverişli olduğunda arkeolojik ve mimarideki taş eser yüzeylerinde yaygınca gelişirler. Fotosentez aktiviteleri için yeterli ışık ile substratumun gözenekli yapısı bitkilerin gelişmesi için uygun çevre şartlarını oluşturur (3). Oluşan bitki örtüsü fiziksel problemler oluşturduğu gibi taşın yüzeyini kaplayarak görsel de kirlilik oluşturur. Bu olay, yapının mekanik ve kimyasal doğasının bozunmasında rol oynar (23, 24).

Bazı bitkiler taşın istenmeyen renklenmesine, organik ayrışmadan dolayı substratum üzerinde gözenekler oluşmasına neden olur (25). Ağaç köklerinin aşırı derecede gelişmesi arkeolojik veya mimari eserlere zarar vermektedir (3) (Şekil 9).

Hayvanlar

Taşların bozunmasına etki eden faktörlerden biri de hayvanlardır. Bunlar kazıma ve tırmanma gibi mekanik etkilerle ve yüksek miktarda çıkardıkları asitlerle kimyasal bozunmalara neden olurlar. Güvercinler, tırmanıcılar, sürüngen, solucan gibi diğer canlılar taşlarda delikler ve oyuklar oluşturur. Eski yapılar üzerinde bazı tür kuşlar kolaylıkla yuvalanabilmekte ve dışkılarını yapı üzerinde bırakmaktadırlar (27) (Şekil 10, 11).



Şekil 9. Ağaç köklerinin kayanın içlerine kadar dallanmış olması (26)



Şekil 10. İstanbul/Yeni Cami/ Hünkar Kasrı cephesinde güvercin dışkılarının neden olduğu kirlilik, taş çözünmeleri ve bozunma şeklinde görülen alterasyonlar (1)



Şekil 11. Edirne Üç Şerefeli Cami'inde güvercinlerin yemlenirken merdiven taşlarında oluşturdukları yüzeysel aşınmalar (28)

Biyolojik oyuk oluşumunda organizmaların etkisi oldukça fazladır. Solunum ile dışarı atılan CO_2 kayaç ıslak olduğunda suya geçer ve böylece zayıf asit olan H_2CO_3 (karbonik asit) oluşur. Karbonik asit organizmayla doğrudan temas halindeki kaya parçalarının çözülmesine neden olur. Bu parçacıkların kayacın diğer kısımlarına bağlanması zayıflar ve yağmur damlaları ile etrafa sıçrarlar. Organik madde yanındaki aşınma hızı ivme kazanarak organizma çevresinde çukurlar oluşturur (29). Hymenoptera (zar kanatlılar) çoğu duvarcı arı olarak bilinen türler taşlar içine yuva yapmak için yapıdaki killi zemin malzemesini kaldırarak taşa zarar verirler (30). Diptera (sivrisinek) yoğunluğuna bağlı olarak beyaz mermer üzerindeki tortular dışarı atılarak siyah noktaların oluştuğu görülür (31).

Likenler

Likenler, hava kirliliğini gösteren biyolojik belirteçlerdir. Likenlerin potansiyel kullanımlarıyla doğrudan ilgili olan liken maddelerinin biyolojik aktivitelerinin araştırılmasıyla, insanların kullanımı için faydalı özelliklere sahip türler ve etnobotanik bilgiler elde edilmektedir (32). Şekil ve yapı bakımından likenler kendilerini oluşturan alg ve mantarlardan tamamen ayrı bir yapı gösterirler. Renksiz bir mantar hifinden oluşan tallusun yapısına algin katılması sonucu ortaya renkli, klorofili olan yepyeni ototrof yapı ortaya çıkar (33).

Su seviyesini çevre şartlarına göre değiştirerek yaşayabilen endolitik likenler, solunum yoluyla tallus içinde karbonik aside dönüştürülmüş olan CO₂ üretirler ve kayada karbonik asit (H₂CO₃) oluşumuyla da aşınmaya yol açarlar (29).



Şekil 12. Siyah kabuksu likenlerin taş yüzeyinde oluşturduğu kirlilik (34).



Şekil 13. Alacahöyük kalıntıları üzerinde kırmızı ve beyaz renkli kabuksu likenlerin alterasyonları (32).

Normal şartlarda, çıplak kayalar üzerinde yaşamın olmadığı söylenebilir (35). Ancak kabuksu likenler, üzerinde su bulunduran kayalar üzerinde yaşama imkânı bulabilirler (Şekil 12,13). Metabolik solunumları sonucunda dış ortama karbondioksit (CO₂) salarlar. CO₂, dış ortamdaki su (H₂O) ile birleşir ve karbonik asit (H₂CO₃) oluşur. Meydana gelen bu asit, kaya yüzeyini biraz aşındırır ve mineral maddeler bu canlıların daha iyi kullanabileceği hale gelir. Böylece liken, daha iyi büyüme ve gelişme olanağına kavuşur. Kayaların parçalanma ve ufalanmasından sonra ayrışması, bitki gelişimi için son derece önemlidir. Ayrışma olayında mineral maddeler açığa çıkmaktadır ve bu maddeler de bitki gelişiminde önemli rollere sahiptirler. Ayrıca likenler çok gözenekli ve yumuşak taşlar üzerinde takılma etkisine sahip olabilir (36). Bu sebeplerden dolayı, taş yüzeylerinden liken talluslarının ortadan kaldırılmasını önlemek bazen daha iyidir (37).

KÜLTÜREL MİRASIN KORUNMASINDA BOZUNMANIN ETKİLERİ

Bozunma taş eserlerin korunması için temel süreçleri içermektedir. Kültürel mirasın bozulması, özellikle dış ortam gibi fiziksel hava koşulları, organizmaların ayrıştırıcı özellikleri ile farklı abiyotik ve biyotik faktörlerin etkileşimi sonucu oluşur. Mikrobiyal bozunma ise mikroorganizmaların etkinlikleri nedeniyle istenmeyen herhangi bir değişiklik olarak tanımlanır. Kültürel unsurlar tarihi anıtlar, heykel, fotoğraf, freskleri, tablolar, kâğıt ve çağdaş sanat eserleri üzerinde önemli bir rol oynarlar (38-43).

Bazı Sanat Eserlerinde Bozunma

Sanat eserleri genellikle çeşitli organik ve inorganik maddelerin kombinasyonu ile yapılırlar. Genel olarak biyolojik etki riske en duyarlı bileşen ile meydana gelir. Kültürel miras varlıklarının tüm türlerini kapsayan biyolojik bozunma duyarlılıkları ile ilgili çok fazla çalışma bulunmamaktadır.

Resim Tablolarında Bozulma

Resim tablolarında kullanılan boyaların türü (yağlı ve sulu boya) ve tabloların hazırlık aşamasındaki ana malzemeler (tuval, ahşap, kâğıt veya perşömen) tarihsel döneme ve sanatçıya göre değişmiştir. Tuvaller genellikle hayvansal veya bitkisel yapıştırıcı madde ilavesi ile kireç ya da kalsiyum sülfat ile imal edilmiştir. Yüzeyleri genellikle ince, şeffaf ve koruyucu vernik ile kaplıdır. Tahta destekler üzerine ise benzer birçok yağlı tabakalar ile bazı kimyasal bağlayıcılar ile sabitlenir. Kâğıt üzerindeki boyama, sulu boya, guaj veya pastel olabilir.

Sanat eserlerinde biyolojik bozunma süreçleri bir resmin bir bölümünü ya da tüm bileşenlerini içerebilir. Böylece resmin arka tarafında ve boyalı tarafında başlayan biyolojik atak izleri rahatlıkla gözlenebilir. Bu izler tablonun ya bir kısmını ya da tüm bileşenlerini tahrip edebilir.

Bu tür tablolarındaki organik bileşenler heterotrofik mikroorganizmaların beslenmesi için geniş yelpazede iyi bir kaynak oluşturmaktadır. Ancak biyolojik atak yalnızca olumlu çevresel koşullarda gerçekleşen bir olay olup, bu koşullar genellikle müze odalarında veya eski kiliselerde nem ve sıcaklık kontrolü olmayan yerlerde bulunur. Bu sanat eserlerindeki organik bileşenlerin çeşitliliği hemen hemen tüm mikroorganizma türleri için karbon kaynağı olabilir. Çünkü resimlere etki eden organizmaların birçoğu mikroflora ve mikromantarların hemen hemen tüm cinslerini içerir (44).

Antik çağdan kalan taş yapılar, kitabeler ve yazıtlardaki kabartma ve yazılar da bu mikromantarlar nedeniyle büyük tahribata uğrayabilmektedir. Bu etkiler sonucunda lahit ve diğer tarihi yapılar üzerindeki kabartma yazıların okunması, resimlerin tanınması zorlaşır ve estetik yapı bozulur. Bunlara örnek olarak; *Capnobotryella kiziroglui*, *Capnobotryella erdogani*, *Coniosporium sumbulii*, *Sarcinomyces sideticae* türleri verilebilir (45).

Tuval üzerindeki resimlerde mikrobiyal atak genellikle ters taraftan başlar. Çünkü tutkalın boyutlandırılması tekstil ürünlerinin duyarlılığını artırır. Bazen tablolarında kullanılan yapıştırıcılar ya da astar, macun gibi maddelerin varlığı da bunların duyarlılığını artırır (44,45). Resimlerin yüzeyindeki mikro-mantar gelişimi, mekaniksel bozulma ve biyokimyasal çürümelere neden olur. Bu tür biyolojik bozunmalar Biyofilm oluşumlarından kaynaklanmaktadır.

BİYOFİLM OLUŞUMU

Biyofilmler bir çok mikroorganizmanın tercih ettiği yaşam formudur ve bir veya daha fazla mikroorganizma türünün konsorsuyumuyla oluşur (46-48).

Mikroorganizmaların olumsuz koşullarda hayatta kalabilmesini sağlayan, gelişimleri için koruma sağlayan ve sediment sabitleme ve yapımında önem taşıyan yapılardır (49, 50). Biyofilmler büyümenin farklı aşamalarında sesil mikroorganizmaları ihtiva etmesi dolayısıyla, değişken koşullara karşı hızlı tepki gösterirler.

Biyofilmler, bir yüzeye yapışarak kendi ürettikleri polimerik yapıda jelsi bir tabaka içinde yaşayan mikroorganizmaların oluşturduğu topluluk olarak da tanımlanabilir (51). Bu jelsi tabaka, bakteri hücreleri tarafından üretilen terminolojide "hücre dışı polimerik yapı", "ekzopolisakarit" ya da "ekzopolimerik madde (EPS)" adı verilen polisakkarit bazlı bir ağ yapısından oluşur.

Bir başka tanımlamaya göre biyofilm, birbirine ya da bir yüzeye yapışık bakterinin organik bir polimer matriks içine gömülmesidir (52). Polisakkarit, protein, DNA ve sudan oluşan hücre dışı matriks hücrelerinin tutunmasını sağlar. Matriksin en önemli fonksiyonlarından birisi radyasyon, farklı pH koşulları, ozmotik basınç, su kaybı ve antibiyotik gibi birçok faktöre karşı bakteriyi korumaktır. Bakteriler yüzeye tutunarak koloni oluştururlar ve ileri aşamada ekzopolisakarit matriks içinde, mikroorganizma topluluğu şeklinde biyofilmler oluşur (Şekil 14) (53, 54).

Katı yüzey	+	hücreler	+	Ekstrasellüler maddeler	⇒	Biyo-aktif matriks
Bir yüzeye bağlı mikroorganizmalar	+	Mikroorganizmaların ürettiği ekstrasellüler polimer maddeler	⇒	Fonksiyonel konsorsiyum		

Şekil 14. Çeşitli biyofilm oluşumları

Kültürel Yapılarda Biyofilm Oluşumu

Bakteri tutunmasını etkileyen organik ve inorganik maddelere bağlı olarak her yüzeyde biyofilm oluşumu gözlenebilir. Biyofilmler, sadece tek bir tür tarafından oluşturulabileceği gibi, birden fazla tür tarafından da oluşturulabilir (55). Kültürel yapılarda biyofilm oluşturan cinsler arasında Siyanobakteriler ve Bacillariophytes'ler bulunur (56, 57). Siyanobakteriler taş üzerindeki bozulmaya sebebiyet veren mikroorganizmaların başında gelir ve biyofilm kolonisi oluşturan en büyük mikroorganizma grubudur.

Biyofilmler türler karşısında rekabet, avcılık ya da olumsuz çevre koşulları için bir sığınak görevi yapabilir ve kendi çevresel koşulları ya da yüzey fizikokimyasal özelliklerine göre de gelişebilirler (58-60). Karışık biyofilmler kalın ve çevresel strese karşı monospesifik biyofilmlere göre daha stabildir.

Doğal biyofilmler yüksek derecede organize edilmiş, bir veya birkaç türü kapsayabilir ve tek bir tabaka, üç boyutlu bir yapı hatta çökelti (agregatlar) bile oluşturabilirler (61, 62). Bir biyofilmin üç boyutlu yapısı işlevlerine ve kurucu organizmaların hayatta kalması ile çevresel faktörlere bağlıdır (63, 64). Biyofilm yapısı bir konumsal ve zamansal ışık ve nem farklılıklarının yanı sıra, yüzey ve ara özellikleri, besin durumu ve mikrobiyal bileşimi şeklinde çok sayıda farklı koşullar tarafından kontrol edilir (65).

Bazı biyofilmler kendi mimarisi ve derinliği nedeniyle son derece tabakalaşmışlardır (66). Çalışmalarda, loş doğal ışıklı mağaraların siyanobakteriler, Klorofitler, Bacillariophytes ve likenler dahil olmak üzere çeşitli taksonomik gruplardan mikroorganizmaları barındırdıkları tespit edilmiştir. Kayanın büyük bir hacmi ile sınırlı mağaralar, genellikle homojen hava sıcaklıkları ve korunaklı şartları ile karakterizedir.

Nem genellikle yüksek olup yapay olarak aydınlatılmış ortamlar yeraltı mezarları ve Roma yeraltı mezarlarını içerir (67-69).

Tarihi Yapıların Bozulmasında Siyanobakterilerin Rolü

Siyanobakteriler kayaçlar gibi çeşitli yerlerde bulunmalarının yanı sıra modern ve eski binalar da dâhil olmak üzere karasal habitatlarda geniş bir yelpazede yer alırlar. Tarihi binaların yüzeylerinin bozulmasında siyanobakterilerin rolü yapılan son araştırmalara konu olmuştur. Genellikle kalın dış zarf ve koruyucu pigmentlerin varlığı nedeniyle olumsuz koşullara karşı direnç için adapte olmuşlardır (70).

Danin ve Caneva (1990) siyanobakterilerin (çatlaklar içinde kolonize olanlar ve büyüyenler) endolitik su alınımı, hücre kitlesinin genişlemesi ve hücrelerin etrafında karbonatlar ve okzalatlardan çökmesi sonucu taş içinden basınç uygulayarak kalkerli taşların çürümeye katkısında bulduklarını ileri sürmüşlerdir (71).

Çatlağın açılması, toz, polen, tahıl ve akarlar gibi çeşitli tür küçük hayvanların girişine izin verir ve yapı yüzeyel tabakanın üzerinde artan basınç ile pullanmaya başlar. Kireçtaşında büyüyen siyanobakteriler üzerinde kalsiyum tuzlarının yağış miktarı ile komşu bölgelerden kalsiyumun göç etmesi ve bu organizmalar tarafından taşın bozulmasında önemli bir faktörü oluşturmaktadır (70). Fotosentetik organizmalar ışık varlığında $CaCO_3$ depo eder ve karbonat konsantrasyonundaki bir değişiklik nedeniyle geceleri çözünür. Siyanobakterilerin kayalar üzerindeki etkisini konu alan çalışmaların başında, kontrol, bozunmayı önleme ve Roma yeraltı mağaraları yüzeylerinin zarar görmesine neden olan siyanobakterilerin baskın olduğu biyofilmlerin izlenmesi gelmektedir (69).

Kültürel Mirasın Korunması

Biyolojik bozunmaya sebep olan faktörlerden biri olan biyofilm oluşumu, kültürel eserlerde de oluşabilmektedir. Dünya çapındaki eserlerin yüzeyinde görülen değişik biyofilm pigmentasyonu farklı iklimlerde ve iklim koşullarına maruz kalma süresine bağlıdır (72).

Kültürel mirasın korunması için artan büyük endişe, bu yapılar üzerinde biyolojik bozunmaya olan ilginin artmasına yol açmıştır. Taş ve beton duvarların alterasyonu ve bozulmasında mikrobiyal aktivitenin önemi genellikle ihmal edilmiştir. Ancak oluşan etkin biyofilmler, mikroorganizmaların ve nemin olduğu her yerde bulunur ve karmaşık bir sistem ile yapıların dış cephelerinin üzerinde gelişebilir. Bazı araştırmalar, biyolojik ajanların taşın bozulmasında oynadıkları rolünü aydınlatmak için başlatılmıştır. Buna bağlı olarak, birçok fiziksel, kimyasal ve biyolojik faktörün malzemenin dayanıklılığını etkileyerek gerek sinerjistik gerekse antagonistik etkilerinin olduğu ortaya konmuştur (70).

Taş anıtlar üzerinde siyanobakteriler, algler, karayosunları ve yüksek bitkiler gibi karışık canlı grupları gelişebilir. Literatür verilerinde taş anıtlar üzerinde fototrof yaşayan mikrobiyal konsorsiyumlardaki cins ve türlerin oldukça büyük bir sayı ile temsil edildiği gösterilmektedir. 19. yüzyılda ilk kez kemolitotrofik mikroorganizmaların genellikle hasarlı yapılarda ve taşın bozulmasında rol oynadığı ileri sürülmüştür (Şekil 15,16) (70).



Şekil 15: Mariana, Brezilya eski seminer binasındaki biyofilm oluşumu



Şekil 16: Uxmal, Yucatan, Mexico Vali sarayı binasındaki biyofilm oluşumu

Biyolojik Koruma Yöntemi

Mikroorganizmalar genel olarak taşlar üzerinde zararlı etkileri ile ilişkileri olmasına rağmen, son zamanlarda bozunma etkinliğinin azaltılması yönünde kültürel nesnelere üzerinde zararlı maddelerin çıkarılması için kullanılabileceği öngörülmüştür. Etkili bir koruma yöntemi olan biocleaning (biyolojik temizleme) ile yapılar üzerinde oluşan siyah kabukların çıkarılmasında bakterilerden yararlanılır. Kabuklar kendiliğinden kalkerli tabakalar ve alçı içinde boyanacak yüzeyin kimyasal dönüşümü (kalsit) ile sonuçlanan nemli ortamlar ve kirli atmosfer arasındaki etkileşimden dolayı, taş malzemenin yüzeyinde bozulmuş bir tabaka meydana getirirler. *Desulfovibrio vulgaris* gibi bakterilerin etkinliği son zamanlarda Trento (İtalya) Buonconsiglio kalesinin Demetra ve Cronos heykellerinde de çıkan siyah kabuklanmaların homojen dağılması ve giderimi konusu üzerinde test edilmiştir (43). Aynı mekanizma ile denitrifikasyon yapan bakterilerin nitrat değişikliklerinin ortadan kaldırılması için uygulanabilirliği de ileri sürülmüştür (73).

Mimari, Tarihi Yapıların Koruma Stratejileri Kapsamında Dünya Çapında Yapılan Çalışmalar

CATS Projesi (Cyanobacteria Attack Rocks Project):

CATS projesinin genel amacı; kültürel miras anıtlarında biyofilm oluşturan Siyanobakterilerin biyolojik bozunma süreçlerindeki rollerin belirlenmesi ve iki fazlı olarak (fiziksel ve biyoteknolojik) çoğunlukla Roma yeraltı yapıları içindeki kalkerli kaya yüzeylerinde ciddi hasara neden olan fototrofik ve heterotrofik mikroorganizmaların etkinliğini azaltmak ve engellemek için kullanılabilecek stratejilerin uygulanabilirliğini ortaya çıkarmaktır (69).

Projenin spesifik amaçları:

1. Etkilenmemiş veya Roma yeraltı yapıları içinde siyanobakteriyel topluluklar tarafından kolonize olmuş kayaların jeolojik, jeokimyasal, hidrokimyasal ve fiziksel çevreyi karakterize etmek ve belirli litolojiler (taş bilimi) için siyanobakterilerin ve ilişkili mikroorganizmaların olası tercihlerini değerlendirmek,
2. Değişik türlerde litik yüzeylerin siyanobakteriler ve ilişkili mikroorganizmalar tarafından inşa edilen biyofilmlerin işleyişini ve mimarisini açıklamak,
3. En kritik fiziksel, kimyasal ve biyolojik etkenleri tespit etmek için kaya yüzeylerinin kolonizasyonunu kontrol etmek,
4. Siyanobakteriyel biyofilmlerin yüzeylerde yol açtığı hasarı değerlendirmek ve ölçmek,
5. Fotosentezde kullanılan ışık spektrumunun dalga boyları kullanılarak biyofilm büyümesini kontrol etmek ve engellemek için yeni fiziksel yöntemler geliştirmek,
6. Siderofor ve hücre-hücre sinyalizasyon biyomoleküllerini belirlemek ve deneysel olarak biyofilm gelişimini engellemek,
7. Tehlikedeki kayaç yüzeylerindeki biyokimyasal parametrelerin ölçülmesi için bir çok değişkenli mikrosensör cihazları geliştirmek,
8. Önerilen yenilikçi stratejilere karşı tepki ve beklentileri belirlemek,

Üç yıllık araştırmada, çalışma bölgesi olarak iki Roma yeraltı mağara bölgesi (Domitilla ve St. Callistus) ile İspanya'nın Zuheros bölgesinde bulunan bir yarasa mağarası seçilmiştir. Bu bölgelerde kaya yüzeylerinde gelişen biyofilmlerle ilgili fiziksel, kimyasal, mineralojik ve biyolojik veriler toplanmıştır (Şekil 17). Numune alma bölgelerinin günlük uğradıkları çevresel değişiklikleri şu şekilde belirlenmiştir:

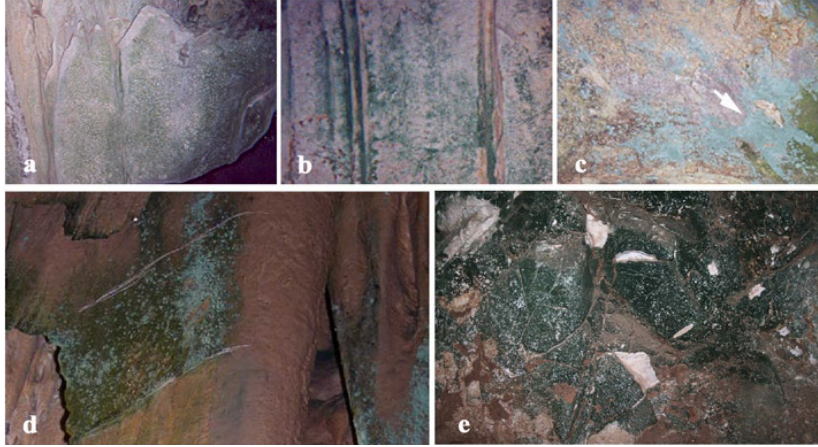
1. Yanan lambanın neden olduğu yüksek sıcaklığın hava ve kayadaki artışı,
2. Mevcut suyun buharlaşması ve havanın bağıl neminin azaltılması, bu hava içinde doymuş su buhar basıncını yükseltmesi,
3. Toplam havadaki nem oranı ve CO₂ konsantrasyonunun ziyaretçiler nedeniyle artması,
4. Lambanın kapatıldığı sırada sıcaklığın hızla azalması, asit ve CO₂ ile zenginleştirilmiş nemin substratlar ve biyofilmler üzerinde hızlı yoğunlaşmasına neden olması,
5. Çözünabilir mineraller ve giderek artan pürüzlülüğün kalkerli substrat çözünmesiyle mikro korozyona uğraması (74).

Fototrofik olarak oluşturulan biyofilmlerin yapısının incelenmesi

Bu proje kapsamında, İspanyadan seçilen üç mağaradan biyofilm örnekleri toplanarak mağara içindeki biyofilm gelişiminin üç boyutlu yapısı, mikroorganizma toplulukları ve oluşan bozunmaların tespit edilmesi amaçlanmıştır (75,76). Çalışma sonucunda, mağaralarda kayalar üzerinde yaşayan fotosentetik toplulukların ağırlıklı olarak yüzeyde geliştikleri ve ekolojik nişlerin çeşitliliğini sağladıkları, birincil ortak stres faktörü olarak ışık kaynağı, nem, besin eksikliği ve sıcaklığın olduğu belirlenmiştir (77). Mağaralarda gözlemlenen biyofilmlerin makroskopik görünüşleri Şekil 18. a-e'de gösterilmiştir (78).



Şekil 17. San Callistus bölgesindeki biyofilm oluşumu



Şekil 18. Örnek toplama alanlarından makroskopik görüntüler: a. Zuheros (örnekleme Z1); b. Zuheros (örnekleme Z4); c. Zuheros (örnekleme Z7) Leprose liken (beyaz ok); d. Collbató (Virgin Cave); e. Nerja (örnekleme N5).

SONUÇ

Kültürel mirasın bozulmasında mikroorganizmaların özellikle de siyanobakterilerin rolü ihmal edilemez. Siyanobakteriler diğer organizmalarla birlikte kolayca tarihi anıtların dış yüzeylerine kolonize olup, biyofilm oluşturarak yapıların görünümünü değiştirir ve diğer bozunma faktörlerinin gelişmesi için bir substrat olarak görev yaparlar.

Kültürel ve sanatsal mirasın korunması ve yönetimi için daha fazla multidisipliner bilimsel çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Küçükkaya, A., 2004. Taşların Bozunma Nedenleri ve Koruma Yöntemleri. Birsen Yayınevi, İstanbul.
2. Tiano, P., 2002. Biodegradation of Cultural Heritage: Decay Mechanisms and Control Methods, <http://www.archip.cz/wo9/wo9-tiano.pdf>. ARIEADNE Workshops 2002, Czechoslovakia.
3. Caneva, G., Roccardi, A., 1991. Harmful flora in the conservation of Roman monuments, Int. Congr. Biodet. Cultural Property, Lucknow, India. p.212-218.
4. Dal, M., Irgas, C., 2012. Doğal Taşlar Üzerindeki Biyolojik Organizmaların Alterasyondaki Rolü. Trakya Univ. J Eng Sci. Araştırma Makalesi, 13(1): 41-55.
5. ICOMOS International Scientific Committee for Stone (ISCS), Illustrated glossary on stone deterioration patterns.
6. <http://www.gezi-yorum.net/sanliurfa>
7. <http://www.cambriancavingcouncil.org.uk/cavelife/mendips/bacteria.html>
8. Tomaselli, L., Margheri, M.C., Florenzano, G., 1979. Indagine sperimentale sul ruolo dei cianobatteri e delle microalghe nel deterioramento di monumenti e affreschi. In 3° Congresso Internazionale sul Deterioramento e Conservazione della Pietra, Venezia. p.313- 325.
9. Gaylarde, P., Englert, G., Ortega-Morales, O., Gaylarde, C., 2006. Lichen-like colonies of pure *Trentepohlia* on limestone monuments. International Biodeterioration and Biodegradation, 58, p.119-123.
10. Giaccone, G. Velloccia Rinaldi, M.L., Giacobini, C., 1976. Forme biologiche delle alghe esistenti sulle sculture all'aperto. In The Conservation of Stone I, R.Rossi-Manaresi Ed., Bologna. 245-266.
11. Richardson, B.A., 1976. Control of moss, lichen and algae on stone. In The Conservation of Stone I, R.Rossi-Manaresi Ed., Bologna. 225- 231.
12. <http://www.maynaq.net/biyoloji/tohumsuz-bitkiler-kara-yosunlari-bryophyta-t3860.0.html>
13. Gadd, G.M., 1993. Interactions of fungi with toxic metals. New Phytologist, 124, p.25-60.
14. Gadd, G.M., 1999. Fungal production of citric acid and oxalic acid: importance in metal speciation, physiology and biochemical processes. Advances in Microbial Physiology, 41, p.47-92.
15. Burford, E.P., Kierans, M., Gadd, G.M., 2003. Geomycology: fungal growth in mineral substrata. Mycologist, 17, p.98-107.
16. Hughes, K.A., Lawley, B., 2003. A novel Antarctic microbial endolithic community within gypsum crusts. Environmental Microbiology, 5, p.555-565.
17. http://www.123rf.com/photo_1895140_stone-wall-with-fungus-growing.html

18. http://www.123rf.com/photo_4287817_orange-color-interesting-shaped-fungus-on-stone.html
19. Staley, J.T., Palmer, F., Adams, J.B., 1982. Microcolonial fungi: common inhabitants on desert rocks. *Science*, 215, p.1093-1095.
20. Leyval, C., Surtinich, T., Berthelin, J., 1993. Mobilization of Pand Cd rock phosphates by rhizospheremicroorganisms (phosphate dissolving bacteria and ectomycorrhizal fungi). *Phosphorus Sulphur and Silicon*, 77, p.133-136.
21. Burgstaller, W., Schinner, F., 1993. Leaching of metals with fungi. *Journal of Biotechnology*, 27, p.91-116.
22. Leznicka S. A., Strzelczyk, Wandrychowska D., 1988. Removing of fungal stains from stone works. *Pock. VI Int. Congr. Deterioration and Conservation of Stone*, Torun, p.107-110,
23. Fischer, G.G., 1972. Weed damage to materials and structures. *Int. Biodet. Bull.*, 8 (3), p.101-103.
24. Allsopp, D., Drayton, D.R., 1975. The higher plants as deteriogens. *Proc. 3rd Int. Biod. Symp. Kinston, Rhode Island*. p.357-364.
25. Lewin, S.Z., Charola, A.E., 1981. Plant life on stone surfaces and its relation to stone conservation. *Scanning Electron Microscopy*, p.563-568.
26. <http://www.travelingmark.com/cambodia/angkor-thom-royal-palace-area-violent-cambodia/>
27. Urzì, C., De Leo, F., 2001. Biodeterioration of Cultural Heritage in Italy: State of Art, ARIEADNE Workshops, Czechoslovakia.
28. Dal, M., 2010. Trakya Bölgesi Tarihi Yapılarında Kullanılan Karbonatlı Taşların Bozunma Nedenleri, Vakıflar Genel Müdürlüğü Yayınları Vakıflar Dergisi, Ankara. Sayı:34, 47-59.
29. Dannin, A., 1992. Pitting of calcareous rocks by organisms under terrestrial conditions. *Isr. J. Earth Sci.* 41:201-207.
30. Lloyd, A.O., 1976. Progress in studies of deteriogenic lichens. In *Proceedings of the Third International Biodegradation Symposium*, J.M.Sharpley and A.M. Kaplan Eds. Applied Science Publishers Ltd, London. 395-402.
31. De Silva, R.H., 1975. Rock painting in Sri Lanka. In *Preprint of IIC Congress on Conservation in Archeological and the Applied Arts*. Stockholm. 69-74.
32. Çobanoğlu, G., 2005. Likenlerin Potansiyel Kullanımlarına Tarihsel Bakış ve Türk Tıp Tarihinde Likenler. *Türk Liken Topluluğu Bülteni*, 1 (Temmuz): 14-16.
33. Güner, H., Aysel, V., Sukatar, A., 1992. Tohumuz Bitkiler Sistematiği II (Mantarlar ve Likenler). *Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova-İzmir*. V. Baskı, II. Cilt, No. 138, 139-142.
34. <http://www.turk liken.org/urun/File/Bulten4.pdf>
35. Asan, A., 1993. Toprak Oluşumunda Biyolojik Faktörler. *Ekoloji Çevre Dergisi* 2 (8): 36-38,
36. Gehrman, C.K., Petersen, K., Krumbein, W.E., 1989. Silicole and calcicole lichens on jewish tombstones - Interactions with environment and biocorrosion, VIth

International Congress on Deterioration and Conservation of Stone, Torun, Suppl. Vol., 33-38.

37. Seaward, M.R.D., Giacobini, C., Giuliani, M.R., Roccardi, A., 1989. The role of lichens in the biodeterioration of ancient monuments with particular reference to central Italy. *International Biodeterioration*. 25, 49-55.

38. Cappitelli, F., Principi, P., Sorlini, C., 2006. Biodeterioration of modern materials in contemporary collection: can biotechnology help? *Trends Biotechnol.* 24, 350–354.

39. Cappitelli, F., Principi, P., Pedrazzani, R., Toniolo, L., Sorlini, C., 2007. Bacterial and fungal deterioration of the Milan Cathedral marble treated with protective synthetic resins. *Sci. Total Environ.* 385, 172–181.

40. Cappitelli, F., Abbruscato, P., Foladori, P., Zanardini, E., Ranalli, G., Principi, P., Villa, F., Polo, A., Sorlini, C., 2009. Detection and elimination of cyanobacteria from frescoes: the case of the St. Brizio Chapel (Orvieto Cathedral, Italy). *Microb. Ecol.* 57, 633–639.

41. Cappitelli, F., Pasquariello, G., Tarsitani, G., Sorlini, C., 2010. Scripta manent? Assessing microbial risk to paper heritage. *Trends Microbiol.* 18, 538–542.

42. Ioanid, E.G., Rusu, D., Dunca, S., Tanase, C., 2010. High-frequency plasma in heritage photo decontamination. *Ann. Microbiol.* 60, 355–361.

43. Polo, A., Cappitelli, F., Brusetti, L., Principi, P., Villa, F., Giacomucci, L., Ranalli, G., Sorlini, C., 2010. Feasibility of removing surface deposits in stone using biological and chemical remediation methods. *Microb. Ecol.* 60, 1–14.

44. Dhawan, S, and O.P. Agrawal, 1986. "Fungal flora of miniature paintings and lithographs," *Int. Biodet. Bull.*, 22 (2) 95-99.

45. Makies, F., 1981. "Enzymatic consolidation of paintings," ICOM Committee for Conservation. 6th Triennial Meeting. Ottawa, 21-25 September 1981. Preprints. Paris: ICOM. 81/2/7- 1 - 7n.

46. Kumar, C. G. and Anand, S.K., 1998. Significance of microbial biofilms in food industry: a review. *International Journal of Food Microbiology* 42 , 9–27.

47. Melchior, M.B. et. al, 2006. Biofilms: A role in recurrent mastitis infections? Review, *The Veterinary Journal*, 171, 398–407.

48. Morikawa, M., 2006. Beneficial Biofilm Formation by Industrial Bacteria *Bacillus subtilis* and Related Species. *Journal Of Bioscience And Bioengineering*. Vol. 101, No. 1, 1–8.

49. Prakash B., Veeregowda B. M. & Krishnappa G., 2003. Biofilms: a survival strategy of bacteria. *Current Science*, 85:1299-1307.

50. Golubic S. & Schneider J., 2003. Microbial endoliths as internal biofilms. In: Krumbein W.E. Dornieden T. , Volkmann M. , Paterson D.M. & Zavarzin G.A. (Eds.), *Fossil and Recent Biofilms. A natural History of Life on Earth*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht: 249–263.

51. Leone S, Molinaro A, Alfieri F, Cafaro V, Lanzetta R, Donato A, Parrilli M., 2006. The biofilm matrix of *Pseudomonas* sp. OX1 grown on phenol is mainly constituted by alginate oligosaccharides. *Carbohydr Res*, 341: 2456 – 2461.

52. Fujishige NA, Kapadia NN, Hirsch AM., 2006. A feeling for the microorganism: structure on a small scale. *Biofilms on plant roots. Bot J Linnean Soc*, 150 (1): 79- 88.
53. Bakke, R., Trulear, M.G., Robinson, J.A., Characklis, W.G., 1984. Activity of *Pseudomonas aeruginosa* in biofilms: steady state. *Biotechnol. Bioeng.* 26, 1418–1424.
54. Costerton, J.W., Cheng, K.J., Geesey, G.G., Ladd, T.I., Nickel, J.C., Dasgupta, M., Marrie, T.J., 1987. Bacterial biofilms in nature and disease. *Annu. Rev. Microbiol.* 41, 435–464.
55. Hansen, S.K., 1 February 2007. Evolution of species interactions in a biofilm community, *NATURE*, Vol 445.
56. Sánchez Castillo P., 1981. Cianofitas en la ciudad de Granada. *Trabajos del Departamento de Botánica. Universidad de Granada.* 6: 29-48.
57. Sánchez Castillo P., 1983. *Clorofitas en la ciudad de Granada.* Trabajos del Departamento de Botánica. Universidad de Granada. 8: 63-79.
58. Korber D. R., James G. A., & Costerton J. W., 1994. Evaluation of fleroxacin activity against established *Pseudomonas fluorescens* biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*, 60: 1663-1669.
59. Walker J. J. & Pace N. R., 2007. Endolithic Microbial Ecosystems. *Annual Review of Microbiology*, 61: 331- 347.
60. Stewart P. S., 1997. Theoretical aspects of antibiotic diffusion into microbial biofilms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 40: 2517–2522.
61. Bryers J. D., 1987. Biologically active surfaces: Processes governing the formation and persistence of biofilms. *Biotechnology Progress* 3: 57-68.
62. Bagge D., Hjelm M., Johansen C., Huber I. & Gram L., 2001. *Shewanella putrefaciens* .adhesion and biofilm formation on food processing surfaces. *Applied and Environmental Microbiology*, 67: 2319-2325.
63. Hall-Stoodley L., Costerton J.W. & Stoodley P., 2004. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nature Reviews*, 2: 95-106.
64. Wimpenny J., Manz W. & Szewzyk U., 2000. Heterogeneity in biofilms. *FEMS Microbiology Reviews*, 24: 661-671.
65. Davey M. & O'Toole G. A., 2000. Microbial Biofilms: from Ecology to Molecular Genetics. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64: 847-867.
66. Zhang T. & Bishop P., 1994. Structure, activity and composition of biofilms. *Water Science and Technology*, 29: 263-270.
67. Hernández-Mariné M., Asencio-Martínez A., Canals A., Ariño X., Aboal M. & Hoffmann L., 1999. Discovery of populations of the lime incrusting genus *Loriella* (Stigonematales) in Spanish caves. *Archiv für Hydrobiologie, Supplement Algological Studies*, 94: 121-138.
68. Roldán M., Clavero E., Canals A., Gómez-Bolea A., Ariño X. & Hernández-Mariné M., 2004. Distribution of phototrophic biofilms in cavities (Garraf, Spain). *Nova Hedwigia.* 78: 329-351.
69. Albertano P., Moscone D., Palleschi G., Hermosín B., Saiz-Jimenez C., Sánchez-Moral S., M. Hernández- Mariné M., Urzi C., Groth I., Schroeckh V., Saarela M.,

- Mattla Sandholm T., Gallon J.R., Graziottin F., Bisconti F. & Giuliani R., 2003. Cyanobacteria attack rocks (CATS): control and preventive strategies to avoid damage caused by cyanobacteria and associated microorganisms in Roman hypogean monuments. In: Saiz-Jimenez C (editor), *Molecular Biology and Cultural Heritage*. Lisse, Balkema. 302-315.
70. Crispim, C.A. and Gaylarde, C.C., 2004. Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil.
71. Danin, A, Caneva, G., 1990. Deterioration of limestone walls in Jerusalem and marble monuments in Rome caused by cyanobacteria and cyanophilous lichens. *Internat Biodet* 26: 397–417.
72. Gorbushina AA, Broughton WJ., 2009. Microbiology of the atmosphere-rock interface: how biological interactions and physical stresses modulate a sophisticated microbial ecosystem.
73. Alfano, G., Lustrato, G., Belli, C., Zanardini, E., Cappitelli, F., Mello, E., Sorlini, C., Ranalli, G., 2011. The bioremoval of nitrate and sulfate alterations on artistic stonework: the case study of Matera Cathedral after six years of the treatment. *Int. Biodeter. Biodegr.* 65, 1004–1011.
74. <http://www2.bio.uniroma2.it>, 2005
75. Hernanz A., Mas M., Gavilán B. & Hernández B. 2006. Raman microscopy and IR spectroscopy of prehistoric paintings from Los Murciélagos cave (Zuheros, Córdoba, Spain). *Journal of Raman Spectroscopy*, 37: 492-497.
76. Sanchidrián J. L. 1986. El arte prehistórico de la Cueva de Nerja. In: Jordá F. & Pellicer M. (Eds), *La Prehistoria de la Cueva de Nerja* (Málaga). Málaga: 284-330.
77. Smith T. & Olson R., 2007. A taxonomic survey of Lamp Flora (Algae and Cyanobacteria) in electrically lit passages within Mammoth Cave National Park, Kentucky. *International Journal of Speleology*, 36: 105-114.
78. Roldán, M. & Hernandez- Marine, M., 2009. Exploring the secrets of the three-dimensional architecture of phototrophic biofilms in caves.