Archive of SID

Modares Journal of Biotechnology
Volume 11, Issue 1, Winter 2020
Pages: 85-91
Type: Original Research

Investigation of the Relationship between the Fungal Deterioration of the Manuscripts of Astan Quds Razavi Documents Center and Library with the Air and its Evaluation in the Paper Model

Shokrzadeh L.[1] PhD, Mohammadi P.*[1] PhD, Bahreini M.[2] PhD, Behdani S.[2] MSc, Sabet Jazari A.[3] MA

[1] Microbiology Department, Biological Sciences Faculty, Alzahra University, Tehran, Iran
[2] Biology Department, Sciences Faculty, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
[3] The Organization of Libraries, Museums and Documents Center of Astane Qudse Razavi, Mashhad, Iran

Abstract

Fungi are the most important agents of biodeterioration in museums, libraries, and repositories. The objective of the present study was to evaluate the microbial diversity in biodeteriorated manuscripts located in a repository of the central library of Astan Quds Razavi and to estimate the fungal occurrence of the repository air. The sterile cotton swabs and nitrocellulose membranes were used for sampling the manuscripts, while the sedimentation method was used for the microbial sampling of air. To evaluate the biodeteriorative impacts of fungi, fungal spore's suspension inoculated on paper strips. 14 and 6 fungal isolates were collected from the three different deteriorated substrates and the repository air samples, respectively. Among the fungi isolates, Aspergillus sp. was isolated in high frequency (36%), followed by Penicillium sp. (21.5%) and Alternaria sp. (14%). Fungi species including P. chrysogenum, Cladosporium cladosporioides, Talaromyces diversus, and Aspergillus sp. were isolated from B1 sample as a parchment that may be low water activity and halophilic fungi. The most fungal isolates (53%) in the air repository including Purpureocillium lilacinum, Talaromyces diversus, Cladosporium sp., and Aspergillus sp. were achieved from MEA medium. The low number of isolated fungi from repository air can be attributed to the efficiently controlled environment factors of Astan Quds Razavi repository. The combination of finding provides some support for the conceptual premise that it could be a direct relationship between the isolated microorganisms from the air and those isolated from the manuscripts. The presence of color spots on paper strips can approve the biodeterioration of paper via fungal activities.

Keywords
Biodeterioration [Not in MeSH];
Fungi [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68005658];
Manuscript [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68020486];
Astan Quds Razavi [Not in MeSH]

*Corresponding Author
Tel: +98 (21) 85692728
Fax: +98 (21) 88058912
Post Address: Microbiology Department, Biological Sciences Faculty, Alzahra University, North Sheikh Bahaee Street, Deh-e Vanak Street, Tehran, Iran
p.mohammadi@alzahra.ac.ir
Received: June 19, 2019 Accepted: September 30, 2019 ePublished: March 14, 2020

www.SID.ir

Archive of SID

بررسی رابطه فرسایش قارچی نسخه‌های خطی مرکز اسناد و کتابخانه آستان قدس رضوی با هوا و ارزیابی آن در مدل کاغذی

لیلا شکرزاده PhD
گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا(س)، تهران، ایران
پریسا محمدی* PhD
گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا(س)، تهران، ایران
معصومه بحرینی PhD
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
سمیرا بهدانی MSc
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
علی‌اصغر ثابت‌جازاری MA
سازمان کتابخانه‌ها، موزه‌ها و مرکز اسناد آستان قدس رضوی، مشهد، ایران

چکیده
قارچ‌ها مهمترین عامل فرسودگی زیستی در موزه‌ها، کتابخانه‌ها، آرشیوها و مخازن اسناد مکتوب هستند. هدف از مطالعه حاضر بررسی تنوع قارچی نسخه‌های خطی آسیب‌دیده در یکی از مخازن مرکز اسناد و کتابخانه آستان قدس رضوی و تعیین آلودگی هوای مخزن و ارتباط آن با آلودگی نسخ است. نمونه‌گیری از نسخه‌های خطی با استفاده از سوآب و کاغذ نیتروسلولز استریل و هوای مخزن به روش پلیت باز انجام شد. القای فرسودگی اسپورهای قارچی روی کاغذ، در آزمایشگاه مدل‌سازی شد. ۱۴ جدایه قارچی از سه نمونه بستر مختلف خطی و ۶ جدایه قارچی از نمونه هوای مخزن به دست آمد. بین جدایه‌های قارچی نسخ خطی *Aspergillus* sp. با بیشترین فراوانی (۳۶%) و *Penicillium* sp. (۲۱/۵%) و *Alternaria* sp. (۱۴%) پس از آن قرار داشتند. نمونه‌های قارچی *P. chrysogenum*، *Cladosporium cladosporioides*، *Talaromyces diversus* و *Aspergillus* sp. از نمونه کاغذهای پوستی جدا شده‌اند که می‌توانند در ارتباط با قارچ‌های دارای فعالیت آبی کم و نمک‌دوست باشند. بیشترین قارچ‌های جداشده مخزن از محیط MEA (۵۳%) به دست آمد. این قارچ‌ها شامل *Purpureocillium lilacinum*، *Talaromyces diversus*، *Cladosporium* sp. و *Aspergillus* sp. هستند. تعداد کم قارچ‌های جداشده از فضای مخزن، در مقایسه با اتاق بافری می‌تواند به عوامل محیطی مناسب کنترل‌شده درون مخزن نسبت داده شود. گونه‌های شناسایی‌شده مشترک بستر و هوا می‌تواند ناشی از انتقال و استقرار اسپورهای قارچی هوا به سطح نسخ باشد. حضور لکه‌های رنگی روی مدل‌های کاغذی آغشته به اسپورهای قارچی فرسایش قارچی را در بستر کاغذی اثبات می‌کند.

کلیدواژه‌ها: فرسودگی زیستی، قارچ‌ها، نسخه خطی، آستان قدس رضوی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۳/۲۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۷/۸
*نویسنده مسئول: p.mohammadi@alzahra.ac.ir

مقدمه

حفظ و نگهداری میراث مکتوب یکی از مهمترین موضوعات در حوزه میراث ملی و جهانی است. نسخه‌های خطی به‌عنوان یکی از با ارزش‌ترین میراث فرهنگی جهان شناخته می‌شوند و نشان‌دهنده فرهنگ و سنت جوامع بشری هستند که به هزاران سال قبل برمی‌گردد. ایران بزرگترین مجموعه‌های نسخ خطی را دارد که در مخازن مختلفی مانند آرشیو، کتابخانه‌ها، موزه‌ها و موسسات مذهبی نگهداری می‌شوند. این ثروت غنی در هر کشوری به دلایل مختلف، با تهدید بزرگ انواع فرسودگی‌های زیستی، شیمیایی و فیزیکی روبه‌رو است که باید مورد توجه قرار بگیرد[1].

امروزه نقش میکروارگانیزم‌ها به‌خصوص قارچ‌ها در کاهش کیفیت و ساختار کاغذهای قدیمی، نسخ خطی، آثار هنری و مصنوعات میراث فرهنگی، شناخته شده است. به‌طور عمده، اسپورهای آبگریز قارچ‌ها در محیط، به‌صورت آزاد توسط باد و جریان هوا منتشر می‌شوند. به همین دلیل آلودگی‌های قارچی چنین آثاری به‌طور عمده منشا هوایی دارند[2, 3]. رویش اسپورها و رشد کلنی‌های قارچی تحت تاثیر عواملی چون ماهیت شیمیایی بستر، شرایط اقلیمی از جمله دما، رطوبت و مواد مغذی موجود در هوا قرار می‌گیرد. در دسترس‌بودن آب مهمترین فاکتور برای غلبه قارچ‌ها، در مقایسه با باکتری‌ها و آرکی‌ها در مخازن نگهداری اشیای قدیمی و مکتوب است، چراکه بسیاری از قارچ‌ها قادر به رشد در مقادیر کم رطوبت نسبی هستند. به‌عنوان مثال می‌توان به قارچ‌های خشکی‌دوست (Xerophilic) و مقاوم به خشکی (Xerotolerant) *Eurotium* sp.، *Aspergillus* sp. و *Wallemia* sp. اشاره کرد که در فعالیت آبی کمتر از ۰/۶ رشد می‌کنند[4]. این در حالی است که در فعالیت آبی ۰/۸، می‌توان شاهد رشد طیف گسترده‌ای از قارچ‌های موجود در هوا بود. امروزه رطوبت نسبی ۵۵٪ به‌عنوان خط مرزی رشد قارچ‌ها در موزه‌ها و مخازن نگهداری اشیای تاریخی و هنری در نظر گرفته می‌شود[3]. با این حال، وجود ریززیستگاه‌های متعدد، شیب دمایی و جریان هوا درون چنین مکان‌هایی، مساله کنترل دما و رطوبت را با مشکلاتی مواجه کرده است[3, 5]. به‌عبارتی تهویه نامناسب و ناهمگونی دمایی سطوح، نقاطی با میزان رطوبت بیشتر و ریزمحیط‌هایی با میزان آب در دسترس بالاتر، در اختیار میکروارگانیزم‌ها می‌گذارد.

میکروبیولوژی کاربردی برای حفاظت، یک شاخه نسبتاً جوان از میکروبیولوژی محیطی است که از سایر حوزه‌های علوم، به‌ویژه اکولوژی میکروبی و میکروبیولوژی بالینی بهره گرفته است[6]. برای سال‌ها، روش‌های استفاده برای مطالعه میکروارگانیزم‌های ساکن در اشیای تاریخی و فرهنگی، روش‌های وابسته به کشت به‌خصوص روش‌های میکروسکوپی بود که به میکروبیولوژیست‌ها اجازه داد تا نتایج مهمی را در رابطه با فرسودگی‌های میکروبی اشیای تاریخی و فرهنگی به اثبات برسانند.

طی دهه‌های اخیر مطالعاتی در حوزه فرسودگی زیستی میراث مکتوب در جهان و ایران انجام شده است[7-10]، با این حال تحقیقاتی که به‌طور عمده روی نسخه‌های خطی ارزشمند قدیمی مخزن مرکز اسناد و کتابخانه آستان قدس رضوی انجام شده باشد، بسیار اندک است. از طرف دیگر، بررسی جوامع میکروبی هوای مخازن مربوط به اسناد مکتوب و ارتباط وضعیت تنوع میکروبی هوا و میکروارگانیزم‌های جداشده از بستر، در ایران و مرکز اسناد و

www.SID.ir

Archive of SID

کتابخانه آستان قدس رضوی انجام نشده است. بنابراین بررسی تنوع قارچی نسخ خطی با رویکرد شناخت انواع محلی آن، یک موضوع مهم و جدید در زمینه میراث فرهنگی و میکروبیولوژی کاربردی حفاظت از چنین میراثی است.

در این راستا، تنوع قارچی نسخه‌های خطی آسیب‌دیده منتخب، از یکی از مخازن مرکز اسناد و کتابخانه آستان قدس رضوی تعیین شد. علاوه بر این، برای ارزیابی کیفیت میکروبی هوای مخزن و بررسی نقش میکروارگانیزم‌های هوا در آلودگی اشیای کتابخانه، نمونه‌گیری از هوای مخزن انجام شد. نمونه‌های مربوط به بستر و هوا، هر دو با استفاده از تکنیک‌های وابسته به کشت و روش‌های مولکولی بررسی شدند. همچنین به‌منظور اثبات فرسودگی زیستی جدایه‌های قارچی آثار کاغذی مورد اشاره، تغییرات القاشده توسط اسپورهای جدایه‌های مزبور، در مدل کاغذی در آزمایشگاه ارزیابی شد.

مواد و روش‌ها

مکان نمونه‌گیری

نمونه‌برداری از یکی از مخازن نسخ خطی کتابخانه و مرکز اسناد آستان قدس رضوی انجام شد. این محل یک اتاق ۶ وجهی با دیوارهای بتنی به ضخامت ۰/۵متر و دری با قطر ۴۵سانتی‌متر و به وسعت ۲۰۰مترمربع و مجهز به سیستم تهویه دایمی است. دمای در حد ۱۹°C و رطوبت نسبی حدود ۵۵% نشان‌دهنده شرایط محیطی مناسب و کنترل‌شده هوای داخل مخزن است. یک اتاق بافری بین مخزن و بخش عمومی کتابخانه قرار داشت.

نمونه‌گیری از نسخه‌های خطی

مطالعه حاضر روی سه گنجینه مکتوب موجود در مخزن مرکز اسناد و کتابخانه آستان قدس رضوی انجام شده است. نمونه‌گیری از نسخه‌های خطی به دو روش غیرتهاجمی با استفاده از سوآب استریل و کاغذ نیتروسلولز در شرایط استریل انجام شد. همچنین ملاک انتخاب محل نمونه‌برداری، لکه‌های رنگی و قسمت‌های آسیب‌دیده نسخ خطی بود. سوآب استریل، به برخی قسمت‌های مشکوک به آلودگی نمونه‌ها سایش داده شد و به‌طور مستقیم روی پلیت‌های حاوی محیط کشت‌های Malt Extarct Agar (MEA؛ Scharlab Sl، اسپانیا) و Potato Dextrose Agar (PDA؛ Scharlab Sl، اسپانیا) تلقیح شد (شکل ۱). محیط‌های کشت انتخابی MEA حاوی ۱۵% کلریدسدیم (برای جداسازی قارچ‌های خشکی‌دوست نمک‌دوست پیشنهاد شده است) و ۰/۰۵گرم بر لیتر کلرامفنیکل و PDA با ۰/۰۵گرم بر لیتر کلرامفنیکل برای جلوگیری از رشد باکتری‌ها بودند. به‌منظور نمونه‌گیری با غشای نیتروسلولز، سطحی به مساحت ۲×۲میلی‌متر از این غشا، به‌آرامی روی نقاط مشکوک به آلودگی به مدت ۱۰ ثانیه به‌خوبی تماس داده شد و سپس روی پلیت‌های حاوی محیط کشت‌های PDA و MEA قرار گرفت. پلیت‌ها به آزمایشگاه منتقل و در گرمخانه در ۲۵°C گرماگذاری شدند[4].

نمونه‌گیری از هوا

برای تعیین آلودگی قارچی هوای مخزن، نمونه‌برداری به روش غیرفعال (روش ته‌نشینی) انجام شد. برای نمونه‌گیری دو نوع محیط کشت MEA و PDA به شرح فوق تهیه و به‌صورت دوتایی در شش نقطه مختلف فضای مخزن و در ارتفاع ۷۰سانتی‌متری از سطح زمین، به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شدند. همچنین برای مقایسه بار آلودگی هوای مخزن با سیستم تهویه، رطوبت و دمای کنترل‌شده، نمونه‌گیری از هوای اتاق بافری (بدون کنترل دما، رطوبت و تهویه) انجام شد. محیط‌های کشت به آزمایشگاه انتقال و در دمای ۲۵°C به مدت ۷ تا ۱۴ روز گرماگذاری شدند و رشد قارچ‌ها به‌صورت روزانه کنترل شد. کلنی‌هایی که مورفولوژی متفاوتی داشتند روی محیط اختصاصی قارچ واکشت داده شدند تا کشت خالص تهیه شود.

شکل ۱) نمونه‌گیری با دو روش غیرتهاجمی با استفاده از کاغذ نیتروسلولز؛ (الف) و سوآب استریل (ب) از نمونه مربوط به بستر کاغذهای پوستی (B1)؛ لکه‌های بنفش روی ورقه‌ها به‌خوبی مشاهده می‌شوند.

شناسایی جدایه‌ها

همه قارچ‌های جدا و خالص‌شده، با استفاده از میکروسکوپ نوری (Olympus؛ ژاپن) و روش کشت روی لام (Slide culture)، از طریق مشاهده ساختارهای رویشی و زایشی، شناسایی اولیه شدند. تصاویر جدایه‌ها با میکروسکوپ مجهز به دوربین دیجیتال و با استفاده از برنامه Dino Capture تهیه شدند.

برای شناسایی دقیق‌تر قارچ‌ها، تجزیه و تحلیل توالی DNA ریبوزومی منطقه ژنومی ITSs به کار گرفته شد. DNA جدایه‌های قارچی با استفاده از کیت استخراج DNA قارچی (پویاژن آزما؛ ایران) استخراج شد. سپس برای تقویت توالی‌های ITSs از روش PCR استفاده شد. قطعه‌هایی با اندازه تقریبی ۷۰۰ جفت باز، شامل منطقه ITS1، منطقه ITS2 و ناحیه ۵/۸S rRna مجاور، با استفاده از یک جفت آغازگر ITS1 (5' CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA 3') و ITS4 (5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3') تکثیر شد[11]. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از کیت PCR آمپلیکون، به توصیه شرکت سازنده (Amplicon؛ کره)، با ۲میکرولیتر DNA و ۱۲/۵پیکومول از هر آغازگر انجام شد. برنامه حرارتی واسرشت اولیه ۹۴°C به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ چرخه شامل ۹۲°C به مدت یک دقیقه، ۵۴°C به مدت یک دقیقه و ۷۲°C به مدت یک دقیقه و یک چرخه مرحله نهایی ۷۲°C به مدت ۱۰ دقیقه تنظیم شد. محصولات PCR برای توالی‌یابی (آریا ویستاژن؛ ایران)

www.SID.ir

Archive of SID

فرستاده شدند. نتایج تعیین توالی با نرم‌افزار Lasergene (DNASTAR؛ ایالات متحده) و Chromas 2.23 ویرایش شد و سپس توالی‌ها با توالی‌های موجود در مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی ایالات متحده (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) مقایسه و تجزیه و تحلیل شدند. شناسایی جدایه‌های مورد نظر، در صورت وجود تشابه زیاد توالی (۱۰۰-۹۸%) در سطح جنس یا گونه، انجام شد.

فرسودگی قارچی در مدل کاغذی

برای ارزیابی اثرات زیستی قارچ‌ها روی کاغذ، سوسپانسیونی از اسپورهای ۷ روزه جدایه‌های قارچی شامل *Aspergillus* sp.، *Talaromyces diversus*، *Penicillium chrysogenum* و *Aspergillus flavus* تهیه شد. کلیه مراحل تلقیح به مدل کاغذی مطابق روش پینزاری و همکاران با تغییراتی انجام شد[12]. به‌طور خلاصه، سوسپانسیون اسپورهای قارچی در ۳۰میلی‌لیتر آب مقطر استریل حاوی ۰/۰۲% توئین ۸۰، غوطه‌ور شد و حجم مشخصی از هر سوسپانسیون اسپوری در آبگوشت مغذی نوترینت براث (NB) تلقیح و در نهایت ۱۰۰میکرولیتر از هر سوسپانسیون روی نوارهای سلولزی به ابعاد ۳×۱سانتی‌متر در دو نقطه تلقیح شد. نوارها به مدت ۲۰ دقیقه با اشعه UV استریل شده بودند. کاغذهای تلقیح‌شده روی لام استریل درون پلیت استریل حاوی کاغذ صافی مرطوب استریل قرار گرفتند و در ۲۷°C به مدت ۱۴ روز گرماگذاری شدند. تمام مراحل فوق در زیر هود لامینار انجام شدند. قارچ‌های رشدکرده روی سطح کاغذ، ابتدا توسط میکروسکوپ نوری مشاهده شدند و سپس با میکروسکوپ الکترونی مورد بررسی دقیق‌تری قرار گرفتند.

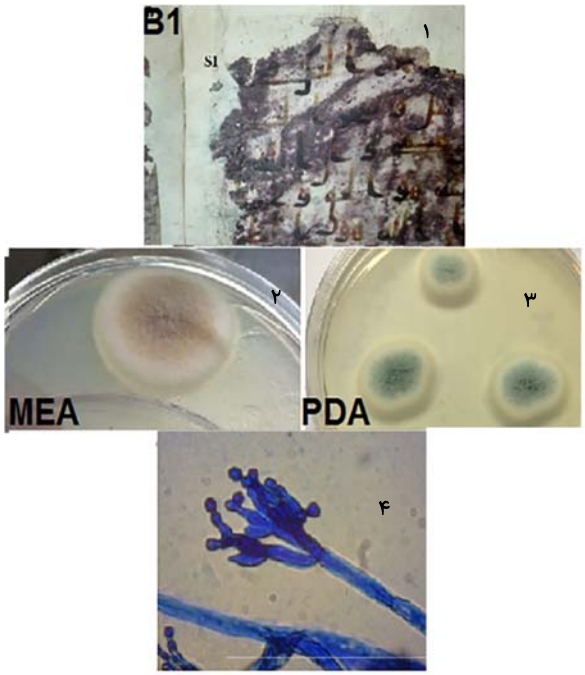
مطالعه میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

برای بررسی حضور، نحوه استقرار و تغییرات ایجادشده قارچ‌ها روی بسترهای کاغذی از SEM استفاده می‌شود. برای این منظور ابتدا نمونه‌های کاغذ آغشته به اسپور قارچی با استفاده از دستگاه پوشش‌دهی مدل SC7620، پوشش طلا داده شدند. سپس تصاویر نمونه‌های پوشش‌داده‌شده با استفاده از SEM مدل Leo 1450 VP ثبت شدند.

نتایج و بحث

نتایج کشت نسخه‌های خطی

پس از بررسی اولیه، نسخه‌هایی که علایم فرسودگی زیستی نشان می‌دادند انتخاب شدند. لازم به ذکر است که نمونه‌های منتخب قبلاً مرمت فیزیکی شده بودند، ولی آثار فرسودگی میکروبی در ورقه‌های آنها کاملاً نمایان بود (شکل ۱). نسخه خطی مربوط به ورقه‌های پوستی، دارای لکه‌های صورتی- بنفش بود که دلالت بر تجزیه میکروبی توسط میکروارگانیزم‌هایی است که دارای آنزیم کلاژناز هستند و با میان‌کنش با بستر نمکی چنین لکه‌هایی ایجاد می‌شود. برای ارزیابی آلودگی قارچی نسخه‌های خطی، نمونه‌برداری از دو ناحیه مختلف با علایم فرسودگی و با دو روش غیرتهاجمی انجام و روی محیط کشت اختصاصی قارچ کشت داده شد. در شکل ۲ مورفولوژی کلنی همراه با ساختار رویشی و زایشی *Penicillium chrysogenum* جدا شده از بستر پوستی (B1) روی محیط MEA نشان داده شده است. جدول ۱ فهرست کلی از جدایه‌های قارچی نسخه‌های فرسوده را ارایه می‌دهد. از ۱۴ جدایه قارچی مربوط به سه نسخه خطی، ۵ جدایه قارچی از بستر B1، سه جدایه از بستر B3 و ۶ جدایه از بستر B2 به دست آمد. براساس تکنیک‌های شناسایی مبتنی بر روش‌های میکروسکوپی و مولکولی، شناسایی قارچ‌ها در سطح فیلوژنتیکی و در حد جنس و یا گونه انجام شد و شامل *Penicillium* sp.، *Aspergillus* sp.، *Alternaria* sp.، *Cladosporium* sp.، *Talaromyces diversus* و *Arachinotus littoralis* هستند. بین جنس‌های شناسایی‌شده *Aspergillus* sp. بیشترین فراوانی (۳۶%) را داشت و *Penicillium* sp. (۲۱/۵%) و *Alternaria sp.* (۱۴%) به ترتیب در مقام دوم و سوم قرار دارند. قارچ‌های *P. chrysogenum*، *Cladosporium cladosporioides*، *Talaromyces diversus* و *Aspergillus* sp. از بستر پوستی (B1) جدا شدند. مطالعات نشان داده است که جنس‌های *Aspergillus*، *Cladosporium*، *Penicillium* و *Alternaria* از بسترهای مختلف از قبیل کاغذهای پوستی، کاغذ خمیر چوب و نسخه قدیمی جدا شده‌اند[13, 14]. علاوه براین، *Aspergillus* sp. و *Penicillium* sp. و سپس *Alternaria* sp. در اغلب نسخه‌های خطی پوستی و کاغذی قارچ‌های غالب بوده‌اند[13, 14]. تاکنون از هیچ آثار مکتوب فرسوده‌شده‌ای *Arachinotus littoralis* جدا و گزارش نشده است.



شکل ۲) S1 محل نمونه‌برداری از بستر B1 (۱)؛ کلنی قارچ *Penicillium chrysogenum* روی محیط MEA حاوی ۱۵% نمک (۲) و PDA (۳)؛ عکس میکروسکوپی *Penicillium chrysogenum* که شناسایی آن با آنالیز ITS انجام و تایید شد (۴).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱) قارچ‌های جداشده از نسخه‌های خطی

نسخه‌های خطی	PDA	MEA
B1	*Aspergillus* sp.	*Penicillium chrysogenum* [2], *Talaromyces diversus*, *Cladosporium cladosporioides*
B2	*Aspergillus proliferans* [3], *Aspergillus flavus*, *Arachinotus littoralis*, *Penicillium corylophilum*	
B3	*Alternaria* sp., *Yeast*	*Alternaria* sp.

همان‌طور که ذکر شد، مقایسه کاغذ پوستی (B1) و غیرپوستی (B2 و B3) فرسوده‌شده، حضور لکه‌های مشخص بنفش- صورتی را در B1 نشان داد (شکل ۱). طبق گزارش *پینار* و همکاران، این نوع لکه‌ها می‌توانند مربوط به تجزیه میکروبی کلاژن باشند که مرتبط با فعالیت میکروارگانیزم‌های نمک‌دوست و مقاوم به نمک است که چنین شرایطی در کاغذهای پوستی فراهم است. در گزارش‌ها آمده است که *P. chrysogenum* به‌دلیل تولید پروتئازهای قلیایی، می‌تواند نقش فعالی در تخریب کاغذهای پوستی و به‌دنبال آن تولید لکه‌های رنگی داشته باشد[14-16]. به عبارتی لکه‌های تولیدشده روی بستر B1 می‌توانند مربوط به رشد قارچ‌هایی با فعالیت آبی کم و نمک‌دوست، *Penicillium chrysogenum* و *Talaromyces diversus* باشند که روی محیط کشت MEA با فعالیت آبی کم جدا شدند. نکته جالب توجه این است که بیشترین درصد قارچ‌های جداشده (۸۳/۳٪) از محیط فوق، مربوط به بستر پوستی (B1) بود (جدول ۱).

نتایج کشت هوا

درک جوامع میکروبی هوا در مخازن نگهداری اسناد و اشیای تاریخی می‌تواند اطلاعات ارزشمندی برای معرفی بهترین روش حفاظت و مدیریت علمی و پیشگیرانه این مراکز فراهم کند. در این راستا به‌منظور تعیین کیفیت میکروبی هوای اتاق مخزن و مقایسه آن با جمعیت میکروبی شناسایی‌شده از بسترها، بررسی میکروبی هوا با روش وابسته به کشت و به طریق ته‌نشینی انجام شد. در مطالعات قبلی گزارش شده است که کیفیت میکروبی هوا تاثیر مستقیم بر فرسودگی‌های زیستی اشیای موجود در کتابخانه‌ها و مخازن دارد[3, 4, 17]. فضای مخزن مرکز اسناد و کتابخانه آستان قدس رضوی در درجه حرارت حدود ۱۹°C و رطوبت نسبی حدود ۵۵% کنترل می‌شود. جدول ۲ فهرست قارچ‌های شناسایی‌شده در شش نقطه مختلف فضای داخلی مخزن و اتاق بافری را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود در محیط MEA قارچ‌های بیشتری جدا شد. بنابراین برای مطالعات میکروبیولوژی هوا با رویکرد قارچی این محیط پیشنهاد می‌شود. قارچ‌های به‌دست‌آمده از محیط MEA شامل *Purpureocillium lilacinum*، *Talaromyces diversus*، *Cladosporium* sp. و *Aspergillus* sp. می‌توانند قارچ‌های خشکی‌دوست نمک‌دوست باشند. جداسازی قارچ *Purpureocillium lilacinum* از بسترهای سنگی، بتنی و گچی که قبلاً گزارش شده است می‌تواند دلیل حضور اسپورهای آن در فضای مخزن باشد که به‌سرعت قادر به رشد روی محیط MEA بوده است[18, 19]. *Talaromyces diversus* از جمله قارچ‌هایی است که از گرد و غبار فضای داخلی ساختمان‌ها در تایلند و نیوزیلند، مواد چرمی در ایالات متحده و بوم نقاشی در فرانسه گزارش شده است[20]. قارچ‌هایی از جمله جنس‌های مختلف *Penicillium* sp.، *Cladosporium* sp. و *Aspergillus* sp. شایع‌ترین قارچ‌های گزارش‌شده فضاهای داخلی ساختمان‌ها هستند[17, 21]. کلنی‌های این قارچ‌ها می‌توانند میلیون‌ها اسپور تولید کنند که به‌آسانی وارد هوا می‌شوند. جالب توجه است که تنها شش قارچ از شش مکان نمونه‌گیری مختلف در فضای مخزن جداسازی شد و ۱۱ قارچ دیگر مربوط به اتاق بافری بود. این نتیجه می‌تواند به کارآمدی کنترل عوامل محیطی دما و رطوبت درون مخزن نسبت داده شود.

جدول ۲) قارچ‌های شناسایی‌شده در نمونه‌های هوای مخزن و اتاق بافری

مناطق نمونه‌گیری از هوای مخزن	PDA	MEA
SIE		*Purpureocillium lilacinum*, *Talaromyces diversus*
SEE		*Talaromyces diversus*, *Cladosporium* sp.
SID	*Pseudozyma* sp.	
SED		
SC70	*Penicillium* sp.	
SC150		
BR	*Penicillium chrysogenum* [2], *Alternaria* sp. [3], *Cladosporium* sp.	*Cladosporium* sp. [3], *Aspergillus* sp., *Cladosporium herbarum*

SIE: ورودی هوا از سیستم تهویه انتهای سالن به فضای مخزن؛ SEE: خروجی هوا از فضای مخزن به سیستم تهویه انتهای سالن؛ SID: ورودی هوا از سیستم تهویه نزدیک در ورودی به فضای مخزن؛ SED: خروجی هوا از فضای مخزن به سیستم تهویه نزدیک در ورودی به فضای مخزن؛ SC70: نمونه فضای مرکزی مخزن روی قفسه‌ها و در ارتفاع ۷۰سانتی‌متر؛ SC150: نمونه فضای مرکزی مخزن روی قفسه‌ها و در ارتفاع ۱۵۰سانتی‌متر؛ BR: نمونه هوای اتاق بافری

نتایج حاصل از مقایسه کشت نمونه‌های هوا و بستر نشان می‌دهد که با وجود تفاوت‌هایی که در نوع قارچ‌های جداشده از بسترها و هوای مخزن مشاهده می‌شود، سه جدایه قارچی *Talaromyces diversus*، *Penicillium* sp. و *Cladosporium* sp. در هر دو مشترک بودند (جدول‌های ۱ و ۲). از آنجایی که مرکز اسناد و کتابخانه آستان قدس رضوی به‌عنوان یکی از مراکز مهم نگهداری نسخ خطی جهان اسلام، پذیرای انواع نسخه‌های خطی- اسلامی است و با توجه به عدم وجود اتاق قرنطینه برای اسناد خریداری و یا اهداشده، منبع این آلودگی‌ها ممکن است خارجی باشد و هنگام تفسیر نتایج باید مورد توجه قرار گیرد.

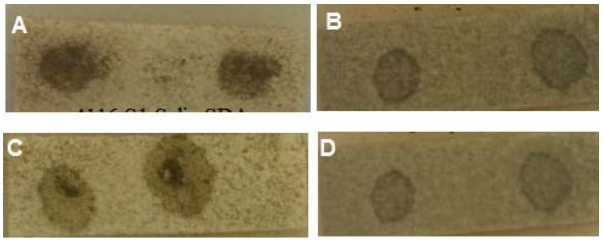
نتایج فرسودگی قارچی در مدل کاغذی

به‌دلیل عدم وجود تکه‌های فرسوده و کنده‌شده از کاغذهای فرسوده، در مطالعه حاضر، امکان مطالعه اجتماع میکروبی با روش‌های

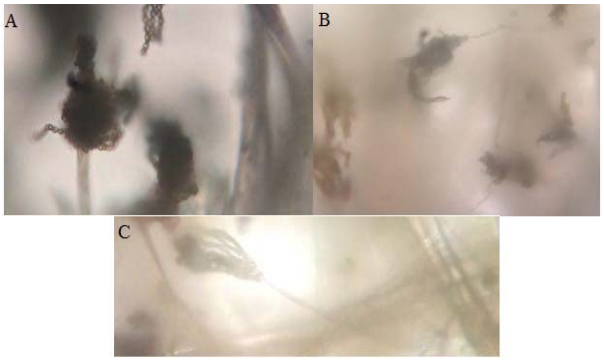
www.SID.ir

Archive of SID

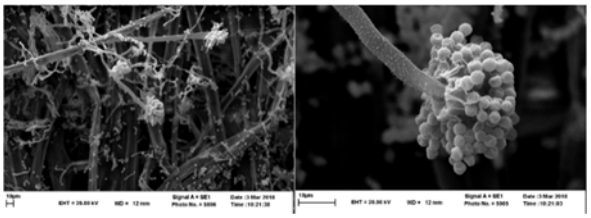
مستقل از کشت وجود نداشت. از طرف دیگر به منظور تایید تجزیه زیستی قارچ‌ها روی بستر سلولزی، نوارهای کاغذی به‌طور مصنوعی با دو نمونه قارچ *Aspergillus* sp. و یک نمونه قارچ *Penicillium chrysogenum* و یک نمونه از قارچ *Talaromyces diversus* تلقیح شدند. لکه‌های تولیدشده روی نوارهای کاغذی قابل مشاهده با چشم غیرمسلح، مشابه آسیب‌های روی نسخه‌ها بوده است و فرسودگی زیستی قارچ‌های مذکور را در بستر کاغذی اثبات می‌کند (شکل ۳). با استفاده از میکروسکوپ نوری، کاغذهای تلقیح‌شده با اسپورهای قارچی بررسی و ساختارهای رویشی و زایشی آنها به‌خوبی روی بستر مدل، مشاهده شد (شکل ۴). تصاویر SEM رشد هیف‌ها و حضور اندام‌های زایشی *Aspergillus* sp. را روی کاغذ به اثبات رساند (شکل ۵).



شکل ۳) نتایج تلقیح قارچ‌های جداشده روی کاغذ مربوط به دو سویه مختلف *Aspergillus* sp. (A و B)؛ *Penicillium chrysogenum* (C) و *Talaromyces diversus* (D)



شکل ٤) تصاویر میکروسکوپ نوری مربوط به رشد قارچ‌های تلقیح‌شده روی کاغذ؛ (A) *Aspergillus* sp.؛ (B) *Penicillium chrysogenum*؛ (C) *Talaromyces diversus*



شکل ۵) فتومیکروگراف SEM از کاغذهای تلقیح‌شده به *Aspergillus* sp. با دو بزرگ‌نمایی مختلف

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر به‌منظور بررسی آسیب‌های قارچی نسخه‌های خطی موجود در مخزن مرکز اسناد و کتابخانه آستان قدس رضوی با استفاده از روش‌های غیرتهاجمی و تکنیک‌های مبتنی بر کشت طراحی شد. در مورد قارچ‌های جداشده از نسخه‌های خطی و هوای مخزن می‌توان گفت که در هوای کنترل‌شده مخزن مرکز اسناد و کتابخانه آستان قدس رضوی، بیشتر قارچ‌های خشکی‌دوست یا مقاوم به خشکی غالب هستند که برخی از این قارچ‌ها نمک‌دوست و با تولید پروتئاز قلیایی موجب تجزیه کلاژن موجود در بستر پوستی شده‌اند. جالب توجه است که میزان آلودگی قارچی هوای مخزن نسبت به هوای اتاق بافری کمتر است که می‌تواند به عواملی مانند دما و رطوبت کنترل‌شده و تهویه مناسب درون مخزن نسبت داده شود. از طرف دیگر با وجود برخی استثناها، گونه‌های یکسان در هر دو نمونه هوا و بستر یافت شد. بنابراین می‌توان گفت که میکروارگانیزم‌های حاضر در هوای مخزن می‌توانند روی آثار مکتوب مستقر و موجب فرسودگی زیستی اشیای داخل مخزن شوند. البته به‌دلیل عدم قرنطینه نمونه‌های اهدایی به مرکز اسناد آستان قدس رضوی، احتمال آلودگی اولیه این آثار در خارج از فضای مخزن و انتقال آن به مخزن نیز وجود دارد. همچنین چون روش شناسایی قارچ‌های بستر و هوای مخزن وابسته به کشت بوده است شماری از میکروارگانیزم‌های موثر در فرسودگی، احتمالاً از ارزیابی خارج شده است. بنابراین ارزیابی‌های مولکولی مستقل از کشت، طی پروژه‌های بعدی باید مورد توجه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی: از معاونت پژوهشی دانشگاه الزهرا(س) به‌دلیل حمایت‌های مالی برای انجام مطالعه حاضر تقدیر و تشکر می‌شود.

تاییدیه‌اخلاقی: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

تعارض منافع: هیچ‌گونه تعارض منافعی وجود ندارد.

سهم نویسندگان: لیلا شکرزاده (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/پژوهشگر اصلی/تحلیلگر آماری/نگارنده بحث (٤٠%)؛ پریسا محمدی (نویسنده دوم)، نگارنده مقدمه/روش‌شناس/پژوهشگر اصلی/تحلیلگر آماری (۳۵%)؛ معصومه بحرینی (نویسنده سوم)، پژوهشگر کمکی (۱۵%)؛ سمیرا بهدانی (نویسنده چهارم)، پژوهشگر کمکی (۷%)؛ علی‌اصغر ثابت‌جازاری (نویسنده پنجم)، پژوهشگر کمکی (۳%)

منابع مالی: مطالعه حاضر به حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه الزهرا(س) انجام شده است.

منابع

1- Lavin P, Gómez De Saravia SG, Guiamet PS. An environmental assessment of biodeterioration in document repositories. Biofouling. 2014;30(5):561-9.

2- Kaarakainen P, Rintala H, Vepsäläinen A, Hyvärinen A, Nevalainen A, Meklin T. Microbial content of house dust samples determined with qPCR. Sci Total Environ. 2009;407(16):4673-80.

3- Sterflinger K, Pinzari F. The revenge of time: Fungal deterioration of cultural heritage with particular reference to books, paper and parchment. Environ Microbiol. 2012;14(3):559-66.

4- Micheluz A, Manente S, Tigini V, Prigione V, Pinzari F, Ravagnan G, et al. The extreme environment of a library: Xerophilic fungi inhabiting indoor niches. Int Biodeterior

www.SID.ir

Archive of SID

characterization of fungi from deteriorated old Chinese manuscripts from Central Library Universitas Indonesia. AIP Conf Proceed. 2018;2023(1):020144.
14- Piñar G, Sterflinger K, Pinzari F. Unmasking the measles-like parchment discoloration: Molecular and microanalytical approach. Environ Microbiol. 2015;17(2):427-43.
15- Migliore L, Thaller MC, Vendittozzi G, Mejia AY, Mercuri F, Orlanducci S, et al. Purple spot damage dynamics investigated by an integrated approach on a 1244 AD parchment roll from the Secret Vatican Archive. Sci Rep. 2017;7(1):9521.
16- Ikram-Ul-haq HM, Umber H. Production of protease by Penicillium chrysogenum through optimization of environmental conditions. J Agric Soc Sci. 2006;2(1):23-5.
17- Osman ME, Awad AH, Ibrahim YH, Ahmed YF, Abo-Elnasr A, Saeed Y. Air microbial contamination and factors affecting its occurrence in certain book libraries in Egypt. Egypt J Bot. 2017;57(1):93-118.
18- Gutarowska B. Moulds in biodeterioration of technical materials. Folia Biologica Et Oecologica. 2014;10(1):27-39.
19- Luangsa-ard J, Houbraken J, Van Doorn T, Hong SB, Borman AM, Hywel-Jones NL, et al. Purpureocillium, a new genus for the medically important Paecilomyces lilacinus. FEMS Microbiol Lett. 2011;321(2):141-9.
20- Yilmaz N, Visagie CM, Houbraken J, Frisvad JC, Samson RA. Polyphasic taxonomy of the genus Talaromyces. Stud Mycol. 2014;78:175-341.
21- Karbowska-Berent J, Górny RL, Strzelczyk AB, Wlazło A. Airborne and dust borne microorganisms in selected Polish libraries and archives. Build Environ. 2011;46(10):1872-9.
Biodegr. 2015;99:1-7.
5- Camuffo D. Microclimate for cultural heritage. Amsterdam: Elsevier; 1998.
6- Perito B, Cavalieri D. Innovative metagenomic approaches for detection of microbial communities involved in biodeteriorattion of cultural heritage. IOP Conf Ser Mater Sci Eng. 2018;364(1):012074.
7- Sargezi B. Study of fungal factors affecting the biological burnout of old books of national library of Iran by cultivation method [Dissertation]. Tehran: Alzahra University; 2012. [Persian]
8- Mohammadi Achachlooei M, Koochakzaei AR. Characterization of fungi and their effect on documents and manuscripts in the archive of Malek National Library and museum. GANJINE-YE ASNAD. 2014;23(4):126-45. [Persian]
9- Kalaskar PG, Zodpe SN. Biodeterioration of library resources and possible approaches for their control. Int J Appl Res. 2016;2(7):25-33.
10- Borrego S, Guiamet P, De Saravia SG, Batistini P, Garcia M, Lavin P, et al. The quality of air at archives and the biodeterioration of photographs. Int Biodeterior Biodegr. 2010;64(2):139-45.
11- White TJ, Bruns T, Lee SJ, Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR Protoc A Guid Methods Appl. 1990;18(1):315-22.
12- Pinzari F, Pasquariello G, De Mico A. Biodeterioration of paper: A SEM study of fungal spoilage reproduced under controlled conditions. Macromol Symp. 2006;238(1):57-66.
13- Rachmania MK, Oetari A, Fitri R, Susetyo-Salim T, Sjamsuridzal W. Isolation and morphological

www.SID.ir