

CONTRIBUȚII LA STUDIUL BIOLOGIEI UNOR FUNGI CARE PROVOACĂ BIODEGRADAREA HÂRTIEI DIN CVR

(cu referire la cărțile din depozitul de la Vorona)

Angela BĂLAN
Alexandru MANOLIU
Lăcrămioara ANTOHE

Biodegradarea materialelor documentare, inclusiv a cărților de cult din depozitele de arhive a determinat efectuarea de cercetări, atât în România cât și în alte țări, cu scopul de prevenire și combatere a acestor deteriorări.

Trebuie să menționăm însă că în ultimele două decenii, au mai fost efectuate astfel de studii de către specialiștii micologi sau bacteriologi.

Din cercetările efectuate în acest domeniu în țara noastră evidențiem pe cele publicate de Alice Săvulescu și Viorica Lazăr, care în trei lucrări apărute în perioada 1970 - 1971, referitoare la microflora depozitelor de arhivă din diferite regiuni ale țării, au izolat o serie de specii de ciuperci care provocau biodegradări documentelor din arhivă, ajungând la concluzia că există o varietate mai mare de specii în partea sudică a țării, insistând în același timp asupra necesităților completării acestor studii pentru depozitele de carte din întreaga țară (7), (8), (9).

Natalia Drăghici și colaboratorii, într-o lucrare publicată în anul 1971, prezintă unele aspecte privind biodeteriorarea în arhive, subliniind unele probleme din acest domeniu, precum și preocupările Arhivelor Statului pentru asigurarea condițiilor necesare unei bune conservări a documentelor (6).

O primă etapă în astfel de studii o constituie identificarea microorganismelor implicate în aceste procese, datele din literatură menționând că în întreaga lume au fost citate peste 100 de specii aparținând numai ciupercilor, la care se adaugă bacteriile și diferite animale în special insecte.

Cercetările efectuate în țara noastră de-a lungul timpului au dus la identificarea pe materialele respective a 66 specii de ciuperci aparținând la 20 de genuri (3).

Genurile cu cele mai multe specii sunt: *Aspergillus* (23 specii); *Penicium* (16 specii); *Chaetium* (6 specii); *Trichoderma* (4 specii); *Fusarium* (2 specii). Celelalte genuri; *Streptomyces*, *Bodhamia*, *Mortinella mucor*, *Rizopus*, *Eidomella*, *Sistroterma*, *Polzporus*, *Geothrichum*, *Scropulariopsis*, *Vertigillum*, *Alternaria*, *Stenphylium*, *Pullularia* și *Cladosporium* fiind reprezentate prin câte o singură specie (3).

Consecința prezenței acestor ciuperci este, de cele mai multe ori, o dereglare a valoroaselor documente și cărți.

Această situație de o mare gravitate este favorizată de condițiile în care au fost depozitate în timp documentele în general și cărțile în special, în locuri umede, întunecoase, în cele din urmă duce la pierderea unor documente de mare valoare istorico-științifică.

În lucrarea de față prezentăm primele rezultate privind biodegradarea unor exemplare de CVR din depozitul de la mănăstirea Vorona, județul Botoșani.

Trebuie să remarcăm de la început, că depozitul a fost construit în anii 1983 - 1985, prezentând condiții foarte bune de conservare, însă aspectele de biodegradare la unele cărți se datorează condițiilor nefavorabile în care acestea au fost ținute înainte de a ajunge în depozitul menționat (1).

Material și metodă

Studiile amănunțite efectuate de noi asupra cărților din aceste depozit au pus în evidență existența unor forme de biodegradare manifestate prin pete caracteristice de diferite culori, micșorarea sensibilă a rezistenței hârtiei, unirea filelor de carte între ele ca urmare a dezvoltării miceliului ciupercilor.

S-a constatat o biodegradare mai accentuată la marginea foilor, la nivelul copertilor și a legăturilor cărților, deoarece, pe o parte aceste părți absorb mai repede umezeala din atmosferă, iar pe de altă parte, ciupercile fiind organisme aerobe preferă zonele care sunt în contact cu aerul.

De pe aceste materiale s-au recoltat mai multe probe prin raclarea suprafețelor mucegăite, sau prelevarea de mici fragmente afectate de biodegradare, care au fost analizate în Laboratorul de microbiologie din cadrul C.C.B. Iași.

Determinarea microflorii s-a efectuat fie direct din probele recoltate, fie după însămânțarea pe medii de cultură.

Constatându-se că cea mai frecventă a fost specia *Botryotrichum pilluliferum* identificându-se pe majoritatea probelor recoltate, s-au efectuat unele investigații privind biologia acestei specii, urmărindu-se dinamica ritului de creștere pe diferite medii de cultură, precum și acțiunea fungicidă a fenoseptului, substanță care s-a folosit în acțiunea de combatere a agenților implicați în biodegradarea cărților de la Mănăstirea Verona. Au fost folosite următoarele medii de cultură:

- Sabouroud: glucoză (40 g) + peptină (10 g) + 1000 ml A.D.;
- Czapek: NaNO_3 (3 g) + KH_2PO_4 (1 g) + $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,5 g) + KCl (0,5 g) + $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,01 g) + glucoză (2 g) + agar (15 g) + 1000 A.D.
- Czapek-Dox: NaNO_3 (2 g) + KH_2PO_4 (1 g) + $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,5 g) + KCl (0,5 g) + $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,01 g) + sucroză (20 g) + agar (15 g) + 1000 A.D.
- GPA (glucoză + peptonă -agar) - glucoză (10 g) + peptonă (2 g) + KH_2PO_4 (0,5 g) + $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,5 g) + agar (16 g) + 1000 ml A.D.
- Malț (extract-Agar) - extract de malț (20 g) + dextroză (20 g) + peptonă (1 g) + agar-agar (25 g) + 1000 ml A.D.
- PDA (cartof-dextroză-agar): cartof (20 g) + dextroză (20 g) + Agar (20 g) + 1000 ml A.D.
- Haynes: extract de drojdie (4 g) + extract de malț (10 g) + dextroză (4 g) + agar-agar (15 g) + 1000 ml A.D.

Pentru a pune în evidență acțiunea fungicidă a fenoseptului, în mediul Haynes s-a înlocuit apa distilată cu fenosept în următoarele variante:

- a) 25 % Fs + 75 % A.D.
- b) 50 % Fs + 50 % A.D.
- c) 75 % Fs + 25 % A.D.
- d) 100 % Fs.

Culturile s-au efectuat în plăci Petri cu diametrul = 100 ml cu 20 ml mediul de cultură, care au fost însămânțate cu discuri de 0,8 cm diametru, dintr-o cultură de 7 zile, dintr-o cultură de *Botryotrichum pilluliferum*; termostatarea a avut loc la 28°C.

Dinamica ritmului de creștere s-a apreciat prin măsurare diametrului coloniilor ciupercii la 24 h, 48 h, 72 h, 96 h, 120 h, 144 h.

Rezultate și discuții

În urma analizei probelor prelevate au fost identificate următoarele specii de ciuperci:

- *Botryotrichum pilluliferum*
- *Sordaria fumicola*
- *Scropulariopsis brevicaulis*
- *Phoma sp.*
- *Monilia candida*
- *Aspergillus sp.*
- *Geotrichum sp.*
- *Trichoderma sp.*
- *Penicillium sp.* – toate în cultură de o zi.

Frecvența cea mai mare a avut-o, așa cum am menționat specia *Botryotrichum pilluliferum*.

Datele privind influența diferitelor medii de cultură asupra dinamicii ritmului de creștere a speciei *Botryotrichum pilluliferum* sunt prezentate în tabelul 1 și figura 1, din care se constată următoarele:

– la 24 ore de la însămânțare cel mai bun ritm de creștere s-a constatat pe mediul Czypek-Dox, pe care diametrul coloniei ciupercii a fost de 1,52 cm, urmat în ordine descrescătoare și la diferențe mici de mediile Czapek - 1,50 cm diametru; PDA - 1,36 cm diametru; GPTA și Haynes - 1,34 cm diametru fiecare; Malț-agar și Sabouroud - 1,18 cm diametru fiecare.

Pe mediul Haynes, în care apa distilată a fost înlocuită cu fenosept în diferite proporții, ciuperca nu s-a dezvoltat.

La 48 de ore de la însămânțare dinamica ritmului de creștere se face aproximativ în aceeași ordine ca și la 24 de ore, cea mai bună dezvoltare fiind tot pe mediul Czapek-Dox - 2,64 cm diametru, urmat de mediile: Czapek - 2,44 cm diametru, PDA - 2,36 cm diametru, Sabouroud și malț agar - 2,00 cm diametru fiecare, GPTA - 1,94 cm diametru și Haynes - 1,82 cm diametru. Pe mediul de cultură conținând fenosept ciuperca în continuare nu s-a dezvoltat.

Aceași ordine a dinamicii ritmului de creștere se menține și la 72 de ore de la însămânțare, cel mai bun ritm de dezvoltare fiind tot pe mediul Czapek-Dox - 3,4 cm diametru coloniei, iar cel mai slab ritm de dezvoltare a fost pe mediul GPTA - cu 2,14 cm

diametru colonie. Între aceste două valori se încadrează rezultatele de pe celelalte medii de cultură astfel; Czapek - 3,32 cm diametru; S - 2,52 cm diametru; MA - 2,46 cm diametru; Hm - 2,22 cm diametru. Nici la 72 de ore pe mediul conținând fenosept ciuperca nu s-a dezvoltat.

La 96 de ore de la însămânțare diametrele coloniilor ciupercii au fost următoarele: Czapek-Dox - 4,20 cm diametru coloniei; Czapek - 4,14 cm diametru; PDA - 3,64 cm diametru; S - 2,92 cm diametru; MA - 2,76 cm diametru; GPTA - 2,74 cm diametru; HM - 2,61 cm diametru; pe mediul cu fenosept ciuperca nu s-a dezvoltat.

La 120 de ore de la însămânțare cel mai bun ritm de dezvoltare a fost pe mediul Czapek cu 5 cm diametru coloniei, urmat de Czapek-Dox cu 4,76 cm diametru; PDA - 4,26 cm diametru; S - 3,67 cm diametru; MA - 3,00 cm diametru; HM - 2,90 cm diametru și GPTA - 2,72 cm diametru coloniei. Același lucru s-a întâmplat pe mediul cu fenosept.

Ultimele observații asupra dinamicii ritmului de creștere ale ciupercii *Botryotrichum pilluliferum* pe diferite medii de cultură au fost efectuate la 144 ore de la însămânțare, când s-a constatat că mediul Czapek este cel mai favorabil dezvoltării ciupercii, diametrul coloniei având volum maxim de 5,90 cm la valori apropiate înscriindu-se mediile Czapek-Dox - 5,54 cm diametru; PDA - 4,85 cm diametru; HM - 4,05 cm; pe restul mediilor de cultură diametrul coloniilor fiind mult mai mic: S - 3,68 cm diametru; MA - 3,2 cm diametru; GPTA - 2,88 cm diametrul coloniei. Ultimele observații efectuate pe mediile de cultură conținând diferite concentrații de fenosept au arătat că în continuare ciuperca *Botryotrichum pilluliferum* nu s-a dezvoltat.

Concluzii

1. Investigațiile efectuate asupra microflorei prezentate pe CVR au dus la identificarea a 9 genuri de ciuperci.
2. Specia *Botryotrichum pilluliferum* a fost cea mai frecventă în toate probele prelevate de pe materialul investigat.
3. Cele mai bune medii de cultură pentru dezvoltarea ciupercii respective a fost Czapek-Dox, iar cel mai slab a fost Malț-Agar.
4. S-a demonstrat prin cercetări de laborator, caracterul fungicid al fenoseptului în concentrații de 25%, 50%, și 100%, ceea ce confirmă posibilitatea utilizării acestui produs în procesul de combatere a unor agenți patogeni, așa cum s-a procedat în anii anteriori la depozitul de la Mănăstirea Vorona.
5. Rezultatele prezente impun necesitatea continuării unor astfel de lucrări de combatere a diferiților agenți implicați în biodegradare și în același timp necesitatea colaborării cu specialiști consacrați în domeniul micologiei din diferite institute de cercetare.

Bibliografie:

1. Bălan Angela, *Probleme de microclimat. Aspecte ale muncii de conservare. Combaterea dăunătorilor biologici la bunurile patrimoniale*, Hierasus, 1981, Anuarul Muzeului Județean Botoșani, pag. 509.
2. Barbu Valeria; Mărgineanu Laura., *Biodeterminarea – implicații practice*, Ed. Ceres, București, 1983.
3. Bontea Vera, *Ciuperci parazite și saprofite din România*, vol. II, Ed. Academiei, București, 1986.
4. Constantinescu O., *Metode și tehnici în micologie*, Ed. Ceres, 1974.
5. Constantinescu S.; Ionescu Ana; Preda Gheorghe, *Coroziunea microbiologică și combaterea ei*, Ed. Tehnică, București, 1972.
6. Drăghici Natalia; Platon Margareta; Suliman Gabriela, *Unele aspecte privind biodeteriorarea în arhi*, Societatea Științelor biologice din RSR, vol. II, pag. 257; 260, 1971.
7. Săvulescu Alice, *Ciuperci saprofite izolate de pe materiale din arhive în România. Microbiologia*, Lucrările Conferinței Naționale de microbiologie generală și aplicată, București, 1968, vol. I, pag. 857, 861, 1970.
8. Săvulescu Alice; Lazăr Viorica, *Cercetări privind microflora depozitelor de Arhivă din diferite regiuni ale țării. Microbiologia*, Societatea Științelor biologice din RSR, vol. II, pag. 261; 267, 1971.
9. Săvulescu Alice, *Considerations on the mycroflora of archives stores of Romania*, Revue Romaine de biologie serie Botanique, vol. 16, nr. 5, pag. 383; 386, 1971.

Tabelul nr. 1.

Dinamica ritmului de creștere (Ø coloniei)
a ciupercii *Botryotrichum pilluliferum* pe diferite medii de cultură

| Medii | Ore | | | | | |
|------------------|------|------|------|------|------|------|
| | 24 | 48 | 72 | 96 | 120 | 144 |
| Sabourand | 1,18 | 2,00 | 2,52 | 2,92 | 3,07 | 3,63 |
| Czapek | 1,50 | 2,44 | 3,32 | 4,14 | 5,00 | 5,90 |
| Czapek-Dox | 1,52 | 2,64 | 3,54 | 4,20 | 4,76 | 5,54 |
| GPA | 1,34 | 1,94 | 2,14 | 2,44 | 2,72 | 2,88 |
| MEA | 1,18 | 2,00 | 2,46 | 2,76 | 3,00 | 3,20 |
| PDA | 1,36 | 2,36 | 3,24 | 3,64 | 4,26 | 4,85 |
| Haynes | - | - | - | - | - | - |
| Haynes+25 ml fs | - | - | - | - | - | - |
| Haynes+50 ml fs | - | - | - | - | - | - |
| Haynes+75 ml fs | - | - | - | - | - | - |
| Haynes+100 ml fs | - | - | - | - | - | - |

GPA = glucoză, peptonă, ager

MEA = malț extract, ager

PDA = potato (cartof), dextroză, ager

fs = fenosept

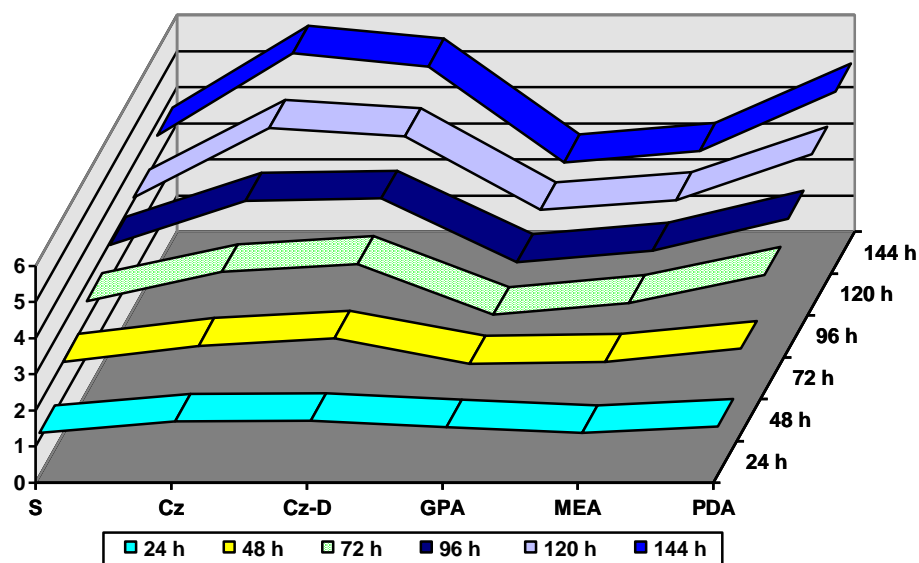


Fig. 1. Dinamica ritmului de creștere (diametrul coloniei) a ciupercii *Botryotrichum piluliferum* pe diferite medii de cultură