

УДК 541.64

Г. В. Надеева, Г. Ю. Яковлева, Р. Э. Хабибуллин,  
Д. М. Усманова

## МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ АРАБОГРАФИЧЕСКОЙ РУКОПИСИ ИЗ АРХЕОГРАФИЧЕСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ ОТДЕЛА РЕДКИХ РУКОПИСЕЙ БИБЛИОТЕКИ КАЗАНСКОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО УНИВЕРСИТЕТА

*Ключевые слова: арабографическая рукопись, биоповреждение, микроорганизмы, бактерии, микроскопические грибы.*

*Используя классические методы микробиологии, была проанализирована арабографическая рукопись второй половины XIX века. 82% из выделенных микроорганизмов составляли бактерии. Наиболее часто встречаемыми микромицетами являлись представители родов *Penicillium*, *Aspergillus* и *Alternaria*, обладающие целлюлазной активностью.*

*Keywords: arabographic manuscript, biodegradation, microorganisms, bacteria, microscopic fungi.*

*The arabographic manuscript of the second half of the XIX century was analyzed by using classical methods of microbiology. 82% of the isolated microorganisms were bacteria. The most common microscopic fungi were species of the genera *Penicillium*, *Aspergillus* and *Alternaria*, which have cellulase activity.*

### Введение

На протяжении второй половины XX столетия археографические экспедиции выступали одним из важнейших каналов, по которым происходило пополнение рукописных коллекций научных библиотек страны. Традиция археографических экспедиций была заложена еще в 1920-е годы (С. Вахиди), однако была прервана в 1930-40-е годы. Очевидно, что в условиях массовых репрессий и воинствующей антирелигиозной кампании не могло быть и речи о сохранении рукописного наследия путем его собирания в государственных книгохранилищах. Война и послевоенная разруха также не способствовали подобной работе. Только в период оттепели происходит обращение ученых к духовному наследию народа, предпринимаются попытки путем собирания спасти древние книги и рукописи от гибели. Археографическая экспедиция Казанского университета была инициирована Ф.Ш. Мухамедьяровым и М.А. Усмановым и впервые проведена в 1963 году. М.А. Усманов выступал ее фактическим организатором и руководителем с середины 1960-х гг. и вплоть до конца 1980-х гг., пройдя за эти годы путь научного взросления от аспиранта до проректора Казанского университета. На рубеже 1980-1990-х гг. он передал экспедиционные дела своему ученику, доценту З.С. Миннуллину. За эти годы благодаря археографическим поискам рукописное собрание Отдела редких рукописей и книг Научной библиотеки КФУ (ОРРК НБЛ КФУ) пополнилась почти на десять тысяч рукописей и несколько тысяч старопечатных книг.

Одна из экспедиций 1987 года была организована в Горьковскую область (Сергачский район, 6.-27.07.1987), во время которой были обследованы такие крупные татарские села, как

Сергач, Сабачай (Красная горка), Петряксы, Чембелей, Медяны и пр. Всего в ходе экспедиции было собрано не менее 70 рукописей и некоторое количество актов документов, а также старопечатных книг и газет. Из числа находок особенно выделялись 26 рукописей, подаренных Каримовым Зугди Каримовичем (с. Чембелей) (из личного архива М.А. Усманова). Среди них были арабоязычные рукописи по шариату и исламской философии, а также 3-4 тюркоязычных рукописи, т.н. «шакирдских тетрадей». «Тетради шакирдов» – особый тип рукописей, которые составлялись учениками медресе. Несмотря на внешне «непрезентабельный» вид, они многожанровые и чрезвычайно богаты содержанием. Здесь и молитвы по разным случаям, образцы и черновики писем, шуточные песни, байты и манаджаты, любовные стихотворения и исторические предания и пр. [1]. В числе подаренных Зугди Каримовым рукописей (практически все они датируются началом и серединой XIX века) в одной встречаются списки стихотворного цикла «Егет жырлары», а также неизвестные ранее стихотворения Габдул джаббара Кандалий (1797 – 1860).

Найденные во время экспедиций рукописи хранились в крайне неблагоприятных условиях: на чердаках, в подвалах и сараях, что, конечно, пагубно сказалось на их состоянии. Рукописи, подвергавшиеся длительному воздействию влаги, перепадам температур, хранящиеся в закрытых помещениях сильно пострадали. Влажность, запыленность, отсутствие проветривания – все это способствовало активному развитию микроорганизмов.

Микробиологические исследования древних книг и в том числе и рукописных памятников проводятся в самых разнообразных архивах и книгохранилищах всего мира [2, 3, 4, 5]. Целью данной работы является

микробиологический анализ арабографической рукописи половины XIX века.

### Экспериментальная часть

Объектом исследования является арабографическая рукопись второй половины XIX века, подаренная З. Каримовым и хранящаяся в фонде ОРК НБЛ КФУ (рис. 1). Книга написана на арабском языке, русской бумаге, в картонно-кожаном переплете с использованием цветной бумаги.



Рис. 1 - Арабографическая рукописная книга второй половины XIX века

*Методы отбора и анализа проб.* Пробы отбирали с поверхности переплетов и бумаги с помощью стерильных ватных тампонов. Посев осуществляли в чашки Петри на поверхности агаризованных питательных сред и в жидкую среду. Так же анализировали небольшие кусочки переплета и бумаги. При анализе бактериального загрязнения использовали мясо-пептонный агар (МПА), микроскопических грибов – подкисленную среду Чапека. Высев производили в не менее чем в трех повторностях. Посевы инкубировали при 28<sup>0</sup>С в течение 2 суток (бактерии) и 5-7 суток (микроспеты). Данные выражали в виде средних величин с расчетом среднеквадратичных отклонений.

Состав среды Чапека (г/л): дист. вода – 1 л; NaNO<sub>3</sub> – 2.0; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1.0; MgSO<sub>4</sub> • 7H<sub>2</sub>O – 0.5; KCl – 0.5; FeSO<sub>4</sub> – 0.01; сахара – 30.0; агар – 20.0.

Идентификацию микроскопических грибов и бактерий проводили на основании их морфолого-культуральных свойств, используя определители «Определитель токсинообразующих микромицетов» [6], «Определитель патогенных и условно патогенных грибов: справочное издание» [7], «Определитель бактерий Берджи» [8].

Световую микроскопию проводили на микроскопах PrimoStar, CarlZeiss.

*Определение целлюлазной активности.* Наличие целлюлазной активности у выделенных изолятов определяли качественным методом. Накопительные культуры выращивали в пробирках с селективной средой Гетчинсона. После посева на дно пробирки опускали полоску стерильной фильтровальной бумаги, не содержащей крахмал. Полоска бумаги на 3-5 см выступала над средой. О целлюлазной активности судили по степени гидролиза фильтровальной бумаги.

Визуально оценивали изменение субстрата при росте на целлюлозе по 5-балльной системе: 1 балл (+) – обнаружено прорастание отдельных спор; 2 балла (++) – слабый рост мицелия, отсутствие разрушенных участков целлюлозы; 3 балла (+++) – обильный рост мицелия в виде ветвящихся гиф; 4 балла (++++) – рост грибов виден отчетливо, хорошо развитый мицелий обволакивает целлюлозный субстрат; 5 баллов (+++++) – визуально отмечается деградация субстрата.

### Результаты и их обсуждения

При визуальном осмотре исследуемой нами рукописи были отмечены повреждения насекомыми и микроорганизмами. На поверхности рукописи обнаружены небольшие точечные черные колонии, а так же белый плотный налет на корешках книг.

Количественный анализ колонеобразующих единиц показал, что 82±3 % из всех выделенных микроорганизмов составляли бактерии. Они образовывали колонии как на МПА, так и на среде Чапека. При микроскопировании они, как правило, имели палочковидную форму, часто объединенные в цепочки по 2-3 клетки, некоторые клетки содержали эндоспоры (рис. 2). Основная масса бактерий имела грамположительный тип строения клеточной стенки. 96 % изолятов выделенных бактерий были отнесены нами к роду *Bacillus*. Анализ их гидролитической активности показал, что 65±4 % изолятов обладали целлюлазной активностью.

При микроскопировании жидкости с фрагментами поврежденной бумаги рукописей в некоторых пробах наблюдалось большое количество спор микромицетов (рис. 3). Однако при последующем посеве не все эти споры оказались способными к прорастанию на агаризованных средах.

Используя классические методы микробиологии, нам удалось выделить изоляты различных микромицетов, которые по морфологическим признакам были идентифицированы вплоть до родовой принадлежности. Результаты анализа и соотношение различных родов микромицетов на переплете и бумаге представлены на рисунке 4. Наиболее часто встречаемыми являлись представители класса *Deuteromycetes* родов *Penicillium*, *Aspergillus* и *Alternaria*.

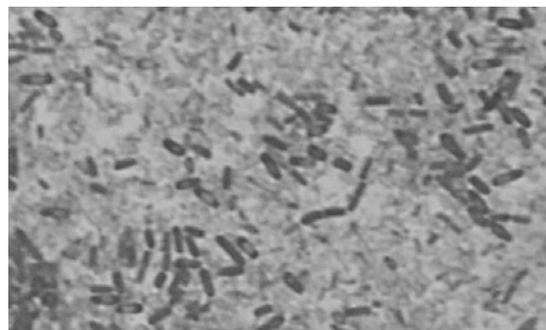
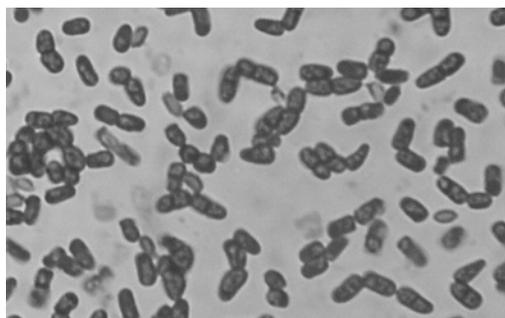
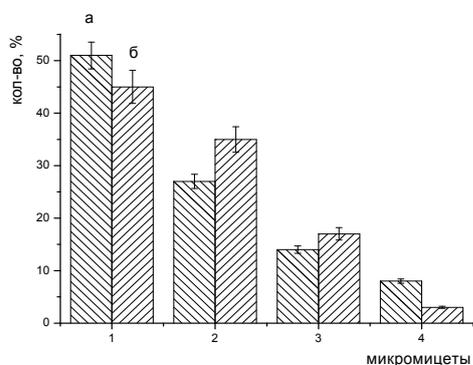


Рис. 2 - Морфология бактериальных клеток из колонии культуры, высеваемой с поврежденных участков бумаги рукописи. Световая микроскопия



**Рис. 3 - Споры микроскопических грибов в поле зрения светового микроскопа**

Следует отметить, что не все микромицеты на поверхности рукописей сохраняют свою жизнеспособность. Известно, что культивируемые микроорганизмы составляют не более 0.5-3.9% от общей микрофлоры [9]. Показано, что применение только классических микробиологических методов, основанных на стратегии выращивании микроорганизмов на питательных средах, не дают полной картины о микробном разнообразии объектов [10]. Использование молекулярно-биологических методов, и в первую очередь полимеразной цепной реакции (ПЦР), позволили выделить новые таксоны микромицетов, участвующие в биодegradации старинных картин и других документов [11]. Использование ПЦР, гель-электрофореза в денатурирующих условиях, получение библиотеки клонов позволили итальянским ученым исследовать микробные консорциумы, населявшие древнюю рукопись, датированную 1293 г. [12]. Анализ последовательностей ДНК подтвердил наличие микромицетов и бактерий, которые не могли быть выделены и идентифицированы классическими микробиологическими методами. Анализ выделенных видов микроорганизмов показал наличие высокого содержания среди них осмофильных и тонофильных видов, то есть способных расти при высокой концентрации соли в среде и условиях низкой влажности соответственно.



**Рис. 4 - Соотношение разновидностей микроскопических грибов, выделенных с поверхности бумаги (а) и переплета (б) арабграфических рукописных книг. Рода: 1 – *Penicillium*; 2 – *Aspergillus*; 3 – *Alternaria*; 4 – остальные микромицеты**

Грибковые и бактериальные сообщества могут развиваться на книгах аналогично сообществу деструкторов в природных условиях. Колонизация и биодegradация книг предполагает обязательное участие целлюлозолитических организмов, поскольку только эти виды могут использовать целлюлозу как питательный субстрат и переводить его в низкомолекулярные и неорганические формы, доступные для других микроорганизмов. Предполагается, что ключевую роль в биодegradации целлюлозы играют различные микроскопические грибы [13, 14, 15].

При ненадлежащем хранении и использовании старинные рукописи подвергаются естественному биологическому воздействию. Причем серьезное повреждение бумаги и кожи происходит не только за счет механического разрастания мицелия микроскопических грибов, а в значительной степени обусловлено воздействием ферментов [16].

Оценку целлюлазной активности выделенных нами микромицетов проводили по интенсивности их роста на фильтровальной бумаге (табл.). Для большинства микроскопических грибов первоначально отмечался рост в жидкой, а в дальнейшем – в воздушной фазе. Многие виды активно росли в виде тяжелой мицелия, активно обволакивая волокна фильтровальной бумаги (*Penicillium* sp. I и II; *Mucor* sp., *Aspergillus* sp. I и II, *Alternaria* sp.). Для микромицетов рода *Penicillium* отмечалось дезагрегация волокон фильтровальной бумаги, *Mucor* sp. приводил к ее распаду. *Cladosporium* sp. проявлял средний рост мицелия с активным спороношением в водной фазе. Известно, что многие виды *Aspergillus* и *Penicillium* обладают высокой целлюлозолитической активностью [17, 18]. Кроме того, целлюлазная активность присуща и многим видам бацилл, что делает их основным источником новых целлюлозолитических ферментов для промышленного применения [19].

**Таблица 1 - Оценка целлюлазной активности выделенных изолятов по интенсивности роста на фильтровальной бумаге**

№	Микромицет	Рост в баллах
1.	<i>Penicillium</i> sp. I	+++++
2.	<i>Penicillium</i> sp. II	++++
3.	<i>Aspergillus</i> sp. I	++++
4.	<i>Aspergillus</i> sp. II	++++
5.	<i>Alternaria</i> sp.	+++++
6.	<i>Mucor</i> sp.	+++++
7.	<i>Cladosporium</i> sp.	+++

*Примечание:* I – микромицеты, выделенные с поверхности бумаги; II – микромицеты, выделенные с поверхности кожного переплета.

Следовательно, все выделенные нами микромицеты обладают целлюлазной активностью, что в свою очередь может привести к дальнейшему разрушению рукописной книги.

Таким образом, применение классических микробиологических методов, основанных на выделении культур микробных изолятов с

поверхности поврежденных рукописей, позволило нам выявить микробное сообщество, состоящее главным образом из спорообразующих бактерий и микромицетов. Выделенные виды микромицетов относятся к рр. *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria* и др. Полученные результаты свидетельствуют о том, что количество выявляемых колониеобразующих единиц и разнообразие видов, населяющее исследуемую рукопись, невелико. Это может быть обусловлено тем, что в настоящее время данная рукопись хранится в условиях низкой влажности и температуры, подавляющих рост микроорганизмов, и многие виды потеряли жизнеспособность и представлены некультивируемыми формами. Однако ухудшение условий хранения (перепады температуры, увеличение влажности, дополнительное загрязнение) могут вызвать активацию этих форм и быть причиной дальнейшей деградации бумаги и переплета писменного памятника. Анализ литературных данных и результаты собственных исследований позволяют сделать заключение о необходимости использования дополнительного набора питательных сред для выделения более широкого спектра культивируемых форм микробных сообществ. Кроме того, необходимо применение молекулярных методов индикации микроорганизмов, населяющих древние рукописи.

Работа выполнена в рамках проекта РФФИ № 13-06-97069-р.

### Литература

1. М.А.Усманов *По следам рукописей (записки археографа)*. Казань, 1984. С. 113-140.
2. A.Michaelsen, G.Pinar, F.Pinzari. *Microb. ecol.*, **60**, 69-80 (2010).

3. S. Roussel, G. Reboux, L. Millon, M.D. Parchas, S. Boudih, F. Skana, M. Delaforge, M.S. Rakotonirainy, *Indoor Air.*, **22**, 6, 514-522 (2012).
4. K.Zielinska-Jankiewicz, A.Kozajda, M.Piotrowska, I.Szadkowska-Stanczyk, *Ann. Agric. Environ. Med.*, **15**, 1, 71-78 (2008).
5. Zotti M, Ferroni A., *Int.Biodeterior.Biodegrad.*, **62**, 2, 186-194 (2008).
6. В.И.Билай, З.А. Курбацкая *Определитель токсинообразующих микромицетов*. Наукова Думка, Киев, 1990, 236 с.
7. Д.Саттон *Определитель патогенных и условно патогенных грибов: справочное издание* Пер. с англ. Мир, Москва, 2001, 486 с.
8. Дж.Хоулт, Н.Криг *Определитель бактерий Берджи. В 2-х т.* Мир, Москва, 1997.
9. A.Harkawy, R.L.Górny, L.Ogierman, A.Wlazło, A. Ławniczek-Wałczyk, A. Niesler, *Ann Agric Environ Med.*, **18**, 2, 323-329 (2011).
10. N.S.Lord, C.W.Kaplan, P.Shank, C.L.Kitts, S.L.Elrod. *FEMS Microbiol Ecol.*, **42**, 327-337 (2002).
11. A.Michaelsen, G.Pinar, F.Pinzari. *Microb. ecol.*, **60**, 69-80 (2010).
12. C.Schabereiter-Gurtner, G.Pinar, W.Lubitz, S.Rolleke, *J Microbiol Methods.*, **45**, 77-87 (2001).
13. M.Zotti, A.Ferroni, *Int.Biodeterior. Biodegrad.*, **62**, 2, 186-194 (2008).
14. B.Zyska, *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, **40**, 43-51 (1997).
15. Е.Л.Пехташева, А.Н.Неверов, Г.Е.Заиков, О.В.Стойнов. *Вестник Казанского технологического университета*, **15**, 8, 222-233 (2012).
16. Е.Л.Пехташева, А.Н.Неверов, Г.Е.Заиков, С.А.Шевцова, Н.Е.Темникова. *Вестник Казанского технологического университета*. Т. **15**, 8, 192-199 (2012).
17. A. Das, T. Paul, S. Halder, K. Maity, C. Das, P.K. Mohapatra, B.R. Pati, K.C. Mondal, *Pol. J. Microbiol.*, **62**, 1, 31-43 (2013).
18. M.Camassola, A.J.Dillon, *J Appl.Microbiol.*, **103**, 6, 2196-204 (2007).
19. A.Amore, O.Pepe, V.Ventorino, L.Birololo, C.Giangrande, V. Faraco, *FEMS MicrobiolLett.*, **339**, 2, 93-101 (2013).

© Г. В. Надеева – инж. каф. биотехнологии К(П)ФУ, galinadeeva@yandex.ru; Г. Ю. Яковлева – к.б.н., доц. каф. микробиологии К(П)ФУ, yakovleva\_galina@mail.ru; Р. Э. Хабибуллин – к.т.н., доц. каф. технологии пищевых производств КНИТУ, hrustik@yandex.ru; Д. М. Усманова – д.и.н., проф. каф. истории России и стран ближнего зарубежья К(П)ФУ, dusmanova2000@mail.ru.