جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة كربلاء / كلية التربية للعلوم الصرفة
قسم علوم الحياة

تقدير فعالية بعض الجزيئات النانوية في السيطرة على التلوث بالفطريات المعزولة من بعض المخطوطات التاريخية في العتبة الحسينية

رسالة مقدمة الى
مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة كربلاء
وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في علوم الحياة/ نبات

من قبل
الاء عقيل جاسم
بكالوريوس علوم الحياة/ جامعة واسط
2004

بأشراف
أ .د . بان طه محمد

1441هـ   2019م

بسم الله الرحمن الرحيم

﴿ وَعَلَّمَكَ مَا لَمْ تَكُن تَعْلَمُ وَكَانَ فَضْلُ اللهِ عَلَيْكَ

عَظِيمَا ﴾

صدق الله العلي العظيم

سورة النساء الآية(113)

اقرار المشرف على الرسالة

اشهد بان إعداد هذه الرسالة قد جرى تحت اشرافي في قسم علوم الحياة/ كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة كربلاء ، وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة / نبات / فطريات.

التوقيع:

الاسم: أ. د. بان طه محمد

المرتبة العلمية: استاذ

العنوان: كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة كربلاء

التاريخ: / / 20

توصية رئيس قسم علوم الحياة

اشارة الى التوصية اعلاه من قبل الاستاذ المشرف ، أحيل هذه الرسالة الى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها.

التوقيع:

الاسم: د. نصير مرزا حمزة

المرتبة العلمية: استاذ مساعد

العنوان: كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء

التاريخ: / / 20

أقرارالمقوم اللغوي

أشهد أن هذه الرسالة الموسومة (**تقدير فعالية بعض الجسيمات النانوية في السيطرة على التلوث بالفطريات المعزولة من بعض المخطوطات التاريخية في العتبة الحسينية**) تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية وبذلك اصبحت مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الامر بسلامة الاسلوب وصحة التعبير .

التوقيع:

الاسم: تغريد عبد الامير مرهون

المرتبة العلمية: مدرس

العنوان: كلية العلوم الاسلامية/ جامعة كربلاء

التاريخ / / 20

اقرار المقوم العلمي

أشهد أن هذه الرسالة الموسومة (**تقدير فعالية بعض الجسيمات النانوية في السيطرة على التلوث بالفطريات المعزولة من بعض المخطوطات التاريخية في العتبة الحسينية**) قد اطلعت عليها وقومتها علميا واجد انها صالحة للمناقشة .

التوقيع:

الاسم: ماجد كاظم عبود

المرتبة العلمية: استاذ

العنوان: كلية التربية / جامعة القادسية

التاريخ : / / 2019

إقرار لجنة المناقشة

نحن اعضاء لجنة المناقشة الموقعين ادناه نشهد باننا قد اطلعنا على الرسالة الموسومة **(تقدير فعالية بعض الجزيئات النانوية في السيطرة على التلوث بالفطريات المعزولة من بعض المخطوطات التاريخية في العتبة الحسينية)** المقدمة من قبل الطالبة **(الاء عقيل جاسم)** كجزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في علوم الحياة /علم النبات (فطريات)، وبعد اجراء المناقشة العلمية وجدنا انها مستوفية لمتطلبات الشهادة وعلية نوصي بقبولها بتقدير مستوفي.

<u>رئيس لجنة المناقشة</u>

التوقيع:

الاسم: أ. د. نيران عبيد جاسم

المرتبة العلمية : استاذ

مكان العمل: جامعة القادسية/ كلية الصيدلة

التاريخ: / / 20

<u>عضو لجنة المناقشة</u>

التوقيع:

الاسم : أ. د. ابتهال معز عبد المهدي

المرتبة العلمية: استاذ

مكان العمل: جامعة بابل /كلية العلوم

التاريخ: / / 20

<u>عضو لجنة المناقشة</u>

التوقيع:

الاسم: أ. م. د. بان موسى حسن

المرتبة العلمية: استاذ مساعد

مكان العمل: جامعة كربلاء/

كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ: / / 20

<u>عضوا ومشرفا</u>

التوقيع:

الاسم: أ. د. بان طه محمد

المرتبة العلمية: استاذ

مكان العمل: جامعة كربلاء/

كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ: / / 20

<u>مصادقة عميد الكلية</u>

التوقيع:

الاسم: أ. د. حميدة عيدان سلمان

المرتبة العلمية: استاذ

التاريخ: / / 20

الاهداء

الى من اكلله الله بالهيبة والوقار .. الى من احمل اسمه بافتخار .. الى .. الى سر نجاحي وامنياتي كانت ان ,من علمني العطاء و الوفاء... يقطف معي اثمار تفوقي بعد الانتظار.. الى الغائب عن العين والساكن في الروح .. الى روح ابي الغالي

الى ملاكي ...الى من اسمها يعني الحب والحنان .. الى من وجودها سر سعادتي وبلسم جراحي .. الى من كان دعاؤها.. هو سر نجاحي وتقدمي وفرحتي في الدنيا الى ست الحبايب (امي الغالية)

الى من كان مشجعي وبالكلمات يدفع بي الى خطوات التقدم والتفوق..

زوجي العزيز

الى كل من مدني بالكلمات الطيبة والمساعدة حتى ولو كانت بسيطة ..

شكري لهم من كل قلبي.

الباحثة

الشكر والتقدير

الحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام على أشرف الأنبياء والمرسلين أبي القاسم محمد (صلى الله عليه و آلة وسلم) و أهل بيته الطيببن الطاهرين .

يطيب لي وأنا انهي رسالتي هذه ان أوجه أسمى آيات الشكر والتقدير لمشرفتي الفاضلة الى معلمتي الاولى ومن زرعت في نفسي بذور الصبر والحزم ... الى رمز العطاء ومن غمرتني بحنانها وسارت معي في دربي الطويل(استاذتي الدكتورة بان طه محمد) لاقتراحها موضوع البحث ومتابعتها المتواصلة لي وإرشاداتها القيمة لي طول مدة تنفيذ البحث ،فلها مني خالص الدعاء الذي لا ينقطع ما حييت سائلة المولى عز وجل ان يوفقها وان يمدها بالصحة والعافية.

وشكري الموصول بالثناء الى كل من عميد الكلية أ. حسين علي عبد اللطيف والى رئيس القسم الاستاذ الدكتور نصير مرزه حمزة وشكري الخاص الى مدير مركز الحسين لصيانة وترميم المخطوطات ورعاية الباحثين الاستاذ مناف لطيف حميد التميمي.

والعمل الجيد يزداد بمساعدة الطيبين من مركز الامام الحسين لصيانة المخطوطات ومسؤول مختبر المركز الاستاذ احمد زغير وكل العاملين في المركز.

وشكري وامتناني الى أ. م. د عدنان عبدالجليل لهوف كلية الزراعة/ جامعة كربلاء لتقديمه المساعدة في اكمال فحوصات الرسالة .

وشكري وعرفاني الى زملائي في الدراسات العليا متمنيا لهم النجاح والتفوق . ولا يفوتني ان اقدم جزيل الشكر الى جميع افراد اسرتي الذين مدوا لي يد العون ولو بكلمة.

الخلاصـــة

اجريت هذه الدراسة في مختبر الدراسات العليا في كلية التربية للعلوم الصرفة في جامعة كربلاء ضمن سلسلة عزل وتشخيص الفطريات المرافقة للمخطوطات التاريخية في مركز صيانة وترميم المخطوطات ورعاية الباحثين للمدة من 2018/11/20 لغاية 20/ 1/ 2019في العتبة الحسينية المقدسة في مدينة كربلاء . بهدف المحافظة على المخطوطات واستعمال الزنك النانوي والفضة النانوية في السيطرة على الفطريات التي تسبب تلف للمخطوطات ووصفها كمادة تضاف إلى عجينة الترميم .

شخصت الفطريات التي تم عزلها بالطريقة التقليدية وتم ايجاد العدد الكلي للعزلات والانواع الفطرية المعزولة ،كما تم اختبار الفعالية الانزيمية للكشف عن الفطريات المحللة لمكونات المخطوطات وتمثلت بانزيم السيلوليز والبروتيز و الأميليز واللايبيز.

وشخصت جزيئيا بطريقة PCR وتمثلت بسبعة فطريات تسجل لأول مرة في العراق عامة وعلى المخطوطات خاصة وهي *Alternaria atra*, *Aspergillus ustus*, *Cladosporium exasperatum*, *Chaetomium globosum*, *Microdochium nivale*, *Penicillium* -1 *tardochrysogenum*, *Penicillium tardochrysogenum* -2 وسجلت في البنك الجيني العالمي Genbank وحملت أرقام التسلسلات accession numbers MK503427 و MK503428وMK504425 و MK504424 وMK503439 و MK504426 و MK504427 .

حسبت النسبة المئوية للترددFrequency % والنسبة المئوية للظهور Occurrence % ومعامل كثافة التوزيع Distribution Intensity Index DII للفطريات المسجلة في البنك الجيني واجريت عليها التجارب الخاصة باستعمال المواد النانوية (الفضة النانوية والزنك النانوي).

درست الخصائص المظهرية للمستعمرات الفطرية النامية على الوسط الزرعي بعد المعاملة بالمواد النانوية ومقارنتها بمعاملة السيطرة ، كما درست اشكال النموات المجهرية تحت المجهر المركب من خلال تحضير شرائح مجهرية لكل المعاملات المدروسة .

الخلاصـــــة..Summary

تمت معالجة المخطوطات المتضررة بالفطريات بتلك المادتين النانويتين ضمن العجينة المعدة لغرض ترميم وصيانة المخطوطات.

اظهرت النتائج وجود 557 عزلة فطرية ، واعطت بداية المخطوطة أعلى نسبة للأعداد الفطرية239 بنسبة 43.76% . سجلت نتائج الاختبارات الانزيمية للفطريات السبعة المسجلة أن الفطرين *Alternaria atra* و*Aspergillus ustus* سجلا اعلى فعالية لأنزيم السليلوليز بدلالة معدل قطر الهالة المتكونة 47.44 و 47.00 ملم واللذان لم يختلفا معنويا فيما بينهما ، وتفوق الفطر *Microdochium nivale* بالفعالية الانزيمية لأنزيم البروتيز63.78 ملم بدلالة معدل قطر الهالة والذي لم يختلف معنويا عن كل من الفطرين *Aspergillus ustus* و *Chaetomium globosum* ،واظهر انزيم الاميليز فعالية عالية للفطر *Microdochium nivale* بمعدل قطر هالة 60.22 ملم والذي لم يختلف معنويا عن الفطر *Aspergillus ustus* بمعدل قطر للهالة 59.33ملم ، اما الفطر *Chaetomium globosum* اعطى اعلى فعالية لأنزيم اللايبيز 68.56 ملم بدلالة معدل قطر الهالة المتكونة والذي لم يختلف معنويا عن الفطر *Microdochium nivale* بمعدل قطر للهالة 63.22 ملم .

اظهر الفطر *Aspergillus ustus* اعلى نسبة مئوية للظهور 11.6% واعلى نسبة مئوية للتردد 14.93% واعلى كثافة توزيع 44.82% في حين سجل الفطر *Chaetomium globosum* أقل نسبة مئوية للظهور والتردد وكثافة التوزيع 7.0% و12.47 % و24.71 % على التوالي .

بينت النتائج الجزيئية للفطريات المسجلة في البنك الجيني العالمي ومن خلال الشجرة الوراثية ونتائج التماثل بان العزلة العراقية للفطر *Aspergillus ustus* شبيهه 100%مع العزلات المصرية والبرازيلية والصينية والامريكية والهولندية ، وأن العزلة العراقية للفطر *Cladosporium Exasperatum* تشبه 100% العزلات الهندية والكينية ، في حين تظهر العزلتان العراقيتان للفطرين1,2 *Penicillium tardochrysogenum* تشابها 100% مع العزلات العالمية الاسبانية والهندية وشمال افريقيا والصينية والسلوفاكية .

سجلت جميع الفطريات السبعة المسجلة في البنك الجيني العالمي تأثيرا بالمادة النانوية المتمثلة بالفضة النانوية والزنك النانوي وكان هذا التأثير واضحا على معدل قطر المستعمرة وشكل النمو الظاهري الذي يتجه نحو قلة قطر المستعمرة مع ارتفاع ظاهر في مكان اللقاحة الفطرية مع زيادة تركيز المركب النانوي ، وحقق الفطران *Alternaria atra* و *1-Penicillium tardochrysogenum* اعلى نسبة للتثبط المتمثل بمعدل قطر المستعمرة الفطرية 10ملم عند المعاملة بالزنك النانوي بالتركيز 25ملغم /لتر من الوسط الزرعي PDA واللذان لم يختلفا معنويا عن كل من *Microdochium nivale* و *Penicillium tardochrysogenum -2*. اظهر الفطران*Alternaria atra* و *Penicillium tardochrysogenum -2* اعلى نسبة للتثبط المتمثل بمعدل قطر المستعمرة الفطرية 13.33ملم عند المعاملة بالفضة النانوية بالتركيز 25ملغم /لتر من الوسط الزرعي PDA.

اظهرت الفحوصات المجهرية للغزول الفطرية تأثرها بالمركبات النانوية مع زيادة تركيز المادة النانوية وكان هذا التأثير يتراوح بين التحطيم الكامل للغزل الفطري وانفجاره وخاصة في التراكيز العالية من المادة النانوية وبين تجمع بروتوبلازم الخلية الفطرية وخاصة في التراكيز المتوسطة من المادة النانوية ، أو انحراف في مجرى جريان الفطر ومحاولته الابتعاد عن المادة السامة بالتكتل في مكان معين من الحيز المجهري تحت الفحص وخاصة في التراكيز الواطئة ، فضلا عن اختزال الكونيديات أو صغر حجمها او تشوهها تبعا لنوع الفطر وتركيز المادة النانوية ونوعها .

أخذت عينات من المخطوطات القديمة بعد العلاج مع 25 ملغ لكل لتر من كل الزنك أو الجسيمات النانوية الفضة، فاظهرت النتائج انخفاض في عدد الفطريات مقارنة بالمخطوطة قبل الترميم.

قائمة المحتويات

الصفحة	العنوان	التسلسل
I-II-III	Summary الخلاصة	
IV-XI	contents قائمة المحتويات	
2-1	Introduction المقدمة	الفصل الاول
3	Literature Review استعراض المراجع	الفصل الثاني
3	اهم المكونات المخطوطات	1-2
3	الياف السيليلوز (Cellulose fibrous)	1-1-2
4	اللكنين Lignin	2-1-2
4	اللواصق النشوية	3-1-2
5	المواد البروتينية والدهنية	4-1-2
5-6	الفطريات الكيسيه Ascomycetes	2-2
6-7	الفطر *Alternaria spp* .	1-2-2
7	الفطر *Aspergillus* spp.	2-2-2
8	الفطر *Chaetomium spp* .	3-2-2
8-9	الفطر *Cladosporium spp* .	4-2-2
9-10	الفطر *Microdochium spp* .	5-2-2
10-11	لفطر *Penicillium* spp.	6-2-2
12	النانوتكنلوجي Nanotechnology	3-2
12	تطبيقات النانوتكنولوجي	1-3-2
13-14	تقنيات انتاج المواد النانوية	2-3-2
14	الفضة النانوية	3-3-2
15	الزنك النانوي	4-3-2
16	مواد وطرائق العمل	الفصل الثالث
16	الاجهزة والمواد المستخدمة	1-3

contents...المحتويات

16-17	الاجهزة المستخدمة	1-1-3
17-18	المواد الكيميائية والاوساط الزرعية المستخدمة	2-1-3
18-19	مواصفات المواد النانوية	3-1-2
19	المواد والعدد المستخدمة في تفاعل البلمرة المتسلسل	4-1-3
19	الاوساط الزرعية	2-3
19	وسط اكار السابرويد دكستروز	1-2-3
19	وسط الزابك	2-2-3
20	سط Water Agar	3-2-3
20	وسط اكار مستخلص البطاطا والدكستروز	4-2-3
20	وسط اكار خلاصة الشعير	5 -2-3
20	وسط أكار- السيليلوز	6-2-3
20	وسط أكار الحليب المقشود	7-2-3
20	وسط -أكار النشأ	8-2-3
21	وسط Tween 80 Agar	9-2-3
21	المحاليل والكواشف المستخدمة	3-3
21	محلول اليود Iodine solution	1-3-3
21	محلول ا لكازائين (0.5 %)	2-3-3
21	محلول يود حامض الهيدروكلوريك	3-3-3
21	محلول ا لسيليلوز النقي	4-3-3
21	محلول هيدروكسيد الصوديوم NaOH بتركيز (M0.5)	5-3-3
22	محلول حامض الهيدروكلوريك (5) (HCl) عياري	6-3-3
22	محلول يوديد البوتاسيوم KI	7-3-3
22	تحضير التراكيز المختلفة للفضة والزنك النانوي	8-3-3
22-23	جمع وعزل الفطريات	4-3
23	تشخيص الفطريات بالطريقة التقليدية	1-4-3
23	تشخيص الفطريات بالطريقة الجزيئية	2-4-3
23-24	استخلاص وتنقية ال DNA	1-2-4-3

contents...المحتويات

24-25	تحديد تسلسل القواعد النيتروجينية وتحليل المعلوماتية الحيوية	2-2-4-3
25	التقدير الكمي والنوعي للفطريات المعزولة من المخطوطات	3-4-3
25	الكشف عن الفطريات المحللة	4-4-3
26-25	تحلل السيليلوز Cellulose	1-4-4-3
26	تحلل البروتين Protein	2-4-4-3
26	تحلل النشا Starch	3-4-4-3
26	تحلل الدهون Lipid	4-4-4-3
26	تأثير المواد النانوية(الزنك النانوي والفضة النانوية) في الفطريات المعزولة	5-4-3
26-27	التأثير على معدل قطر المستعمرات الفطرية(النسبة المئوية للتثبيط	1-5-4-3
27	التأثير على الصفات المجهرية للفطريات	2-5-4-3
27	اختبار التركيز المثبط من المادة النانوية مع المادة المستخدمة في الترميم على المخطوطات	6-4-3
27	التحليل الاحصائي Statistical analysis	5-3
28	النتائج والمناقشة Results and Discussion	الفصل الرابع
28	جمع وعزل الفطريات المرافقة للمخطوطات	1-4
28	تشخيص الفطريات	2-4
28-29	بالطريقة التقليدية Traditional identification	1-2-4
29-30	الفطر *Alternaria atra*	1
31-30	الفطر *Aspergillus ustus*	2
31	*Chaetomium globosum*	3
32	الفطر *Cladosporium exasperatum*	4
33	الفطر *Microdochium nivale*	5
34-35	الفطر *Penicillium Tardochrysogenum*	6
35	بالطريقة الجزيئية Molecular identification	2-2-4
36-41	تحديد تسلسل القواعد النيتروجينية وتحليل المعلوماتية الحيوية والشجرة الوراثية Phylogeny	3-2-4
41	التقدير الكمي والنوعي للفطريات المعزولة من المخطوطات	3-4

contents...المحتويات

41-42	النسبة المئوية للظهور % Occurrence	1-3-4
42-43	النسبة المئوية للتردد % Frequency	2-3-4
43-44	معامل كثافة التوزيع Distribution Intensity Index	3-3-4
44	الكشف عن الفطريات المحللة	4-4
44-45	السيليلوز Cellulose	1-4-4
45-47	البروتين	2-4-4
47-48	النشا	3-4-4
48-49	الدهون	4-4-4
52	تاثير المواد النانوية (الزنك النانوي والفضة النانوية) في الفطريات المعزولة	5-4
52	التأثير على معدل قطر المستعمرات الفطرية (النسبة المئوية للتثبيط)	1-5-4
52-53	تأثير الزنك النانوي	1
55-54	تأثير الفضة النانوية	2
56	التأثير على الشكل المظهري للمستعمرات النامية بوجود المادة النانوية ومقارنتها بالسيطرة Control	2-5-4
56-58	تأثير الزنك النانوي	1
59-60	تأثير الفضة النانوية	2
61-71	التأثير على الصفات المجهرية للفطريات	6-4
72	اختبار التركيز المثبط من المادة النانوية مع المادة المستخدمة في ترميم المخطوطة	7-4
73	الاستنتاجات والتوصيات	الفصل الخامس
73	الاستنتاجات Conclusions	
73-74	التوصيات Recommendations	
75-91	المصادر References	
75	المصادر العربية	
76-91	المصادر الاجنبية	
92-98	الملاحق Appendices	
A B C	Summary	

قائمة الجداول

رقم الجدول	العنوان	الصفحة
4-1	عدد العزلات الفطرية ونسبها المئوية من بداية ووسط ونهاية المخطوطة على وسط PDF على درجة حرارة 26 ± 2مo لمدة 5 ايام	28
4-2	الفطريات المعزولة والمشخصة لأول مرة على المخطوطات والمسجلة بالبنك الجيني وارقام تسلسلها	35
4-3	النسب المئوية للظهور والتردد وكثافة التوزيع للفطريات المعزولة من المخطوطات بدرجة حرارة 26 ± 2 م o وعلى وسط PDA لمدة 7-5 ايام	42
4-4	الفعالية الانزيمية لأنزيم السيليليز للفطريات المعزولة من المخطوطات بدرجة26 ± 2مo و على وسط اكار- السليلوز لمدة 3 , 6 , 9 يوم .	45
4-5	الفعالية الانزيمية لأنزيم البروتيز للفطريات المعزولة من المخطوطات بدرجة 26 ± 2 مo وعلى وسط اكار- الحليب المقشود لمدة 3 , 6 , 9 يوم	47
4-6	الفعالية الانزيمية لأنزيم الاميليز للفطريات المعزولة من المخطوطات بدرجة26 ± 2 مo وعلى وسط اكار- النشأ لمدة 3, 6, 9, يوم	48
4-7	الفعاليـة الانزيميـة لأنـزيم اللايبيـز للفطريـات المعزولـة مـن المخطوطات بدرجة 26 ± 2 مo وعلى وسط اكار Tween 80 لمدة 3 , 6 , 9 يوم	49
4-8	التراكيز المختلفة من الزنك النانوي في معدل قطر الفطريات المعزولة من المخطوطات (ملم)والنامية على وسط PDA بدرجة حرارة 26 ± 2مo لمدة 7-5 ايام	53
4-9	نسبط تثبيط الفطريات المعزولة من المخطوطات عند درجة حرارة 26 ± 2 مo وعلى وسط PDA بتركيز 5 ،10، 15، 20، 25 ملغم/ لتر من الزنك النانوي	53
4-10	التراكيز المختلفة من الفضة النانوية في الفطريات المعزولة من المخطوطات (ملم) والنامية على وسط PDFبدرجة حرارة 26 ±2مo لمدة 7-5 ايام	55
4-11	نسبط تثبيط الفطريات المعزولة من المخطوطات عند درجة حرارة 26 ± 2 مo وعلى وسط PDA بتركيز 5 ،10، 15، 20، 25 ملغم/ لتر من الفضة النانوية	55

قائمة الاشكال

رقم الشكل	العنوان	الصفحة
شكل A	يمثل عملية تحويل القطع الكبيرة الى جسيمات نانوية بفعل الطحن والسحق	13
شكل B	يمثل عملية تجميع الذرات مع بعضها او الجزيئات مع بعضها	14
4-1	الفطر *Alternaria atra*	29
4-2	الفطر *Aspergillus ustus*:	30
4-3	*الفطر* *Chaetomium globosum*	31
4-4	الفطر *Cladosporium exasperatum*	32
4-5	الفطر *Microdochium nivale*	33
4-6	الفطر 1-2-*Penicillium Tardochrysogenum*	34
4-7	شجرة التطور الوراثي في *Alternaria atra* strain alaa1-A.alaa1-A مع سلالات الاخرى . الشريط يشير إلى المسافة الوراثية بسبب اختلاف التسلسل	36
4-8	شجرة التطور الوراثي في *Aspergillus ustus* strain alaa4-A.us 5. مع السلالات الاخرى . الشريط يشير إلى المسافة الوراثية بسبب اختلاف التسلسل	37
4-9	*Chaetomium globosum* strain ala11-C.gl ، شجرة التطور الوراثي *Chaetomium globosum* strain ala11-C.gl مع سلالات الاخرى . الشريط يشير إلى المسافة الوراثية بسبب اختلاف التسلسل	38
4-10	شجرة التطور الوراثي *Cladosporium exasperatum* strain ala14-C.ex مع سلالات الاخرى . الشريط يشير إلى المسافة الوراثية بسبب اختلاف التسلسل.	39
4-11	شجرة التطور الوراثي *Microdochium nivale* strain alaa6-M.ni 5.8S مع سلالات الاخرى . الشريط يشير إلى المسافة الوراثية بسبب اختلاف التسلسل.	40

contents...المحتويات

41	شجرة التطور الوراثي لـ *Penicillium tardochrysogenum* strain ala13-P.ta-1 و*Penicillium tardochrysogenum* strain ala15-P.ta-2 مع السلالات الاخرى . الشريط يشير إلى المسافة الوراثية بسبب اختلاف التسلسل.	4-12
50−51	الفعالية الانزيمية للفطريات المعزولة من المخطوطات	4-13
57−58	التراكيز المختلفة من الزنك النانوي في النمو للمستعمرات الفطرية على وسط PDAبدرجة حرارة 26±2 ^{o}م لمدة 7-5 ايام	4-14
60	التراكيز المختلفة من الفضة النانوية في النمو للمستعمرات الفطرية على وسط PDAبدرجة حرارة 26±2 مo .لمدة 7-5 ايام.	4-15
62−71	تأثير التراكيز المختلفة من الزنك النانوي في الشكل المجهري للمزارع الفطرية على وسط PDAبدرجة حرارة 25±2 ^{o}م .لمدة 7-5 ايام. بقوة تكبير X 40	4-16
72	تأثير التراكيز المختلفة من الفضة النانوية في الشكل المجهري للمزارع الفطرية على وسط PDA بدرجة حرارة 25±2 ^{o}م .لمدة 7-5 ايام. بقوة تكبير X 40	17-4
73	تأثير التركيز الفعال من الفضة النانوية والزنك النانوي مع مادة الترميم في الشكل المجهري للمزارع الفطرية على وسط PDAبدرجة حرارة 25±2 0 م .لمدة 1-5 ايام . بقوة تكبير X 40	شكل4-18

قائمة الملاحق

التسلسل	العنوان	الصفحة
1	تسجيل العزلة الفطرية *Alternaria atra* باسم Jasim,A.A., Mohammed,B.T. and Lahuf,A.A. في البنك الجيني العالميGen Bank.	92
2	تسجيل العزلة الفطرية *Aspergillus ustus* باسم Jasim,A.A., Mohammed,B.T. and Lahuf,A.A. في البنك الجيني العالميGen Bank	93
3	تسجيل العزلة الفطرية *Chaetomium globosum* باسم Jasim,A.A., Mohammed,B.T. and Lahuf,A.A. في البنك الجيني العالميGen Bank	94
4	تسجيل العزلة الفطرية *Cladosporium exasperatum* باسم Jasim,A.A., Mohammed,B.T. and Lahuf,A.A.. في البنك الجيني العالميGen Bank	95
5	تسجيل العزلة الفطرية *Microdochium nivale* باسم Jasim,A.A., Mohammed,B.T. and Lahuf,A.A. في البنك الجيني العالميGen Bank	96
6	تسجيل العزلةالفطرية*1-Penicillium tardochrysogenum* باسم Jasim,A.A., Mohammed,B.T. and Lahuf,A.A. في البنك الجيني العالميGen Bank	97
7	تسجيل العزلة الفطرية *2-Penicillium tardochrysogenum* باسم Jasim,A.A., Mohammed,B.T. and Lahuf,A.A. في البنك الجيني العالميGen Bank	98

الفصل الأول
المقدمة
Introduction

المقدمــــــــة Introduction

تشكل المخطوطات جزءا هاما من التراث الفكري والحضاري الاسلامي، وبغض النظر عن العوامل البيئية المتنوعة التي تسهم في تلفها ،إلا أن هناك عوامل حياتية تنشط وتسهم بشكل كبير في الاسراع من التلف والتقادم (السيد اليوسف ، 2002). وتعد الفطريات واحدة من مجموعة العوامل الاحيائية التي تؤثر وبشكل فاعل في تلف المخطوطات وتدهور نسجتها ، لما تملكه من فعالية انزيمية عالية ، تحلل المواد الداخلة في مكوناتها لأجل نموها وتكاثرها . درسها على المخطوطات لأول مرة في العراق Mohammed وجماعته (2018) فاستطاعوا عزل عشرة أنواع تنتمي إلى ستة أجناس ، فضلا عن الفطريات البيضاء العقيمة . ومع أن اغلب الاجناس الفطرية التي تمت دراستها كانت ضمن مجموعة الفطريات الشائعة والمسببة لحساسية العاملين مع المخطوطات وهي سائدة في البيئة العراقية (الوائلي ، 2018).

يعد نوع الوسط وظروف البيئة عاملا هاما في النشاط الانزيمي (حسين و محمد ، 2014 ؛ Romaníe *et al* .,2006)، وإن هنالك اكثر من نوع واحد من هذه الانزيمات تسهم في تلف المخطوطات ، نظرا لكونها تختلف في تركيبها وأنواع المواد التي تتكون منها (السيد اليوسف ، 2002). وتوجد العديد من الدراسات التي تناولت الفعالية الانزيمية لأنزيم السيلوليز و البروتيز و الاميليز و اللايبيز المنتجة من قبل الفطريات (Yike, 2011; Griebeler, *et al*. 2011 ; Delabona, *et al*., 2012 and Krishnan, *et al*., 2016) النشاط الانزيمي للفطريات المعزولة من المخطوطات درست لأول مرة في العراق من قبل الوائلي،2018 ، وعزا الدور الذي تلعبه الفطريات في هذا التلف الى الانزيمات ودرس اربعة منها).

تعد الحصينة التي تحفظ بها الكتب والمخطوطات الثمينة داخل العتبة الحسينية المقدسة مكانا محصنا وذات أهمية من ناحية النظافة والتعقيم ، إلا أنها غير مفرغة من الهواء ، وإن الهواء يصلها عن طريق منافذ التهوية والأبواب والشبابيك ، فضلا عن اجهزة التبريد والتدفئة، ونادرا ما يخلو الهواء الجوي من الفطريات واجزائها الجسمية والتكاثرية والتي يمكنها الانتقال إلى مسافات بعيدة (Prospero, *et al*., 2005). كما وأن المخطوطات والكتب هي معدة لغرض الاستخدام والتقليب من قبل الباحثين والمهتمين في العلم والبحث، ومن الطبيعي لا يمكن السيطرة على تلوثها بالطرق التقليدية (Bahjat, *et al*., 2013) .

اتجهت الانظار الحديثة إلى البحث عن بدائل للمثبطات الحياتية التقليدية ومن أحدث الطرق هو استخدام علم النانوتكنولوجي لغرض الاستفادة من امكانيته المتوفرة وخاصة كمضادات للأحياء المجهرية(Webster and Seil ,2012). وتأتي قدرة المركبات النانوية مثل الفضة والزنك و اوكسيد الزنك ....الخ في التأثير من خلال مساحتها السطحية الواسعة التي تزيد من ارتباطها بالأحياء المجهرية(Tolaymat, *et al* ., 2010).

ونظرا لقلة الدراسات حول تأثير المركبات النانوية على الفطريات الموجودة في المخطوطات لذا فان الدراسة هدفت الى :-

تأثير المركبين النانويين الفضة والزنك في تثبيط الفطريات المعزولة من المخطوطات التابعة للعتبة الحسينية المقدسة. اختبار مدى تأثير تلك المواد على تركيب ورق المخطوطات و استخدام هذه المركبات النانوية كجزء من مادة الترميم المخطوطات وصيانتها من التلف.

حيث تمحورت الدراسة حول:-

1. عزل وتشخيص الفطريات المرافقة للمخطوطات .
2. دراسة الفعالية الانزيمية لإنزيمات السيليلوليز، البروتييز ، الاميليز و اللايبيز.
3. دراسة جزيئية للفطريات المعزولة وتسجيلها في البنك الجيني ورسم الشجرة الوراثية. ودراسة العلاقة التطورية والتماثل مع الأنواع الدولية.

الفصل الثاني

استعراض المراجع

Literatures Review

2- استعراض المراجع Literatures Review

2-1: اهم مكونات المخطوطات

تعرّضت المخطوطات على مر العصور للعديد من الظروف ، منها سياسية كالحروب والدمار والحرائق ومنها طبيعية كظروف الخزن وما تعرضت له من عوامل حية وغير حية ، وإن ما وصل إلينا من هذا التراث لم يسلم بدوره من الإهمال تارة، وتعمد الاضرار به تارة اخرى(عبد العظيم، 2018).

2-1-1 - الياف السيليلوز (Cellulose fibrous):

تعد المكون الاساسي للورق وتقاس جودة الورق استنادا الى نسبة السيليلوز الداخلة في تكوينه ، ولهذا يفضل اخشاب النباتات الصغيرة (Linko, 2005) . يتكون السيليلوز من سلسلة مترابطة من المواد الكربوهيدراتية متعددة السكريات(polysaccharide) وذات وزن جزيئي عالي $(C_6H_{10}O_5)$ n، يتم اتحاد وحدات الكلوكوز لتكوين الياف طويلة من السليلوز والتي بدورها ترتبط مع بعضها عرضيا مكونة شبكة طولية عرضية تعرف بالورق(السيد يوسف ،2002). اظهرت الدراسات أن المعقد الانزيمي Complex Cellulase الذي يحلل السليلوز إلى سكريات بسيطة يتكون من ثلاثة أنواع من الانزيمات التي تساهم مجتمعة في تكسير الاصرة الكلايكوسيدية β-1.4 فالأنزيم الاول CMCase,Cx , Endo- 1,4– B – D glucanase – glucan glucanohydrolase ،يحلل المركب الاساس تحللا جزئيا ثمC1 , Exo–glucanase,1.4–B–D–glucan CelloBiohydrolase ,Avicelase يعمل على الجزئ الذي حـدث له تحلل جزئي بواسطة الانزيم الاول ومن ثم B - glucosidase , CelloBiase على نواتج تحليل انزيم الثاني و يحولها الى سكر احادي (كلوكوز)(Khalid, *et al.*, 2006) . ان وجود المادة السيليلوزية في وسط التنمية أو وسط الإنتاج ، يحفز الأحياء المجهرية على انتاج انزيم السليوليز ، كما ان نواتج التحلل تستغل بسرعة من قبل تلك الأحياء (Singh, *et al.*, 2009) . أن هناك عدة عوامل تؤثر في تحليل المواد السيليلوزية وإنتاج أنزيمات المعقد السيليلوزي ومن أهم هذه العوامل نوع المادة الأساس وتركيزها في وسط الإنتاج ، المعاملات الكيميائية والفيزيائية للمادة المتحللة وأيضا كمية اللقاح للفطر المستخدم وظروف الاختبار من درجة الحرارة ،مدة الحضن و الرقم الهيدروجيني (Linko, 2005 ; حسين و محمد ،2014) . لقد وجد Mohammed وجماعته، (2018) ، أن هنالك نشاطا أنزيمي وقدرة انزيمية عالية لأنزيم السيلوليز لبعض الفطريات المعزولة من مخطوطات العتبة الحسينية المقدسة. و من الفطريات التي تقوم بتحليل *Trichoderma harzianum, T.viride, T.longibrachiatum, Alternaria alternate, Fusarium solan, Aspergillus niger, Rhizoctonia solani and Fusarium oxysporum* (Mushrif, *et al.*,2017).

2-1- 2- اللكنين Lignin:

يعد شائبة غير مرغوب بها في بعض الأوراق خاصة المصنوعة من لب أخشاب الأشجار المتقدمة في العمر ، نظرا لما لها من دور في تصلب و تلون الاوراق و بسبب تأكسده بالضوء وتحوله إلى اللون الأصفر، مما يقلل من استدامتها (السيد يوسف،2002). يعد اللكنين ثالث المكونات النباتية بعد Hemicellulose والسليلوز حيث تتراوح نسبته بين 15-30% من وزن لب الأخشاب المعمرة على اساس الوزن الجاف (Martone, *et al.* 2009)، وبين Mankar وجماعته (2012)، أن اللكنين يحتوي على نواة عطرية تتركب من جزيئات فينايل – بروبان C6-C3 وتحتوي المركبات الحلقية او العطرية على عدد كبير من مجاميع methoxy (CH3 O-). والجدير بالذكر أن معظم الفطريات التي تهاجم اللكنين يمكنها استخدام السليلوز الذي يعد اكثر ملائمة لها مثل اجناس الفطريات *Mycena , Collybia , Clitocybe , Marasmius* ، كما ان البكتريا تستخدم اللكنين كمصدر للغذاء ،وبذلك لها القدرة على تحليل اللكنين(Akin and Benner ,1988) .وحيث أن ارتباط اللكنين مع السليلوز في شكل مركبات Lignocellulose جعل من الصعوبة عزله بصورة نقية (Mosier, *et al*., 2005) .

2-1-3 -اللواصق النشوية

يعد النشأ Starch من المواد التي تدخل في تركيب المخطوطات كلاصق لكعوب كتب المخطوطة والأوراق و الملازم ، وقد يستخدم أيضا في عمليات الترميم المختلفة داخل المخطوط(السيد يوسف، 2002) ، والنشأ مركب معقد من الكلوكوز(Polymers of glucose) وهو مركب من جزئيين هما الأميلوبكتين و الأميلوز. الأميلوبكتين يحتوي على سلاسل مستقيمة واخرى متفرعة برابطة من النوع (α – 1,6 glycosidic linkage) أما الاميلوز مكون من سلاسل مستقيمة من الكلوكوز تتحد مع بعضها برابطة (α – 1,4 glycosidic linkage) ، وجزئ النشأ كبير جدا حيث تبلغ عدد وحدات الكلوكوز فيه حوالي 200- 300 وحدة في الأميلوز واكثر من ذلك في الأميلوبكتين ، وأن هنالك بعض من المكروبات المتخصصة في تحليله و التغذي على مكوناته (Swetha, *et al.* 2006) . والميكروبات المحللة للنشأ تفرز نوعين من الانزيمات هما α – amylase وانزيم β- amylase ، حيث أن النشأ من أسرع المواد الكربوهيدراتية تحللا فهو يلي السكريات البسيطة في سرعة التحلل (Robyt and Mukerjea ,2013). لذلك تعد اعداد الميكروبات المحللة للنشأ اكثر بكثير من تلك القادرة على تحليل غيره من المواد الكربوهيدراتية (Zeeman, *et al*., 2010).

2-1-4 المواد البروتينية والدهنية:

يعد الرق و البارشمنت Vellum and parchment والجلودLeather من المواد البروتينية الهامة والتي تستخدم في الكتابة وتغليف الكتب والمخطوطات (السيد يوسف ،2012 ; Fiddyment, *et al.* ,2015) .تتألف البروتينات من سلسلة أو أكثر من الاحماض الامينية مرتبطة بأواصر ببتيدية وقد ترتبط معها مركبات أخرى بأواصر غير ببتيدية أو ترتبط معها الدهون مكونة الدهون البروتينية وتعتبر احد مكونات الخلية (النجفي، 1978)، على الرغم من أنه لم يتطرق إلى المكونات الدهنية كواحدة من مكونات المخطوطات (السيد يوسف، 2002) . يتم تحليل البروتينات بتأثير انزيماتprotease التي تلعب ادوارا حيوية في الخلية ، فهي تشترك في البناء والهدم ، و protease المحللة للمواد البروتينية تحفز كسر الأواصر الببتيدية في البروتينات وهذه تكون اما خارجية Extracellular تفرز إلى الوسط أو تكون داخلية Endocellular وهي التي تكون داخل الخلايا ولا تفرز الى الوسط الا بعد التحلل للخلية (النجفي, 1978).وان غالبية الفطريات المتخصصة في تحليل الرقوق و الجلود تنسب اغلبها الى أجناس تعود للفطريات الكيسية (Raghukumar, *et al*., 2008) . كما أن هناك العديد من الكائنات الحية تحلل البروتين (Pratush, *et al*.,2013) ، وقد تم إنتاج هذه الأنزيمات بنطاق واسع من قبل بعض الفطريات *Aspergillus flavus* and *A. fumigatus*, (Oyeleke, *et al*., 2010) . تتأثر فعالية انزيم Brotase المنتج من عزلة محلية للـ *niger Aspergillus* بمكونات الوسط الزرعي وتركيز كل من الكاربون والنيتروجين فيه (حسين و محمد 2014) . وعزل Mohammed وجماعته(2018) الـ *Penicillium* وعدة انواع من الـ *Aspergillus* من المخطوطات في العتبة الحسينية المقدسة، كان لها قدرة عالية على تحليل المكونات البروتينة للمخطوطات ، كما اختبر الفطريات في قدرتها على تحليل الدهون باستعمال وسط Tween 80-supported peptide. وتعد الفطريات مصدرآ مهمآ لأنزيم Lipase وأن *Aspergillus niger* و *Rhizopus oryzae* و*Fusarium oxysporum* المعزولة من ألتربة لها قدرة عالية على انتاج Lipase في أوساط مختلفة تمثلت ب زيت الزيتونOlive oil وزيت الزنجبيل Ginger oil وزيت الخردل Mustard oil (Sumathy, *et al*., 2012) . ومن المهم ذكر الدور الذي يلعبه كل منlipases و phospholipases كأحد عوامل الضراوة للفطريات الممرضة المحبة للدهون (Park, *et al*., 2013).

2-2-الفطريات الكيسية:- Ascomycetes

فطريات واسعة الانتشار وتعيش في بيئات مختلفة ،وتختلف اختلافا كبيرا في طرق التغذية والتركيب الداخلي، بعضها وحيد الخلية متمثلة بالخمائر ، وبعضها الأخر متعدد الخلايا كما ان لبعض

اجناسها القدرة على تكوين الثمار الزقية Ascocarpe . فطريات هذه المجموعة عند عدم وجود الطور الجنسي لها تصنف ضمن الفطريات الناقصة Deuteromycetes ومن حيث طرق المعيشة فإن معيشتها تتراوح بين المتطفلة والرمية والتكافلية ،او تكون انتهازية (Opportunistic) والكثير منها ممرض للإنسان ، حيث توجد على المواد العضوي والحبوب والخضروات والخبز والجلود والاخشاب .تسبب عددا كبيرا من الامراض للإنسان والنبات و الحيوان ،ولكن بعضها المعروف بأهميته الصناعية والطبية و الزراعية والصناعية ومن اهم المركبات التي تنتجها المضادات الحيوية والانزيمات والاحماض العضوية(Carlile, *et al*., 1994).

2-2-1- الفطر *Alternaria* spp. :

تبدأ المستعمرات باللون الرمادي الداكن ، وتتحول بسرعة إلى اللون الزيتوني الداكن والاسود ذات سطح ناعم ، كما تظهر دوائر متحدة المركز من الأبيض إلى الأسود . يظهر ظهر المستعمرة اسودا وذات تشكلا نجميا من المركز نحو الخارج .المايسيليوم مقسم بحواجز septate كثيفة واضحة وذات جدران غامقة . يتم إنتاج الحامل الكونيدي Conidiophores مباشرة ،وغالبا ما تنتج في الخلية الطرفية ويشبه بشكل القدم على طرف الخلية ويتم انتاج الكونيديا كأنما هي على اخمص القدم ،ويكون ترتيب الكونديا على الحامل الكونيدي بشكل متعرج زكزاك ، شكل الكونيديا مميز مع حواجز طولية وعرضية ، ويكون انتاجها في سلاسل تنتج الكونيديا أنابيب جرثومية بشكل ذيول طويلة (Carmen , 2017) .

الفطر *Alternaria, atra*:

تم وصف الفطر من قبل Yu, (2015) ، ينمو على اوساط مختلفة ،يكون مستعمرة منتظمة مسطحة الشكل ذات لون بني إلى البني الغامق ، ولا ينتج صبغة للوسط الزرعي ، الغزل الفطري بني زيتوني شاحب، ذات جدار املس أو قليل الخشونة وخاصة في الجزء القريب من الحامل الكونيدي ،مقسم ومتفرع بعرض 3-6 مليمايكرون ، الحامل الكونيدي الأولي قائم ، مستقيم أو مختلف الانحناء ،صاعد ،أو منبثق كنمو جانبي من الهايفا في الوسط الزرعي ،غير متفرع واحيانا متفرع ، بني غامق واملس ،وبعض الاحيان خشن ،وغالبا يتمفصل مع اماكن توليد الكونيديا ، اكثر من 150 مليمايكرون طولا ، و 5-8 مليمايكرون عرضا ، الكونيديا المفردة جدا نادرة وبشكل سلسلة مكونة من 2 كونيديا متكونة على الحامل الكونيدي الثانوي ، ذات لون بني ذهبي او بني محمر داكن قليلة التثألل او مغطاة بالبثور ، الكونيديا الحديثة تمتلك قاعدة واضحة ذات شكل بيضوي مقلوب obovoid وعند النضج يكون شكلها كرويا إلى شبه كروي بعض الأحيان وبصورة عامة اهليليجي بيضوي مقلوب، ولا تحتوي على منقارbeak ، وإن عدد قليل من الكونيديا الطرفية ذات خلية واحدة على الحامل الكونيدي الثانوي ذات منقار كاذب تحوي تقسيم بشكل حرف Y على الحامل الثانوي .توجد في اماكن متعددة من العالم في ايران والكويت ومصر والارجنتين وكوريا وغيرها، وذكر نفس المصدر أن العراق من ضمنها الأ أنه

لم يتم العثور على هذا النوع في الموسوعة العربية لأمراض النبات والفطريات (2018,2017,2016 Al-Hamdany ,2019)، و تم عزله ضمن عشرة أنواع من *Alternaria* من نباتات ذات النواة الحجرية المشمش والخوخ والنيكتارين(apricot, peach nectarine) في ايران (Hashemloo, *et al*., 2015 ويعد من الفطريات الرمية الشائعة وسجل متطفلا على نبات الطماطة *Lycopersicon esculentum* Mill. (Solanaceae) في كوريا، كما وان الفطر المرادف له *Ulocladium atrum* يستعمل كعامل قوي في المكافحة الحيوية للفطر*Botrytis* على اوراق الخيار (Lee, *et al*., 2004) وتم تسجيله في البنك الجيني للفطريات من قبل (Woudenberg, *et al*., 2013) وحمل الرقم التسلسلي 803717 .

2-2-2- الفطر *Aspergillus* spp.

يختلف شكل المستعمرات الفطرية في الرشاشيات تبعا للنوع ، وتبدأ كمستعمرات مخملية بيضاء ، ولكنها تتطور بسرعة في3 - 5 أيام إلى ألوان الأخضر والأصفر والبرتقالي والأسود أو البني، يشكل البعض دوائر متحدة المركز من الألوان بينما البعض الآخر موحد في اللون، اعتمادا على الأنواع. الفحص المجهري يظهر الغزول الفطرية المقسمة septate hypha تتفرع بزاوية 45 درجة، الحامل الكونيدي conidiophore طويل يبدأ بخلية قاعدية Foot cell وينتهي بنهاية منتفخة تمثل الحويصلة vesical تكون ذات اشكال كروية او هراوية اومتطاولة تبعا للنوع ، تكون مغطات بما يسمى بالفيالد phialides قد تكون منفردة من صف واحد Uniseriate او صفين Biseriate وهذه لها اهمية تصنيفية في تصنيف الانواع وقد يوجد كلاهما في نفس النوع بعض الأنواع مثل *A. flavus*. أما الكونديا conidia فتظهر بشكل سلاسل اما منفردة او في ازواج . بعض الأنواع مثل *A. nidulans* ، تظهر المرحلة الجنسية (*Emericella nidulans*) ويتكون الـ Cleistothecia التي تحتوي على Ascospores (Carmen , 2017). يتصف بعض انواع هذا الجنس بوجود الاجسام الحجرية Sclerotia فضلا عن خلايا هول Hull cells (Webster and Weber , 2007).

الفطر *Aspergillus ustus*:

يعد من الفطريات الممرضة للإنسان ويسبب داء الرشاشيات وتم عزلها من اجواء مشفى Ho^pital Henri Mondor, Cre´teil, France في فرنسا (Verweij, *et al*., 1999). ويعتبر من الفطريات المقاومة للمضادات الفطرية azoles polyene and echinocandin للمرضى الذين يعانون من أمراض النقص المناعي (Kanafani1 and Perfect, 2008) . وتم عزله ايضا من جدار الجص والمغلف بالورق و المتضررين بالرطوبة في داخل الابنية ، وكان لها دورا في انتاج بعض المركبات العضوية المتطايرة والسموم الفطرية (Polizzi, *et al*., 2012)، ولم يسجل هذا النوع في العراق بحسب الموسوعة العربية لأمراض النبات والفطريات (2018,2017,2016 Al-Hamdany ,2019).

2-2-3- الفطر.*Chaetomium* spp :

المستعمرات في الوسط الزرعي تبدأ بنمو ابيض قطني منتشر ، وتتحول إلى اللون الرمادي الغامق ، والزيتوني ، والاسود مع تقدم العمر ، ظهر المستعمرة أصفر إلى البرتقالي ،واحيانا اسود .الهايفا ملونة ومقسمة ومتموجة ، وكبيرة (170- 90 X 250 -110) ملي مايكرون . ينتج الجسم الثمري القاروري الشكل perithecia وغالبا تكون بشكل ازواج تظهر شكلا يشبه الأناناس مع زوائد شعرية تتجه في جميع الاتجاهات . الاكياس غامقة وليمونية الشكل وتحتوي على ابواغ ذات خلية واحدة وتخرج من فتحة في الجسم الثمري ، والاكياس ليس دائما يمكن مشاهدتها (Carmen ,2017) .يتواجد بوفرة في التربة والهواء والروث وحطام النبات (Webster and Weber , 2007) ،ويعد من الفطريات التي تنتج الانزيمات بكفاءة عالية (Chamekh, *et al*., 2019) . لقد تم عزله مع مجموعة من الفطريات من محاصيل الحبوب وكان الـ *Chaetomium* spp. له تأثير شديد السمية على انسجة الكبد والكلية والبنكرياس بعد الفطر *Aspergillus* spp. وقد اثبت ان لهذه المسوم تأثيرات بالغة ومسرطنة (Sekita, *et al*., 1981 ; Gupta, *et al*. ,1981).

الفطر: *Chaetomium globosum :*

يعد من الفطريات الواسعة الانتشار في البيئات اليابسة والبحرية ، وله انشطة حياتية مختلفة بفعل مركبات الايض الثانوي وخاصة الانزيمات المحللة ، وقد عد ملوثا للهواء و يسبب آثارا صحية ضارة واعتبر عاملا مسببا للعدوى في الانسان (Wang, *et al*., 2015) .ويسبب قرحة الظفر onychomycosis (Naidu, *et al* ., 1991) . أما من الناحية التصنيفية فقد كان يشكل تحديا تصنيفيا صعبا وذلك لكثرة مرادفات النوع وقد تم انشاء مفاتيح تصنيفية خاصة للجنس تكون اكثر واقعية واخذت بنظر الاعتبار الادلة الجزيئية وصلة الفطر بإصابة الانسان (Wang, *et al*. ,2015) ولم يتم عزل هذا النوع في العراق بحسب الموسوعة العربية لأمراض النبات والفطريات (2018,2017,2016 (Al-Hamdany ,2019.

2-2-4-الفطر *Cladosporium* spp. :

لون المستعمرة مختلف حسب النوع ، لكن جميعها تبدأ بلون أخضر إلى بني زغبي رقيق fluffy ، تحتفظ المستعمرة بلونها واحيانا تصبح غامقة عند النضج ومجعدة wrinkled ، وقد تتخذ لونا رماديا إلى اسودٍ مخملي او ناعمٍ powdery or velvety ، ظهر المستعمرة اسودا، معظم السلالات لا تنمو بدرجة حرارة 37م^{0} (Carmen , 2017) . ينمو بسرعة معتدلة على وسط الـ PDA بدرجة حرارة 25م^{0}، (Ogórek, *et al*., 2012). الغزل الفطري مقسم وغامق ، العديد من الحوامل الكونيدية المتفرعة تنتج على طول الغزول الفطرية ومميزة عنها ، تظهر بوفرة الخلايا المثخنة Shield cells مع 3- 4 عقد hila، الكونيديا تنتج في سلسلة من 1-5 ، من السهولة انفصالها ،ذات شكل

كروي إلى بيضوي round to oval، ناعمة الجدار ، وعند انفراطها تظهر العقد في نهايتها بشكل واضح (Carmen, 2017). يعد من الفطريات المنتشرة بكل ارجاء العالم ، ابواغه موجودة في الماء والهواء والتربة ،وأن بعض أنواعه تسبب امراضا للإنسان والنبات ويعتبر تهديدا لصحة الانسان وهو من الفطريات المنتجة للسموم الفطرية (Ogórek, *et al*., 2012).

الفطر *Cladosporium exasperatum* :

المعلومات المتوفرة عن النوع قليلة جدا . وأصل الكلمة يشير إلى الزخرفة السطحية للكونديا ، سجله Bensch وجماعته في البنك الفطري تحت رقم تسلسلي MycoBank MB517076 ، كما تم وصفه *Cladosporium exasperatum* Bensch, Summerell, Crous & U. Braun, sp. Nov (Bensch, *et al*., 2010). عزله Bensch في 2007 من نبات اليوكالبتوس *Eucalyptus tintinnans* في استراليا ، واعطى له وصفا كاملا ، وسجله في البنك الجيني العالمي برقم تسلسلي CBS 125986 ، حيث وصف لون المزرعة الفطرية زيتوني إلى بني ،تنمو الغزول الفطرية الشبه شفاف إلى شاحبة مغمورة وعلى سطح الوسط الزرعي و تكون قليلة التفرع ، تحوي حواجز ولا يوجد تخصر في منطقة الحاجز ، يتراوح بين الاملس الى المثألل verrucose أو يحصل تثخن غير منتظم في الجدار ،يحصل الانتفاخ احيانا في قاعدة الحامل الكونيدي ،تكون نوعين من الحوامل الكونيدية كبيرة أو شبه كبيرة وتكون منفردة وتخرج جانبية أو طرفية على الغزل الفطري ، وتكون منتصبة ومستقيمة واحيانا ملتوية قليلا ، اسطوانية طويلة تحوي عقد باتجاه طرف الحامل الكونيدي ، يتصل بها خلية مفردة تسمى ramoconidium احيانا تحوي سلسلة واحدة من الكونيديات أو متفرعة الى سلسلتين من وتحتوي الكونيديا والخلية الحاملة لها على زخرفة Ornamented تضم بينها ندب بشكل ثأليل Scars ،الكونيديا بشكل سلاسل في تفرعات متسلسلة تحتوي من 2- 6 كونيديا على طرف غير متفرع في السلسلة ، تتفرع تفرعات ثنائية أو في مختلف الاتجاهات ، الكونيديا الطرفية صغيرة بيضوية مقلوبة obovoid إلى اهليليجي بيضوي الشكل ellipsoid-ovoid،واحيانا شبه كروية subglobose (*Bensch, et al*., 2012).لم يسجل هذا الفطر بالعراق استنادا إلى الموسوعة العربية لأمراض النبات والفطريات (Al-Hamdany ,2019 2018,2017,2016).

2-2-5-الفطر *Microdochium* spp. :

الانواع التابعة للجنس تكون ممرضة للنبات او رمية المعيشة ، متباينة شكليا من حيث اللون ،يكون الغزل الفطري شفاف ،الكونيديا تتخذ اشكالا متنوعة اسطوانية cylindrical و شكل مغزلي ضيق من الطرفين fusoid او مستطيل oblong الى هلالي الشكل lunate،مستقيمة او منحنية ،ذاتقاعدة مدببة ونهاية دائرية ، يتكون Chlamydospores في بعضالانواع (Hernández-Restrepo, *et al.* 2016,).واظهرت احد انواعه قابلية الفطر في المعيشة في البيئة المائية وله دور في انتاج بعض

المركبات الحياتية تعمل كعامل وقائي ضد بعض الفطريات التي تسبب تلف بيوض اسماك السلمون (Liu, *et al.*, 2016) .

الفطر *Microdochium nivale*:

تكون مستعمرات بيض إلى زهري غير متماسكة إلى شعرية كثيفة (صوفية المظهر) ، تكون كونيديات كبيرة مفردة لاجنسية ، محدبة ،هلالية ، تضيق عند الطرفين ، مع قمة مدببة وقاعدة دائرية الشكل، هذه الكونيديات لها 1 إلى 3 حواجز ، ومعظمها 3 حواجز ، والحد الأقصى للطول 30 ميليمايكرون ، تتشكل الكونيديا على الحوامل الكونيدية الهوائية وتكون اكثر وفرة المستعمرات ذات اللون البرتقالي الشاحب ،وتكون slimy sporodochia لزجة، ولم يسجل ظهور Chlamydospores فيها (Booth, 1971). تكون الجسم الثمري Perithecia على بعض النباتات وتنتج ابواغ كيسية شفافة اسطوانية الى هراوية أو كمثرية الشكل ذات 3 حواجز تمثل الطور الجنسي(Gerlach and Nirenberg ,1982) .

وصف الفطر لأول مرة على أنه *Lanosa nivalis* في عام 1825 وبسبب التشابه الكبير بين كونديات الفطر وفطر الـ *Fusarium* تم تسميته على أنه *Fusarium nivale* ومن ثم تمت اعادة تسميته الى *Gerlachia nivalis* بسبب افتقاره إلى الكونيديا القدمية conidial foot cell الموجودة في كونديا الفطر Fusarium وبعد عام 1983 تم اعادة تسميته إلى *Microdochium nivale* استنادًا إلى الميزات المشتركة مع أنواع *Microdochium* أخرى (Patch, *et al.*, 2007) . ذكر Maurin وجماعته ،(1995) بوجود صنفين Variety للنوع *nivale* وانها تختلف في شكل الكونيديا وانها تحتوي من 2و 4 - 6 حاجز ، بطول 17.4-41.2 مايكرومتر وعرض 3.8-6.8 مايكرومتر. و هو من الفطريات ذات الانتشار الواسع في المنطقة الثلجية والرطبة ، وبالرغم من ان له مدى واسع من درجات الحرارة الا انه يشكل ممرض نباتي مهم في النصف الشمالي من الكرة الارضية ويسبب مرض العفن الثلجي الزهري pink snow mold لنباتات الاعشاب والعائلة النجيلية (Gossen, *et al.*, 2001) . وذكر نفس الباحث انه ينتج سم Nivalenoll وهومن السموم الفطرية في الأنواع Fusarium. في المناطق المعتدلة في نصف الكرة الشمالي ، مما يجعلها تشكل خطرًا كبيرًا على إنتاج المحاصيل الغذائية. لم يتم عزله سابقا من البيئة العراقية استنادا إلى الموسوعة العربية (2018,2017,2016 -Al Hamdany ,2019).

2-2-6-الفطر *Penicillium* spp. :

تنمو المزرعة الفطرية بسرعة وتكون عادة ذات لون أخضر ، أخضر مزرق ،اخضر رمادي ، أبيض ،أصفر أو زهري ، وظهر المزرعة يكون اصفرا أو بنيا فاتحا ، أو أحمرا ،سطح المزرعة يكون طحينيا أو صوفيا – مخمليا ،.ينتج غزلا فطريا شفافا ذو حواجز ويحمل حوامل كونيدية تنتهي بتجمعات

الفاليدات الدورقية تتكون الكونيدات في سلاسل جافة على الفاليدات حيث تكون الأحداث تكوينا هي الأقرب إلى الفاليد، يكون الحامل الكونيدي أما بسيطا أو متفرعا ، وعندما يكون احادي التفرع بسيطا Monverticillate يحمل مجموعة من الفاليدات مباشرة على قمة الساق القصيرة ، أما ثنائي التفرع Biverticillate يمتلك الحامل الكونيدي مجموعة من الأذرع Matula تحمل بدورها مجاميع من الفاليدات وهنالك حوامل ثلاثية التفرعTerverticillate يمتلك الحامل الكونيدي مجموعة من الفروع (Rami)تحمل بدورها مجاميع من الأذرع التي تحمل مجاميع من الفاليدات الاشكال التامة ، وهذه لها اعتبارات تصنيفية في تصنيف الانواع ، الكونيديات ذات خلية واحدة غير مقسمة (Ameroconidia) وتكون بيضوية الشكل او اسطوانية مغزلية شفافة اللون ملساء أو خشنة الجدار ، وبعض أنواعه تنتج اجساما حجرية Sclerotia فضلا عن تكون الكلاميدوسبور Clamydiospores (Houbraken, *et al*., 2011) و Carmen (,2017.

يعد من الفطريات الاكثر شيوعا، يوجد في التربة والهواء والمياه ويسبب العفن الازرق Blue mold على الفاكهة (Pianzzola, *et al*., 2007)، عزله (Mohammed, *et al*., 2018) من المخطوطات المحفوظة في العتبة الحسينية المقدسة وكان له دور في تحليل مكوناتها .

الفطر *Penicillium tardochrysogenum* :

سميت *P. tardochrysogenum* نسبه إلى تشابهها مع *P. chrysogenum* إلا أن معدل النمو البطيء، تكون أبواغ كثيفة على الوسط Czapek yeast agar، تكون مستعمرات مخملية إلى صوفية المظهر ،تتميز بظهور اخاديد sulcate متحدة المركز ، المايسيليوم أبيض اللون والابواغ ذات لون رمادي مخضر مع وجود افرازات شفافة ذات لون بني شاحب ،لا تلون الوسط الزرعي ،ظهر المستعمرة بني اللون ، وهذه المواصفات تختلف باختلاف الوسط الزرعي، سجل في البنك الجيني العالمي تحت رقم تسلسلي MycoBank MB801877 باسم *Penicillium tardochrysogenum* Frisvad Houbraken & Samson, sp. Nov (Houbraken, *et al*., 2011) ، وذكر نفس المصدر أن الصفات التي تميز النوع *P.tardochrysogenum* عن *P. chrysogenum* هو نموها المحدد مع مظهر صوفي على الوسط الزرعي malt extract agar ، ولا تنتج أبواغا على الوسط yeast extract sucrose agar ، فقط كونيديات صغيرة خشنة ، ولا تنتج صبغة صفراء على الوسط Czapek yeast agar عند الحضن بدرجة حرارة 30 م^{o}، وهذا النوع ينتج السم الفطري asperentins والذي لاينتجه *chrysogenum* والسلالات التابعة له (Frisvad, *et al*., 2004).ويعد من الفطريات الانتهازية التي تصيب الانسان (Gonçalves, *et al*., 2017) ، ولم يتم تسجيله في العراق بحسب ما تم مراجعته في الموسوعة العربية للفطريات وأمراض النبات (Al-Hamdany ,2019 2018,2017,2016).

3-2 النانوتكنلوجي Nanotechnology

النانو يعني نانوس القزم باللغة الاغريقية ، وتقنية النانو تعني تقنية المواد متناهية الصغر أو التكنولوجيا المجهرية الدقيقة، وعلم النانو هو دراسة المبادئ الأساسية للجزيئات والمركبات والتي يتراوح قياسها بين الـ1- 100 نانومتر، والنانو مترهي وحدة قياس تساوي10^{10} ميلليمتر أو10^{9} متر،و مبدأ هذه التقنية يعتمد على التقاط الذرات المتناهية في الصغر لأي مادة والتلاعب بها وتحريكها من مواضعها الأصلية إلى مواضع أخرى ثم دمجها مع ذرات لمواد أخرى لتكوين شبكة بلورية ذات ابعاد مميزة ذات اداء عالي(Ganguly and Mukhopadhayay, 2011) .

تتنوع المادة النانوية تبعا للمصدر ونسب مكوناتها كأن تكون عضوية طبيعية أو غير عضوية مصنعة ، ولها خواص فيزياوية وكيمياوية فريدة ، كما تختلف خواصها تبعا لحجم وشكل وتركيب وتجمع وتوزيع وبعد حركة الالكترونات باتجاه واحد أو باتجاهين (الاسكندراني، 2010). وتتخذ المواد النانوية اشكالا متعددة فمنها: النقاط الكمية Quantum Dots (Chan and Nie 1998) والـ الفولورين Fullerene (Chen and Elimelech, 2006) والكرات النانوية Nano balls (Lee, *et al*., 2013) و الجسيمات النانويةNanoparticles (Kim, *et al*., 2007) و الأنابيب النانوية Nanotube (Ohashi, 2015) و الألياف النانوية Nano fibers (Iwamoto, *et al*., 2007) و الأسلاك النانوية Nano wires (Nozik, 2010) واخيرا المركبات النانوية Nanocomposites (Padua, *et al*., 2012). وذكر الاسكندراني ،(2010)، إن المواد النانوية أما أن تكون أحادية الابعاد : وهي تلك المواد التي يقل قياس أحد ابعادها عن 100 نانوميتر ومن الأمثلة عليها الاغشية والرقائق مثل المواد النانوية المستخدمة في اعمال طلاء الاسطح، أو تكون ثنائية الابعاد : وهي تلك المواد التي يقل قياس بعدين فيها عن 100 نانوميتر ومن الأمثلة عليها الأنابيب والاسطوانات النانوية مثل انابيب الكاربون النانوي والالياف النانوية ، واخيرا المواد النانوية ثلاثية الأبعاد : وهي تلك المواد التي يقل قياسات ابعادها عن 100 نانوميتر مثل الكريات النانوية ومنها مساحيق الفلزات والمواد السيراميك فائقة النعومة . ويختلف حجم الجسيمات النانوية تبعا للكائنات المستهدفة ، فمثلا في حالة البكتريا *E. coli* كانت الجسيمات النانوية تتراوح بين (67.8–14.2) nm بمعدل 33.6 nm (Neihaya and Zaman, 2018) .

2-3-1-تطبيقات النانوتكنولوجي :

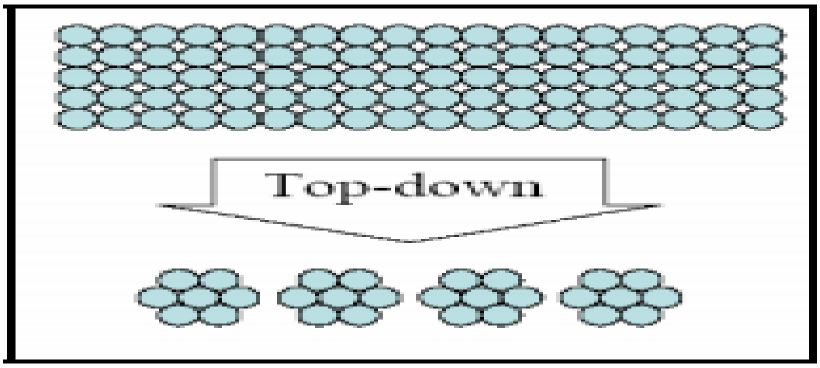
من اهم التطبيقات الحديثة لعلم النانو هو في المجال الطبي ويعد نقل العلاج الدوائي باستخدام هذه التقنية وفي علاج الامراض الخطرة كالسرطانات و يمكنها الوصول إلى المكان المطلوب للعلاج بسبب صغر حجمها وزيادة مساحتها السطحية (Nakamura, *et al*., 2016) . استخدمت التقنية في تثبيط

البكتريا في المنسوجات والأوعية المستخدمة في المستشفيات (Fouda, 2012). كما استخدمت الفضة النانوية في عمليات القسطرة لتجنب الاصابة بالأحياء المجهرية وخاصة *E. coli* في غرف العمليات (Samuel and Guggenbichler, 2004). استخدمت التقنية في تطوير الصناعة وتنظيف البيئة من المخلفات صعبة التحلل ، حيث تم الحصول على ألياف السليلوز النانوية من مخلفات نبات الباميا Okra fibre (Rahman, *et al.* ,2018) . كما استخدمت المخلفات السيليلوزية كمصدر للطاقة من خلال تحويلها إلى سيليلوز نانوي بديلا عن الوقود التقليدي (Brinchi, *et al.*, 2013). واستخدمت الرقائق نانوكومبوسيت Nanocomposite لغرض تغليف المواد الغذائية بطريقة امنة ومنع نمو الاحياء المجهرية فيها بعد ان اجريت اليها اختبارات متعددة كتحملها إلى درجات الحرارة الواطئة والعالية وإلى درجات مختلفة من الإضاءة (Fadeyibi, *et al.*, 2019). إن الخاصية المميزة جسيمات النانوية هي ما تمتلكه من قابلية التضاد المايكروبي بسبب امتلاكها للمساحة السطحية العالية مقارنة بالحجم، وثبتت فعاليتها في القضاء على الكثير من المسببات المرضية (Tang and Lv, 2014)، وفضلا عن استخدامه في معالجة السلالات المقاومة للمضادات الحيوية فقد استخدمت الفضة النانوية والزنك النانوي لهذا الغرض (Seil and Webster, 2012). ودور تلك المركبات في القضاء على الفطريات التي تصيب الانسان كما استخدمت الفضة النانوية ضمن معاملات معالجة الجروح والحروق (Rai, *et al.* , 2009). واظهرت الفضة النانوية دورا مثبطا لكل من البكتريا والاعفان والطحالب (Kheybari, *et al.*, 2010) .

2-3-2 تقنيات انتاج المواد النانوية

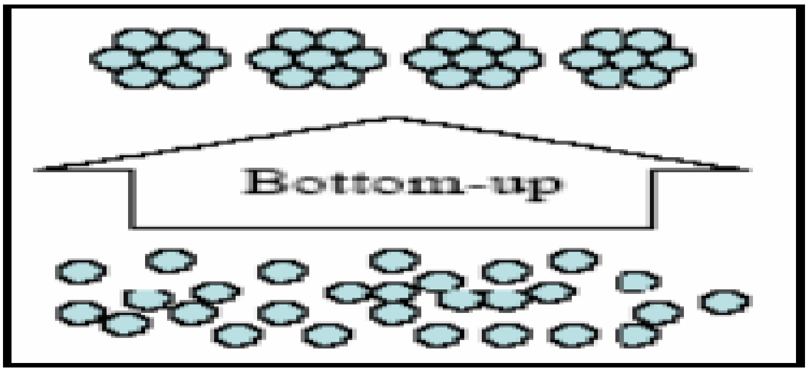
ذكر Fouda, (2012) ، بانه توجد طريقتان لتحويل المادة إلى مادة نانوية وهي :-

1- Top-down approach حيث تعتمد على تحويل القطعة الكبيرة للمعدن بعملية الطحن والسحق إلى جسيمات نانوية مع اضافة مواد تعمل على استقرار والتثبيت وبهذه الطريقة يمكن الحصول على جسيمات نانوية بحجم يصل بين 10-100nm.



شكل (A) يمثل عملية تحويل القطع الكبيرة الى جسيمات نانوية بفعل الطحن والسحق

2- Bottom-up approach هذه الطريقـــــــــة تعتمد على عملية التجميع ذرة مع ذرة او جزيئة مع جزيئة



شكل(B) يمثل عملية تجميع الذرات مع بعضها والجزيئات مع بعضها

ويمكن تطبيق هذه التقنيات بطرق ثلاث هي :-

1- الطريقة الفيزيائية Physical synthesis method :

يتم انتاج الجسيمات النانوية بطريقة التبخر-التكثيف ضمن ظروف الضغط ا لجوي ويستخدم لهذا الغرض فرن أنبوبي (Abou El-Nour *et al*., 2010).

2- الطريقة الأحيائية Biological synthesis method

تعتمد على مكونات من الكائنات الحية حيث تستخدم كعوامل مختزلة ومغلف للجسيمات النانوية على سبيل المثال الانزيمات ،الاحماض الامينية ، سكريات متعدد ، فيتامينات . و تكون صديقة للبيئة . (Zargar, *et al*., 2011).

3- الطريقة الكيميائية Chemical reduction method :

تعتمد على المواد املاح المعادن كمواد مختزلة وكذلك استعمال مثبتات ومغلفات ، وهي عادة ما تستخدم لتحضير محلول الفضة الغروي المستقر ، و يستخدم لهذا الغرض مثلا borohydride, citrate, and elemental hydrogen، (Landage, *et al*., 2014).

2-3-3 الفضة النانوية

تم أنتاج الفضة النانوية بالطريقة الكيميائية باستخدام مادة كيمياوية تعمل على استقرار الجسيمة النانوية وأخرى لها دور مختزل، فعند استخدام الاثلين كلايكول كعامل مختزل سوف تنتج جسيمات فضة نانوية غير منتظمة الشكل ، ويكون له فعالية تثبيطيه عالية ضد البكتريا مقارنة بالكلوكوز حيث يتكون محلول غروي حاوي على جسيمات الفضة نانوية ذات شكل كروي منتظم وتوزيع متجانس(Kheybari, *et al*., 2010) . لقد تم انتاج الفضة النانوية من قبل Mehdi وجماعته، (2018), باستخدام خمسة عوامل مختزلة هي ascorbic acid, sodium bicarbonate, glucose formaldehyde وzinc oxide في تثبيط نمو الفطر *Sclerotinia sclerotiorum* والتأثير على

بعض خواصه الفسلجية .واستخدمت الطرق الاحيائية في انتاج جسيمات الفضة النانوية من مستخلص قلف نبات الدارسين *Cinnamomum Zeylanicum* Bark و تكون الجسيمات الفضة النانوية بحجم 5-15nm عن طريق اختزال محلول الفضة المائي وتكوين الفضة بالطريقة الخارجية (Gauthami, *et al*., 2015). إن تأثير الفضة النانوية في بكتريا *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* تتأتى من تأثيرها على الجدار الخلوي وتحطيمه (Cho, *et al*., 2005) . كما وإن الفضة النانوية أدت الى انفصال الغشاء البلازمي عن الجدار الخلوي وتوقف تضاعف الـ DNA . وفقدان وظيفة البروتينات للبكتريا *E. coli* و *S. aureus* و انفصال الجدار الخلوي(Feng, *et al*., 2000). أيضا قدرة الفضة النانوية على التفاعل مع الكبريت والفسفور ومنع وصولها إلى الـDNA الضروري للعمليات الحيوية للخلية (Morones, *et al*., 2005) .

واثبتت الدراسة التي تقدم بها Mehdi وجماعته (2018) ، تأثير الفضة النانوية على الغزول الفطرية للفطر *Sclerotinia sclerotiorum* وكان هذا التأثير متمثلا بتشوهات الغزول الفطرية وانفصال الغشاء البلازمي عن الجدار الخلوي وحصول تجمع للبروتوبلازم وانكماش الخلية الفطرية، فضلا عن انحراف مجرى الجريان للمواد الغذائية للفطر والاسراع في تكوين بادئات الاجسام الحجرية. وحذر الباحث Sepulveda وجماعته (2011) ، الى ان الاستخدام المفرط من المنتجات التي تحوي على الفضة النانوية قد يؤدي الى اضرار في النظام البيئي نتيجة للسمية العالية للفضة .

4-3-2 –الزنك النانوي :

تم انتاج اوكسيد الزنك النانوي بالطريقة الكيمياوية في المختبر باستخدام خمسة عوامل مختزلة هي ascorbic acid, sodium bicarbonate, glucose formaldehyde وzinc oxide في تثبيط نمو الفطر *Sclerotinia sclerotiorum* والتأثير على بعض خواصه الفسلجية (Mehdi, *et al* . 2018,)، حيث لاحظ الباحثون تأثير هذا المركب على خلية الفطر من خلال تجمع المادة البروتوبلازمية وانفصال الغشاء البلازمي عن الجدار الخلوي وحصول انحراف في مجرى جريان المادة الغذائية وانكماش الخلية الفطرية وتحطمها فضلا عن زيادة تكون بادئات الأجسام الحجرية للفطر . وظهر الزنك النانوي تغيرا في شكل الغزول الفطرية للفطر *Fusarium graminearum* حيث ظهرت انحف وتميل إلى التجمع مع بعضها البعض ،و حصل فيها تحطم للجدار وظهر مزيد من الفجوات وسيولة السايتوبلازم وإن هنالك تثبيطا للنمو الفطري مقارنة لأكسيد الزنك العادي ، على الرغم من إن كلاهما حررت نفس المستويات من الزنك القابل للذوبان، مما يؤكد على أن سمية الزنك تعتمد على حجم الجسيمات فكلما كانت اصغر كانت اكثر تثبيطا وفعالية

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials And Methods

3- مواد وطرائق العمل Materials and Methods

3-1 الأجهزة و المواد المستخدمة:

3-1-1 الاجهزة المستخدمة:-

الجدول (3-1): الاجهزة والادوات المختبرية المستخدمة في الدراسة مع الشركة المصنعة للجهاز

استخدام الاجهزة التالية والادوات المختبرية في الدراسة الحالية وفق الشركة المصنعة

ت	اسم الجهاز	الشركة المصنعة
1-	الفرن الكهربائي Electric oven	Memmert- Germany
2-	ميزان Balance	Sartorious- U.K.
3-	حاضنة Incubator	Binder- Germany
4-	مجهر مركب Compound microscope	Optika- Italy
5-	ميزان الكتروني حساس Sensitive electronic balance	Sartorius- Germany
6-	حجرة تلقيح Hood	Tianjin Taisite- China
7-	جهاز التعقيم البخاري (المؤصدة) Autoclave	HIR YAMA-HVE-50-England
8-	جهاز قياس الحموضة Ph meter	Philips- Holand
9-	جهاز تقطير الماء Distilled Water apparatus	DAIHAN Lab Tech-Korea

Concord – Lebanon	Refrigerator ثلاجة	-10
Canon – Japan	Digital Cameraكاميرا رقمية	-11
Bionerr-Korea	Vortexالمازج الكهربائي	-12
Iraq	Magnetic stirrer محرك مغناطيسي	-13
Iraq	Benzene burner مصباح غا ز	-14
Yangyi	Vacuum Pumpمفرغ هوائي	-15
India	Cork borer ثاقب فليني	-16
India	Stander wirel loopالناقل الزرعي القياسي	-17

3-1-2- المواد الكيميائية والاوساط الزرعية المستخدمة:-

الجدول(3-2): المواد الكيميائية - الشركة المصنعة

استخدام المواد الكيميائية التالية في الدراسة

المنشأ - الشركة المصنعة	المادة	ت
BDH-England	Carboxy methyl cellulose كاربوكسي مثيل سليلوز	-1
BDH-England	Sucrose سكروز	-2
Himedia – India	Agar – agar اكار - اكار	-3
Himedia – India	PDA وسط اكار البطاطا والدكستروز	-4
Himedia – India	Malt extract agar وسط مستخلص الشعير	-5
Himedia – India	Sabouraud agar اكار وسط السابرويد	-6
Himedia – India	Water agar اكار الماء	-7
Iraq- Samara	Amoxicillinالمضاد الحيوي	-8
Fluka – Swiss	صبغة اللاكتوفينو ل ازرق القطن Lactophenol cotton blue stain	-9
HIMEDIA-India	Pepton البيتون	-10

-11	الكلوراكس	تجاري
-12	النشا Starch	تجاري
-13	اليود	Fluka(Switzerland)
-14	فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين(KH_2PO_4)	BDH(England)
-15	فوسفات البوتاسيوم احادية الهيدروجين(K_2HPO_4)	BDH(England)
-16	كلوريد الكالسيوم $CaCl_2$	BDH(England)
-17	كلوريد البوتاسيوم Potassium chloride	BDH(England)
-18	كبريتات الحديد المائيةFerrous sulfate 7H2O	BDH-England
-19	نترات الصوديومSodium nitrate	BDH-England
-20	حامض الخليك Acetic acid	BHD-England
-21	هيدروكسيد الصوديومSodium Hydroxide %40	BHD-England
-22	ايثانول Ethanol %70	Fluka – Swiss
-23	الفضة النانوية $(C_6H_9ON)n$ (Ag) Nanoparticles	Chinaتجاري
-24	الزنك النانوي Zinc Nanoparticles	USA تجاري
-25	ثنائي مثيل السلفوكسيد DMSO	تجاري
-26	مثيل هيدروكسي اثيل سليلوز MH6000	Tylose تجاري

3-1-2 مواصفات المواد النانوية

جدول(3-3): مواصفات الفضة النانوية (Ag)Nanoparticles حسب الشركة المجهزة

HONGWUEWMA TERIA

Product Origin	morphology	purity	Pratic al size	Stook	Appearanc e
China	Sherical (c6h9oN)n Surfactant	99.99 %	20nm	A110	Black powder
اسم الشركة HONGWUEWMA TERIAL					
hwnano @xuzhounano.com					

جدول (3-4): مواصفات الزنك النانوي Zinc Nano powder حسب الشركة المجهزة NANOSHET

Product Origin	BET specific surface area	purity	Pratical size	Stook	Appearance
USA	30-50 m^2/g	99.99%	30-60nm (metal Basis)	NS630-01-194 CAS:7440-66-6	Grey powder
اسم الشركة NANOSHET					
WWW.nanoshel.com,sales@nanoshel.com					

3-1-4 المواد والعدد المستخدمة في تفاعل البلمرة المتسلسل

Material and kits used in Polymerase Chain Reaction عدة استخلاص

ال DNA : DNA Kit A extraction

جدول(3-5) عدة استخلاص ال DNA

ت	المادة	الشركة المصنعة	المنشأ
1-	Cell lysis solution (AP1)	Qiagen	Germany
2-	Proteins and Carbohydrate rempval buffer (P3)		
3-	(Paurifiction buffers (AW)		
4-	Elution buffer (TE)		

3-2 الاوساط الزرعية:-

3-2-1-وسط اكار السابرويد دكستروز Sabouraud's Dextrose Agar Medium:

حُضر الوسط حسب تعليمات الشركة المجهزة وذلك بأذبة 65غم في 1000 مل من الماء وضبط pH= 6.5 .

3-2-2- وسط الزابك Czapex Agar (CA)

حضر الوسط بحسب تعليمات الشركة المجهزة الذي تضمن المواد الاتية:-

(1g K_2HPO_4, 0.5g KCl , 2g $NaNO_3$, 0.5g $MgSO_4.7H_2O$, 0.05g $FeSO_4.7H_2O$, 20g Sucrose, 18g Agar) ،اضيفت الى1000 مل من الماء المقطر.

3-2-3 -سط Water Agar

حُضر الوسط حسب تعليمات الشركة المجهزة وذلك بأذبة 20 غم من الاكار في 1000 مل من الماء المقطر.

3-2-4- وسط اكار مستخلص البطاطا والدكستروز Potato Dextrose Agar(PDA)

حضر وسط (PDA) بحسب تعليمات الشركة المجهزة وذلك بأذبة 39 غم من مسحوق الوسط في 1000 مل من الماء المقطر .

3-2-5- وسط اكار خلاصة الشعير Extract Agar Medium Malt

حُضر الوسط حسب تعليمات الشركة المجهزة وذلك بأذبة 50غم وسط اكار خلاصة الشعير في 1000 مل من ماء المقطر.

3-2-6- وسط أكار- السيليلوز Cellulose Agar

تم تحضير الوسط بحسب طريقة Baat & Sodarstrow (1980) التي تضمنت المواد الاتية:-

2 غم $NaNO_3$ ،1 غم $(NH_4)2SO_4$ ،1 غم KH_2PO_4 ، 0.5غم $MgSO_4.7H_2O$ ، 0.5 غم KCl 0.05, غم $CaCl_2$ ،0.01غم $FeSO_4.7H_2O$ ،0.01غم $CaSO_4.5H_2O$ ، 0.005غم $MnSO_4.4H_2O$ ، 0.001غم ZnSO4.7H2O ، 15 غم Agar . ذوبت المكونات في 1000مل ماء مقطر وأضيف إلى الوسط 5 غم سيليلوز نقي معامل بحامض الاورثوفوسفوريك(85 %)استخدم الوسط للكشف عن قابلية الفطريات على إنتاج انزيم السيليوليز،(Tansey , 1971) .

3-2-7- وسط أكار الحليب المقشود Skimmed – milk Agar

تم تحضير الوسط من اذابة 5 غم من الحليب المقشود Skim –milk في 50 مل ماء مقطر ، ذوب 10 غم من الأكار في 450 مل ماء مقطر في دورق أخر ، تم معادلة الرقم الهيدروجيني الى 7 ، عقم المحلولان كل على انفراد ثم بردا إلى درجة 45°م ثم مزجا معا, استخدم الوسط للكشف عن قابلية الفطريات على إنتاج انزيم البروتييز. Hankin and Anagnostakis .(,1975).

3-2-8- وسط- أكار النشأ Starch Agar

حضر الوسط حسب تعليمات الشركة المجهزة، وذلك بأذبة 15غم من النشأ و1غمK_2HPO_4 و0.5 غم من $MgSO_47H_2O$ و15غم من الأكار في 1000ملمن الماء المقطر.

3-2-9- وسط Tween 80 Agar

تم تحضير هذا الوسط حسب طريقة Slifkin ,(2000)المتكونة من المواد التالية (10غم ببتون و 5غم NaCl و 0.1غم Cacl2) في 1000مل من الماء المقطر واضيف 5مل من التوين 80 وضبط pH الى 8 .6 . استخدم الوسط لغرض التحري عن قابلية والخمائر والفطريات على انتاج انزيم اللايبيز.

جميع الاوساط الزرعية الانفة الذكر اضيف إليها المضاد الحيويAmoxicillin بتركيز 100 ملغم/ لتر، عقم با لموصده بدرجة حرارة121مْ وتحت ضغط 1.5 جو ولمدة15 دقيقة.

3-3 المحاليل والكواشف المستخدمة:

3-3-1- محلول اليود Iodine solution :-

حضر بإذابة1غم من اليود في 100 مل من الماء المقطر.(Pandey *et.al*,2006) .

3-3-2- محلول ا لكازائين (0.5 %).

حضر حسب طريقة Muthulakshmi وجماعته ، (2011) وذلك من اذابة 0.5 غم من الكازائين في 90 مل من محلول الفوسفات الدارىء بتركيز 0.2M و سخن بدرجة 80°م لحين ذوبان الكازائين عدل الاس الهيدروجيني الى6 بإضافة بضع قطرات من محلولNaOH بتركيز0.5Mوأكمل الحجم إلى 100 مل وأستخدم المحلول لتقدير فعالية انزيم البروتييز .

3-3-3- محلول يود حامض الهيدروكلوريك Iodine Solution. HCL

حضر المحلول بمزج 100 مل من الحامض (0.1HCL) و 500 مل من (1%) I + KI (2%) بدلالة وزن /حجم ، نقل و حفظ المحلول في قنينة معتمة (Yeoh, *et al* .,1985).

3-3-4- محلول ا لسيليلوز النقي .

حضر بإضافة 15غم من السيليلوز النقي إلى 200 مل من حامض الأورثوفوسفوريك85 % ، وأضيف الحامض بالتدريج مع التحريك المستمر لمنع حصول التكتلات ،ترك المزيج مدة ساعتين ثم أضيف إليه ماء مقطر مع التحريك ثم رشح الخليط من خلال ثلاث طبقات شاش فوق ورقتي ترشيح بواسطة مضخة تفريغ (Vaccum). أعيدت عملية الغسل عدة مرات ثم أضيف 500مل من 2 % NaCO3 ومزج الخليط جيداً وترك مدة 24 ساعة في الثلاجة ثم غسل بالماء المقطر حتى وصل .الى7= pH .(Tansey 1971).

3-3-5- محلول هيدروكسيد الصوديوم NaOH بتركيز (0.5M)

ذوب 20 غم من NaOH في 1000مل من الماء المقطر .

3-3-6- محلول حامض الهيدروكلوريك (HCl) (5) عياري

استخدم لتعديل الأس الهيدروجيني (pH) للأوساط المستخدمة.

3-3-7 محلول يوديد البوتاسيوم KI

حضر بحسب طريقة McGraw-Hill وجماعته (1951) المذكورة في Hankin و Anagnostakis,(1975) المذكورة في من مزج (3 I غم/ لتر +5 K غم /لتر) ويستخدم للكشف على قابلية الفطريات على افراز انزيم الاميليز .

3-3-8 تحضير التراكيز المختلفة للفضة والزنك النانوي Preparation of silver& zinc nanoparticls concentration

بعد اجراء عدد من التجارب الأولية في تحضير تراكيز من المادة النانوية تم اختيار طريقة اضافة المادة المذيبة Dimethyl sulfoxide DMSO $(CH3)_2SO$. الى وسط PDA وتم التوصل الى التراكيز التجريبية المطلوبة وكما يلي :

1- تم اخذ 10 مل من ثنائي مثيل السلفوكسيد(DMSO) لكل 2.5 ملغم من المادة النانوية ووضعها على المسخن الحراري والمازج المغناطيسي Magnetic stirrer ولمدة 120 دقيقة اعتبر المحلول stock solution من المادة النانوية . وتم تحضير الـ control حسب الفقرة(3-2-4)بدون اضافة المادة النانوية .

2. تم تحضير التراكيز مختلفة من المادة النانوية(الفضة والزنك النانوي) من محلول stock solution : 5 ،10 ،15 ،20 ،25ملغم/لتر فضلا عن معاملة السيطرة control .

3. وقبل ان يتصلب الوسط تم صبها في اطباق بتري لغرض دراسة تأثير المركبات النانوية .

3 - 4:جمع وعزل الفطريات

تم جمع العينات من 50 مخطوطة من المخطوطات القديمة والمحفوظة في مركز صيانة وترميم المخطوطات التابعة للعتبة الحسينة في كربلاء المقدسة، وبشكل عشوائي للمدة من 2018/11/20 الى 2019/1/20 ، وذلك باستخدام عيدان قطنية معقمة مخصصة لأخذ مسحات بطريقة (Swab)، تمثلت أماكن أخذ العينات من المخطوطات من ثلاثة مواقع هي بداية ووسط ونهاية المخطوطة ، ووضعت في أنابيب معقمة مغلقة ونقلت إلى المختبر (الوائلي ،2018).

تمت الزراعة بقطع راس العيدان وزرعها في وسط أطباق بتري حاوية على الوسط Sabouraud's Dextrose Agar (SDA) و المضاف اليه المضاد الحيوي Amoxicillin بتركيز 100 ملغم/ لتر . وتم حضنها في بدرجة حرارة 28 م^0 لمدة 5 -7 أيام .

تم فحص الأطباق ، لغرض حساب المستعمرات النامية على وسط SDA. ثم تنقية الأنواع الفطرية على SDA وحضنت في 28 م^0 ، لمدة 7-5 أيام للحصول على مستعمرات نقية.

تم إعادة زراعة الفطريات في وسط Czapex Dox Agar و Potato Dextrose Agar. لغرض تشخيص الفطريات المعزولة.

3-4-1- -تشخيص الفطريات بالطريقة التقليدية Traditional identification :-

شخصت الفطريات وفقًا للخصائص المورفولوجية والمجهرية المسجلة في المفاتيح التصنيفية (Ellis ,1971 ;Barnett and Bary ,1972;Pitt and Hoching, 1997 and Moubasher ,1993)

3-4-2-تشخيص الفطريات بالطريقة الجزيئية Molecular identification

3-4-2-1- استخلاص وتنقية ال DNA extraction and purification DNA :

1-استخلاص الحامض النووي منقوص الاوكسجين (DNA) و تقدير تركيز و نقاوة مستخلص الحامض النووي DNA.

2-استخلص الحامض النووي (DNA) باستخدام Cat العدة التجاريةDNeasy Plant Kits المجهزة من شركةQIAGEN الألمانية ومن خلال اتباع الخطوات الموصوفة في التميمي ، (2019) وكالاتي:

A . جمعت150-200ملغم من المستعمرة النقية للفطر المعزول بعمر10أيام ونقلت الى أنبوب اختبار. (Eppendrof tube) معقم سعة 1.5مل واضيف اليه 400 مايكروليتر من المحلول الدارئ AP1، وتم تحطيم جدار الخلايا الفطرية بسحق العينة باستخدام المدقة البلاستيكية الصغيرة(Micropestle) المعقمة، والتأكد من سحق العينة بصور جيدة رج العينة مرات عديدة باستخدام جهاز الهزاز(Vortex).

B . تم حضن الأنبوبة الحاوية على الخليط في حمام مائي بدرجة حرارة 65م° لمدة10دقائق وتم رج الأنبوبة يدويا2- 4 مرات اثناء مدة الحضن الغرض منها تحليل الخلايا الفطرية.

C. أضيف 130ميكرولتر من المحلول الدارئ P3 إلى الانبوبة الحاوية على الخليط ثم مزجت المحتويات بصورة جيدة باستخدام جهاز الهزاز وحضنت بعدها لمدة 5 دقائق على الثلج. الغاية من هذه الخطوة ترسيب المنظفات الخاصة بالمحاليل الدارئ والسكريات و البروتينات المتعددة الخاصة بالفطر.

D. بعد اجراء عملية الطرد المركزي للأنبوبة بسرعة 14000 دورة/دقيقة لمدة 5 دقائق ثم نقل المحلول الطافي إلى أنبوبة نوع Mini spin column QIAshredder ذات اللون الارجواني

التي تحوي على مرشح خاص ومن ثم اجريت العملية مرة اخرى في بنفس السرعة أعلاه ولكن لمدة دقيتين. ويعمل مرشح هذه الأنبوبة على إزالة معظم الرواسب وحطام الخلايا الفطرية.

E . نقل الراشح إلى أنبوب اختبار جديدة معقمة سعة 2 مل واضيف اليه 700ميكرولتر من المحلول الدارئ AW1 واستخدمت مباشرة ماصة صغيرة لمزج المحتويات.

F. وبواسطة الماصة الصغيرة نقل 650 ميكرولتر من الخليط الى انبوبة نوع DNeasy Mini spin column ذات الون الأبيض والتي تحوي أيضا على مرشح خاص لغرض تنقية الDNA تم اجراء عملية طرد مركزي للأنبوبة بسرعة 8000 دورة / دقيقة لمدة دقيقة واحدة ،تم التخلص بعدها من الراشح والى نفس الانبوبة نقل المتبقي من الخليط وأجريت عملية طرد مركزي بنفس السرعة والمدة الزمنية اعلاه مع التخلص من الراشح أيضا.

G . أضيف 500 ميكرولتر من المحلول الدارئ AW2الى نفس الانبوبة أعلاه مع أجراء عملية طرد مركزي لها بسرعة 8000 دورة / دقيقة لمدة دقيقة واحدة والغاية منها هو التخلص من الراشح ثم اضيف مرة أ خرى لنفس الانبوبة 500 ميكرولتر من المحلول الدارئ AW2 وأجريت لها عملية طرد مركزي ولكن بسرعة 14000دورة/دقيقة لمدة دقيقتين و تم التخلص من الراشح أيضا. أن الغرض من هذه الخطوة هو لتنقية الDNA العالق بالمرشح.

H. وضعت الانبوبةDNeasy Mini spin column بداخل انبوبة اختبار معقمة سعة 2 مل وأضيف الى غشاء مرشح الانبوبة مباشرة 100 ميكرولتر من المحلول الدارئ ET وحضنت بعدها الانبوبة لمدة 5 دقائق بدرجة حرارة الغرفة للحصول على الراشح الذي يحتوي على الDNA الكلي ثم أجريت عملية طرد مركزي بسرعة 8000 دورة / دقيقة لمدة دقيقة واحدة. إن الغرض من هذه الخطوة هو إزالة الDNA العالق بغشاء مرشح الانبوبة ليكون مع الراشح.

I. حفظت الانبوبة الحاوية على الDNA الكلي في درجة حرارة 20 م° لحين الاستخدام .

3-4-2-2-تحديد تسلسل القواعد النيتروجينية وتحليل المعلوماتية الحيوية:-

1. تم ارسال العينات الى شركة Macrogen في كوريا الجنوبية لغرض تحديد تسلسل القواعد النيتروجينية .
2. استخدمت البادئاتITS1 and ITS4 في المضاعفة الكاملة لمنطقة ribosomal internal transcribed spacer (ITS)region المهمة في تشخيص الفطريات .
3. تم تسجيل الفطريات المشخصة في البنك الجيني العالمي .
4. تحديد الشجرة الوراثية للفطريات المعزولة باستخدم برنامج Chromas ، لغرض معرفة التشابه بين الفطريات المكتشفة و الفطريات المسجلة عالميا حيث تم تحديد الشجرة الوراثية للفطريات المعزولة من المخطوطات بتتابع القواعد النايتروجينية (Nucleotide sequence) لحزم

الحامض النووي المضاعفة بالاستعانة ببرنامج (Basic Local Alignment Search Tool BLAST) التابع لموقع المركز الوطني لمعلومات التقانة الحيوية (NCBI) National Center for Biotechnology Information.

3-4-3- التقدير الكمي والنوعي للفطريات المعزولة من المخطوطات

تم حساب ما يأتي : بحسب طريقة Booth وجماعته (2015)

1 - العدد الكلي للعزلات والأنواع الفطرية المعزولة لكل مخطوطة

2 - النسبة المئوية للتردد وحسبت من القانون الآتي :

$$\text{Frequency } \% = \frac{\text{عدد عزلات الجنس الواحد}}{\text{العدد الكلي لجميع لعزلات}} \times 100\%$$

3-النسبة المئوية للظهور وحسبت من القانون الآتي :-

$$\% \text{ Occurrence} = \frac{\text{عدد العينات التي ظهر فيها الجنس أو النوع}}{\text{العدد الكلي للعينات خلال الدراسة}} \times 100\%$$

4- دليل كثافة التوزيع Distribution Intensity Index (DII)

يحسب دليل كثافة التوزيع لجميع الفطريات المعزولة من القانون الآتي : -

$$DII = \% \text{ occurrence} \times \sqrt{\% \text{Frequency}}$$

4-4-3 **الكشف عن الفطريات المحللة** :-

لغرض معرفة أثار الفطريات واضرارها على المخطوطات تم الكشف عن الفطريات المحللة لمواد المخطوطات . استخدمت ثلاثة مكررات لكل نوع من الفطريات ولكل انزيم ،فضلا عن معاملة السيطرة Control.تم تلقيح وسط الأطباق لكل المعاملات بقرص قطره 5ملم من مزرعة فطرية نقية منماة على وسط PDA وبعمر ثلاثة ايام بدرجة حرارة 27 ±2 م^0.

1-4-4-3- تحلل السيليلوز Cellulose :-

لقح وسط آ كار – السيليلوز المحضر بحسب الفقرة(3-2-6) . تم الكشف عن تحلل السيليلوز باستخدام الكاشف HCl – Iodine والمحضر في الفقرة (3 -3-3) . أضيف الكاشف الى الطبق وترك لمدة 5 دقائق ، ثم سكب المحلول وترك الطبق مدة 10 دقائق . لوحظ ظهور هالة

شفافة حول المستعمرات الفطرية دلالة على تحول السيليلوز الى سكريات بسيطة بفعل أنزيم السيلوليز، (Yoeh, *et al.*, 1985).

2-4-4-3 – تحلل البروتين Protein:-

استخدم وسط أكار – الحليب المقشود Skimmed – milk Agar والمحضر بالطريقة (3-2-7) .تم الكشف عن تحلل البروتين (الكازائين في الحليب المحضر في الفقرة 3-2-2) عند ظهور هالة شفافة حول المستعمرات الفطرية ،و يعد قطر الهالة دالة لنشاط الفطر في إنتاج الأنزيم حيث كلما زاد قطر الهالة زاد نشاط الانزيمي للفطر (Hankin and Anagnostakis 1975).

3-4-4-3- تحلل النشا Starch:-

لقح وسط آكار النشأ المحضر بحسب الفقرة (3-2-8) .كشف عن تحلل النشأ باستخدام كاشف اليود المحضر بالفقرة (3-3-1) . أضيف الكاشف الى الطبق و ترك لمدة 5 دقائق ثم سكب المحلول وترك الطبق مدة 5 دقائق لوحظ ظهور هالة شفافة حول المستعمرات الفطرية دلالة على أنتاج أنزيم الاميليز و يعد قطر الهالة يكون دالة لنشاط الفطر في إنتاج الأنزيم (Pandey, *et al.*, 2000).

4-4-4-3-تحلل الدهون Lipid:-

لقحت الاطباق الحاوية على الوسط الحاوي على المادة الاساس (البتون المدعم بـTween80) والمحضر حسب الفقرة (3-2-9) ، يتم ملاحظة تكون ترسبات بيضاء اللون حول المستعمرات أو من خلال ظهور هالة شفافة حول مستعمرة الفطر (Takó, *et al.*, 2012)).

5-4-3-تأثير المواد النانوية(الزنك النانوي والفضة النانوية) في الفطريات المعزولة :-

تم تحضير وسط Potato Dextrose Agar حسب الفقرة (3-2-4) بعد اجراء تحوير بالطريقة المذكورة ، وذلك باستبدال الماء المقطر بالتركيز المعين من المادة النانوية (الفضة النانوية والزنك النانوي كل على حدة)،(MIC) فضلا عن معاملة السيطرة بدون مادة نانوية (PDA) . صبت في اطباق بتري بلاستكية . لقحت الاطباق بقرص5 ملم من المستعمرة النقية النامية بعمر 3 ايام على درجة حرارة 26 ± 2 م^0 بثلاث مكررات. حضنت الاطباق في درجة حرارة 26 ± 2 م^0 وبعد حصول النمو كامل في الاطباق الخالية من المادة النانوية الـ Control . فحصت كل اطباق المعاملة وتم تسجيل ما يلي :-

1-5-4-3-التاثير على معدل قطر المستعمرات الفطرية(النسبة المئوية للتثبيط):-

1- تم حساب النسبة المئوية للتثبيط وفق المعادلة الواردة في Abbott، (1925)وهي:

نسبة التثبيط % = $\frac{\text{معدل نمو الفطر في المقارنة – معدل نمو الفطر في المعاملة}}{\text{معدل نمو الفطر في المقارنة}} \times 100$

2- دراسة الشكل المظهري للمستعمرات النامية بوجود المادة النانوية ومقارنتها بالسيطرة Control.

3-4-5-2-التاثير على الصفات المجهرية للفطريات

3-4-6- اختبار التركيز المثبط من المادة النانوية مع المادة المستخدمة في الترميم على المخطوطات

بعد معرفة التركيز الذي تم فيه تثبيط الفطريات تم تحضير مادة تستخدم في ترميم المخطوطات والذي يتم تحضيره من مثيل هيدروكسي اثيل سليلوز MH6000 اسمه التجاري Tyloseيحضر بنسبة 1% وبعد التحضير يتم اضافة تركيز المادة النانوية التي تم تثبيط الفطريات به وهو 25ملغم /لتر ، ومن ثم تم اطلاء ورق المخطوطات بهذه المادة المحضرة . وبعد 3 ايام ، تم اخذ مسحة من المخطوطة بواسطة اعواد القطنية معقمة (Swab) ومن ثم زراعتها بنفس الطريقة المذكورة في(3-4) على وسط PDA وسجلت البيانات اعتمادا على ظهور ونمو الفطر من عدمه .

3-5 :التحليل الاحصائي Statistical analysis

استخدم التصميم العشوائي الكامل(C.R.D) Complete Randomized Design كتصميم للتجارب واستخدم برنامج GenStat لتحليل البيانات والمقارنة بين المتوسطات باقل فرق معنوي 0.05 (L.S.D.) Least significant difference .

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

Results And dissection

4-النتائج والمناقشة Results and Discussion

4-1- جمع وعزل الفطريات المرافقة للمخطوطات :-

تم الحصول على 557 عزلة فطرية تم عزلها وتنقيتها من بداية ووسط ونهاية المخطوطة الجدول (1-4).

الجدول (1-4): عدد العزلات الفطرية ونسبها المئوية من بداية ووسط ونهاية المخطوطة على وسط PDAعلى درجة حرارة 26 ±2 ^{o}م لمدة 5 ايام

ت	مكان اخذ العينة من المخطوطة	عدد العزلات	النسبة المئوية للأعداد الكلية%
1	بداية	239	43.76
2	وسط	102	17.96
3	نهاية	216	37.96
المجموع		557	99.68

سجلت بداية المخطوطة أعلى نسبة للأعداد الفطرية 43.76% يليه نهاية المخطوطة بنسبة37.96% أما أدنى نسبة مئوية للأعداد الكلية فكانت لوسط المخطوطة حيث كانت 17.96% ، وقد يعود سبب هذه الاختلاف إلى طبيعة اغلفة المخطوطة التي تتكون من الجلد ويعد البروتين المكون الأساسي لها ، في حين وسط المخطوطة يتكون من الورق ، الذي بنيته الاساسية السيليلوز ،وعلى الرغم من ان السيليلوز يشكل الحجم الاكبر من المخطوطة الا أن الفطريات تجد صعوبة في تحليل المكونات السيليلوزية ، فضلا عن المواد الأخرى من أحبار والمواد اللاصقة وغيرها ، وما لها من اثر في تغيير الوسط الحامضي pH والرطوبة ، التي تعد من العوامل المحددة للفعالية الانزيمية مع درجات الحرارة المناسبة (Silva, *et al*., 2001).

4-2- تشخيص الفطريات

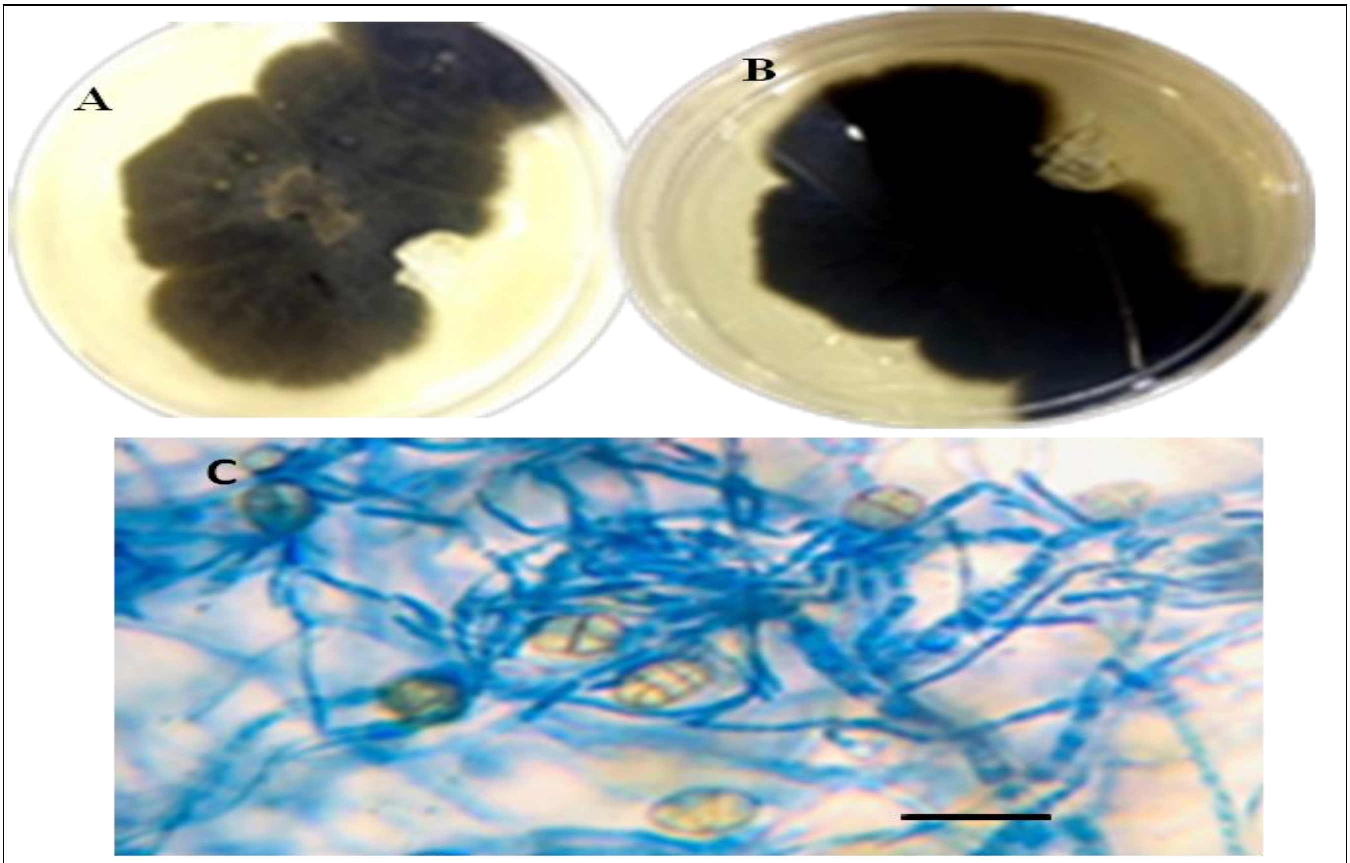
4-2-1- بالطريقة التقليدية Traditional identification :-

تم تشخيص الفطريات المعزولة من المخطوطات بالطريقة التقليدية وتبين انها تتمثل بسبعة انواع تعود الى ستة اجناس فطرية وهي : *Alternaria atra*, *Aspergillus ustus* , *Chaetomium globosum*, *Cladosporium exasperatum*, *Microdochium nivale*, 1-*Penicillium Tardochrysogenum* and 2- *Penicillium tardochrysogenum*. ، واظهرت انها

تسجل لأول مرة على المخطوطات، كما أنها تسجل لأول مرة في العراق بحسب ما تم نشره في الموسوعة العربية لأمراض النبات والفطريات (2016،2017،2018،2019)(Al-Hamdany (2016,2017,208,2019) .

وفيما يلي وصفا كاملا لكل نوع من الأنواع الفطرية وفقا للمفاتيح التصنيفية المعتمدة لكل نوع :

1- الفطر *Alternaria atra*:

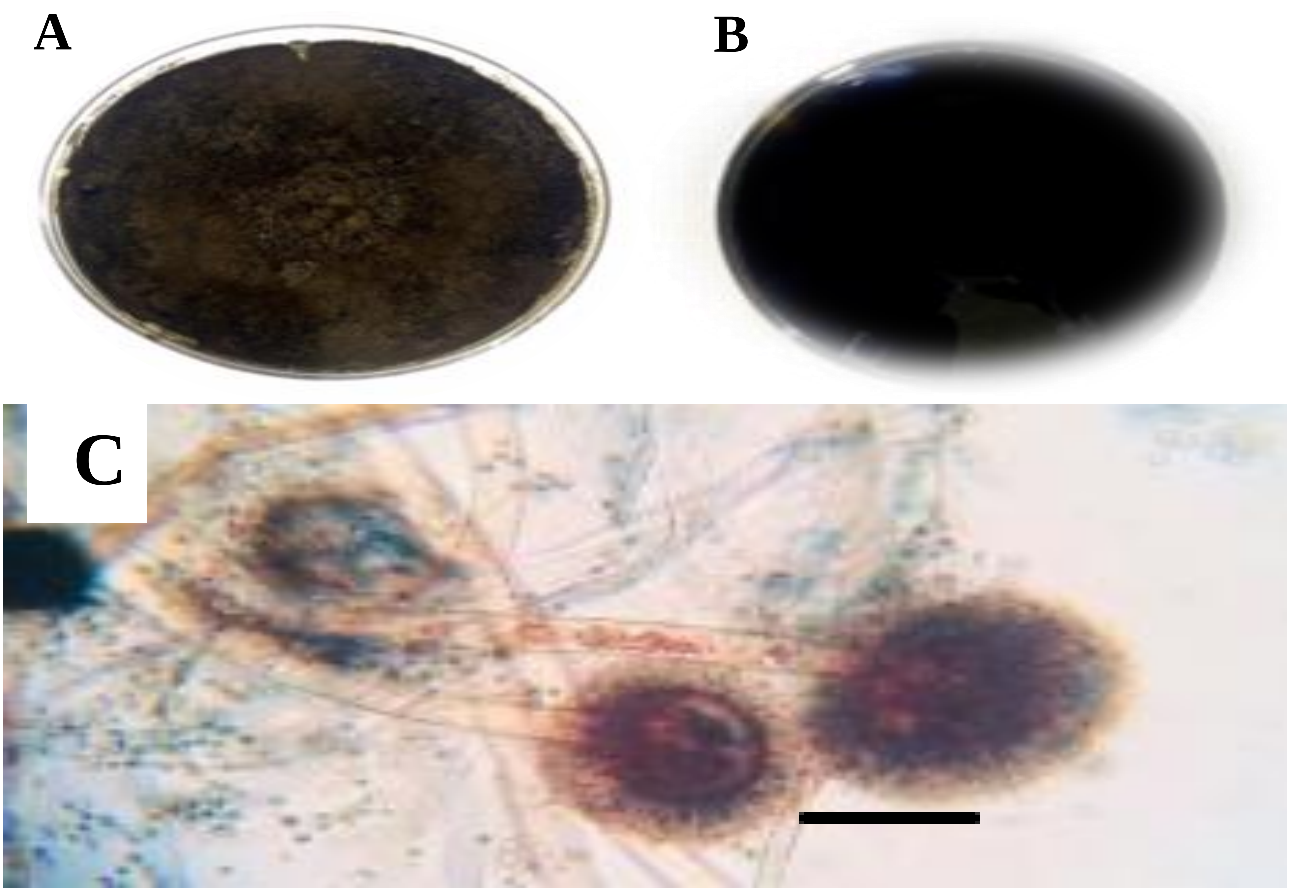


الشكل (4-1): *Alternaria atra* : (A) : الفطر بعمر خمسة ايام على وسط PDA بدرجة حرارة 26 ±2 م° . (B): ظهر الفطر . (C) :الفطر تحت المجهر يظهر الغزول الفطرية والكونيديا على قوة تكبير 40X. المقياس يمثل 20 ملي مايكرون .

تظهر المستعمرة الفطرية على وسط PDA في البداية بلون ابيض – رمادي ، وتتحول بسرعة إلى اللون الداكن ، تكون ملساءfluffy ، مع وجود دوائر متحدة المركز بلون البني الداكن . ظهر المستعمرة أسود اللون . ولا تظهر تجاعيد او اخاديد في المستعمرة على الوسط الزرعي (الشكل1- 4 A,B) . في الشكل(1-4: C) يظهر الفحص المجهري الغزول الفطرية كثيفة الحواجز و ذات جدران داكنة ، تنتج حوامل كونيديا Conidiophores مباشرة على الغزول الفطرية ، ويفصل بينهما حاجز ، وغالبا ما

ينتهي الحامل الكونيدي بخلية قدمية عند اتصال الكونيديا . يتم إنتاج االكونيديات مباشرةً على الحامل الكونيدي مع وجود حاجز. والكونيدية مفردة ،كبيرة وبنية وشبه بيضاوية (من 8 إلى 16 × 23–50 ميكرون) مع تقسيمات مستعرضة وطولية. في كثير من الأحيان. هذه الخصائص مشابهة لما وصفه Carmen ,(2017).

2-الفطر *Aspergillus ustus*:

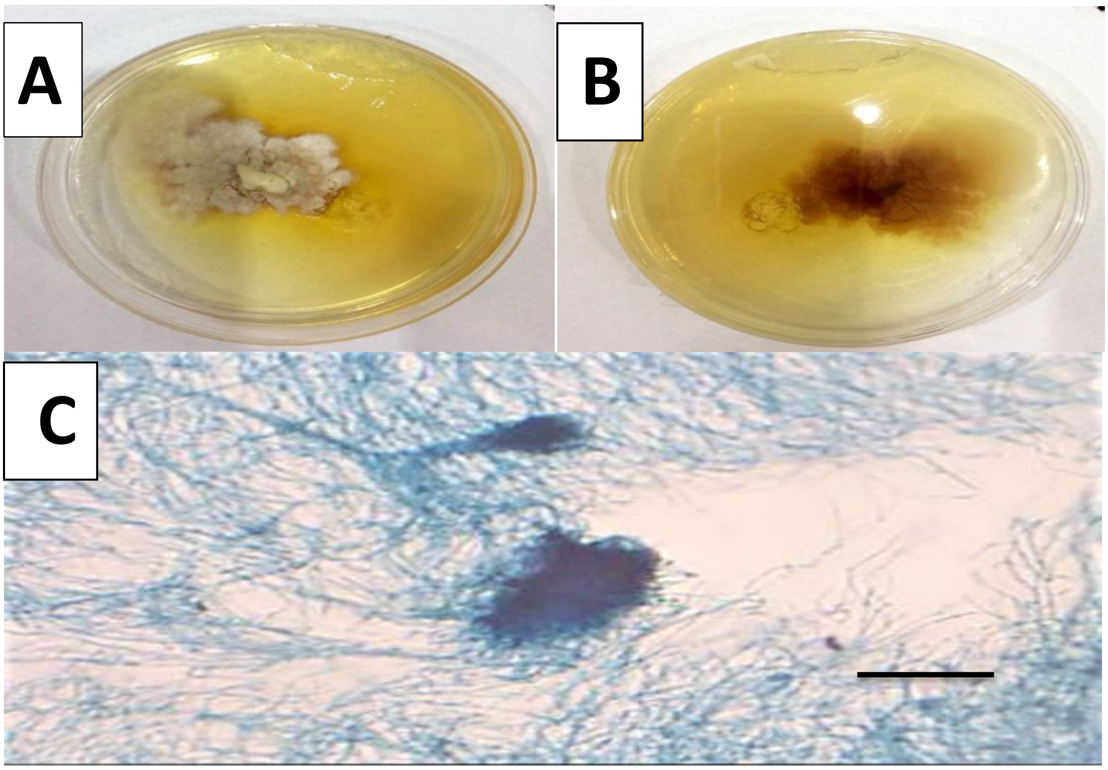


الشكل (2–4): *Aspergillus ustus*(A) :الفطر بعمر خمسة ايام على وسط PDA بدرجة حرارة 26 ±2 م° . (B): ظهر الفطر . (C) :الفطر تحت المجهر يظهر الغزول الفطرية و الحويصلة Visicle ،الكونيديا و phialides على قوة تكبير 40X . المقياس يمثل 20 ملي مايكرون .

تظهر المستعمرة الفطرية على وسط PDA في البداية بلون أبيض ، وتتحول بسرعة إلى اللون البني - الأسود ، مخملية like- velvet تنضج في 3-5 ايام ، تظهر دوائر متحدة المركز بنفس اللون . ظهر المستعمرة سوداء اللون ناعمة . ولا تظهر تجاعيد أو اخاديد في المستعمرات على الوسط الزرعي الشكل (2-4 A,B) . في الشكل(2-4: C) يظهر الفحص المجهري غزول فطرية ذات الحواجز و متفرعة ، تنتج حوامل كونيدية طويلة مباشرة على الغزول الفطرية من خلال خلية قدمية foot cell ،ينتهي الحامل الكونيدي بـVesicle كروية تحوي على صف واحد من الفياليد phialides ، تخرج

الكونيديا من الفياليد بشكل سلسلة ، والكونيديا كروية الشكل ذات سطح املس . هذه الخصائص مشابهة لما وصفه Carmen ,(2017) .

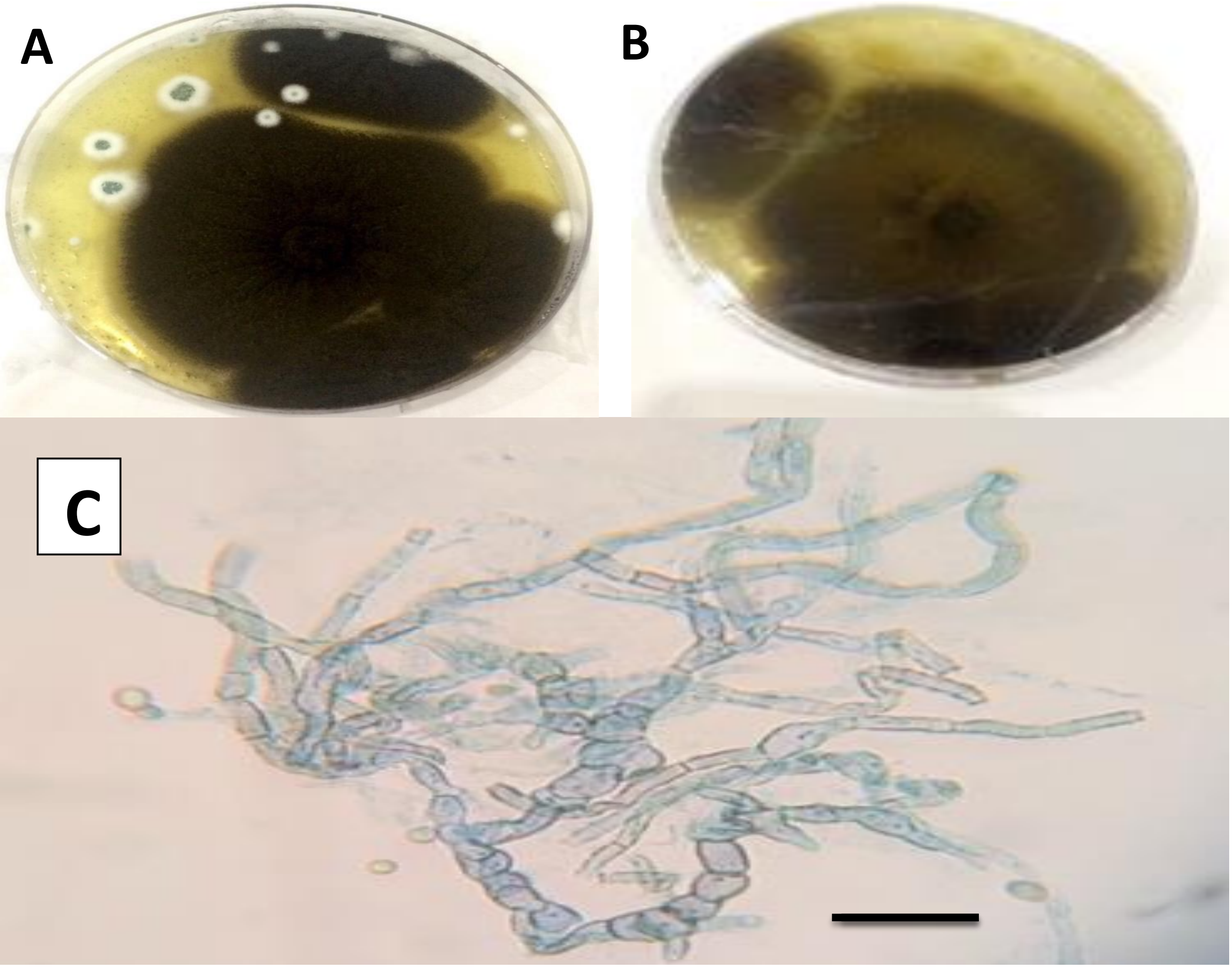
3- الفطر *Chaetomium globosum* :



الشكل (3-4): *Chaetomium globosum* :(A): الفطر بعمر خمسة ايام على وسط PDA بدرجة حرارة 26 ±2 م°. (B): ظهر الفطر . (C): الفطر تحت المجهر يظهر الغزول الفطرية والجسم الثمري على قوة تكبير 40X .المقياس يمثل 20 ملي مايكرون .

يتضح من الشكل (A,B:4-3)، أن المستعمرة بيضاء اللون وقطنية منتشرة cottony ، تصبح بيضاء عند التقدم بالعمر ، ظهر المستعمرة اصفر – برتقالي ، خالية من التجاعيد . يظهر في (C,D :4-3) الغزول الفطرية مقسمة ملونة متموجة المظهر ، يظهر الجسم الثمري الكبير قاروري الشكل perithecia (90–170 × 110–250 µm)،تشبه ثمرة الاناناس pineapple ، ويحاط الجسم الثمري بخيوط طويلة وتتجه في كل الاتجاهات ، ولا تشاهد الأكياس . هذه الصفات مشابهة لما ذكرها، (2017) Carmen .

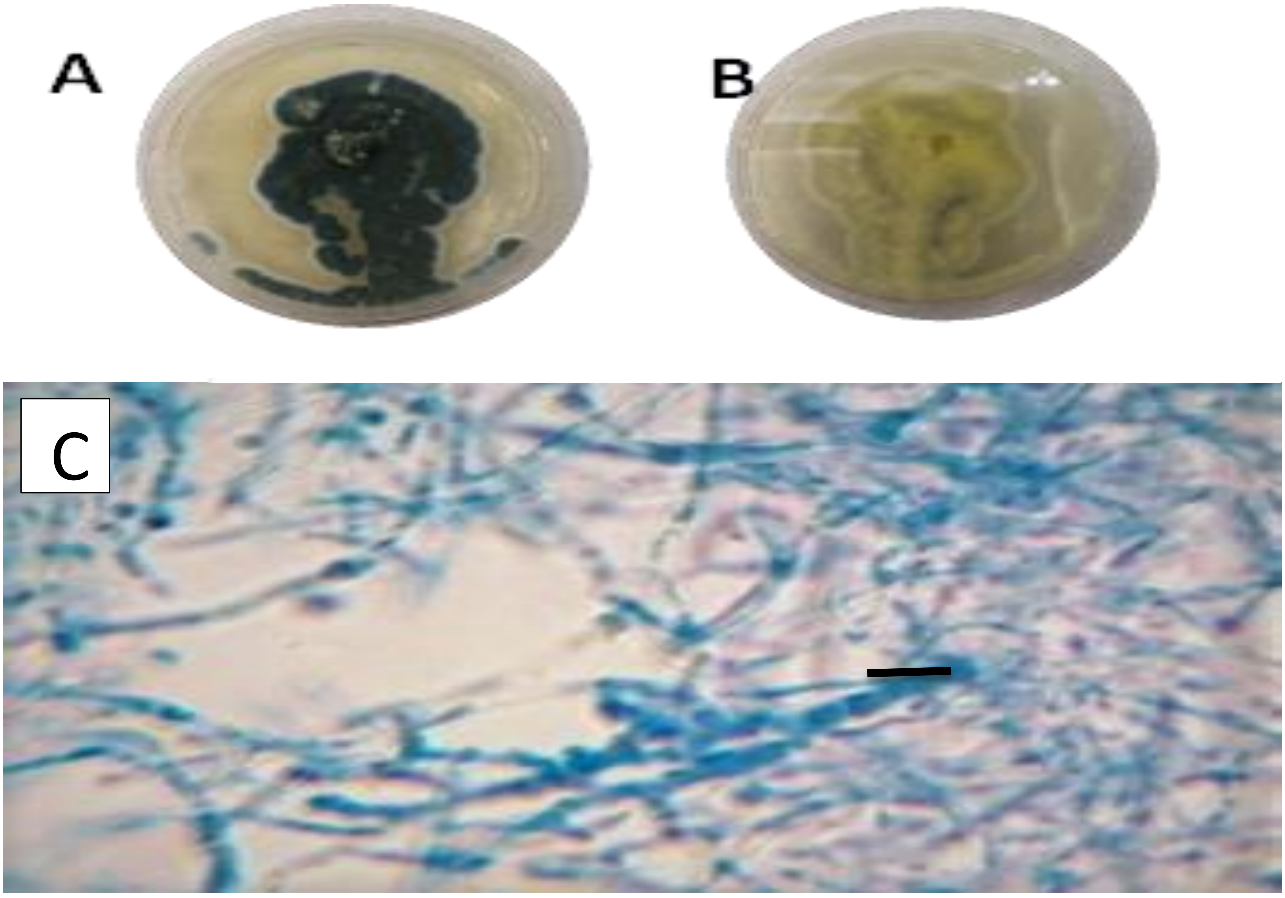
4- الفطر *Cladosporium exasperatum* :



الشكل (4-4): *Cladosporium exasperatum* :(A) الفطر بعمر خمسة ايام على وسط PDA بدرجة حرارة 26 ±2 م°. (B): ظهر الفطر . (C) :الفطر تحت المجهر يظهر الغزول الفطرية والكونيديا على قوة تكبير 40X. المقياس يمثل 20 ملي مايكرون

في الشكل (4-4 : A,B) تظهر المستعمرة الفطرية على وسط PDA في البداية بلون أبيض ، وتتحول إلى اللون البني - الأسود ،تظهر المستعمرة خشنة وتحوي التواءات ، مع وجود دقيق ناعم على سطح المستعمرة ، ظهر المستعمرة بني غامق إلى أسود .في الشكل(4-4: C) يظهر الفحص المجهري غزول فطرية شفافة خشنة ، ذات الحواجز ، تنتج الحوامل الكونيدية من الغزول الفطرية ، يظهر في مكان تفرع الحامل الكونيدي انتفاخ كبير ذات شكل قاروري ،تحمل الفياليد بشكل منفصل ، وتخرج منه الكونيديات بشكل سلسلة ، الكونيديا كروية الشكل في سلسلة ، هذه الخصائص مشابهة لما وصفه Carmen ,(2017)

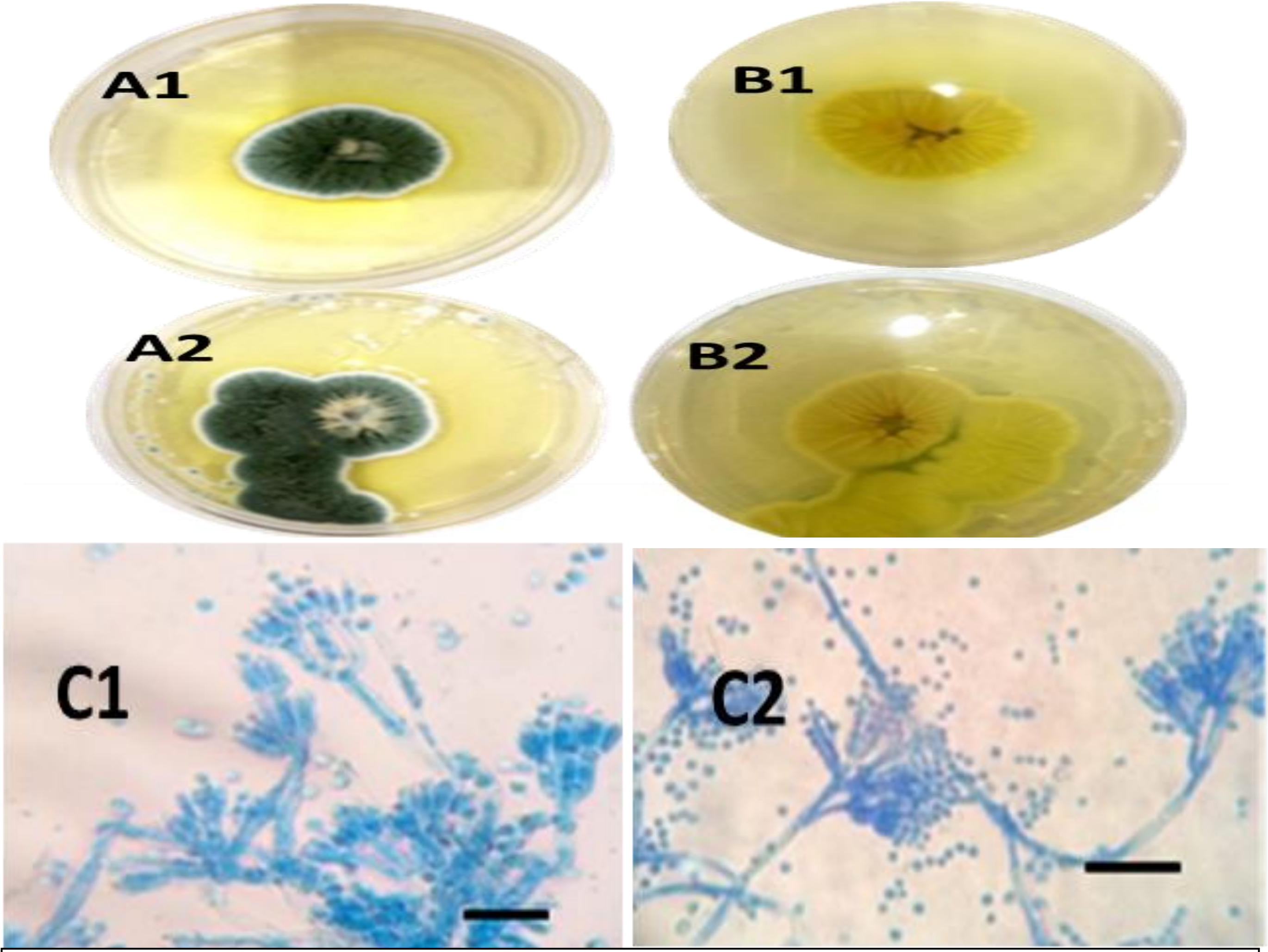
5- الفطر *Microdochium nivale*:



الشكل (4-5):: *Microdochium nivale* (A) : الفطر بعمر خمسة ايام على وسط PDA بدرجة حرارة 26 ±2 م° . (B): ظهر الفطر . (C): الفطر تحت المجهر يظهر الغزول الفطرية والكونيديا على قوة تكبير 40X .المقياس يمثل 20 ملي مايكرون .

تظهر المستعمرة الفطرية على وسط PDA في البداية بلون أبيض ، وتتحول إلى الوان تتغير بين الكريمي الغامق - اللون الاخضر الغامق - الزيتوني الغامق ، ظهر المستعمرة بني غامق إلى أسود . تظهر نموات الغزول الفطرية الشفافة - بيضاء على الوسط الزرعي حول المستعمرة الفطرية وبشكل نموآت مع الحافة الخارجية للمزرعة الشكل (A,B: 4-5) . في الشكل(C :4-5) يظهر الفحص المجهري غزول فطرية شفافة خشنة ، ذات الحواجز ، تنتج الحوامل الكونيدية من الغزول الفطرية ، يظهر في مكان تفرع الحامل الكونيدي انتفاخ ذو شكل بيضوي ،تحمل الفياليد بشكل منفصل ، وتخرج منه الكونيديات بشكل سلسلة ، الكونيديا كروية الشكل في سلسلة ، هذه الخصائص مشابهة لما وصفه Galea وجماعته, (2009).

6-الفطر *Penicillium tardochrysogenum*:



الشكل (4-6) 1-*Penicillium tardochrysogenum*,and 2-*Penicillium tardochrysogenum* (A1,A2)الفطر بعمر خمسة ايام على وسط PDA بدرجة حرارة 26 ±2 م° . (B1,B2): ظهر الفطر . (C1,C2) الفطر تحت المجهر يظهر الغزول الفطرية ، وال الفياليد والكونيديا على قوة تكبير 40 X .المقياس يمثل 20 ملي مايكرون

في الشكل (A,B:4-6) المستعمرة الفطرية على وسط PDA سريعة النمو ذات لون زيبتوني ذات حافة بيضاء ، ظهر المستعمرة أصفر .تبدو المزرعة الفطرية ذات شكل يشبه الدقيق – صوفي مخملي powdery to wooly-velvety. في الشكل(4-6: C1,C2) يظهر الفحص المجهري غزول فطرية شفافة ، ذات الحواجز ،الفياليد تنتج على حوامل كونيدية قصيرة ، الحوامل الكونيدية الثانوية تكون metula وتنتج

الفياليد سلسلة من الكونيديا ، تعطي مظهرا يشبه الفرشاة ، تكون الفياليد ذات قاعدة منتفخة كروية بيضوية تقريبة وعنق ضيق، الكونيديا ameroconidia يعني الكونيديا الحديثة تكون قريبة من الفياليد ، الكونيديا ملساء اهليليجية شفافة كما تم وصفه من قبل (Carmen , 2017).

2-4 -2- بالطريقة الجزيئية Molecular identification:-

تبين التشخيص الجزيئي للفطريات المعزولة من المخطوطات ان جميع الفطريات المكتشفة والتي تم تسجيلها لأول مرة في العراق عامة وعلى المخطوطات خاصة ، هي فطريات كيسيه تعود إلى تحت المملكة Dikarya وإلى شعبة الفطريات الكيسيه Ascomycota والى تحت الشعبة Pezizomycotina . سجلت الانواع الفطرية بالبنك الجيني العالمي Genbank التابعة للمر كز الدولي لمعلومات التقانات الاحيائية (NCBI) National Center of Biotechnology Information)، وحملت ارقام تسلسلية ،ويمكن القول بان تلك العزلات العراقية تسجل لأول مرة في البنك الجيني العالمي . كما في الجدول (2-4).

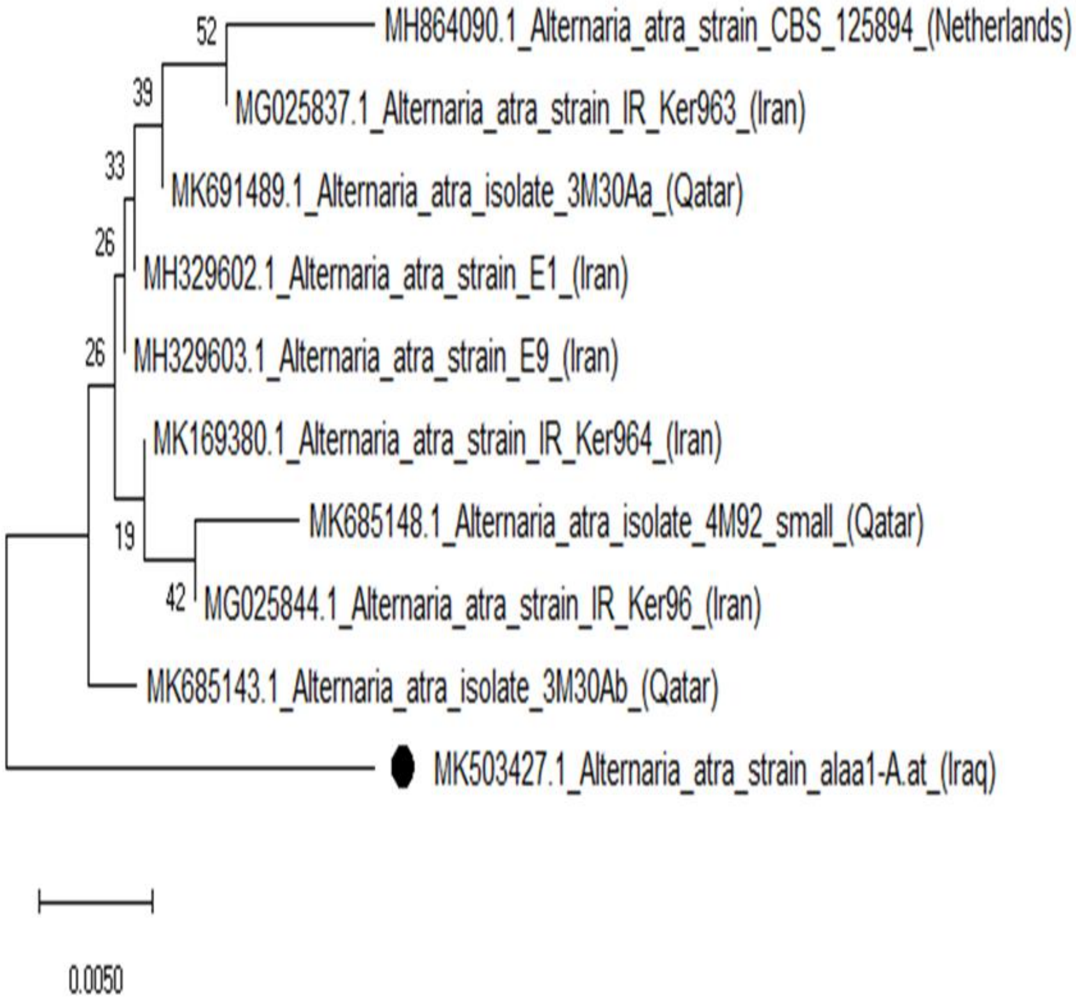
الجدول(2−4): الفطريات المعزولة والمشخصة لأول مرة على المخطوطات والمسجلة بالبنك الجيني وارقام تسلسلها

*التسلسل في البنك الجيني	الفطريات	ت
MK503427	*Alternaria atra* strain alaa1-A.	1
MK503428	*Aspergillus ustus* strain alaa4-A.us 5.	2
MK504425	*Chaetomium globosum* strain alaa11-C.gl	3
MK504424	*Cladosporium exasperatum* strain alaa14- C.ex	4
MK503439	*Microdochium nivale* strain alaa6-M.ni 5.8S	5
MK504426	1-*Penicillium tardochrysogenum* strain alaa15 - P.ta	6
MK504427	2-*Penicillium tardochrysogenum* strain alaa13- P.ta	7

- ملحق من 1−7

4-2-3-تحديد تسلسل القواعد النيتروجينية وتحليل المعلوماتية الحيوية والشجرة الوراثية Phylogeny

بينت نتائج تحليل القواعد النتروجينية العائدة للعزلة الفطرية-*Alternaria atra* strain alaa1 A. المشخصة والمسجلة في البنك الجيني بالرقم التسلسلي MK503427 مطابقة مع العزلات العالمية مثل قطر وايران الخ (الشكل 4-7) .

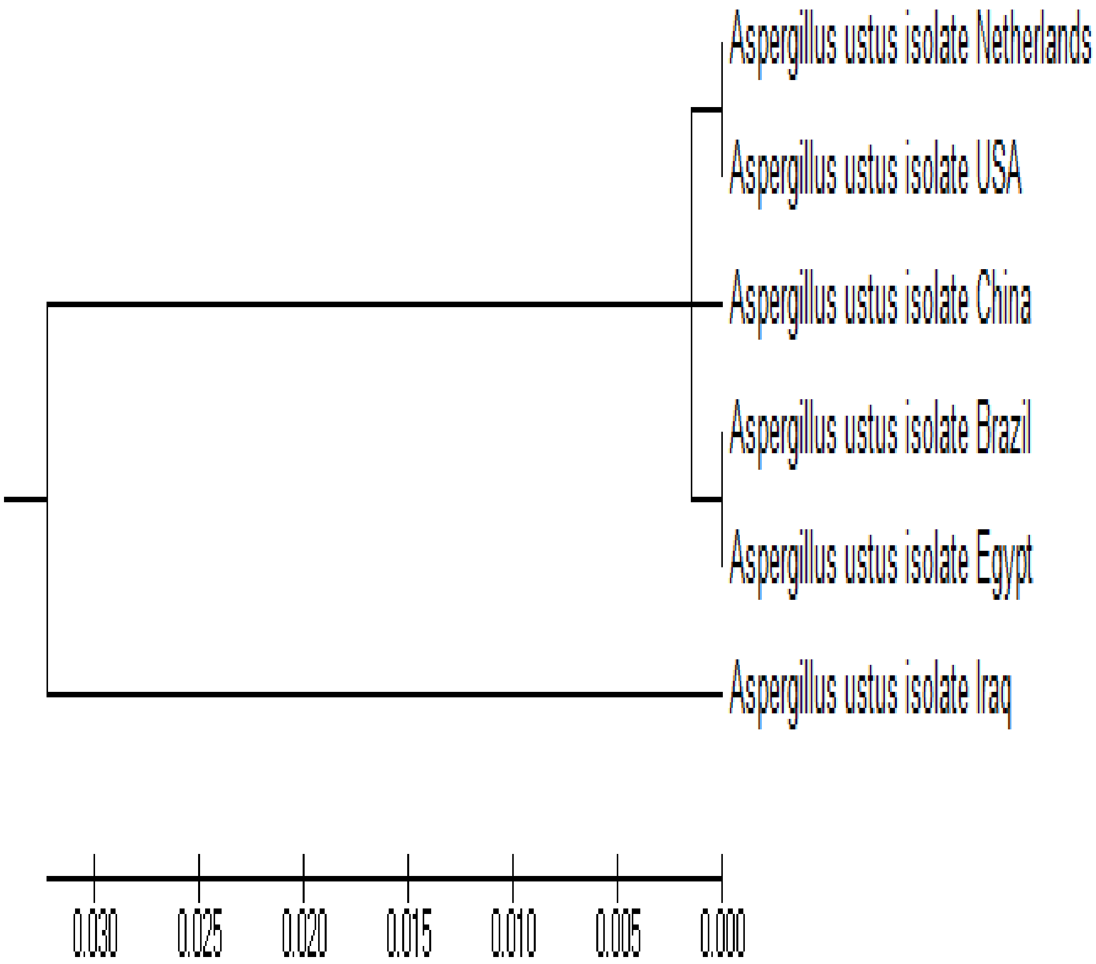


.

الشكل (4-7) : شجرة التطور الوراثي في *Alternaria atra* strain alaa1-A.alaa1-A. يشير الشريط إلى المسافة الوراثية بسبب اختلاف التسلسل مع سلالات الأخرى

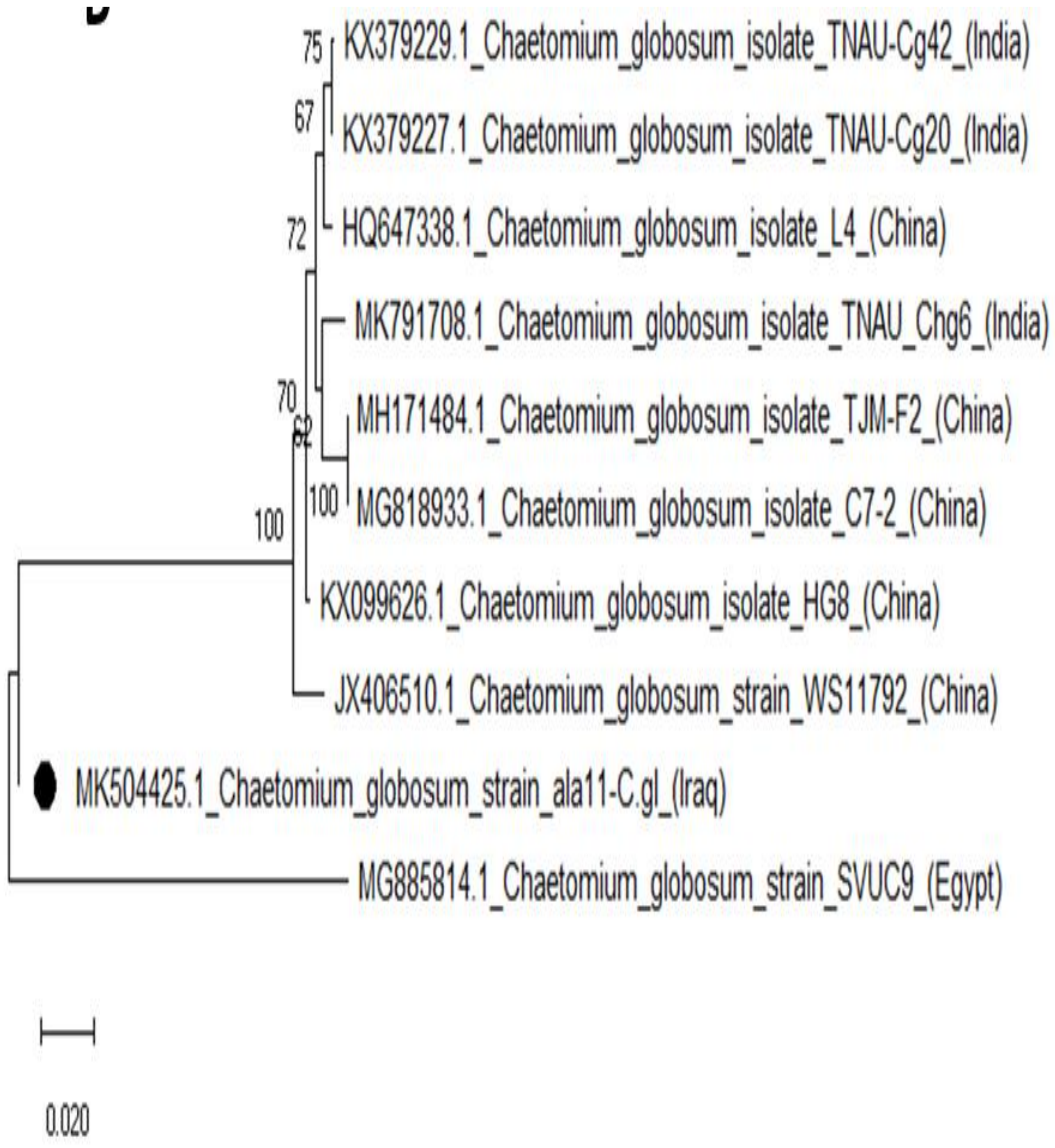
كذلك بينت تتابعات القواعد الناتروجينية لمنطقة التضاعفITS -rDNA، فضلاًعن تتابعات لبعض السلاسل الفطرية المعروفة لنفس الفطر تم الحصول عليها من مستوعب بيانات GenBankحسبت المسافات الوراثية حسبneighbor- joining، تم الحصول على عزلات فطرية

مشابهة للعزلة الفطرية العراقية للفطر *Aspergillus ustus* شبيهه 100%مع العزلات المصرية والبرازيلية والصينية والامريكية والهولندية. (الشكل 8-4).



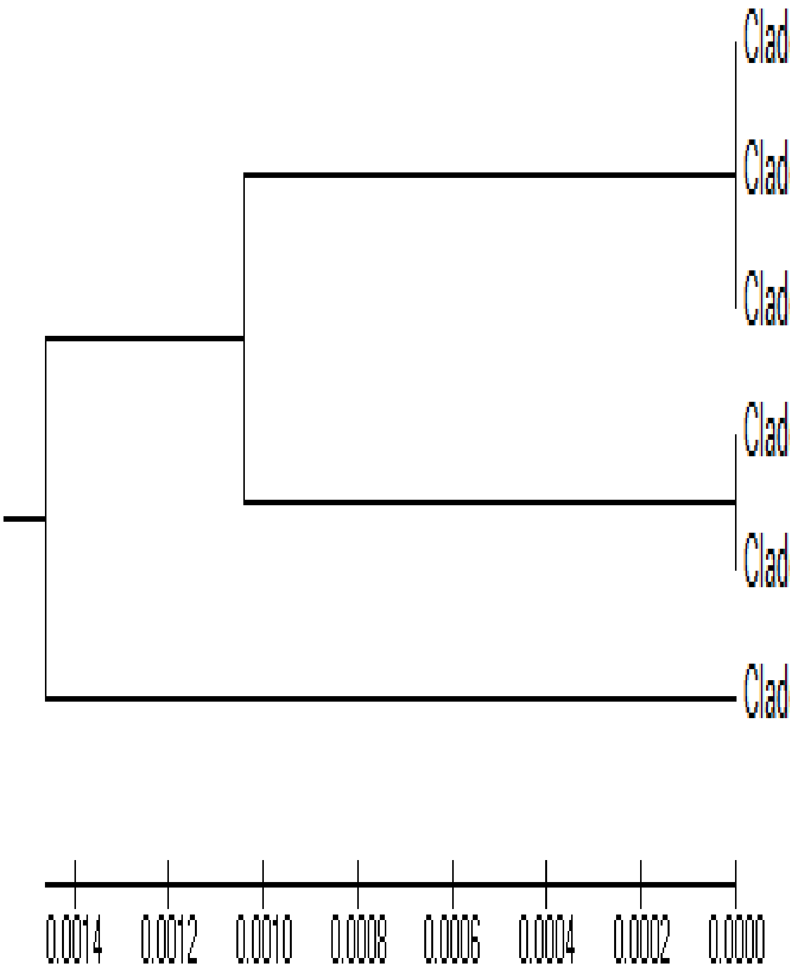
الشكل (8 -4): شجرة التطور الوراثي في*Aspergillus ustus* strain alaa4-A.us5 مع السلالات الأخرى . الشريط يشير إلى المسافة الوراثية بسبب اختلاف التسلسل.

وبينت السلالة الفطرية *Chaetomium globosum* strain ala11-C.gl تم مطابقتها مع باقي العزلات العالمية حيث بينت النتائج تطابق العزلة المدروسة في الدراسة بنسبة 100% مع العزلات في الصين ومصر تسلسل MG818933.1 و MG885814.1 على التوالي (الشكل 9-4).



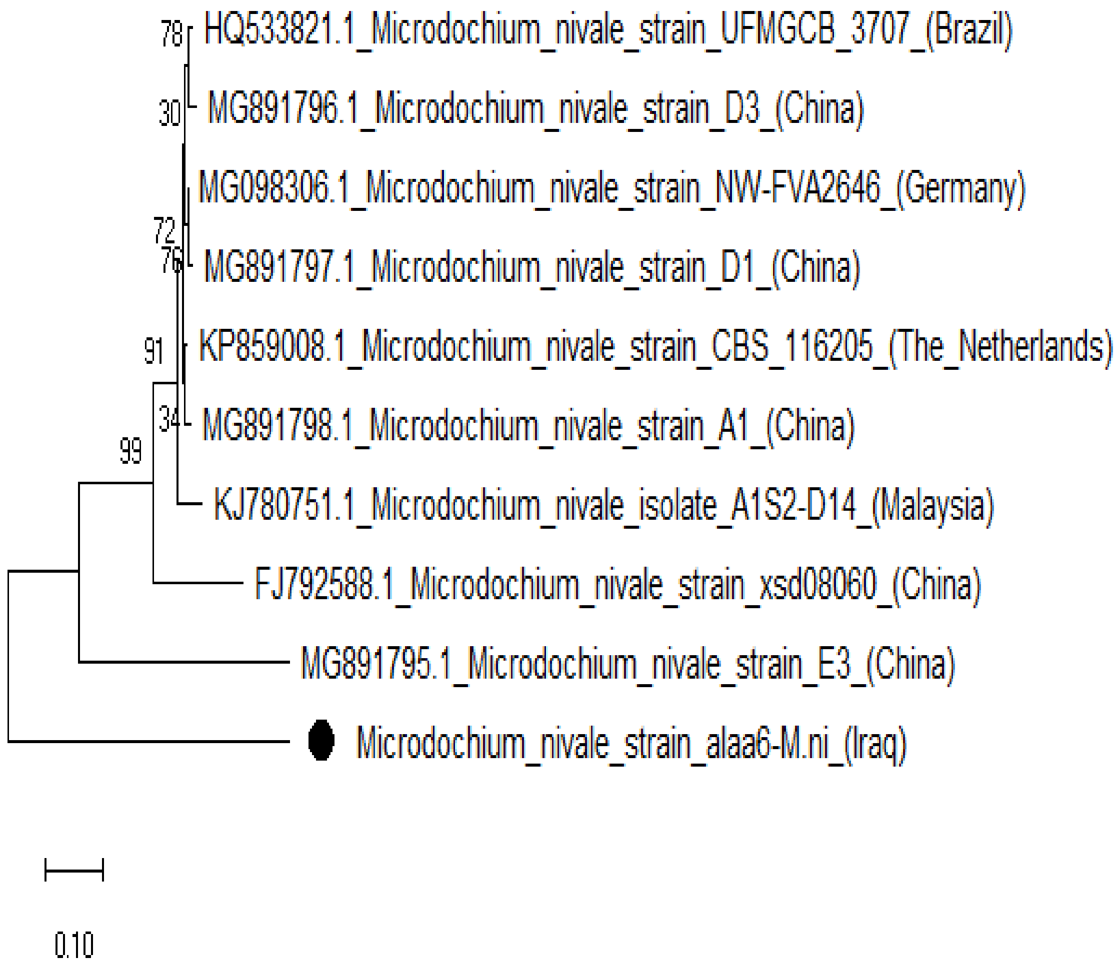
الشكل (9-4): شجرة التطور الوراثي strain alaa11-C.gl *Chaetomium globosum* مع سلالات الاخرى . الشريط يشير إلى المسافة الوراثية بسبب اختلاف التسلسل.

بينت تتابعات القواعد النايتروجينية لمنطقة التضاعفrDNA- ITS، فضلاًعن تتابعات لبعض السلاسل الفطرية المعروفة لنفس الفطر تم الحصول عليها من مستوعب بيانات GenBank، حسبت المسافات الوراثية حسبneighbor- joining، تم الحصول على عزلات فطرية مشابهة للعزلة العراقية للفطر *Cladosporium exasperatum* تشبه 100% العزلات الهندية والكينية. كذلك تم الحصول على عزلات فطرية خارج المجموعة تعود للانواع الفطرية مختلفة وراثيا شملت .*Cladosporium* sp في الصين وتايون والامريكيا الشكل (4-10).



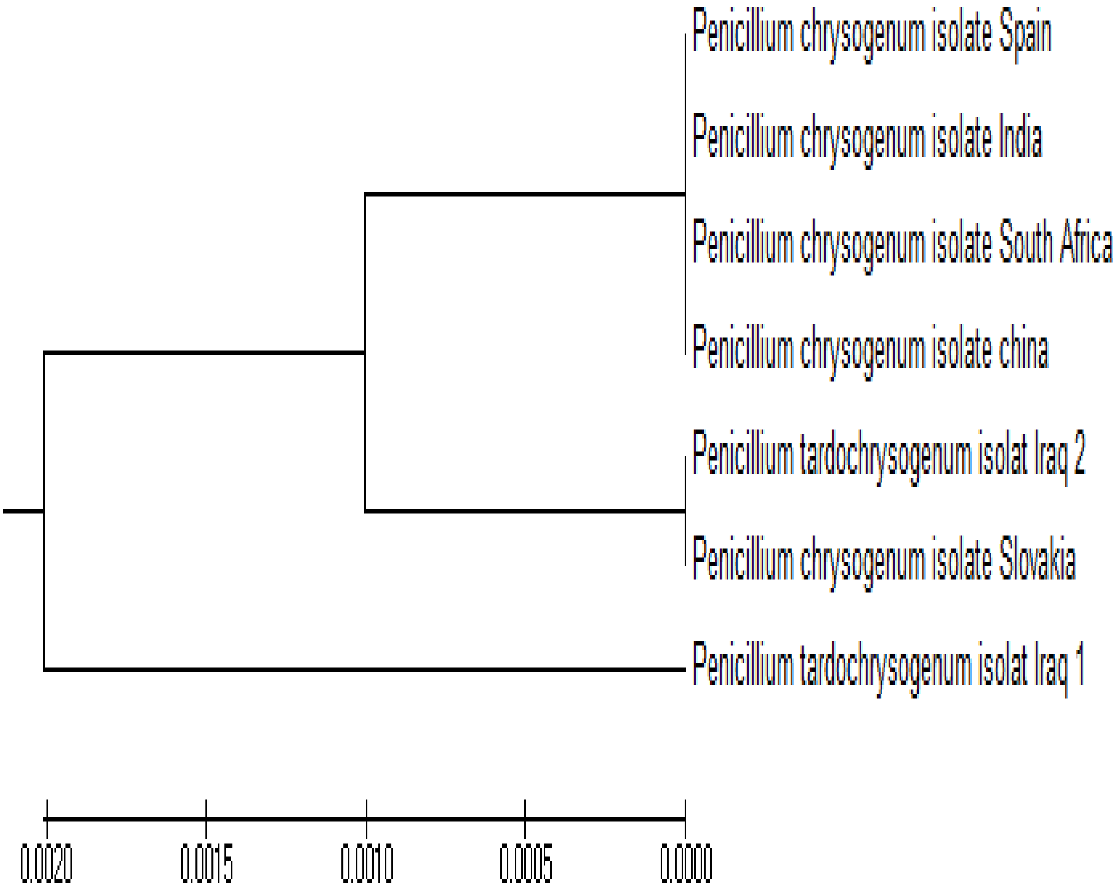
الشكل (4-10): شجرة التطور الوراثي *Cladosporium exasperatum* strain alaa14-C.ex مع سلالات الأخرى . الشريط يشير إلى المسافة الوراثية بسبب اختلاف التسلسل.

تسلسل MG891795.1 وتطابق بنسبة 91% مع العزلة الفطرية الثانية من الصين تسلسل FJ792588.1 من خلال تتابع القواعد الناتيروجينية للعزلة الفطرية *Microdochium nivale* strain alaa6-M.ni 5.8S المشخصه في البنك الجيني تسلسل MK503439 بينت التشابه مع العزلات من الصين، (الشكل 4-11).



الشكل(11- 4) : شجرة التطور الوراثي5.8S *Microdochium nivale* strain alaa6-M.ni مع سلالات الأخرى . الشريط يشير إلى المسافة الوراثية بسبب اختلاف التسلسل.

واوضحت تتابعات القواعد الناتروجينية لمنطقة التضاعفrDNA- ITS، فضلا عن تتابعات لبعض السلاسل الفطرية المعروفة لنفس الفطر تم الحصول عليها من مستوعب بيانات GenBank حسبت المسافات الوراثية حسبneighbor- joining، تظهر العزلتان العراقيتان للفطرين1,2 *Penicillium tardochrysogenum* تشابها 100%مع العزلات العالمية الاسبانية والهندية وشمال افريقيا والصينية والسلوفاكية .شكل (12-4).



الشكل (12- 4) : شجرة التطور الوراثي لـ *Penicillium tardochrysogenum* strain *Penicillium tardochrysogenum* strain ala15-P.ta-2و alaa13-P.ta-1 مع السلالات الأخرى . الشريط يشير إلى المسافة الوراثية بسبب اختلاف التسلسل.

4-3- التقدير الكمي والنوعي للفطريات المعزولة من المخطوطات

4-3-1- النسبة المئوية للظهور Occurrence %

بينت النتائج وجود اختلافات في نسب ظهور الأنواع الفطرية (الجدول 3-4) ، حيث سجل فطر *Aspergillus ustus* اعلى نسبة للظهور بنسبة 11.6 % وهذه النتيجة قد لا تختلف كثيرا عما توصل اليه بعض الباحثين منهم((الوائلي 2018) على الرغم من اختلاف النوع. في حين سجل الفطر *Alternaria atra* نسبة ظهور10%. بينما كانت نسبة الظهور للفطرين *Penicillium* 1- *tardochrysogenum* و*Penicillium tardochrysogenum* -2، 9.33% و 9.0% على التوالي،

وسجل الفطر *Microdochium nivale* نسبة ظهور 8.33% . وحصل فطرين *Chaetomium globosum* و *Cladosporium exasperatum* اقل نسبة ظهور حيث بلغت 7.1% و7.0% وعلى التوالي ، وقد تعزى سبب هذه الاختلافات الى طبيعة مكونات المخطوطة كان تكون من الورق او الجلود او البارشمت ، وايضا التقادم الزمني يلعب دورا هاما في تسهيل مهمة تحلل المخطوطات من قبل الكائنات الحية المحللة ، فضلا عن ظروف حفظ المخطوطات في الفترة التي سبقت وخاصة طريقة التعامل والوعي (السيد يوسف 2002).

الجدول(3- 4) :النسب المئوية للظهور والتردد وكثافة التوزيع للفطريات المعزولة من المخطوطات بدرجة حرارة 26 ± 2 م ^{o} وعلى وسط PDA لمدة 5-7 ايام

ت	الفطر	النسبة المئوية الظهور	النسبة المئوية للتردد	النسبة المئوية لدليل كثافة التوزيع
1	*Alternaria atra*	%10.0	14.23	37.72
2	*Aspergillus ustus*	%11.6	14.93	44.82
3	*Chaetomium globosum*	%7.0	12.47	24.71
4	*Cladosporium exasperatum*	%7.1	13.18	25.77
5	*Microdochium nivale*	%8.33	14.93	32.18
6	*1-Penicillium tardochrysogenum*	%9.33	14.41	35.41
7	*2-Penicillium tardochrysogenum*	%9.0	15.81	33.18

2-3-4 - النسبة المئوية للتردد Frequency %

أظهرت نتائج النسبة المئوية لتردد الأنواع الفطرية تبايناً واضحاً (الجدول 3-4) ،كانت أعلى قيمة تردد للفطر *2-Penicillium tardochrysogenum* 15.81 % يليه الفطرين *Aspergillus ustus* و *Microdochium nivale* بتردد 14.93% يليه الفطر *1-Penicillium tardochrysogenum* بنسبة 14.41 % يليه الفطر *Alternaria atra* بنسبة 14.23% والفطر

Cladosporium exasperatum بنسبة 13.18 % واقل نسبة تردد كانت globosum Chaetomium بنسبة 12.47 % . ويعد الجنس *Penicillium* sp. من الاجناس الفطرية التي تردد كثيرا في العينات المدروسة وهذه النتيجة مشابهة لما ذكرها الوائلي(2018) ، وإن معظم أنواع هذا الفطر متواجدة في الاماكن جميعها وهي رمية انتهازية ولها القدرة على النمو على مواد عديدة وتحت ظروف مختلفة (Pitt and Hoching ,1997) , كما لهذه الفطريات استراتيجيات حياتية خاصة تمكنها من تحمل الظروف البيئية القاسية مما يجعلها أكثر بقاء و انتشاراً من الأنواع والأجناس الأخرى (Abdel-Hafez 1982 ; Bergero, *et al*., 1999).

4-3-3- معامل كثافة التوزيع Distribution Intensity Index

اظهرت النتائج المبينة في الجدول(3-4) معامل كثافة التوزيع للفطريات المعزولة من المخطوطات أن الأنواع *Aspergillus ustus* و *Alternaria atra* و *1-Penicillium tardochrysogenum* و *Microdochium nivale* كانت الأكثر كثافة في التوزيع . بينما كانت الانواع الأقل كثافة هي *Cladosporium exasperatum* و*Chaetomium globosum* هذا قد يعزى إلى فعاليتها الانزيمية التي قد تكون واطئة مقارنة ببقية الفطريات الاخرى المعزولة بسبب تباين الظروف البيئية من درجة حرارة ورطوبة وطبيعة المخطوطة ومكوناته (Moubasher, *et al*., 1982).

اظهرت النتائج ، أن هنالك العديد من الفطريات المرافقة للمخطوطات ، و قد أظهر الفطر *Aspergillus ustus* سيادة في جميع العينات هذه النتائج تتفق مع Mohammed وجماعته، (2018) في أن هذه الفطريات يمكن أن تنمو وتتكاثر في طيف واسع في درجة الحرارة والرطوبة والحموضة، ويعود ذلك إلى ملائمة الظروف البيئية المختلفة لنموه وتكاثره. وكذلك قدرة الفطر على تكوين أعداد كبيرة من الوحدات التكاثرية اللاجنسية، وتكوين الأجسام الحجرية والطور الجنسي الذي ساعد فطريات هذا النوع على مقاومة الظروف البيئية غير الملائمة ، فضلا عن وجود القدرة الانزيمية العالية لبعض انواعه تساعده على أستخدم مختلف المواد البروتينية و العضوية كمصادر غذائية(Moubasher, *et al*., 1982). إذ تتصف الأنواع التابعة لجنس *Aspergillus* spp. بأنها تنمو في مديات واسعة من الرطوبة و درجات الحرارة تتراوح ما بين 5-45 م° أو اعلى من ذلك ، كذلك فان لهذه الفطريات القابلية على النمو في مستويات رطوبة منخفضة حيث تسود الفطريات التابعة لجنس *Aspergillus* spp. عند محتوى الرطوبة يتراوح ما بين 15- 18% (Rustom, 1997) . حيث تمتلك البعض من أنواعه القدرة على التنافس وتثبيط ونمو الأنواع الأخرى عن طريق أنتاج سموم حيوية فعالة مثل الفطر *A.flavus* (Klich ,2007).

اما في المرتبة الثانية في نسبة الظهور والتردد وكثافة التوزيع كانت للفطر *Alternaria atra* ، حيث يعتبر هذا الفطر من الفطريات الناقصة fungi imperfect وذلك لعدم قدرة بعض انواعه على تكوين الطور الجنسي حيث له القدرة على تكوين الكونيدات متعددة الخلايا ذات تقسيمات طولية وعرضية اما بشكل مفرد او على هيئة سلاسل . تحتوي كونيدات هذا الفطر على صبغة الميلانين التي كسبتها الون البني المائل الى السواد. ولهذه الصبغة اهمية بالنسبة للفطر حيث كانت بمثابة الدرع الواقي للكونيدات ضد الظروف البيئية القاسية (Rehnstrom and Free, 1996) . أما الفطران 1-*Penicillium tardochrysogenum* و 2-*Penicillium tardochrysogenum* فكانت من الفطريات التي حصلت على نسبة ظهور وتردد وكثافة متقاربة ويعود السبب إلى أن معظم انواع هذا الفطر متواجدة في الاماكن جميعها وهي رمية انتهازية ولها القدرة على النمو على مواد عديدة وتحت ظروف مختلفة (Gomes, *et al*., 2018) .

4-4-الكشف عن الفطريات المحللة:

4-4-1-السيليلوز Cellulose :

تمكنت العزلات الفطرية السبعة من انتاج انزيمات محللة للسيليلوز ، كما مبين في الجدول (4-4) والشكل (1-4: A,B,C,D) وإن وجود الفعالية العالية للانزيم المتمثل بقطر الهالة للفطر ، وتفوق الفطر *Alternaria atra* والذي لم يختلف معنويا عن فعالية الانزيم للفطرين *Aspergillus ustus* و *Chaetomium globosum* ، في حين سجل الفطر *Cladosporium exasperatum* اقل فعالية لأنزيم السيليليز المتمثل بقطر الهالة وكذلك الفطر*1-Penicillium tardochrysogenum* . و بين نفس الجدول بوجود تداخلات بين نوع الفطريات وفترة الحضن حيث اعطى الفطر*Alternaria atra* في نهاية التجربة في اليوم التاسع اعلى قيمة معنوية ،والذي لم يختلف معنويا عن الفطر *Aspergillus ustus* . وهذا يعزز ما تم ذكره في ان معظم الفطريات الحقيقية لها قدرة على تحليل السيليلوز الطبيعي لغرض النمو وديمومة الحياة من خلال أنتاج الأنزيمات المحللة للسيليلوز (Armstrong 1989).ويمكن ان تستخدم سلسلة من الانزيمات المحللة للمواد الكاربوهيدراتية وخاصة اندوكلوكانيز ووسيليلوبايهايدريز وبيتاهيدروكلوكانيز في بعض الانواع وخاصة التي تنمو على الخشب الميت والقمامة ، و في النظم البيئية فإن الانزيمات المنتجة من قبل الفطريات التي تدخل في تحليل السيليلوز تختلف عن ما هو موجود في البكتريا .(Baldrian and Valášková ,2008). إن امتلاك العديد من الفطريات الانزيمات المحللة للسيليلوز يمكنها من مهاجمة المنتجات الصناعية السليلوزية كالمنتجات القطنية والورق والكارتون ومنتجات الأخشاب وهذه النتيجة تتفق مع ما ذكره الوائلي, (2018)، كما يمكن تفسير ضعف قدرة بعض العزلات على إفراز السيليليز لعدة اسباب منها اختلافها في القدرة على استغلال الوسط الزرعي او عدم كفاية مدة الحضن لتحفيز إفرازه او لعدم ملائمة الأس الهيدروجيني للوسط لهذه العزلات (

Jecu, 2000 عبد الهادي,2011) ، و من خلال نتائج الدراسة نجد ان من اسباب وجود هذه الفطريات على المخطوطات قد يعود إلى قابليتها على أفراز أنزيم السيليليز على ورق المخطوطة، والذي تعد ألياف السليلوز المكون الأساس له.

الجدول (4-4): الفعالية الانزيمية لأنزيم السيليليز للفطريات المعزولة من المخطوطات بدرجة26 ± 2م° و على وسط اكار- السليلوز لمدة 3 , 6 , 9 يوم .

ت	الفطريات	قطر الهالة(ملم) مدة الحضن(يوم) 3	6	9	متوسط الفطريات
1	*Alternaria atra*	22.33	55.00	65.00	47.44
2	*Aspergillus ustus*	23.67	52.33	65.00	47.00
3	*Chaetomium globosum*	23.33	50,67	58.33	44.11
4	*Cladosporium exasperatum*	19.67	21.67	29.00	23.44
5	*Microdochium nivale*	23.67	47.67	54.33	41.89
6	*1-Penicillium tardochrysogenum*	19.33	28.33	48.33	32.00
7	*2-Penicillium tardochrysogenum*	22.67	45.00	55.00	40.89
	متوسط مدة الحضن	22.10	42.95	53.57	
L.S.D.0.05	متوسط مدة الحضن =4.167		متوسط الفطريات = 2.728		التداخل= 7.218

4-4-2- البروتين:

أظهرت نتائج اختبار فعالية انزيم البروتيز للفطريات التي تم عزلها من المخطوطات على وسط آكار – الحليب المقشود مع فترة حضن 9,6,3 يوم وكما موضحة في الجدول(5- 4) ,والشكل (G:4-13 E,F)،ان الفطريات اختلفت فيما بينها في معدل قطر الهالة المتمثلة بفعالية انزيم البروتيز ، وسجل الفطر *Microdochium nivale* اعلى فعالية لأنزيم البروتيز ، والذي لم يختلف معنويا عن فعالية الانزيم لكل

من الفطرين *Aspergillus ustus* و *Chaetomium globosum* ،في حين سجل الفطر *Penicillium tardochrysogenum* -1 اقل فعالية لأنزيم البروتيز، والذي لم يختلف معنويا عن فعالية انزيم البروتيز للفطر *Alternaria atra* . أما فيما يخص معدل المدة الزمنية للحضن ، فان فعالية الانزيم ازدادت مع زيادة الفترة الزمنية للحضن وحتى نهاية التجربة التي استغرقت تسعة ايام متتالية. واظهر التداخل بين نوع الفطريات والفترة الزمنية للحضن ، تداخلات ذات قيمة معنوية واعطى الفطر *Microdochium nivale* اعلى فعالية لأنزيم البروتيز في اليوم التاسع من الحضن والذي لم يختلف معنويا عن الفطر *Aspergillus ustus,* .وهذه النتيجة تتفق مع ما ذكره حسين و محمد (2014) بان ظروف الحضن والوسط الزرعي ومدة الحضن تؤثر على فعالية وانتاج الانزيمات من الفطريات .وعلى الرغم من ان الفطر *Microdochium nivale* من الفطريات التي توجد في الاماكن الباردة (Kuwabara, *et al.*, 2002) وتصيب المحاصيل كالحنطة والادغال والنباتات رفيعة الاوراق (Ren , *et al.*, 2014)، إلا أنه تم عزلها من المخطوطات ربما بسبب معاودة نشاطها ، أو أن الطرائق التي تم تصنيع الورق والجلود غير كافية للقضاء على الفطر وظل مقاوما للظروف البيئية المحيطة . إن الفطريات تهاجم الجلود كونها مادة عضوية تدخل الكاربوهيدرات و الدهون والبروتينات في تركيبها ، وهذا يؤكد ما توصلنا اليه في النتائج حيث تواجد الفطريات على أغلفة المخطوطات وبنسبة عالية . إن من الأسباب التي أدت إلى استخدام الجلود في تغليف الكتب المطبوعة والمخطوطة ، هو التركيب الكيميائي للجلود هو نفس تركيب الرق و البارشمنت ويطلق عليه أيضا Parchment paper أو ورق الزبدة حيث أن التراكيب الأخيرة هي مواد بروتينية تستخرج من الجلود وعلى ذلك غالبية الفطريات المتخصصة في تحليل الجلود والرقوق تنسب الى أجناس *Aspergilluse* و *Penicillium* و *Alternaria* و *Helminthosprium* ويلاحظ أن لهذه الأجناس دورا مهما في تحليل المواد البروتينية (Baldrian and Valášková ,2008).

الجدول (5-4) : الفعالية الانزيمية لأنزيم البروتيز للفطريات المعزولة من المخطوطات بدرجة $26\pm$ 2 م° وعلى وسط اكار- الحليب المقشود لمدة 3 , 6 , 9 يوم

ت	الفطريات	قطر الهالة(ملم) مدة الحضن (يوم) 3	6	9	متوسط قطر الهالة للفطريات
1	*Alternaria atra*	21.67	36.67	55.00	37.78
2	*Aspergillus ustus*	50.00	65.00	73.67	62.89
3	*Chaetomium globosum*	48.33	65.67	71.67	61.89
4	*Cladosporium exasperatum*	35.00	50.00	55.00	46.67
5	*Microdochium nivale*	54.33	63.33	73.67	63.78
6	*1-Penicillium tardochrysogenum*	25.00	35.67	53.67	38.11
7	*2-Penicillium tardochrysogenum*	40.00	44.00	54.00	46.00
	متوسط مدة الحضن	39.19	51.48	62.38	

L.S.D. 0.05
متوسط مدة الحضن = 4.728 متوسط الفطريات = 3.095 التداخل= 8.189

4-4-3-النشا :

اظهرت الفطريات المختلفة فعالية مختلفة لأنزيم الاميليز ففي الجدول (6-4), والشكل (13-4: H,I) ، اعطى الفطر *Microdochium nivale* اكبر قطر للهالة المتمثلة بفعالية انزيم الاميليز والتي لم تختلف معنويا عن فعالية الانزيم الناتج من الفطر *Aspergillus ustus* واختلفت معنويا عن بقية الفطريات المعزولة وسجل الفطر *Alternaria atra* اقل فعالية للأنزيم ومن نفس الجدول يلاحظ أن الانزيم يزداد مع زيادة فترة الحضن زيادات معنوية وحتى نهاية التجربة في اليوم التاسع من الحضن . أما العلاقة بين نوع الفطر ومدة الحضن فكانت تداخلات معنوية وحصل الفطر *Aspergillus ustus* اعلى فعالية للأنزيم ولم تختلف معنويا عن الفطر *Chaetomium globosum* ، مع ملاحظة ان الفطر الاخير لم يسجل أية فعالية في اليوم الثالث والسادس، وهذا قد يرجع إلى النمو البطيء للفطر نظرا للظروف البيئية الخاصة بتنمية الفطر وانتاجه للاميليز (Beales ,2004)). وقد يعود السبب في وجود مثل هذه الفطريات على المخطوطات بسبب وجود النشأ، والذي يعد من المواد التي تدخل في تركيب المخطوطات كلاصق للأوراق و الملازم وكعوب الكتب المخطوطة وقد يستخدم أيضا في عمليات

الترميم المختلفة داخل المخطوط ويعتبر النشأ مركب معقد من الكلوكوز حيث توجد بعض من الفطريات المتخصصة في تحليله و التغذي على مكوناته من خلال افراز أنزيماتها (السيد يوسف , 2002 ; عبد العظيم 2018) .

الجدول(6-4): الفعالية الانزيمية لأنزيم الاميليز للفطريات المعزولة من المخطوطات بدرجة26 ± 2 م° وعلى وسط اكار- النشأ لمدة 3, 6, 9 يوم

ت	الفطريات	قطر الهالة(ملم) مدة الحضن(يوم) 3	6	9	متوسط قطر الهالة للفطريات
1	*Alternaria atra*	0.00	0.00	47.67	15.89
2	*Aspergillus ustus*	50.00	55.00	73.00	59.33
3	*Chaetomium globosum*	0.00	0.00	70.67	23.56
4	*Cladosporium exasperatum*	28.33	35.00	34.00	32.44
5	*Microdochium nivale*	53.33	58.33	69.00	60.22
6	*1-Penicillium tardochrysogenum*	23.00	25.00	39.00	29.00
7	*2-Penicillium tardochrysogenum*	27.67	34.33	34.33	32.11
	متوسط مدة الحضن	26.05	29.67	52.52	
L.S.D .0.05 متوسط مدة الحضن = 4.40	متوسط الفطريات =2.88	التداخل=7.63			

4-4-4-الدهون :

بينت نتائج هذا الاختبار أن اغلب الأنواع الفطرية المعزولة لها القابلية على افراز انزيم اللايبيز وكما موضحة في الجدول (4-7)، والشكل (4-13: J,K,L,M,N,O)، حيث اظهر فطر *Chaetomium globosum* أكبر قطر للهالة نتيجة فعالية انزيم اللايبيز والتي لم تختلف معنويا عن فعالية الانزيم المنتج من الفطر*Microdochium nivale* ، في حيين سجل فطر *Cladosporium exasperatum* اقل قطر للهالة في الفعالية للأنزيم. ومن نفس الجدول يلاحظ إن الانزيم يزداد مع زيادة مدة الحضن وحتى نهاية التجربة في اليوم التاسع من الحضن .مع بقاء قطر الهالة نفسه بالنسبة للفعالية

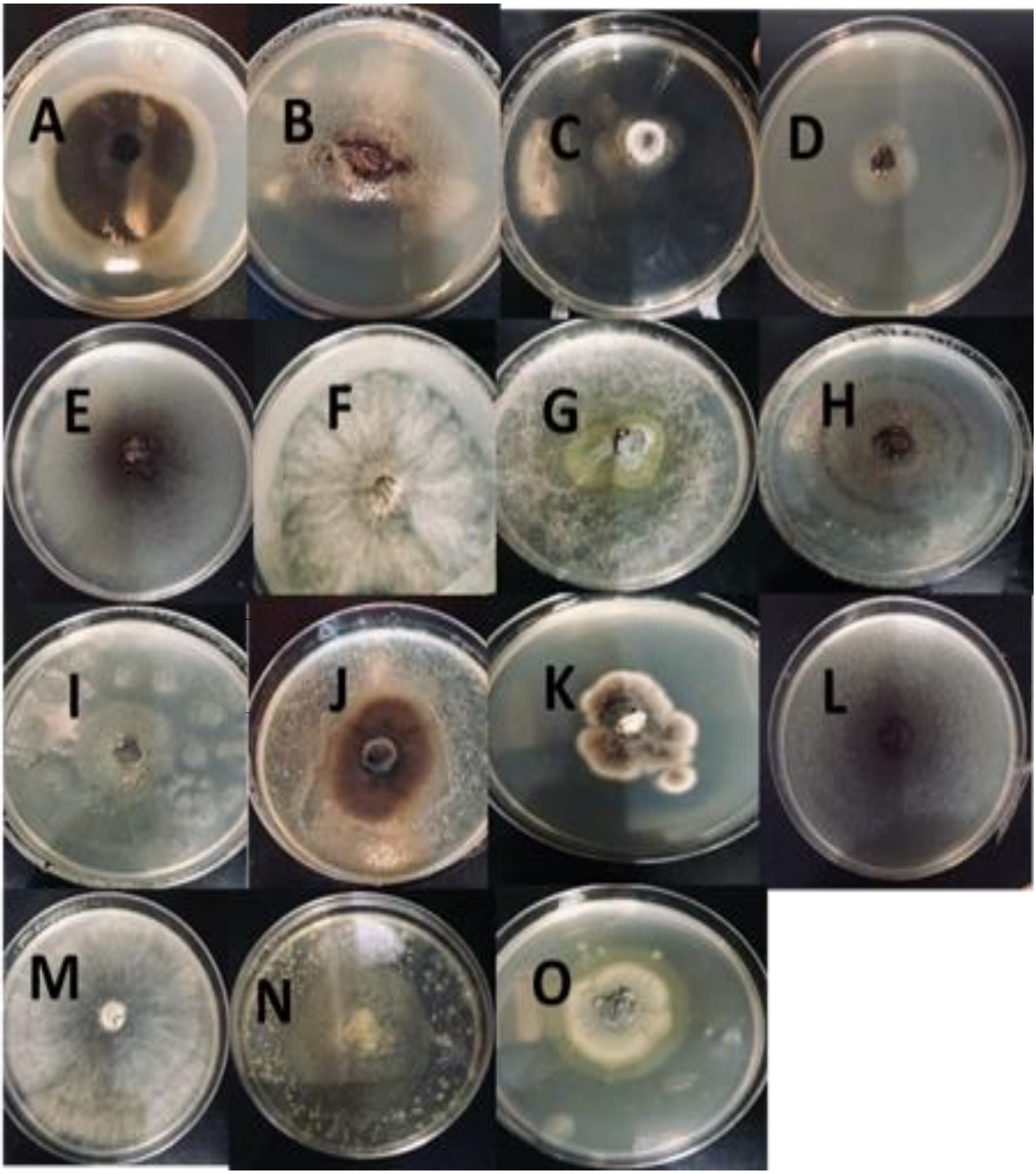
الانزيمية للفطرين *Alternaria atra* و *1-Penicillium tardochrysogenum* . اما العلاقة بين الفطر وفترة الحضن كانت هنالك تداخلات وحصل فطر *Chaetomium globosum* اعلى فعالية للأنزيم ولم يختلف بهذه الفعالية عن فطر *Microdochium nivale* . مع ملاحظة في اليوم التاسع من فترة الحضن بقاء قطر الهالة نفسه في كل من الفطرين *Alternaria atra* و *1-Penicillium tardochrysogenum* .حيث ظهرت رواسب بيضاء حول المستعمرة الفطرية مما يؤكد قدرة الفطر على افراز الانزيم بشكل مستمر وسلوك مسلك ثاني عند نفاذ المادة الغذائية ،حيث يحور مجرى تغذيته على إحدى مكونات الوسط الغذائي الاخرى وهذا يعني قدرة الفطر على التكيف والتأقلم على البقاء على الرغم من نفاذ المادة الاساسية للغذاء(Park, *et al.*, 2013). وهذه النتائج تتفق مع الوائلي ،(2018) و Pandey وجماعته (2000,) عندما عزلوا الفطريات من المخطوطات بنفس الاجناس ولكن بأنواع مختلفة

الجدول (4–7): الفعالية الانزيمية لأنزيم اللايبيز للفطريات المعزولة من المخطوطات بدرجة 26 ± 2 م° وعلى وسط اكار Tween 80 لمدة 3 , 6 , 9 يوم.

ت	الفطريات	قطر الهالة(ملم) مدة الحضن(يوم) 3	6	9	متوسط قطر الهالة للفطريات
1	*Alternaria atra*	26.67	48.33	48.33	41.11
2	*Aspergillus ustus*	41.67	63.33	67.67	57.56
3	*Chaetomium globosum*	62.67	70,00	73.00	68.56
4	*Cladosporium exasperatum*	25.00	35.00	41.67	33.89
5	*Microdochium nivale*	53.00	65.00	71.67	63.22
6	*1-Penicillium tardochrysogenu*	35.00	41.67	41.67	39.44
7	*2-Penicillium tardochrysogenum*	35.00	45.00	68.33	49.44
	متوسط مدة الحضن	39.86	52.62	58.90	

L.S.D.0.05
متوسط مدة الحضن =5.43 متوسط الفطريات= 3.43 التداخل =9.41

حرارة 26م^0 لمدة 9 ايام حضن.



الشكل (13-4): الفعالية الانزيمية للفطريات المعزولة من المخطوطات :-

A: فعالية انزيم السيليليز المنتج من الفطر *Alternaria atra* على وسط السيليلوز اكار على درجة حرارة 26م^0 لمدة 9 ايام حضن .

B: : فعالية انزيم السيليليز المنتج من الفطر *Aspergillus ustus* على وسط السيليلوز اكار على درجة حرارة 26م^{0} لمدة 9 ايام حضن

C: فعالية انزيم السيليليز المنتج من الفطر *Chaetomium globosum* على وسط السيليلوز اكار على درجة حرارة 26م^{0} لمدة 9 ايام حضن

D: فعالية انزيم السيليليز المنتج من الفطر *Cladosporium exasperatumon* على وسط السيليلوز اكار على درجة حرارة 26م^{0} لمدة 9 ايام حضن.

E : فعالية انزيم البروتيز المنتج من الفطر *Aspergillus ustus* على وسط skimmed milk اكار على درجة حرارة 26م^{0} لمدة 9 ايام حضن.

F : فعالية انزيم البروتيز المنتج من الفطر *Chaetomium globosum* على وسط skimmed milk اكار على درجة حرارة 26م^{0} لمدة 9 ايام حضن.

G: فعالية انزيم البروتيز المنتج من الفطر *Microdochium nivale* على وسط skimmed milk اكار على درجة حرارة 26م^{0} لمدة 9 ايام حضن.

H: فعالية انزيم الاميليز المنتج من الفطر *Aspergillus ustus* على وسط النشا اكار على درجة حرارة 26م^{0} لمدة 9 ايام حضن.

I: فعالية انزيم الاميليز المنتج من الفطر *Microdochium nivale* على وسط النشا اكار على درجة حرارة 26م^{0} لمدة 9 ايام حضن.

J: فعالية انزيم الدهون المنتج من الفطر *Alternaria atra* على وسط tween 80 اكار على درجة حرارة 26م^{0} لمدة 9 ايام حضن.

K: فعالية انزيم الدهون المنتج من الفطر *Aspergillus ustus* على وسط tween 80 اكار على درجة حرارة 26م^{0} لمدة 9 ايام حضن.

L: فعالية انزيم الدهون المنتج من الفطر *Chaetomium globosum* على وسط tween 80 اكار على درجة حرارة 26م^{0} لمدة 9 ايام حضن.

M: فعالية انزيم الدهون المنتج من الفطر *Cladosporium exasperatum* على وسط tween 80 اكار على درجة حرارة 26م^{0} لمدة 9 ايام حضن.

N: فعالية انزيم الدهون المنتج من الفطر *1- Penicillium tardochrysogenum* على وسط tween 80 اكار على درجة حرارة 26م^{0} لمدة 9 ايام حضن.

O: فعالية انزيم الدهون المنتج من الفطر *2-Penicillium tardochrysogenum* على وسط tween 80 اكار على درجة حرارة 26م^{0} لمدة 9 ايام حضن.

4-5-تاثير المواد النانوية (الزنك النانوي والفضة النانوية) في الفطريات المعزولة :-

4-5-1- التأثير على معدل قطر المستعمرات الفطرية (النسبة المئوية للتثبيط):

1- تأثير الزنك النانوي

يشير الجدولين (4-8) و (4-9) إلى وجود اختلافات معنوية في مقدار نمو الفطريات إذ كان اكثر الفطريات تثبيطا بالزنك النانوي هو الفطر *Alternaria atra*، حيث بلغت النسبة 17.56 ، في حين كان أقل تأثيرا بالزنك النانوي هو الفطر *Cladosporium exasperatum* بنسبة 45.84. يعد التركيز (25ملغم /لتر) اكثر تأثيرا على الفطريات حيث بلغ (18.90) وان التركيز (5 ملغم /لتر)هو اقل قدرة في تثبيط الفطريات حيث بلغ (34.05) قياسا بمعاملة المقارنة. أما العلاقة بين الفطر والتراكيز فكان التركيز(25 ملغم /لتر) اكثر تثبيطا للفطر 2-*Penicillium tardochrysogenum* بمقدار (10.00) ،في حين كان تركيز (5 ملغم /لتر) هو أقل تأثيرا على الفطر *Aspergillus ustus* بنسبة (56.67).وهذا يتفق مع دراسات سابقة في المركبات النانوية لها دور في تعطيل أنظمة النقل وهذا ينعكس على التمثيل الخلوي والتنفس والتفاعل بين العضيات بالإضافة الى ان ايونات الزنك والفضة النانوية معروف بإنتاجه للجذور الحرة التي تعمل على تدمير البروتينات والدهون والاحماض النووية(Reddy, *et al*. 2007; Brayner, *et al*., 2006; Hwang, *et al*., 2008) ، وتتفق هذه النتائج مع ما توصل اليه Mehdi وجماعته، (2018)عندما استخدموا مركبات نانوية مختلفة من ضمنها اوكسيد الزنك النانوي وبتراكيز مختلفة اثرت في نمو الفطر *Sclerotinia sclerotiorum* الممرض للنبات .

الجدول(8- 4): التراكيز المختلفة من الزنك النانوي في معدل قطر الفطريات المعزولة من المخطوطات (ملم) والنامية على وسط PDA بدرجة حرارة 26 ± 2م° لمدة 7-5ايام

ت	الفطريات	تركيز الزنك النانوي (ملغم /لتر)*						معدل الفطريات (ملم)
		Control	5	10	15	20	25	
1	*Alternaria atra*	36.67	23.67	11.00	11.67	12.33	10.00	17.56
2	*Aspergillus ustus*	55.00	56.67	31.67	53.33	19.67	23.33	39.94
3	*Chaetomium globosum*	43.33	41.67	38.33	32.33	36.67	20.00	35.39
4	*Cladosporium exasperatum*	55.00	45.00	41.67	50.00	38.33	45.00	45.83
5	*Microdochium nivale*	30.00	21.67	11.67	19.33	15.67	11.67	18.33
6	*1-Penicilliu tardochrysogenum*	25.00	26.33	15.00	21.67	12.00	10.00	18.33
7	*2-Penicillium tardochrysogenum*	27.00	23.33	19.67	19.00	15.00	12.33	19.39
معدل التراكيز الزنك النانوي		38.86	34.05	24.14	29.62	21.38	18.90	

L.S.D.0.05
معدل تراكيز الفطريات= 2.90 معدل التراكيز = 3.16 التداخل= 7.75
*كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاث مكررات.

جدول (9-4) نسبة تثبيط الفطريات المعزولة من المخطوطات عند درجة حرارة 26 ± 2 م° وعلى وسط PDA بتركيز 5 ،10، 15، 20، 25 ملغم/ لتر من الزنك النانوي

ت	الفطريات	5	10	15	20	25
1	*Alternaria atra*	40%	% 68.5	66 %	66%	97%
2	*Aspergillus ustus*	5%	36%	3.6%	60%	54%
3	*Chaetomium globosum*	24%	50%	8.5%	10%	42%
4	*Cladosporium exasperatum*	18%	24%	9.0%	31%	18%
5	*Microdochium nivale*	27%	60%	36.6%	47%	60%
6	*1-Penicillium tardochrysogenum*	17%	25%	12%	60%	67%
7	*2-Penicillium tardochrysogenum*	8%	23%	26.9%	50%	60%

2- تأثير الفضة النانوية :

يشير الجدولين (10-4) و(11-4) ان الفطر *Alternaria atra* أكثر تأثرا بالفضة النانوية ، في حين أن الفطر *Aspergillus ustus* اقل تأثرا وبفروقات معنوية . أما تأثير تركيز الفضة النانوية فكان التركيز 25ملغم /لتر أكثر تأثيرا في تثبيط نمو الفطريات المعزولة ، في حين كان التركيز 5 ملغم / لتر أقل تأثيرا قياسا بمعاملة السيطرة .أما التداخل الثنائي بين الفطر والتراكيز الفضة النانوية فكان التركيز 10 ملغم /لتر مع الفطر *Alternaria atra* اكثر فعالية في حين أن التركيز 15,5ملغم / لتر مع الفطر *Aspergillus ustus* اقل تأثيرا.

إن سبب انخفاض قطر المستعمرة نتيجة زيادة تركيز المادة النانوية يعود إلى زيادة تشبع وامتصاص المركبات النانوية من قبل الغزول الفطرية (Kim *et al*., 2012)، فالدور الذي تقوم به الفضة النانوية ونظرا لألفتها الشديدة اتجاه الفوسفات المهمة في بناء وتضاعف DNA ، كذلك لها الفة شديدة للتفاعل مع الكبريت وبالتالي تثبط عمليات التعبير عن البروتينات بواسطة وحدات الرايبوسوم والانزيمات الضرورية لإنتاج الطاقة (Feng, *et al*. ,2000; Yamnak,*et al*., 2005 ; Pat, *et al*., 2007).

الجدول(10−4): التراكيز المختلفة من الفضة النانوية في الفطريات المعزولة من المخطوطات (ملم) والنامية على وسط PDA بدرجة حرارة 26 ±2 م° لمدة 7 −5 ايام

ت	الفطريات	تركيز الفضة النانوية (ملغم /لتر)*						
		Control	5	10	15	20	25	معدل الفطريات (ملم)
1	*Alternaria atra*	35.00	20.00	11.67	13.33	13.33	13.33	17.78
2	*Aspergillus ustus*	48.33	43.33	35.00	45.33	21.67	33.33	37.83
3	*globosum Chaetomium*	40.00	31.67	33.33	18.33	26.67	25.67	29.28
4	*Cladosporium exasperatum*	46.67	36.67	30.00	38.33	28.33	21.67	33.61
5	*Microdochium nivale*	33.33	25.00	22.33	21.00	21.67	20.00	23.89
6	*1-Penicilliu tardochrysogenum*	31.67	23.33	23.33	28.33	25.00	18.33	25.00
7	*2-Penicillium tardochrysogenum*	28.33	18.33	18.33	18.33	21.67	13.33	19.72
معدل التراكيز الفضة النانوية		38.86	37.62	28.33	24.86	26.14	22.62	20.18

L.S.D0.05

معدل تراكيز الفطريات= 3.30 معدل التراكيز = 3.56 التداخل= 8.73

*كل رقم في الجدول يمثل معدل ثلاث مكررات.

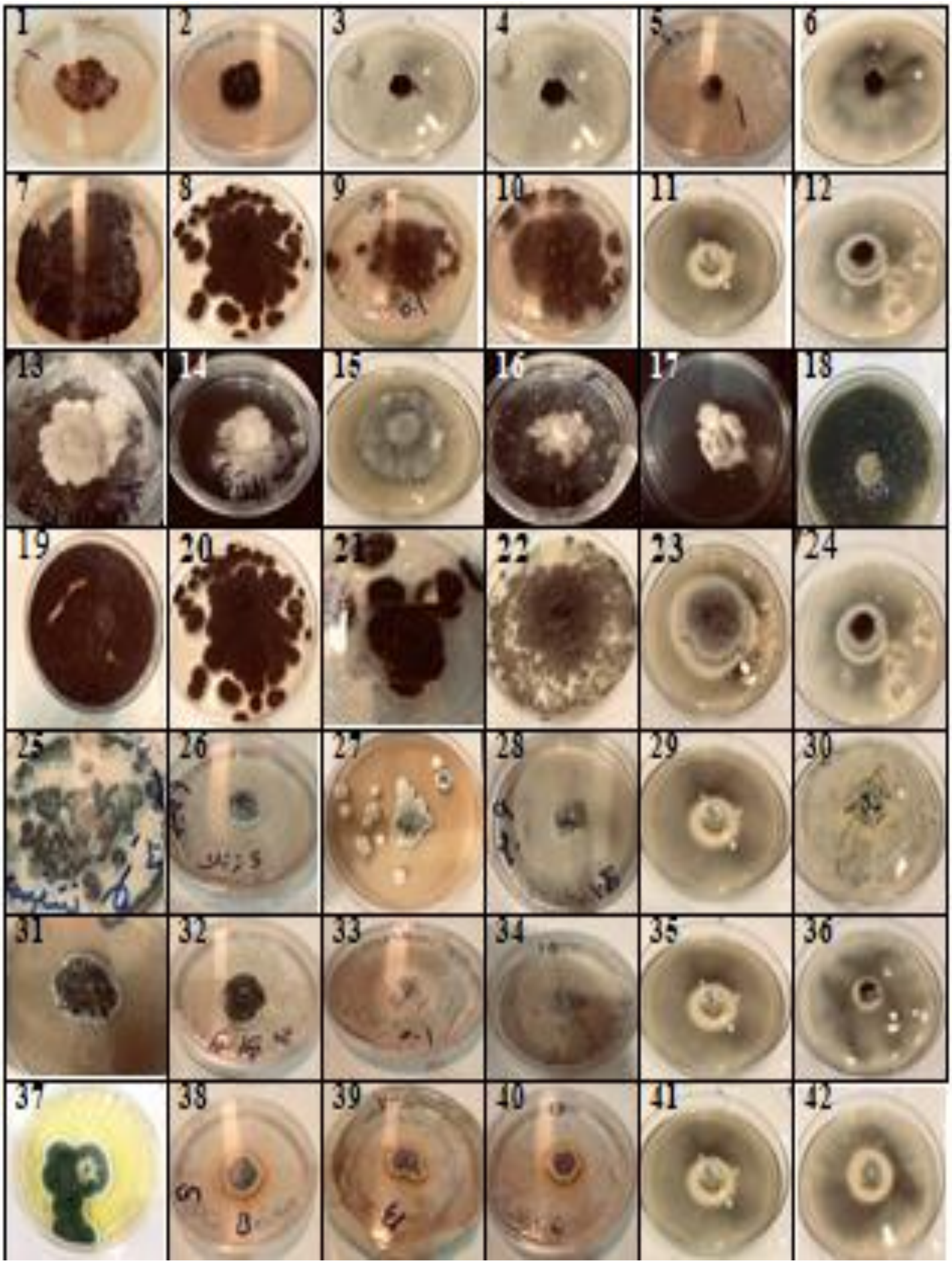
جدول (4-11)نسبة تثبيط الفطريات المعزولة من المخطوطات عند درجة حرارة 26 ± 2 م° وعلى وسط PDA بتركيز 5 ،10، 15، 20، 25 ملغم/ مل من الفضة النانوية

ت	الفطريات	5	10	15	20	25
1	*Alternaria atra*	25%	66%	62%	56%	49%
2	*Aspergillus ustus*	4.4%	42%	25%	43%	33%
3	*Chaetomium globosum*	29%	26%	49%	40%	35%
4	*Cladosporium exasperatum*	40%	23%	37%	30%	45%
5	*Microdochium nivale*	38%	27%	30%	45%	33%
6	*1-Penicillium tardochrysogenum*	8%	25%	20%	43%	49%
7	*2-Penicillium tardochrysogenum*	10%	55%	48%	27%	35%

4-5-2- التأثير على الشكل المظهري للمستعمرات النامية بوجود المادة النانوية ومقارنتها بالسيطرة : Control

1- تأثير الزنك النانوي:

يتضح من الشكل (4-14) ، أن الفطريات تباينت في نوع الاستجابة التثبيطية بفعل الزنك النانوي ، وتمثلت هذه الاستجابة بين تشوه في النمو مقارنة بالسيطرة Control ، حيث اتجهت المزرعة الفطرية بعيدا عن التأثير السمي للزنك النانوي وفضلت النمو بصورة عمودية لبعض الأنواع الفطرية وتبعا للتركيز ، فأصبحت بعض المزارع الفطرية المعاملة بالزنك النانوي تميل إلى ألارتفاع باتجاه غطاء الطبق . وتمثل التغير الاخر بإنتاج بعض الأصباغ التي غيرت اللون الطبيعي للوسط الزرعي كما حصل للفطر-2 *Penicillium tardochrysogenum* على سبيل المثال ،وجود مادة سوداء يرجح أنها مادة الميلانين وحصل ذلك مع فطريات أخرى ، وهذه النتيجة مقاربة لما تم وصفه من قبل Mehdi وجماعته، (2018) ، على الرغم من اختلاف الفطريات . وحصل أيضا تغيرا في لون الوسط الزرعي في بعض الفطريات إلى الوردي والوردي الغامق والبرتقالي كما هو واضح في الشكل نفسه .



الشكل (4-14): التراكيز المختلفة من الزنك النانوي في النمو للمستعمرات الفطرية على وسط PDA بدرجة حرارة 26±2 م° .لمدة 7 - 5 ايام.

1= control *Alternaria atra*

2=اضافة 5 ملغم زنك نانوي *للفطر* *Alternaria atra*

3= اضافة 10 ملغم زنك نانوي *للفطر* *Alternaria atra*

4 =اضافة 15 ملغم زنك نانوي للفطر *Alternaria atra*

5 =اضافة 20 ملغم زنك نانوي للفطر *Alternaria atra*

6 =اضافة 25 ملغم زنك نانوي للفطر *Alternaria atra*

7 =control *Aspergillus ustus*

8 =اضافة 5 ملغم زنك نانوي للفطر *Aspergillus ustus*

9 =اضافة 10 ملغم زنك نانوي للفطر *Aspergillus ustus*

10 =اضافة 15 ملغم زنك نانوي للفطر *Aspergillus ustus*

11 =اضافة 20 ملغم زنك نانوي *للفطر* *Aspergillus ustus*

12 =اضافة 25 ملغم زنك نانوي *للفطر* *Aspergillus ustus*

13 = Control *Chaetomium globosum*

14 =اضافة 5 ملغم زنك نانوي *للفطر* *Chaetomium globosum*

15 =اضافة 10 ملغم زنك نانوي للفطر *Chaetomium globosum*

16 =اضافة 15 ملغم زنك نانوي للفطر *Chaetomium globosum*

17 =اضافة 20 ملغم زنك نانوي *للفطر* *Chaetomium globosum*

18 =اضافة 25 ملغم زنك نانوي *للفطر* *Chaetomium globosum*

19= control *Cladosporium exasperatum*

20 =اضافة 5 ملغم زنك نانوي للفطر *Cladosporium exasperatum*

21 =اضافة 10 ملغم زنك نانوي للفطر *Cladosporium exasperatum*

22=اضافة 15 ملغم زنك نانوي *للفطر* *Cladosporium exasperatum*

23 =اضافة 20 ملغم زنك نانوي *للفطر* *Cladosporium exasperatum*

24 =اضافة 20 ملغم زنك نانوي للفطر *Cladosporium exasperatum*

25=control *Microdochium nivale*

26 =اضافة 5 ملغم زنك نانوي للفطر *Microdochium nivale*

27 =اضافة 10 ملغم زنك نانوي *للفطر* *Microdochium nivale*

28 =اضافة 15 ملغم زنك نانوي للفطر *Microdochium nivale*

29 =اضافة 20 ملغم زنك نانوي للفطر *Microdochium nivale*

30 =اضافة 25 ملغم زنك نانوي *للفطر* *Microdochium nivale*

31= control 1- P*enicillium tardochrysogenu*

32 =اضافة 5 ملغم زنك نانوي للفطر 1- *Penicillium tardochrysogenum*

33 =اضافة 10 ملغم زنك نانوي للفطر 1- *Penicillium tardochrysogenum*

34 =اضافة 15 ملغم زنك نانوي للفطر 1- *Penicillium ardochrysogenum*

35 =اضافة 20 ملغم زنك نانوي للفطر 1- *Penicillium tardochrysogenum*

36 =اضافة 25 ملغم زنك نانوي للفطر 1- *Penicillium tardochrysogenum*

37= control 2-*Penicillium tardochrysogenum*

38 =اضافة 5 ملغم زنك نانوي للفطر 2- *Penicillium tardochrysogenum*

39 =اضافة 10 ملغم زنك نانوي للفطر *2-Penicillium tardochrysogenum*

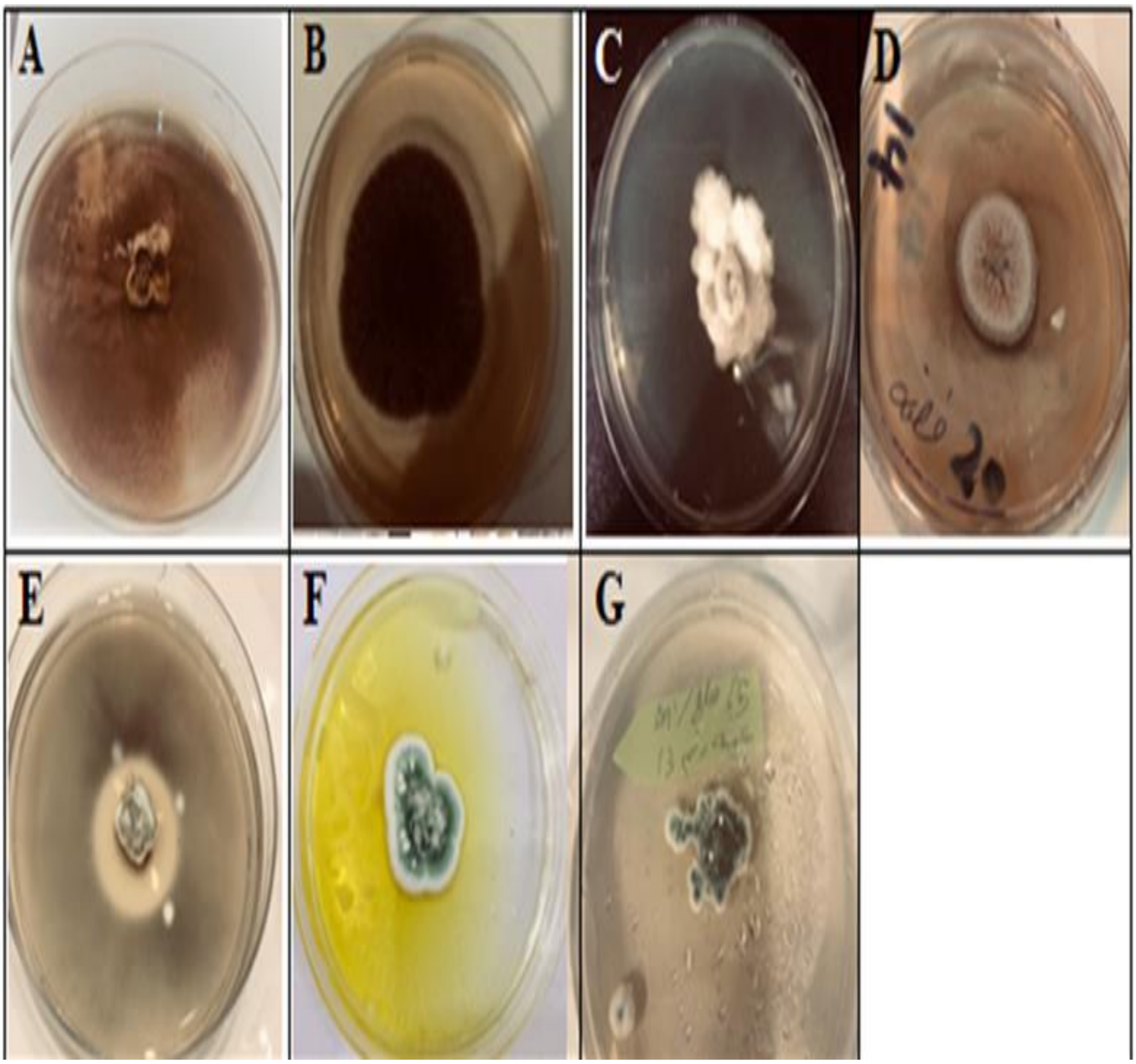
40 =اضافة 15 ملغم زنك نانوي للفطر 2- *Penicillium tardochrysogenum*

41 =اضافة 20 ملغم زنك نانوي للفطر *2-Penicillium tardochrysogenum*

42 =اضافة 25 ملغم زنك نانوي للفطر 2- *Penicillium tardochrysogenum*

2- تأثير الفضة النانوية :

اتجهت تأثيرات الفضة النانوية على الشكل المظهري للمزارع الفطرية بنفس الاتجاه والحالات التي تم وصفها في تأثير الزنك النانوي ، ويمثل الشكل (4-15) نموذجا لبعض هذه التأثيرات . ففي الشكل A يلاحظ أن إضافة 25 ملغم فضة نانوية للفطر *Alternaria atra* تقلص حجم النمو واتجاه نمو الفطر نحو الاعلى مع تلون الوسط الزرعي بلون بني غامق. أما في الشكل B فإن اضافة 15 ملغم فضة نانوية للفطر *Aspergillus ustus* يلاحظ تقلص في نمو الفطر مقارنة بالسيطرة ، مع عدم وجود تشوهات بالنمو أو أصباغ مضافة للوسط الزرعي من قبل الفطر. اما C فإن أضافة 15 ملغم فضة نانوية للفطر *Chaetomium globosum* يلاحظ تقلص في نمو الفطر مقارنة بالسيطرة ، مع وجود تشوهات بالنمو والاتجاه نحو الاعلى وعدم اصطباغ الوسط الزرعي من قبل الفطر. ويتضح في D ان اضافة 20 ملغم فضة نانوية للفطر *Cladosporium exasperatum* تقلص في نمو الفطر مقارنة بالسيطرة ، مع بطأ تكون الابواغ التي تلون سطح المزرعة باللون البني الغامق إلى الأسود ، وعدم اصطباغ الوسط الزرعي من قبل الفطر. كما يبين E اضافة 20 ملغم فضة نانوية للفطر *Microdochium nivale* يلاحظ تقلص في نمو الفطر مقارنة بالسيطرة وارتفاع المزرعة نتيجة نمو الفطر نحو الاعلى ، مع بطأ تكون الابواغ التي تلون سطح المزرعة باللون التركوازي الغامق الى البني الغامق ، وعدم اصطباغ الوسط الزرعي من قبل الفطر. و Fعند اضافة 20 ملغم فضة نانوية للفطر *Penicillium tardochrysogenum* -1 يلاحظ تقلص في نمو الفطر مقارنة بالسيطرة وارتفاع المزرعة نتيجة نمو الفطر نحو الأعلى بشكل غير منتظم ، و اصطباغ الوسط الزرعي من قبل الفطر باللون الاصفر . واخيرا فان اضافة 15 ملغم فضة نانوية للفطر *2- Penicillium tardochrysogenum* يلاحظ تقلص في نمو الفطر مقارنة بالسيطرة وعدم تشوه النمو ، و عدم اصطباغ الوسط الزرعي من قبل الفطر.



الشكل (4-15): التراكيز المختلفة من الفضة النانوية في النمو للمستعمرات الفطرية على وسط PDAبدرجة حرارة 26±2 م°. لمدة 7 - 5 ايام.

A= اضافة 25 ملغم فضة نانوية للفطر ***Alternaria atra***

B = اضافة 15 ملغم فضة نانوية للفطر ***Aspergillus ustus***

C= اضافة 15 ملغم فضة نانوية للفطر ***Chaetomium globosum***

D= اضافة 20 ملغم فضة نانوية للفطر ***Cladosporium exasperatum***

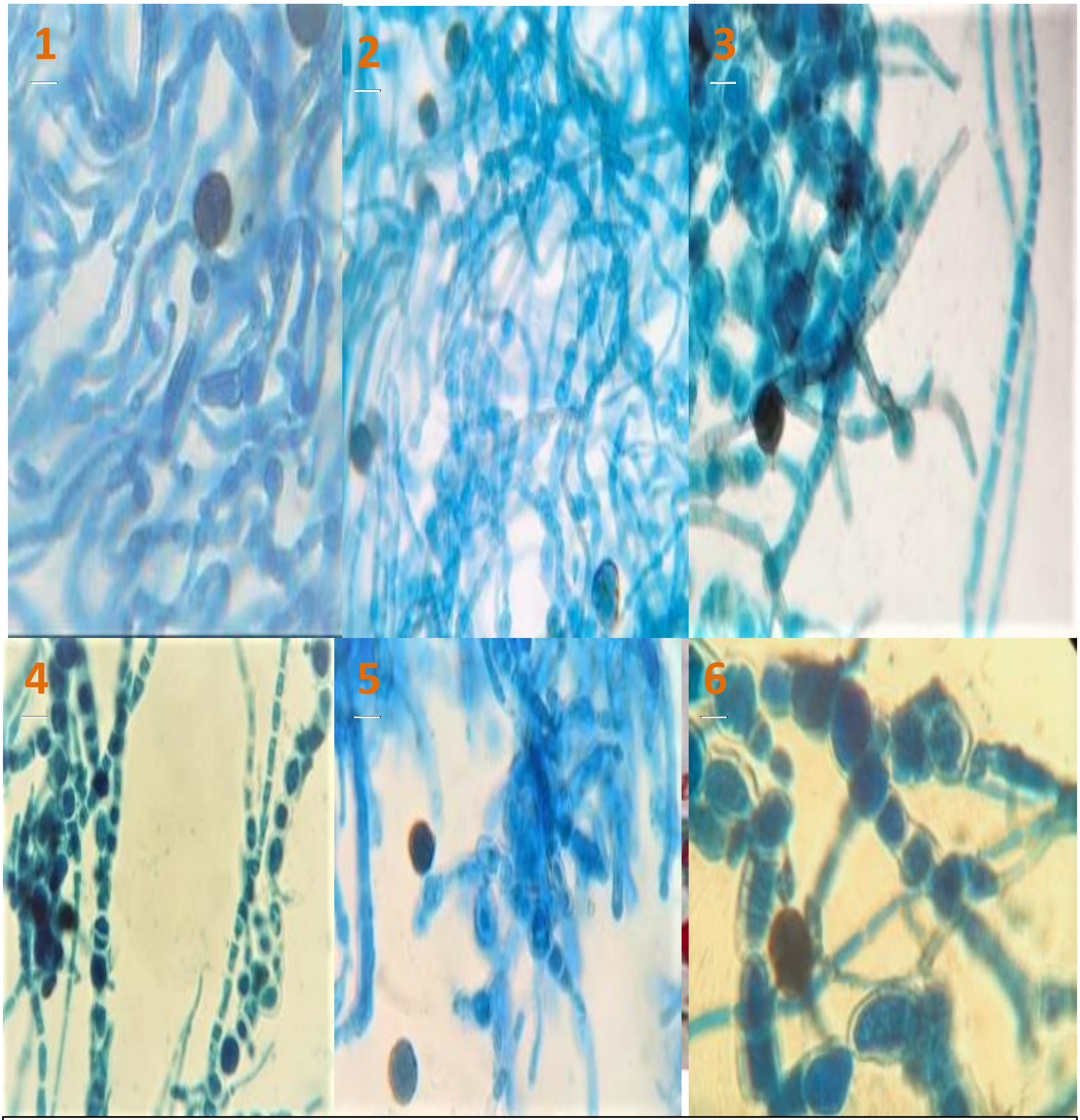
E= اضافة 20 ملغم فضة نانوية للفطر ***Microdochium nivale***

F= اضافة 20 ملغم فضة نانوية للفطر **1 - *Penicillium tardochrysogenum***

G= اضافة 15 ملغم فضة نانوية للفطر ***2–Penicillium tardochrysogenum***

4-6- التأثير على الصفات المجهرية للفطريات:-

اظهرت النتائج في الشكلين (4-16)و(4-17) أن للفضة والزنك النانوي تأثيرا على نمو وسلامة الخلايا الفطرية وحدوث هذا يعتمد على حسب تركيز المادة النانوية ومدة تعرضها الفطر للمواد حتى يصل الى حالات تدميرها وظهور تشوهات في الخيوط الفطرية وتأثيرها على جدران الخلايا (Lamsal, *et al.* 2011). اوضحت الفحوصات المجهرية للغزول الفطرية تأثرها بالمركبات النانوية مع زيادة تركيز المادة النانوية وكان هذا التأثير يتراوح بين التحطيم الكامل للغزل الفطري وانفجاره وخاصة في التراكيز العالية من المادة النانوية وبين تجمع بروتوبلازم الخلية الفطرية وخاصة في التراكيز المتوسطة من المادة النانوية ، أو انحراف في مجرى جريان الفطر ومحاولته الابتعاد عن المادة السامة بالتكتل في مكان معين من الحيز المجهري تحت الفحص وخاصة في التراكيز الواطئة ، فضلا عن اختزال الكونيديات أو صغر حجمها أو تشوهها تبعا لنوع الفطر وتركيز المادة النانوية ونوعها .وهذه النتيجة تشابه ماذكره Mehdi وجماعته(a, b, 2018) ، فقد يحصل انفصال للجدار الخلوي عن الغشاء البلازمي للفطر *Alternaria atra* المعامل بالفضة النانوية 10ملغم /لتر . أو يحصل تشوه وضمور للكونيديا بالفضة النانوية بتركيز 10ملغم /لتر . كما يحصل تشوه الرأس الكونيدي للفطر *Aspergillus ustus* بتركيز فضة نانوية10 ملغم /لتر وتقطع الغزول الفطرية ، مع تشوه الحوامل الكونيدية ، كما ويحصل تقطع الغزول الفطرية للفطر *Chaetomium globosum* مع فقدان شكلها بتركيز 10ملغم /لتر كذلك لم يتمكن الفطر من انتاج الاجسام الثمرية القارورية perithecium كما يلاحظ ظهور كلاميدوسبور طرفي . وحصول انتفاخ بالغزل الفطري ولا وجود للكونيديا بالتركيز 10ملغم /لتر ، فضلا عن حصول تجمع للمادة البروتوبلازمية في أحد الغزول الفطرية بتركيز 10ملغم /لتر يصحبه تفريغ الغزول الاخرى من البروتوبلازم بالتركيز 10ملغم /لتر ، كذلك قد ينتج حامل كونيدي مشوه مع فقدان الغزول الفطرية وتلفها بالتركيز 10ملغم /لتر وكذلك حصول رأس كونيدي مشوه بالتركيز 10ملغم /لتر رأس كونيدي مشوه بالتركيز 10ملغم /لترN مع حامل كونيدي مشوه مع فقدان الغزول الفطرية وتلفها بالتركيز 10ملغم /لتر للفطر الاخير الشكل(4-17).



الشكل(4-16): تأثير التراكيز المختلفة من الزنك النانوي في الشكل المجهري للمزارع الفطرية على وسط PDA بدرجة حرارة 25±2 ^{0} م .لمدة 7 -5 ايام. بقوة تكبير X 40

1= control *Alternaria atra*

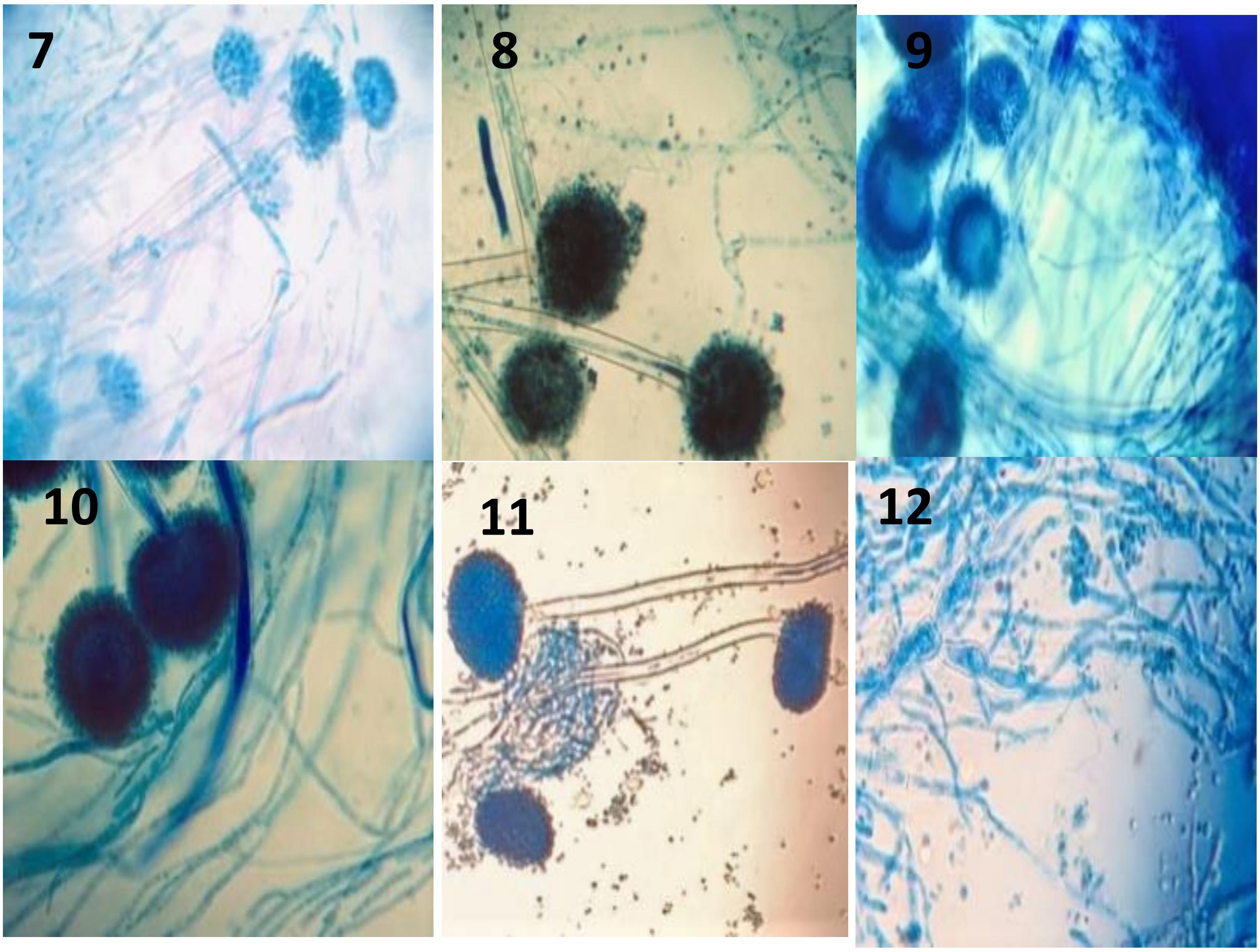
2=اضافة 5 ملغم زنك نانوي للفطر *Alternaria atra*

3= اضافة 10 ملغم زنك نانوي للفطر *Alternaria atra*

4=اضافة 15 ملغم زنك نانوي للفطر *Alternaria atra*

5=اضافة 20 ملغم زنك نانوي للفطر *Alternaria atra*

6=اضافة 25 ملغم زنك نانوي للفطر Alternaria atra



الشكل(4-16): تأثير التراكيز المختلفة من الزنك النانوي في الشكل المجهري للمزارع الفطرية على وسط PDA بدرجة حرارة 25±2 ^{0}م .لمدة7 -5 ايام. بقوة تكبير X 40

Aspergillus ustus control=7

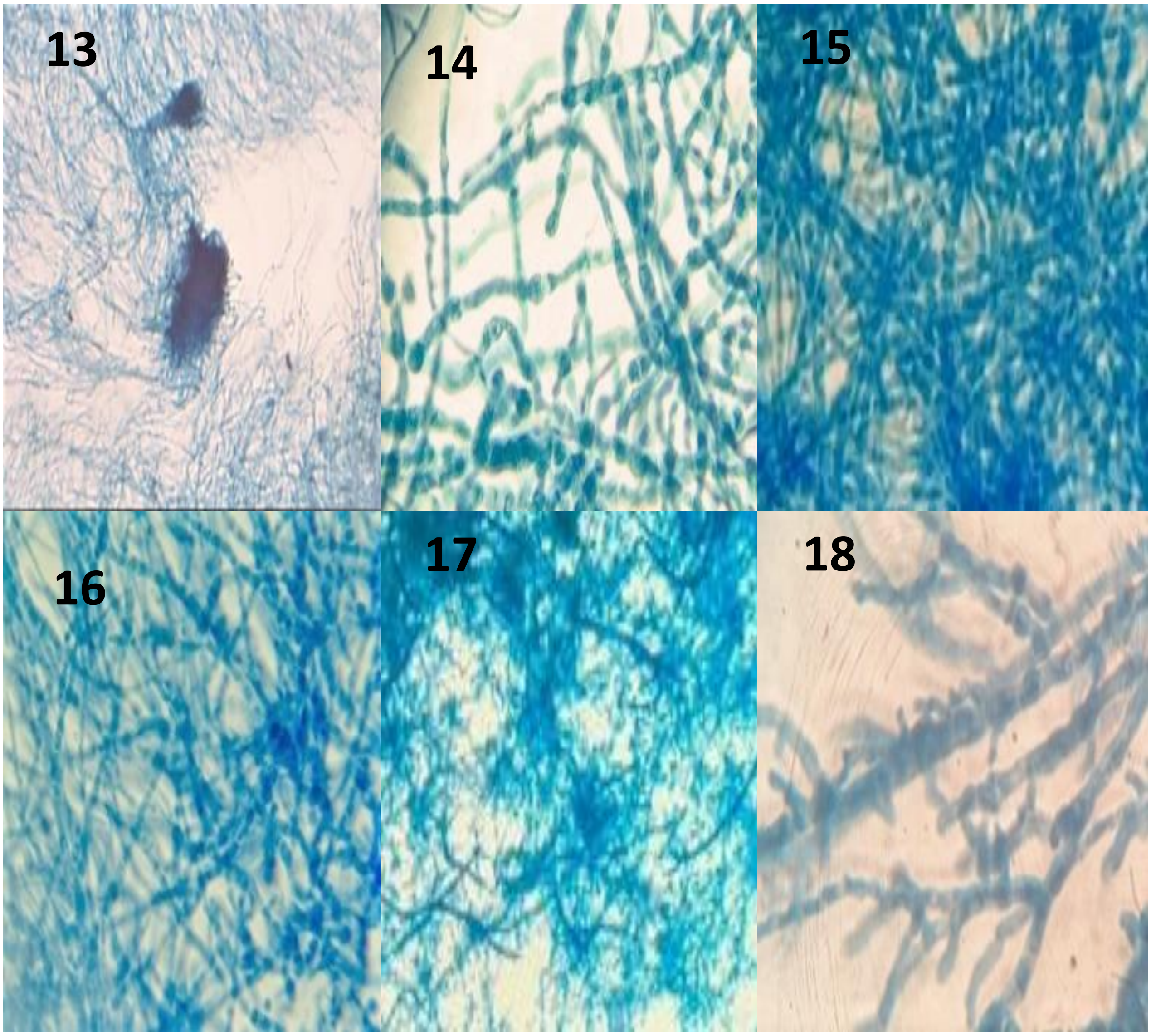
8=اضافة 5 ملغم زنك نانوي للفطر *Aspergillus ustus*

9=اضافة 10 ملغم زنك نانوي للفطر *Aspergillus ustus*

10=اضافة 15 ملغم زنك نانوي للفطر *Aspergillus ustus*

11=اضافة 20 ملغم زنك نانوي للفطر *Aspergillus ustus*

12=اضافة 25 ملغم زنك نانوي للفطر *Aspergillus ustus*



الشكل(4-16): تأثير التراكيز المختلفة من الزنك النانوي في الشكل المجهري للمزارع الفطرية على وسط PDA بدرجة حرارة 25±2 ^{0}م .لمدة 7 -5 ايام. بقوة تكبير X 40

13 = Control *Chaetomium globosum*

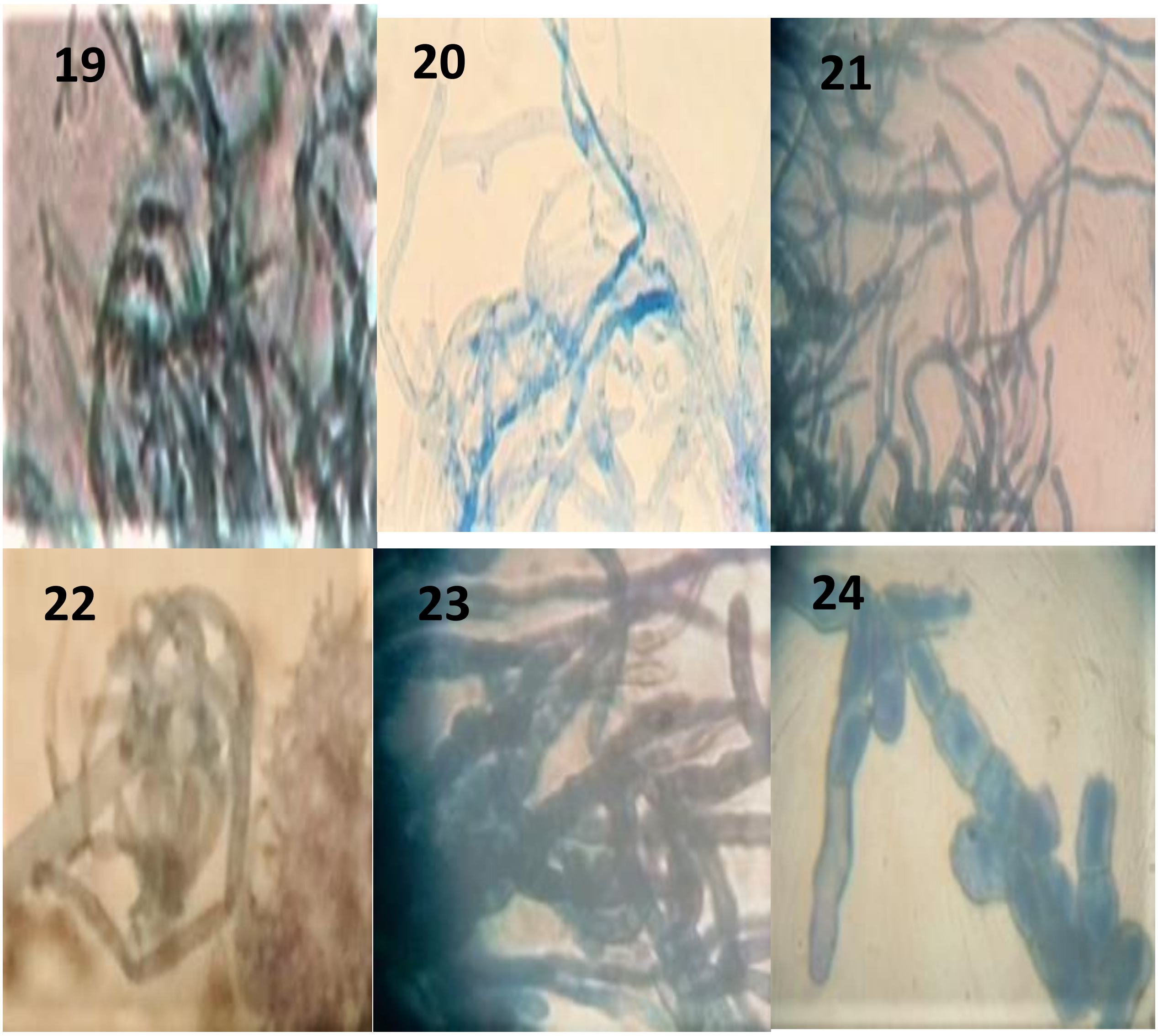
14 =اضافة 5 ملغم زنك نانوي للفطر *Chaetomium globosum*

15 =اضافة 10 ملغم زنك نانوي للفطر *Chaetomium globosum*

16 =اضافة 15 ملغم زنك نانوي للفطر *Chaetomium globosum*

17 =اضافة 20 ملغم زنك نانوي للفطر *Chaetomium globosum*

18 =اضافة 20 ملغم زنك نانوي للفطر *Chaetomium globosum*



الشكل(4-16): تأثير التراكيز المختلفة من الزنك النانوي في الشكل المجهري للمزارع الفطرية على وسط PDA بدرجة حرارة 25 ± 2 ^{0}م .لمدة 5-7 ايام. بقوة تكبير X 40

19= control *Cladosporium exasperatum*

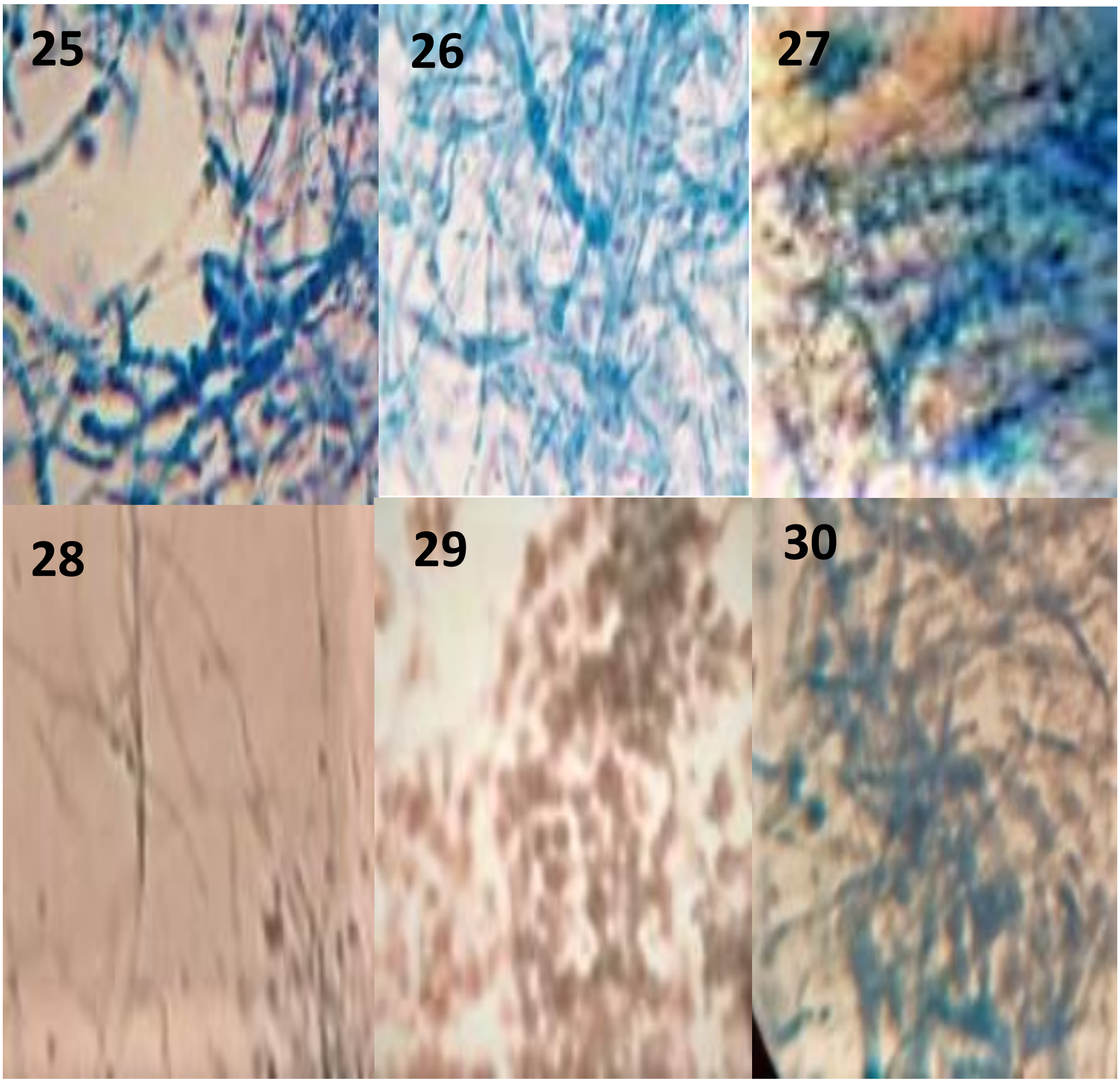
20 =اضافة 5 ملغم زنك نانوي للفطر *Cladosporium exasperatum*

21 =اضافة 10 ملغم زنك نانوي للفطر *Cladosporium exasperatum*

22اضافة 15 ملغم زنك نانوي للفطر *Cladosporium exasperatum*

23 =اضافة 20 ملغم زنك نانوي للفطر *Cladosporium exasperatum*

24 =اضافة5 2 ملغم زنك نانوي للفطر Cladosporium exasperatum



الشكل(4-16): تأثير التراكيز المختلفة من الزنك النانوي في الشكل المجهري للمزارع الفطرية على وسط PDA بدرجة حرارة 25±2 ^{0} م .لمدة 7-5ايام. بقوة تكبير X 40

25=control *Microdochium nivale*

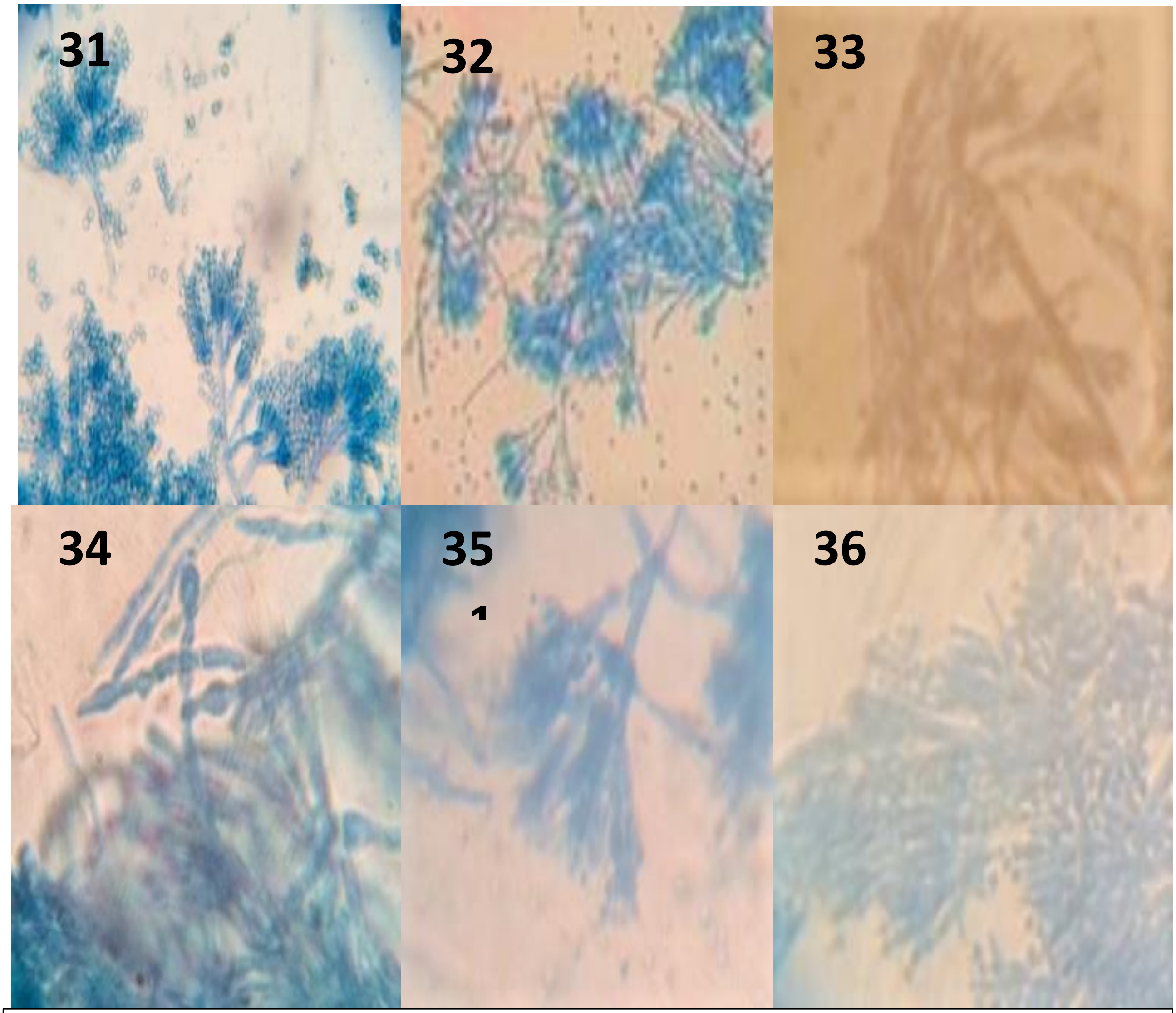
26 =اضافة 5 ملغم زنك نانوي للفطر *Microdochium nivale*

27 =اضافة 10 ملغم زنك نانوي للفطر *Microdochium nivale*

28 =اضافة 15 ملغم زنك نانوي للفطر *Microdochium nivale*

29 =اضافة 20 ملغم زنك نانوي للفطر *Microdochium nivale*

30 =اضافة 20 ملغم زنك نانوي للفطر *Microdochium nivale*



الشكل(4-16): تأثير التراكيز المختلفة من الزنك النانوي في الشكل المجهري للمزارع الفطرية على وسط PDA بدرجة حرارة 25±2 ^{0}م .لمدة 5 -7 ايام. بقوة تكبير X 40

1- *Penicillium tardochrysogenum* control =30

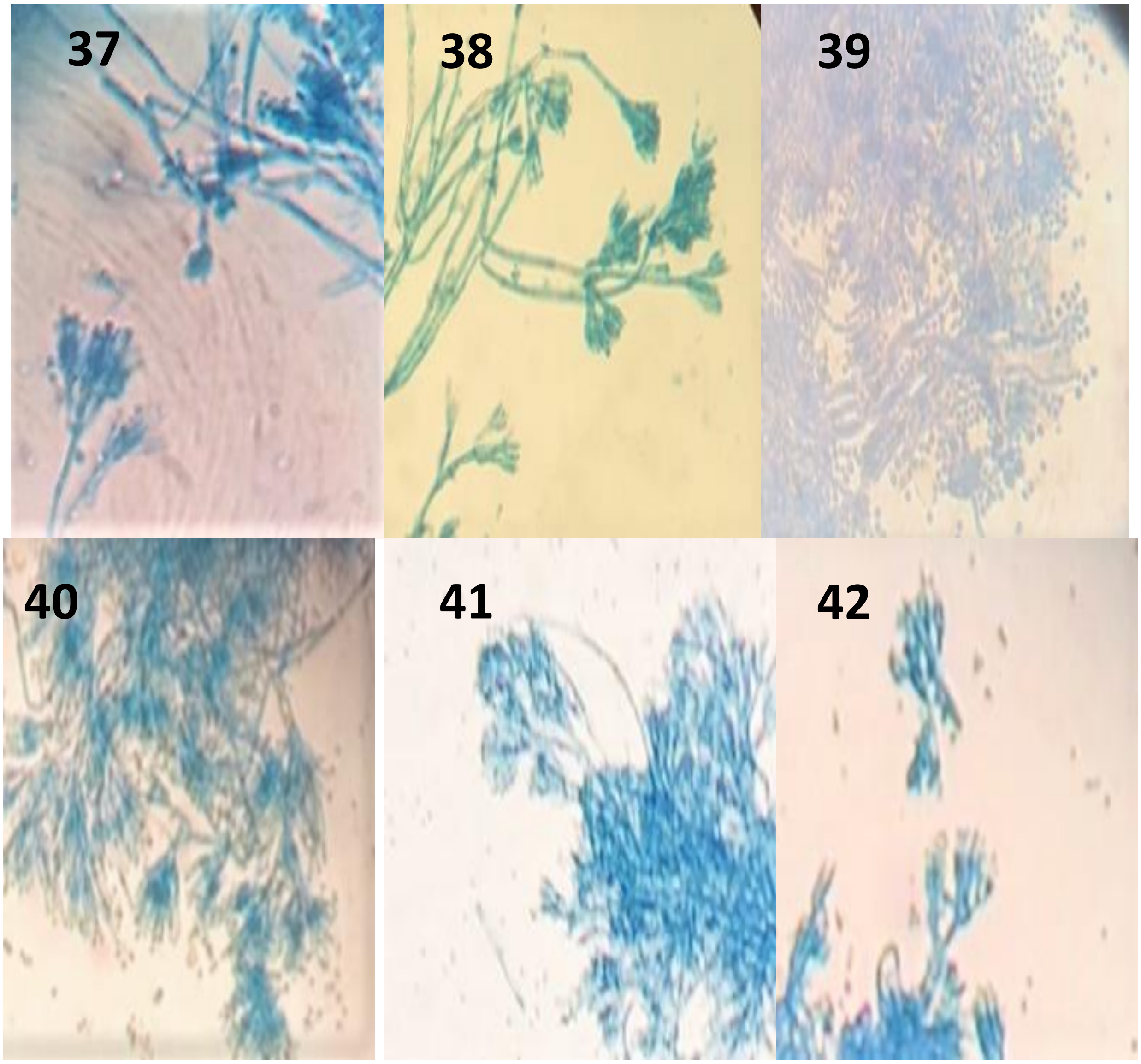
32 =اضافة 5 ملغم زنك نانوي للفطر *Penicillium tardochrysogenum* -1

33 =اضافة 10 ملغم زنك نانوي للفطر *Penicillium tardochrysogenum* -1

34 =اضافة 15 ملغم زنك نانوي للفطر *Penicillium tardochrysogenum* -1

35 =اضافة 20 ملغم زنك نانوي للفطر *Penicillium tardochrysogenum* -1

36 =اضافة 25 ملغم زنك نانوي للفطر *Penicillium tardochrysogenum* -1



الشكل(4-16): تأثير التراكيز المختلفة من الزنك النانوي في الشكل المجهري للمزارع الفطرية على وسط PDA بدرجة حرارة 25±2 0 م .لمدة 7-5ايام. بقوة تكبير X 40

37= control *2- Penicillium tardochrysogenum*

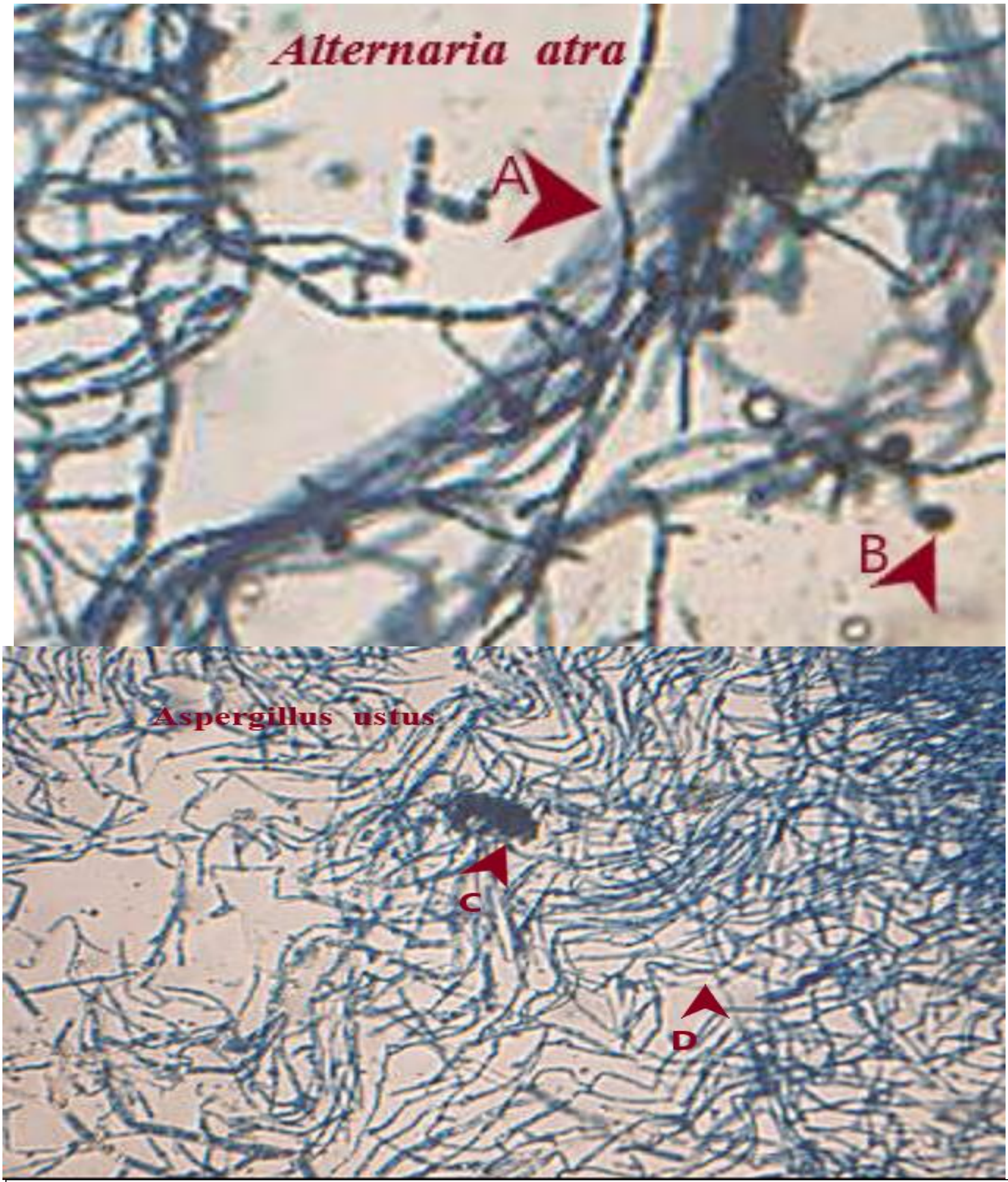
38 =اضافة 5 ملغم زنك نانوي للفطر *2- Penicillium tardochrysogenum*

39 =اضافة 10 ملغم زنك نانوي للفطر *2-Penicillium tardochrysogenum*

40 =اضافة 15 ملغم زنك نانوي للفطر *2- Penicillium tardochrysogenum*

41 =اضافة 20 ملغم زنك نانوي للفطر *2- Penicillium tardochrysogenum*

42 =اضافة 25 ملغم زنك نانوي للفطر *2- Penicillium tardochrysogenum*



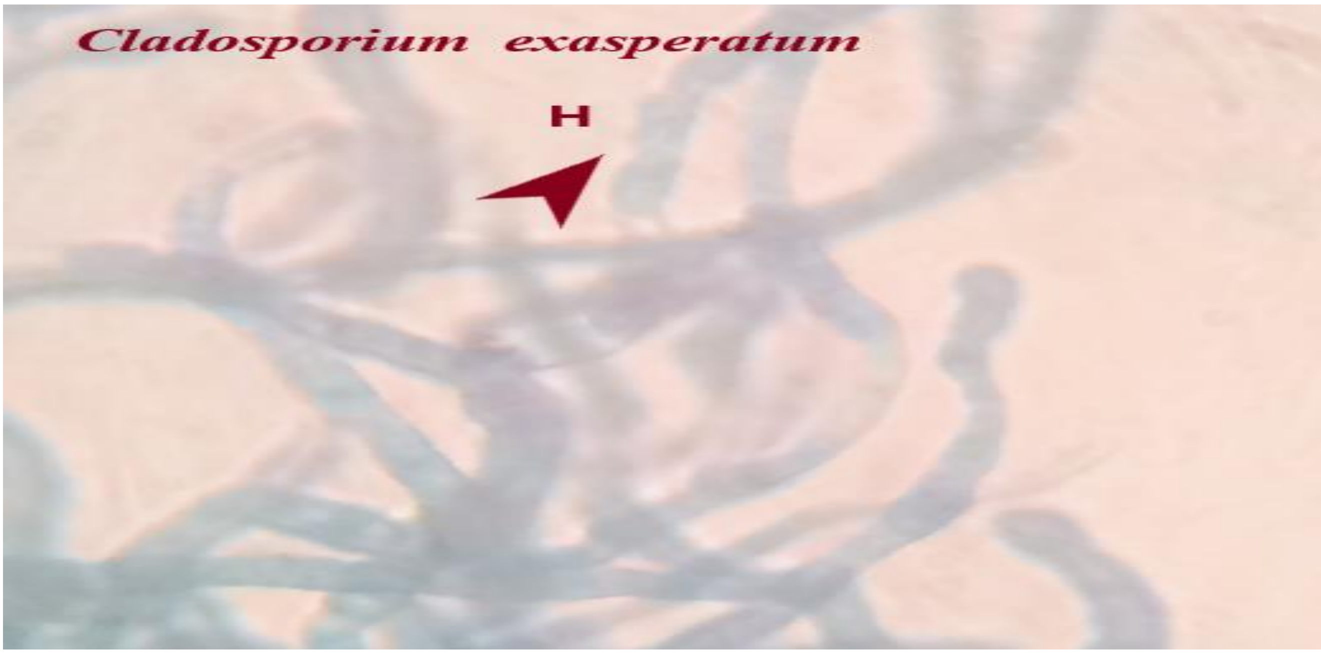
الشكل(4-17): تأثير التراكيز المختلفة من الفضة النانوية في الشكل المجهري للمزارع الفطرية على وسط PDA بدرجة حرارة 25±2 ^{0}م .لمدة 7-5 ايام. بقوة تكبير X 40

A= حصول انفصال للجدار الخلوي عن الغشاء البلازمي للفطر *Alternaria atra* *بالفضة النانوية* 10ملغم /لتر

B=حصول تشوه وضمور للكونيديا بالفضة النانوية بتركيز 10ملغم /لتر*Alternaria atra*

C=تشوه الرأس الكونيدي للفطر*Aspergillus ustus* بتركيز فضة نانوية10 ملغم /لتر

D= تقطع الغزول الفطرية ، مع تشوه الحوامل الكونيدية *Aspergillus ustus*



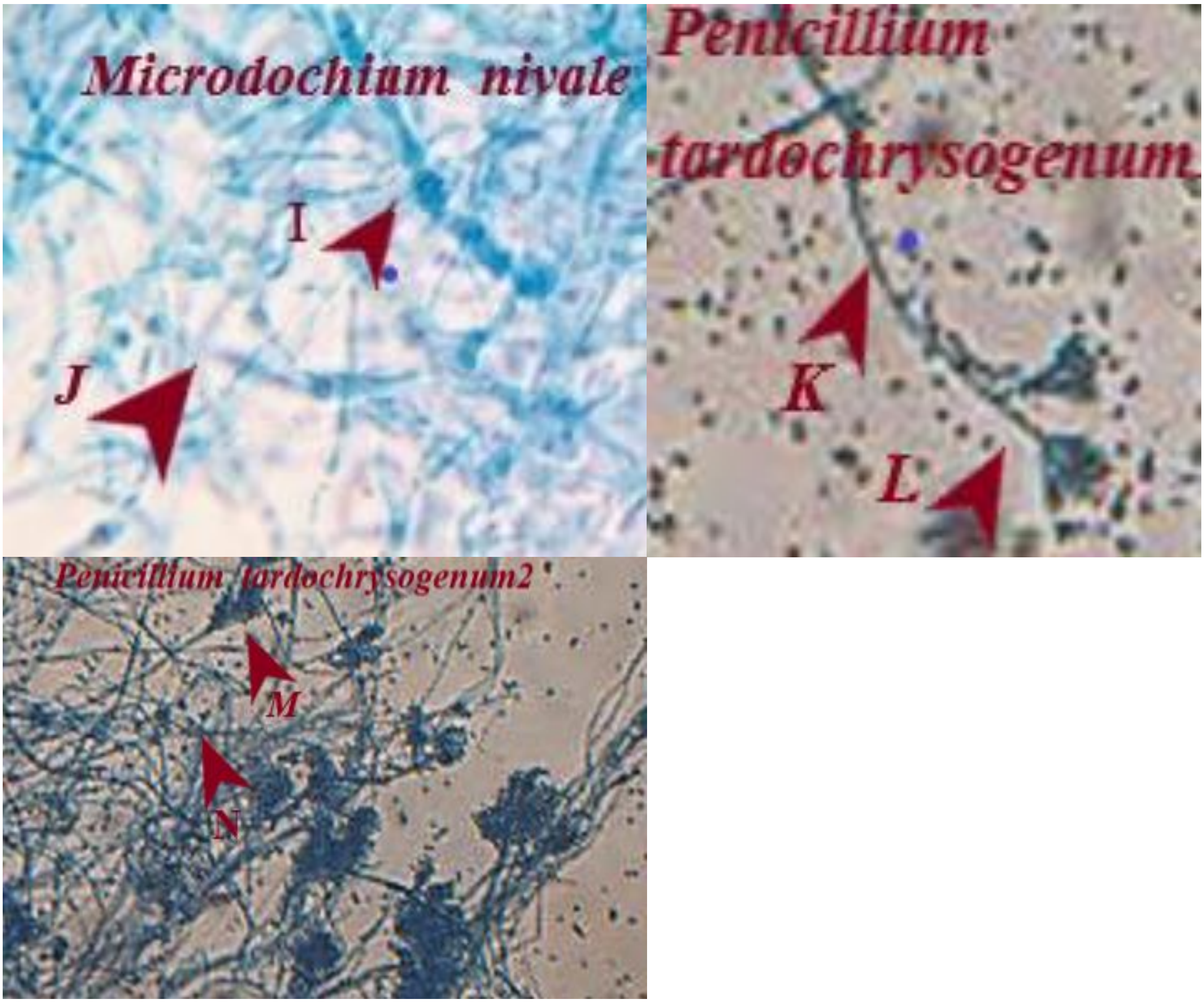
الشكل(4-17): تأثير التراكيز المختلفة من الفضة النانوية في الشكل المجهري للمزارع الفطرية على وسط PDA بدرجة حرارة 25±2 ^{0}م .لمدة 7-5 ايام. بقوة تكبير X 40

E=تقطع الغزول الفطرية للفطر *Chaetomium globosum* مع فقدان شكلها بتركيز 10ملغم /لتر

F= لم يتمكن الفطر *Chaetomium globosum* من انتاج الاجسام الثمرية القارورية perithecium

G= ظهور كلاميدوسبور طرفي في الفطر *Chaetomium globosum*

H= حصول انتفاخ بالغزل الفطري ولا وجود للكونيديا بالتركيز 10ملغم /لتر في الفطر *Cladosporium exasperatum*



الشكل(4-17): تأثير التراكيز المختلفة من الفضة النانوية في الشكل المجهري للمزارع الفطرية على وسط PDA بدرجة حرارة 25±2 ^{0} م .لمدة 7-5ايام. بقوة تكبير X 40

I= حصول تجمع للمادة البروتوبلازمية في احد الغزول الفطرية بتركيز 10ملغم /لتر في الفطر *Microdochium nivale*

J = تفريغ الغزول الاخرى من البروتوبلازم بالتركيز 10ملغم /لتر في الفطر *Microdochium nivale*

K= حامل كونيدي مشوه مع فقدان الغزول الفطرية وتلفها بالتركيز 10ملغم /لتر في الفطر *1-Penicillium tardochrysogenum*

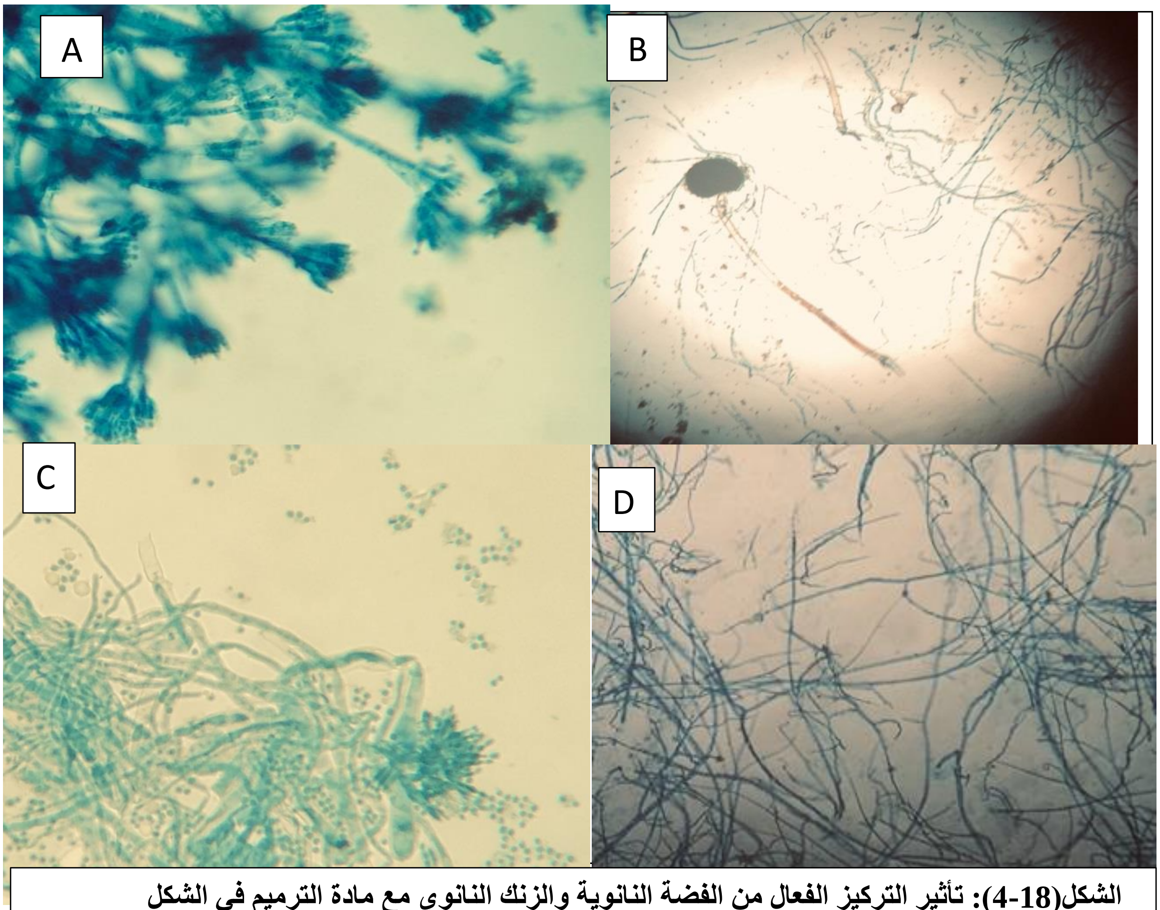
L = رأس كونيدي مشوه بالتركيز 10ملغم /لتر في الفطر *1-Penicillium tardochrysogenum*

M =رأس كونيدي مشوه بالتركيز 10ملغم /لترفي الفطر *2- Penicillium tardochrysogenum*

N= حامل كونيدي مشوه مع فقدان الغزول الفطرية وتلفها بالتركيز 10ملغم /لتر في الفطر *2- Penicillium tardochrysogenum*

4-7- اختبار التركيز المثبط من المادة النانوية مع المادة المستخدمة في ترميم المخطوطة:-

بينت عملية اضافة التركيز الفعال للمادة النانوية الزنك النانوي والفضة النانوية كل على حدة إلى مادة الترميم(1%مثيل هيدروكسي اثيل سليلوز MH6000) فعالية جيدة في تثبيط نمو الفطريات على المخطوطة ، حيث تم اختزال عدد الفطريات مقارنة بالمخطوطة قبل الترميم . وظهور فطريات بأجناس مختلفة وبأعداد قليلة على المخطوطة بعد الترميم بالمادة النانوية ومادة ترميم المخطوطات ، مما يدل على فعالية المواد النانوية في السيطرة على تلوث المخطوطات بالفطريات ذات القدرة على احداث الضرر لها ، .(Kim, 2012)



الشكل(4-18): تأثير التركيز الفعال من الفضة النانوية والزنك النانوي مع مادة الترميم في الشكل المجهري للمزارع الفطرية على وسط PDA بدرجة حرارة 25±2 ^{0}م .لمدة 1-5 ايام. بقوة تكبير X 40

A- الشكل المجهري للمزرعة الفطرية قبل اضافة التركيز الفعال من االزنك النانوي مع مادة الترميم.

B- الشكل المجهري للمزرعة الفطرية قبل اضافة التركيز الفعال من الفضة النانوية مع مادة الترميم.

C- الشكل المجهري للمزرعة الفطرية بعد اضافة التركيز الفعال من الزنك النانوي مع مادة الترميم.

D- الشكل المجهري للمزرعة الفطرية بعد اضافة التركيز الفعال من الفضة النانوية مع مادة الترميم.

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions and Recommendations

الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات : Conclusions

1- الفطريات السبعة التي تم عزلها وتشخيصها تقليديا وجزيئيا من المخطوطات في مركز حفظ المخطوطات التابع للعتبة الحسينية المقدسة ، تعتبر فطريات مكتشفة لأول مرة على المخطوطات خاصة وفي العراق عامة ، وتبين بانها تشابه العزلات العالمية .

2- الفطريات المعزولة جميعها كان لها قدرة على تحليل مواد المخطوطات بفعل فعالية الانزيمات السيليليز و البروتييز والامليز واللايبيز وهذا يدل على دورها في تلف المخطوطات بفعل فعاليتها الانزيمية المتعددة .

3- اثبت الزنك النانوي قدرته الاكثر في تثبيط نمو الفطريات من الفضة النانوية وخاصة في التركيز 25 ملغم/ لتر.

4- وجود الفضة النانوية أو الزنك النانوي ضمن عجينة ترميم وصيانة المخطوطات يسهم في تثبيط الفطريات التي تسبب التلف والاسراع من تقادم المخطوطات .

التوصيات: Recommendations

1- دراسة عزل الفطريات من المخطوطات لتغطي العدد الاكبر منها في تحليل الانزيمات المحللة لمكونات المخطوطات .

2- ايجاد الوسائل والتدابير التي تقلل من نمو أبواغ الفطريات على المخطوطات وتهيئة الوسائل التي تغير الظروف المناسبة لها من حيث درجة حرارة ورطوبة والمغذيات التي تساعد في نمو هذه الفطريات . واستخدام وسائل علمية متطورة في حفظ وصيانة المخطوطات.

3- استخدام المادة النانوية (الزنك) وبتركيز 25 ملغم /مل كجزء من مادة الترميم المخطوطات .

4- استخدام مواد نانوية اخرى من غير ما ذكرة في الدراسة مثل (التيتانيوم, ZNO, النحاس, وخليط الفضة والزنك النانوي) واختبارها على الفطريات المتواجدة على المخطوطة التاريخية لتحضير المركب الحيوي .

المصادر

Reference

المصادر العربية

التميمي، زينب لطيف حميد .(2019). الخصائص الجزيئية للفطر *Rhizoctonia solani* على نبات الطماطة وإمكانية مكافحته باستخدام العوامل الحيوية والتقنية النانوية. رسالة ماجستير ،جامعة كربلاء، العراق.

الوائلي، محمد هادي دخيل. (2018) .خصائص الفطريات المرافقة للمخطوطات في العتبة الحسينية المقدسة في مدينة كربلاء. جامعة كربلاء.

أبو كرورة،اماني محمد كامل . (2018) ز'بعض التطبيقات العلمية الحديثة الواجب استخدامها في مجال ترميم وصيانة القطع الأثرية'. مجلة العمارة والفنون والعلوم الإنسانية . 10 66–56 . ,(2)

الاسكندراني، محمد شريف (2010) . تكنولوجيا النانو من اجل غد افضل. عالم المعرفة المجلس الوطني للثقافة والفنون والاداب. الكويت .328صفحة.

النجفي، طلال سعيد . (1978). الكيمياء الحياتية. الموصل: مديرية دار الكتب للطباعة والنشر جامعة الموصل.

السيد يوسف، مصطفى . (2002) .صيانة المخطوطات علما وعملا .القاهرة: عالم الكتب الطبعة الثانية. صفحة 240 الطبعة الثانية . الصفحات 240

حسين، سراب فاضل و محمد ، بان طه .(2014) ز'دور بعض االعناصر المعدنية ومصادر الكاربون والنيتروجين في فعالية انزيم البروتيز المنتج من عزلة محلية للفطر *Aspergillus niger* . مجلة جامعة كربلاء العلمية. 12 (2)، 307–314.

عبد العظيم، محمد حسن . (2018) .المخطوطات العربية في المكتبة المركزية لجامعة القاهرة ، دراسة في تكون المجموعات وضبطها وخصائصها'. الخزانة .3 (2). 60 صفحة.

محمد ، بان طه ; الوائلي ،محمد هادي دخيل ؛ المطيري ،ذكرى محمد كاظم .(2018). عزل وتشخيص بعض الفطريات من العاملين في مركز صيانة المخطوطات في العتبة الحسينية المقدسة وتأثيراتها التحسسية . مجلة جامعة كربلاء العلمية .المجلد :16العدد (1). الصفحات : 137-151.. رسالة ماجستير . جامعة كربلاء.

المصـــــــادر الاجنبيـــــة

Abou El-Nour, K.M.M., Eftaiha, A., Al-Warthan, A., and Ammar, R.A.A. (2010) .'Synthesis and Applications of Silver Nanoparticles'. *Arabian Journal of Chemistry* .3 (3): 135–140.

Abdel-Hafez, S.I.I. (1982). 'Cellulose-Decomposing Fungi of Desert Soils in Saudi Arabia'. *Mycopathologia* 78 (2): 73–78.

Akin, D.E. and Benner, R. (1988) .'Degradation of Polysaccharides and Lignin by Ruminal Bacteria and Fungi.' Applied and Environmental Microbiology 54(5): 1117–1125.

Abbott, W.S. (1925) .'The Value of the Dry Substitutes for Liquid Lime'. *Journal of Economic Entomology* .18: 265–267.

Al-Hamdany, M.A. (2016-2019) .Arabic Encyclopedia of Plant Pathology & Fungi.

Al-Sayed, M.M.Y. (2002). *Maintenance of The manuscripts note and act, Dar Al-Arab Writer for Printing and Publishing*. 2 nd. Al-Ryiad: Aalem-Al_kotob.

https://www.researchgate.net/project/Arabic-Encyclopedia-of-Plant-Pathology-Fungi

Bensch, K., Braun, U., Groenewald, J.Z., and Crous, P.W. (2012).'The Genus Cladosporium'. *Studies in Mycology* 72: 1-401.

Bensch, K., Groenewald, J.Z., Dijksterhuis, J., Starink-Willemse, M., Andersen, B., Summerell, B.A., Shin, H.D., Dugan, F.M., Schroers, H.J., Braun, U., and Crous, P.W. (2010). 'Species and Ecological Diversity within the Cladosporium Cladosporioides Complex

(Davidiellaceae, Capnodiales)’. *Studies in Mycology* 67: 1–94.

Baldrian, P. and Valášková, V. (2008). ‘Degradation of Cellulose by Basidiomycetous Fungi’. in *FEMS Microbiology Reviews*.

Beales, N. (2004). ‘Adaptation of Microorganisms to Cold Temperatures, Weak Acid Preservatives, Low PH, and Osmotic Stress: A Review’. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 3 (1): 1–20.

Bergero, R., Girlanda, M., Varese, G.C., Intili, D., and Luppi, A.M. (1999). ‘Psychrooligotrophic Fungi from Arctic Soils of Franz Joseph Land’. *Polar Biolog* 21 (6): 361–368.

Brayner, R., Ferrari-Iliou, R., Brivois, N., Djediat, S., Benedetti, M.F., and Fiévet, F. (2006). ‘Toxicological Impact Studies Based on *Escherichia Coli* Bacteria in Ultrafine ZnO Nanoparticles Colloidal Medium’. *Nano Letters* .6 (4):866–870.

Bahjat, S.A., Younis, A., Musa ’ab, S., and Salih, H. (2013) .‘Isolation and characterization of cellulolytic bacteria from historic Documents’. *Journal of Education & Science* .26 (261): 22–31.

Brinchi, L., Cotana, F., Fortunati, E., and Kenny, J.M. (2013) .‘Production of Nanocrystalline Cellulose from Lignocellul Biomass: Technology and Applications’. *Carbohydrate Polymers* 94 (1): 154–169.

Booth, C. (1971). *The Genus Fusarium.* Kew, UK , Commonwealth Mycological Institute. 237.

Bååth, E. and Söderström, B. (1980) .‘Degradation of Macromolecules by Microfungi Isolated from Different Podzolic Soil Horizons ’ . *Canadian Journal of Botany* .58 (4), 422–425 .

BILLS, G.F. and FOSTER, M.S. (2004) .‘Formulae for selected materials and fungal allies used to isolate and study fungi

compiled'. in *Biodiversity of Fungi*: Inventory and Monitoring Methods. ed. by M.Mueller, G., F.Bills, G., and S.Foster, M. 580–604.

Booth, T., Gorrie, S., and Muhsin, T.M. (2015) .'Mycological Society of America Life Strategies among Fungal Assemblages on Salicornia Europaea Aggregate '. Source *Mycologia* .80 (2): 176–191.

Carmen V. Sciortino Jr. (2017). *Atlas of Clinically Important Fungi*. ed. by Well, W.B. Louisville, kentucky, USA

Carlile, M.J., Watkinson, S.C., and Gooday, G.W. (1994). *The Fungi*. First edit. London: Academic Press in A Harcourt Science and Technology Company.603.

Carmen V. Sciortino, J. (2017). *Atlas of Clinically Important Fungi*. First Edit. Canada.479.

Chamekh, R., Deniel, F., Donot, C., Jany, J.L., Nodet, P., and Belabid, L. (2019) .'Isolation, Identification and Enzymatic Activity of Halotolerant and Halophilic Fungi from the Great Sebkha of Oran in Northwestern of Algeria'. *Mycobiology* 230 (241), 230–241.

Chan, W.C.W. and Nie, S. (1998). 'Quantum Dot Bioconjugates for Ultrasensitive Nonisotopic Detection'. *Science.* 281, (5385): 2016-2018.

Chen, K.L. and Elimelech, M. (2006) .'Aggregation and Deposition Kinetics of Fullerene (C60) Nanoparticles'. *Langmuir* .22(26):10994-11001.

Conti, S., Tosini, I., Bracaloni, E., Matteini, M., Massafra, M.R., Matteini, P., and Pini, R. (2011) .'Study and Use of Organic and Inorganic Nanostructured Consolidants in the Conservation and Treatment of Archaeological Burial Textiles Titre et Résumé Étude et Utilisation d ' Agents de Consolidation Nanostructurés Organiques et Inorganiques Dans La Resta'. in *Symposium A Quarterly Journal In Modern Foreign Literatures*. held 2011: 1–23.

Cho, K.H., Park, J.E., Osaka, T., and Park, S.G. (2005) .'The Study of Antimicrobial Activity and Preservative Effects of Nanosilver Ingredient'. *Electrochimica Acta* .51 (5): 956–960.

Dimkpa, C.O., McLean, J.E., Britt, D.W., and Anderson, A.J. (2013) .'Antifungal Activity of ZnO Nanoparticles and Their Interactive Effect with a Biocontrol Bacterium on Growth Antagonism of the Plant Pathogen Fusarium Graminearum'. *BioMetals* .26 (6): 913-924.

Ellis, M. (1971). Dematiaceous by Phomycetes Common Weather Mycological Institute. Kew , Surrey England.

Fadeyibi, A., Osunde, Z., and Yisa, M.G. (2019) .'Optimization of Processing Parameters of Nanocomposite Film for Fresh Sliced Okra Packaging'. *Journal of Applied Packaging Research* .11 (2): 1–20.

Feng, Q.L., Wu, J., Chen, G.Q., Cui, F.Z., Kim, T.N., and Kim, J.O. (2000) .'A Mechanistic Study of the Antibacterial Effect of Silver Ions on Escherichia Coli and Staphylococcus Aureus'. *Journal of Biomedical Materials Research* .52 (4): 662–668.

Fiddyment, S., Holsinger, B., Ruzzier, C., Devine, A., Binois, A., Albarella, U., Fischer, R., Nichols, E., Curtis, A., Cheese, E., Teasdale, M.D., Checkley-Scott, C., Milner, S.J., Rudy, K.M., Johnson, E.J., Vnouček, J., Garrison, M., McGrory, S., Bradley, D.G., and Collins, M.J. (2015) .'Animal Origin of 13th-Century Uterine Vellum Revealed Using Noninvasive Peptide Fingerprinting'. *Proceedings of the National Academy of Sciences* .112(49):15066-15071.

Fouda, M.M. (2012). 'Antibacterial Modification of Textiles Using Nanotechnology'. in *De A Search for Antibacterial Agents, DV Bobbarala, Ed., INTECH Open Access Publisher*. 47–72.

Galea, V.J., Price, T.V., and Sutton, B.C. (2009). 'Taxonomy and Biology of the Lettuce Anthracnose Fungus'. *Transactions of the British Mycological Society*.86 (4): 619–628.

Ganguly, S. and Mukhopadhayay, S.K. (2011) .'Nano Science and Nanotechnology : Journey from Past to Present and Prospect in Veterinary Science and Medicine'. *International Journal of NanoScience and Nanotechnology* .2 (1): 79–83.

Gauthami, M., Srinivasan, N., M. Goud, N., Boopalan, K., and Thirumurugan, K. (2015) .'Synthesis of Silver Nanoparticles Using Cinnamomum Zeylanicum Bark Extract and Its Antioxidant Activity'. *Nanoscience &Nanotechnology-Asia*. 5 (1): 2–7.

Gerlach, W. and Nirenberg, H. (1982). *The Genus Fusarium--a Pictorial Atlas*.209:1-406.

Gonçalves, V.N., Oliveira, F.S., Carvalho, C.R., Schaefer, C.E.G.R., Rosa, C.A., and Rosa, L.H. (2017). 'Antarctic Rocks from Continental Antarctica as Source of Potential Human Opportunistic Fungi'. *Extremophiles* .21(5):851-860.

Gupta, J., Bharati Pathak, 1, Sethi, N., and Vora`, V.C. (1981) .'Histopathology of Mycotoxicosis Produced in Swiss Albino Mice by Metabolites of Some Fungal Isolates'. *Applied and Environmental Microbiology* .41 (3): 752–757.

Gomes, E.C.Q., Godinho, V.M., Silva, D.A.S., de Paula, M.T.R., Vitoreli, G.A., Zani, C.L., Alves, T.M.A., Junior, P.A.S., Murta, S.M.F., Barbosa, E.C., Oliveira, J.G., Oliveira, F.S., Carvalho, C.R., Ferreira, M.C., Rosa, C.A., and Rosa, L.H. (2018). 'Cultivable Fungi Present in Antarctic Soils: Taxonomy, Phylogeny, Diversity, and Bioprospecting of Antiparasitic and Herbicidal Metabolites'. *Extremophiles*.

Gossen, B.D., Hsiang, T., and Murray, T.D. (2001). Chapter 15 from " Low Temperature Plant Microbe Interactions Under Snow ". Editors : N . Iriki , D . A . Gaudet , A . M . Tronsmo , N . Matsumoto , M . Yoshida and A . Managing Snow Mold Diseases of Winter Cereals and Turf. (January). 181–192

Hamdany, M.A. (1995) .Arabic Encyclopedia of Plant Pathology &Fungi.

Hashemloo, E., Zavareh, A.-H.J., and Ghosta, Y. (2015) .'Taxonomic Study of Endophytic Species of Alternaria from Prunus Trees in Urmia and Miandoab in W Azarbaijan Province (NW Iran)'. *Rostaniha* .16 (1): 88–100.

He, L., Liu, Y., Mustapha, A., and Lin, M. (2011). 'Antifungal Activity of Zinc Oxide Nanoparticles against Botrytis Cinerea and Penicillium Expansum'. *Microbiological Research* .166 (3): 207–215.

Hernández-Restrepo, M., Groenewald, J.Z., and Crous, P.W. (2016). 'Taxonomic and Phylogenetic Re-Evaluation of Microdochium, Monographella and Idriella'. *Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi* 36 (JUNE): 57–82.

Hankin, L. and Anagnostakis, S.L. (1975) '.The Use of Solid Media for Detection of Enzyme Production by Fungi'. *Mycologia* .67 (3): 597–607.

Houbraken, J., Frisvad, J.C., and Samson, R.A. (2011) .'Taxonomy of Penicillium Section Citrina'. *Studies in Mycology* .15,70(1):53-138.

Hwang, E.T., Lee, J.H., Chae, Y.J., Kim, Y.S., Kim, B.C., Sang, B.I., and Gu, M.B. (2008). 'Analysis of the Toxic Mode of Action of Silver Nanoparticles Using Stress-Specific Bioluminescent Bacteria'. *Small* 4 (6): 746–750.

Iwamoto, S., Nakagaito, A.N., and Yano, H. (2007) .'Nano-Fibrillation of Pulp Fibers for the Processing of Transparent Nanocomposites'. *Applied*

Physics A: Materials Science and Processing. 89(2): 461-466.

Jecu, L. (2000) 'Solid State Fermentation of Agricultural Wastes for Endoglucanase Production'. *Industrial Crops and Products* 11 (1): 1-5.

Kanafani1, Z.A. and Perfect2, J.R. (2008). 'Resistance to Antifungal Agents: Mechanisms and Clinical Impact'. *Clinical Infectious Diseases* .46 (1): 120–128.

Khalid, M., Yang, W., Kishwar, N., Rajput, Z.I., and Arijo, A.G. (2006) .'Study of Cellulolytic Soil Fungi and Two Nova Species and New Medium'. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B.* 7 (6): 459-466.

Kheybari, S., Samadi, N., Hosseini, S. V, Fazeli, A., and Fazeli ,M.R. (2010) .'Synthesis and Antimicrobial Effects of Silver Nanoparticles Produced by Chemical Reduction Method.' *Daru :Journal of Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences* 18 (3): 168–172.

Kim, J.S., Kuk, E., Yu, K.N., Kim, J.H., Park, S.J., Lee, H.J., Kim, S.H., Park, Y.K., Park, Y.H., Hwang, C.Y., Kim, Y.K., Lee, Y.S., Jeong, D.H., and Cho, M.H. (2007). 'Antimicrobial Effects of Silver Nanoparticles'. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* .3(1):95-101.

Kim, S.W., Jung, J.H., Lamsal, K., Kim, Y.S., Min, J.S., and Lee, Y.S. (2012). 'Antifungal Effects of Silver Nanoparticles (AgNPs) against Various Plant Pathogenic Fungi'. *Mycobiology* .40 (1): 53–58.

Klich, M.A. (2007). 'Aspergillus Flavus: The Major Producer of Aflatoxin'. in *Molecular Plant Pathology*.

Kwon-Chung, K.J. and Bennett J E. (1992) .*Medical Mycology.* Lea and Febiger , Philadelphia , London.

Landage, S.., Wasif, A.., and Dhuppe, P. (2014) . 'Synthesis of Nanosilver Using Chemical Reduction Methods'. *International Journal of Advanced*

Research in Engineering and Applied Sciences .3 (5): 14–22.

Lamsal, K., Kim, S.W., Jung, J.H., Kim, Y.S., Kim, K.S., and Lee, Y.S. (2011).‘Application of Silver Nanoparticles for the Control of Colletotrichum Species in Vitro and Pepper Anthracnose Disease in Field’. *Mycobiology* 39 (3): 194–199.

Lee, J.S., Kim, S.I., Yoon, J.C., and Jang, J.H. (2013). ‘Chemical Vapor Deposition of Mesoporous Graphene Nanoballs for Supercapacitor’. *ACS Nan* 23:7(7):6047-6055.

Lee, Y.N., Kwon, E.M., Kim, J.-C., and Yu, S.H. (2004). ‘Biological _ Control_of_Botrytis_Leaf_Blight_of_Lily.Pdf’. *Res Plant Dis.* 10 (4): 319–323.

Liu, Y., Zachow, C., Raaijmakers, J.M., and De Bruijn, I. (2016) .‘Elucidating the Diversity of Aquatic Microdochium and Trichoderma Species and Their Activity against the Fish Pathogen Saprolegnia Diclina’. *International Journal of Molecular Sciences* .17 (1): 1–15.

Linko, M. (2005) .‘An Evaluation of Enzymatic Hydrolysis of Cellulosic Materials’. *Advances in Biochemical Engineering,* Volume 5: 25–48.

Maurin, N., Rezanoor, H., Lamkadmi, Z., Somé, A., Nicholson, P., Maurin, N., Rezanoor, H., Lamkadmi, Z., Somé, A., and Nicholson, P.A. (1995) . *A Comparison of Biological , Molecular and Enzymatic Markers to Investigate Variability within Microdochium Nivale (Fries) Samuels and Hallett To Cite This Version : HAL Id : Hal-00885670 Comparison of Biological , Molecular and Enzymatic Markers to Inv.* 15 (1), pp:39-47.

Martone, P.T., Estevez, J.M., Lu, F., Ruel, K., Denny, M.W., Somerville, C., and Ralph, J. (2009) .‘Discovery of Lignin in Seaweed Reveals Convergent Evolution of Cell-Wall Architecture’. *Current Biology* .19 (2): 169–175.

Mankar SS, Chaudhari AR, and Soni I. (2012). Lignin in Phenol-Formaldehyde Adhesives. 3 (1): 116–118.

Mehdi, H.A., Mohammed, B.T., and Bashi, A.M. (2018) .'Effect of Silver and Zinc Oxide Nanocompound Mixture on Growth and Some Physiological Properties of *Sclerotinia sclerotiorum*'. *Indian Journal of Ecology*. 45 (2): 358–366.

Mehdi, H.A., Mohammed, B.T., and Bashy, A.M. (2018) .'Effect of nano-silvers, nano-zinc oxide and benomyl pesticide on some physiological properties of *Sclerotinia sclerotiorum'*. Biochem. Cell. Arch. Vol. 18 (2): 2181–2196.

Mohammed, B.T., Dakhil, M.H., and ALmutairy, T.M. (2018). 'Manuscripts Preserved at the Al-Hussein holy shrine: isolation and diagnosis of fungi causing potential damage'. *Indian Journal of Ecology* .45 (1): 214–221.

Morones, J.R., Elechiguerra, J.L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J.B., Ramírez, J.T., and Yacaman, M.J. (2005) .'The Bactericidal Effect of Silver Nanoparticles'. *Nanotechnology* .16 (10): 2346–2353.

Moubasher, A.H. (1993) .Soil Fungi in Qatar and Other Arab Countries. The Centre for Scientific and Applied Research,University of Qater.

Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y.Y., Holtzapple, M., and Ladisch, M. (2005) .'Features of Promising Technolog ies for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass'. *Bioresource Technology* .96 (6): 673–686.

Muthulakshmi, C., Gomathi, D., Kumar, D.G., Ravikumar, G., Kalaiselvi, M., and Uma, C. (2011) .'Production, Purification and Characterization of Protease by Aspergillus Flavus under Solid State Fermentation'. *Jordan J. Biol. Sci* .4 (3): 137–148.

Mushrif, M.H., Zghair, L.F., and Alkabban, M. (2017) .'Evaluation of Enzyme Cellulase Production and It's Activity, Isolated from Local Fungi'. *International Journal of Science and Research (IJSR)* 6 (7): 1373–1377.

Moubasher, A.H., Abdel-HafezS.I.I, Abdel-fattah, H.M., and Mohrran, A.M. (1982). 'Fungi of Wheat and Broad-Bean Staw Composts'. *Mycopathologia* .78 (3): 161–168.

Naidu, J., Singh, S.M., and Pouranik, M. (1991) .Onychomycosis Caused by *Chaetomium Globosum* Kunze. 113 (1): 31–34.

Nakamura, Y., Mochida, A., Choyke, P.L., and Kobayashi, H. (2016) .'Nanodrug Delivery: Is the Enhanced Permeability and Retention Effect Sufficient for Curing Cancer?' in *Bioconjugate Chemistry*. 27(10):2225-2238 .

Nassef, O.A., Ahmed, H.E., and Abdel-Harith, M. (2016) . 'Surface and Stratigraphic Elemental Analysis of an Ancient Egyptian Cartonnage Using Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS)'. *Analytical Methods.* 8 (39): 7096–7106.

Neihaya, H.Z. and Zaman, H.H. (2018) .'Investigating the Effect of Biosynthesized Silver Nanoparticles as Antibiofilm on Bacterial Clinical Isolates'. *Microbial Pathogenesis* 116 (January): 200–208.

'New Penicillin-Producing Penicillium Species and an Overview of Section Chrysogena' (2012) *Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi* .29: 78–100.

Nozik, A.J. (2010). 'Nanoscience and Nanostructures for Photovoltaics and Solar Fuels'. *Nano Letters* .10 (8):2735-2741.

Ogórek, R., Pusz, W., Miłuch, A., Miodyńska, P., and Lejman, A. (2012). 'Characteristics and Taxonomy of Cladosporium Fungi'.

Mikologia Lekarska .19 (2): 80–85.

Ohashi, T. (2015). 'Carbon Nanotubes'. in *Carbon Nanomaterials for Advanced Energy Systems: Advances in Materials Synthesis and Device Applications*. 600 p.

Oyeleke, S.B., Egwim, E.C., and Auta, S.H. (2010). 'Fumigatus Strains for Extracellular Protease Enzyme Production'. *Journal of Microbiology and Antimicrobials* .2 (7): 83–87.

Padua, G.W., Nonthanum, P., and Arora, A. (2012) .'Nanocomposites'. in *Nanotechnology Research Methods for Foods and Bioproducts* . 264 P.

Park, M., Do, E., and Jung, W.H. (2013) .'Lipolytic Enzymes Involved in the Virulence of Human Pathogenic Fungi'. *Mycobiology*. 41 (2): 67-72.

Patch, F., Patch, M., Mold, P.S., News, T.L., Patch, F., News, A.T., Hsiang, T., and Biology, E. (2007) . All You Ever Wanted to Know about *Fusarium* Patch. \ *Microdochium Patch \ Pink Snow Mold or Whatever That Disease Is Called* . 23 (June): 13–16.

Pianzzola, M.J., Moscatelli, M., and Vero, S. (2007) '. Characterization of *Penicillium* Isolates Associated with Blue Mold on Apple in Uruguay '. *Plant Disease.* 88:23-28.

Polizzi, V., Adams, A., De Saeger, S., Van Peteghem, C., Moretti, A., and De Kimpe, N. (2012) .'Influence of Various Growth Parameters on Fungal Growth and Volatile Metabolite Production by Indoor Molds'. *Science of the Total Environmen 414 : 277–286.*

Prospero, J.M., Blades, E., Mathison, G., and Naidu, R. (2005) .'Interhemispheric transport of viable fungi and bacteria from Africa to the caribbean with soil dust'. *Aerobiologia* .21 (1): 1–19

Pratush, A., Gupta, A., and Bhalla, T. (2013) .'Microbial Proteases : Prospects and Challenges'. *Microbiology Application* (February): 30-48.

Pandey, A., Nigam, P., Soccol, C.R., Soccol, V.T., Singh, D., and Mohan, R. (2000). 'Advances in Microbial Amylases.' *Biotechnology and Applied Biochemistry*. 31: 135–152.

Pitt, J.I. and Hoching, A. (1997). Fungi and Food Spoilage . Blackie Academic and Professional. 2nd ed. . London. Newyork Tokyo . Melbourne .

Rahman, M.M., Maniruzzaman, M., Islam, M.R., and Rahman, M.S. (2018) .'Synthesis of Nano-Cellulose from Okra Fibre and FTIR as Well as Morphological Studies on It'. *American Journal of Polymer Science and Technology* .4 (2): 42–52.

Rai, M., Yadav, A., and Gade, A. (2009) .'Silver Nanoparticles as a New Generation of Antimicrobials'. *Biotechnology Advances* .27 (1): 76–83.

Raghukumar, C., D'Souza-Ticlo, D., and Verma, A.K. (2008) .'Treatment of Colored Effluents with Lignin-Degrading Enzymes: An Emerging Role of Marine-Derived Fungi'. in *Critical Reviews in Microbiology*. 34(3-4):189-206.

Reddy, K.M., Feris, K., Bell, J., Wingett, D.G., Hanley, C., and Punnoose, A. (2007). 'Selective Toxicity of Zinc Oxide Nanoparticles to Prokaryotic and Eukaryotic Systems'. *Appl Phys Lett* 90 (213902): 2139021–2139023.

Rehnstrom, A.L. and Free, S.J. (1996). 'The Isolation and Characterization of Melanin-Deficient Mutants OfMonilinia Fructicola'. *Physiological and Molecular Plant Pathology* .49 (5): 321–330.

Ren, R., Yang, X., and Ray, R. V. (2014). 'Comparative Aggressiveness of Microdochium Nivale and M. Majus and Evaluation of Screening Methods for Fusarium Seedling Blight Resistance in Wheat Cultivars'. *European Journal of Plant Pathology*.

Rustom, I.Y.S. (1997). 'Aflatoxin in Foos and Feed: Occurrence, Legislation and Inactivation by Physical Methods'. *Food Chemistry* .5 (1): 57–67.

Romaní, A.M., Fischer, H., Mille-Lindblom, C., and Tranvik, L.J. (2006). 'Interactions of bacteria and fungi on decomposing litter: Differential extracellular enzyme activities'. *Ecology*. 87 (10): 2559-2569.

Robyt, J.F. and Mukerjea, R. (2013) .'Evolution of the Development of How Starch Is Biosynthesized'. *Starch/Staerke*. 65 (1–2): 8–21.

Samuel, U. and Guggenbichler, J.P. (2004) .'Prevention of Catheter-Related Infections: The Potential of a New Nano-Silver Impregnated Catheter'. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 23 (Suppl. 1): 75-78.

Seil, I.T. and Webster, T.J. (2012). 'Antimicrobial Applications of Nanotechnology: Methods and Literature'. in International Journal of Nanomedicine Review. 2767–2781.

Sekita, S., Yoshihira, K., Natori, S., Udagawa, S., Muroi, T., Sugiyama, Y., Kurata, H., and Umeda, M. (1981) .'Mycotoxin Production by *Chaetomium* spp. and Related Fungi'. *Canadian Journal of Microbiology* 27 (8): 766–772.

Sepulveda, M.S., Stensberg, M.C., Wei, Q.S., McLamore, E.S., Porterfield, D.M., and Wei, A. (2011) .'Toxicological Studies on Silver Nanoparticles: Challenges and Opportunities in Assessment, Monitoring and Imaging'. *Nanomedicine* .6 (5): 879–898**..**

Singh, A., Singh, N., and Bishnoi, N.R. (2009) .'Production of Cellulases by Aspergillus Heteromorphus from Wheat Straw under Submerged Fermentation'. *World Academy of Science, Engineering and Technology, International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering* .3 (3): 124–127.

Schulenburg, M. (2004). Innovation for Tomorrow's World. Berlin Coordination: European Commission.60p.

Silva, M.C. Da, Bertolini, M.C., and Ernandes, J.R. (2001). 'Biomass Production and Secretion of Hydrolytic Enzymes Are Influenced by the Structural Complexity of the Nitrogen Source in Fusarium Oxysporum and Aspergillus Nidulans'. *Journal of Basic Microbiology*.

Sumathy, R., Vijayalakshmi, M., and Deecaraman, M. (2012). 'Studies on Lipase Production from Fungal Strains by Different Inducers at Varied Concentrations -A Comparative Study'. Journal of Environmental International *S*ciences 3 (3), 1072–1078.

Swetha, S., Dhanya, G., K. Madhavan, N., Carlos, S., and Ashok, P. (2006). 'α-Amylases from Microbial Sources - An Overview on Recent Developments'. *Food Technology and Biotechnology* .44 (2): 173–184.

Takó, M., Kotogán, A., Németh, B., Radulov, I., Niţă, L.D., Tărău, D., Dicu, D., Tóth, B., Papp, T., and Vágvölgyi, C. (2012). 'Extracellular Lipase Production of Zygomycetes Fungi Isolated from Soil'. *Review on Agriculture and Rural Development* .1 (1):62–66.

Tansey, M.R. (1971) .'Agar-Diffusion Assay of Cellulolytic Ability of Thermophilic Fungi'. Archiv Für Mikrobiologie . 77 (1): 1–11.

Tang, Z.X. and Lv, B.F. (2014) .'MgO Nanoparticles as Antibacterial

Agent: Preparation and Activity'. *Brazilian Journal of Chemical Engineering* .31 (3): 591–601.

Tolaymat , T .; El –Badawy , A .; Genaidy , A .; Scheckel , K .; Luxton , T.; Suidan , M . (2010) . ANevidence-based environmental perspective of manufactured silver nanoparticle in synthesis and applications :Asystematic review and critical appraisal of peer-reviewed scientific papers . *sci .Tol . Environ* . **5**(408) :999 -1006 .

Verweij, P.E., Van Den Bergh, M.F.Q., Rath, P.M., De Pauw, B.E., Voss, A., and Meis, J.F.G.M. (1999) .'Invasive Aspergillosis Caused by Aspergillus Ustus: Case Report and Review'. *Journal of Clinical Microbiology* .37(5): 1606–1609.

Wang, X.W., Lombard, L., Groenewald, J.Z., Li, J., Videira S.I.R., Samson,, R.A., Liu, X.Z., and Crous, P.W. (2015). 'Phylogenetic reassessment of the *Chaetomium globosum* species complex'*Persoonia - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi* .36 (1): 83–133.

Webster John and Weber Roland (2007) . *Introduction to Fungi*. Third Edit. United States of America: Cambridge University Press, New York.875p.

Webster, T.J. and Seil, I. (2012) .'Antimicrobial applications of nanotechnology: methods and literature'. *International Journal of Nanomedicine* 2767.

Woudenberg, J.H.C., Groenewald, J.Z., Binder, M., and Crous, P.W. (2013) .'Alternaria Redefined'. *Studies in Mycology* .75: 171–212.

Yu, S.H. (2015). *Fungal Flora of Korea*. vol. 1. Republic of Korea: Kim, Sang-Bae Author.

Yeoh, H.., Khew, E., and Lim., G. (1985) .A Simple Method for Screening Cellulolytic Fungi.' *Mycologia*. 77 (1), 161–162.

Zargar, M., Hamid, A.A., Bakar, F.A., Shamsudin, M.N., Shameli, K., Jahanshiri, F., and Farahani, F. (2011) .‘Green Synthesis and Antibacterial Effect of Silver Nanoparticles Using Vitex Negundo L.’ *Molecules* .16 (8): 6667–6676.

Zeeman, S.C., Kossmann, J., and Smith, A.M. (2010) .‘Starch: Its Metabolism, Evolution, and Biotechnological Modification in Plants’. *Annual Review of Plant Biology* .61 (1): 209–234.

الملاحق

Appendices

Alternaria atra strain alaa1-A.at internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: MK503427.1

FASTA Graphics

Go to:

```
LOCUS       MK503427                 269 bp    DNA     linear   PLN 13-FEB-2019
DEFINITION  Alternaria atra strain alaa1-A.at internal transcribed spacer 1 and
            5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION   MK503427
VERSION     MK503427.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Alternaria atra
  ORGANISM  Alternaria atra
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Dothideomycetes; Pleosporomycetidae; Pleosporales; Pleosporineae;
            Pleosporaceae; Alternaria; Alternaria sect. Ulocladioides.
REFERENCE   1  (bases 1 to 269)
  AUTHORS   Jasim,A.A., Mohammed,B.T. and Lahuf,A.A.
  TITLE     Molecular characterizations of fungi associated with historical
            manuscripts
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 269)
  AUTHORS   Jasim,A.A., Mohammed,B.T. and Lahuf,A.A.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (08-FEB-2019) Plant protection Department, Agriculture
            College-University of Kerbala, City center, Kerbala, Kerbala KK1
            3DR, Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..269
                     /organism="Alternaria atra"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="alaa1-A.at"
                     /isolation_source="Historical manuscripts"
                     /db_xref="taxon:119953"
                     /country="Iraq: Kerbala"
     misc_RNA        <1..>269
                     /note="contains internal transcribed spacer 1 and 5.8S
                     ribosomal RNA"
ORIGIN
        1 gaaagcgggc tggcatcctt cggggttaca gccttgccga attattcacc cgagtgtttt
       61 gagtacttct tttttccttg gtgggttcgc tcaccatagg acaaaccata aacctttttgt
      121 aattgcaatc agcgtcagta aaaaaattaa taattacaac ttttaacaac ggatctcttg
      181 gttctggcat cgatgaagaa cgcagcgaaa tgcgataagt agtgtgaatt gcagaattca
      241 gtgaatcatt gaatctttga acgcacatt
```

شكل 4: تسجيل العزلة الفطرية *Alternaria atra* باسم Jasim,A.A., Mohammed,B.T. and Lahuf,A.A. في البنك الجيني العالمي Gen Bank.

Aspergillus ustus strain alaa4-A.us 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: MK503428.1

FASTA Graphics

Go to:

```
LOCUS       MK503428                 369 bp    DNA     linear   PLN 13-FEB-2019
DEFINITION  Aspergillus ustus strain alaa4-A.us 5.8S ribosomal RNA gene,
            partial sequence; internal transcribed spacer 2, complete sequence;
            and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION   MK503428
VERSION     MK503428.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Aspergillus ustus
  ORGANISM  Aspergillus ustus
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae;
            Aspergillus.
REFERENCE   1  (bases 1 to 369)
  AUTHORS   Jasim,A.A., Mohammed,B.T. and Lahuf,A.A.
  TITLE     Molecular characterizations of fungi associated with historical
            manuscripts
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 369)
  AUTHORS   Jasim,A.A., Mohammed,B.T. and Lahuf,A.A.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (08-FEB-2019) Plant protection Department, Agriculture
            College-University of Kerbala, City center, Kerbala, Kerbala KK1
            3DR, Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..369
                     /organism="Aspergillus ustus"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="alaa4-A.us"
                     /isolation_source="Historical manuscripts"
                     /db_xref="taxon:40382"
                     /country="Iraq: Kerbala"
     misc_RNA        <1..>369
                     /note="contains 5.8S ribosomal RNA, internal transcribed
                     spacer 2, and large subunit ribosomal RNA"
ORIGIN
        1 agcatatcaa taagcggagg aaaaggcagc gaactgcgat aagtaatgtg aattgcagaa
       61 ttcagtgaat catcgagtct ttgaacgcac attgcgcccc ctggcattcc gggggggcatg
      121 cctgtccgag cgtcattgct gcccttcaag cccggcttgt gtgttgggtc gtcttccccc
      181 ccgggggacg ggcccaaaag gcaacggagg caccgcgtcc ggtcctcgag cgtatggggc
      241 tttgtcaccc gctcgattag ggccggccgg gcgccagccg gcgtctccaa ccttctattt
      301 taccaggttg acctcggatc aggtagggat acccgctgaa cttaaccata tcaataagcg
      361 gaagaaaaa
```

شكل 5: تسجيل العزلة الفطرية *Aspergillus ustus* باسم Jasim,A.A., Mohammed,B.T. and Lahuf,A.A. في البنك الجيني العالمي Gen Bank

Chaetomium globosum strain alaa11-C.gl internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: MK504425.1

FASTA Graphics

Go to:

```
LOCUS       MK504425                 249 bp    DNA     linear   PLN 16-FEB-2019
DEFINITION  Chaetomium globosum strain ala11-C.gl internal transcribed spacer 1
            and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION   MK504425
VERSION     MK504425.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Chaetomium globosum
  ORGANISM  Chaetomium globosum
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Sordariomycetes; Sordariomycetidae; Sordariales; Chaetomiaceae;
            Chaetomium.
REFERENCE   1  (bases 1 to 249)
  AUTHORS   Jasim,A.A., Mohammed,B.T. and Lahuf,A.A.
  TITLE     Molecular characterizations of fungi associated with historical
            manuscripts
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 249)
  AUTHORS   Jasim,A.A., Mohammed,B.T. and Lahuf,A.A.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (08-FEB-2019) Plant protection Department, Agriculture
            College-University of Kerbala, City center, Kerbala, Kerbala KK1
            3DR, Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..249
                     /organism="Chaetomium globosum"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="ala11-C.gl"
                     /isolation_source="Historical manuscripts"
                     /db_xref="taxon:38033"
                     /country="Iraq: Kerbala"
     misc_RNA        <1..>249
                     /note="contains internal transcribed spacer 1 and 5.8S
                     ribosomal RNA"
ORIGIN
        1 ttgtttggac tgcatactcc taaccattgt gacgttacct ataccgtgtg cttcggcggg
       61 cggccccggg gtttaccccc cgggcgcccc tgggccccac cgcgggcgcc cgccggaggt
      121 caccaaactc ttgataattt atggcctctc tgagtcttct gtactgaata agtcaaaact
      181 ttcaacaacg gatctcttgg ttctggcatc gatgaagaac gcagcgaaat gcgataagta
      241 atgtgaatt
```

شكل 6: تسجيل العزلة الفطرية *Chaetomium globosum* باسم Jasim,A.A., Mohammed,B.T. and Lahuf,A.A. في البنك الجيني العالمي Gen Bank

Cladosporium exasperatum strain alaa14-C.ex internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: MK504424.1

FASTA Graphics

```
LOCUS       MK504424                 481 bp    DNA     linear   PLN 16-FEB-2019
DEFINITION  Cladosporium exasperatum strain ala14-C.ex internal transcribed
            spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal
            transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit
            ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION   MK504424
VERSION     MK504424.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Cladosporium exasperatum
  ORGANISM  Cladosporium exasperatum
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Dothideomycetes; Dothideomycetidae; Capnodiales; Cladosporiaceae;
            Cladosporium.
REFERENCE   1  (bases 1 to 481)
  AUTHORS   Jasim,A.A., Mohammed,B.T. and Lahuf,A.A.
  TITLE     Molecular characterizations of fungi associated with historical
            manuscripts
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 481)
  AUTHORS   Jasim,A.A., Mohammed,B.T. and Lahuf,A.A.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (08-FEB-2019) Plant protection Department, Agriculture
            College-University of Kerbala, City center, Kerbala, Kerbala KK1
            3DR, Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..481
                     /organism="Cladosporium exasperatum"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="ala14-C.ex"
                     /isolation_source="Historical manuscripts"
                     /db_xref="taxon:887089"
                     /country="Iraq: Kerbala"
     misc_RNA        <1..>481
                     /note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
                     ribosomal RNA, internal transcribed spacer 2, and large
                     subunit ribosomal RNA"
ORIGIN
        1 taccaccggg atgttcataa ccctttgttg tccgactctg ttgcctccgg ggcgaccctg
       61 ccttcgggcg ggggccccgg gtggacactt caaactcttg cgtaactttg cagtctgagt
      121 aaacttaatt aataaattaa aacttttaac aacggatctc ttggttctgg catcgatgaa
      181 gaacgcagcg aaatgcgata agtaatgtga attgcagaat tcagtgaatc atcgaatctt
      241 tgaacgcaca ttgcgccccc tggtattccg gggggcatgc ctgttcgagc gtcatttcac
      301 cactcaagcc tcgcttggta ttgggcaacg cggtccgccg cgtgcctcaa atcgaccggc
      361 tgggtcttct gtcccctaag cgttgtggaa actattcgct aaagggtgtt cgggaggcta
      421 cgccgtaaaa caaccccatt tctaaggttg acctcggatc aggtagggat acccgctgaa
      481 c
```

شكل 7: تسجيل العزلة الفطرية *Cladosporium exasperatum* باسم Jasim,A.A., Mohammed,B.T. and Lahuf,A.A.. في البنك الجيني العالمي Gen Bank

Microdochium nivale strain alaa6-M.ni 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence

GenBank: MK503439.1

FASTA Graphics

Go to:

```
LOCUS       MK503439                 379 bp    DNA     linear   PLN 13-FEB-2019
DEFINITION  Microdochium nivale strain alaa6-M.ni 5.8S ribosomal RNA gene and
            internal transcribed spacer 2, partial sequence.
ACCESSION   MK503439
VERSION     MK503439.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Microdochium nivale
  ORGANISM  Microdochium nivale
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Sordariomycetes; Xylariomycetidae; Xylariales; Microdochiaceae;
            Microdochium.
REFERENCE   1  (bases 1 to 379)
  AUTHORS   Jasim,A.A., Mohammed,B.T. and Lahuf,A.A.
  TITLE     Molecular characterizations of fungi associated with historical
            manuscripts
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 379)
  AUTHORS   Jasim,A.A., Mohammed,B.T. and Lahuf,A.A.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (08-FEB-2019) Plant protection Department, Agriculture
            College-University of Kerbala, City center, Kerbala, Kerbala KK1
            3DR, Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..379
                     /organism="Microdochium nivale"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="alaa6-M.ni"
                     /isolation_source="Historical manuscripts"
                     /db_xref="taxon:5520"
                     /country="Iraq: Kerbala"
     misc_RNA        <1..>379
                     /note="contains 5.8S ribosomal RNA and internal
                     transcribed spacer 2"
ORIGIN
        1 gactctcggc aacggatatc tcggctctcg catcgatgaa gaacgtagcg aaatgcgata
       61 cttggtgtga attgcagaat cccgtgaacc atcgagtttt tgaacgcaag ttgcgcatga
      121 agccttttgg ccaaggcacg tctgcttggg agtcacgcat agcgtctctc ccgacctgcc
      181 taagtgtgga ggggagagga agatggcctc ccaggcctaa ccgggtgtgg atggcctaaa
      241 ttaggaagcc tagggatacg agataccgcg gcgattggtg gttgtataca tggcattccg
      301 ttttgtcgtg catcaagtag cccatggggc ctgaaggacc cataaaaaca tcgcgacccc
      361 agtcagtcgc agcacctgc
```

شكل 8: تسجيل العزلة الفطرية *Microdochium nivale* باسم Jasim,A.A., Mohammed,B.T. and Lahuf,A.A. في البنك الجيني العالمي Gen Bank

Penicillium tardochrysogenum strain alaa15-P.ta internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: MK504426.1

FASTA Graphics

Go to:

```
LOCUS       MK504426                 508 bp    DNA     linear   PLN 16-FEB-2019
DEFINITION  Penicillium tardochrysogenum strain ala15-P.ta internal transcribed
            spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal
            transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit
            ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION   MK504426
VERSION     MK504426.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Penicillium tardochrysogenum
  ORGANISM  Penicillium tardochrysogenum
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae;
            Penicillium.
REFERENCE   1  (bases 1 to 508)
  AUTHORS   Jasim,A.A., Mohammed,B.T. and Lahuf,A.A.
  TITLE     Molecular characterizations of fungi associated with historical
            manuscripts
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 508)
  AUTHORS   Jasim,A.A., Mohammed,B.T. and Lahuf,A.A.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (08-FEB-2019) Plant protection Department, Agriculture
            College-University of Kerbala, City center, Kerbala, Kerbala KK1
            3DR, Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..508
                     /organism="Penicillium tardochrysogenum"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="ala15-P.ta"
                     /isolation_source="Historical manuscripts"
                     /db_xref="taxon:1304713"
                     /country="Iraq: Kerbala"
     misc_RNA        <1..>508
                     /note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
                     ribosomal RNA, internal transcribed spacer 2, and large
                     subunit ribosomal RNA"
ORIGIN
        1 tgaggctctg ggtcacctcc cacccgtgtt tattttacct tgttgcttcg gcgggcccgc
       61 cttaactggc cgccgggggg cttacgcccc cgggcccgcg cccgccgaag acaccctcga
      121 actctgtctg aagattgtag tctgagtgaa aatataaatt atttaaaact ttcaacaacg
      181 gatctcttgg ttccggcatc gatgaagaac gcagcgaaat gcgatacgta atgtgaattg
      241 caaattcagt gaatcatcga gtctttgaac gcacattgcg ccccctggta ttccgggggg
      301 catgcctgtc cgagcgtcat tgctgccctc aagcacggct tgtgagttgg gccccgtcct
      361 ccgatcccgg gggacgggcc cgaaaggcag cggcggcacc gcgtccggtc ctcgagcgta
      421 tggggctttg tcacccgctc tgtaggcccg gccggcgctt gccgatcaac ccaaattttt
      481 atccaggttg acctcggatc aggtaggg
```

شكل 9: تسجيل العزلة الفطرية *Penicillium tardochrysogenum* باسم Jasim,A.A., Mohammed,B.T. and Lahuf,A.A. في البنك الجيني العالمي Gen Bank

Penicillium tardochrysogenum strain alaa13-P.ta internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: MK504427.1

FASTA Graphics

Go to:

```
LOCUS       MK504427                 509 bp    DNA     linear   PLN 16-FEB-2019
DEFINITION  Penicillium tardochrysogenum strain ala13-P.ta internal transcribed
            spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal
            transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit
            ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION   MK504427
VERSION     MK504427.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Penicillium tardochrysogenum
  ORGANISM  Penicillium tardochrysogenum
            Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina;
            Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Aspergillaceae;
            Penicillium.
REFERENCE   1  (bases 1 to 509)
  AUTHORS   Jasim,A.A., Mohammed,B.T. and Lahuf,A.A.
  TITLE     Molecular characterizations of fungi associated with historical
            manuscripts
  JOURNAL   Unpublished
REFERENCE   2  (bases 1 to 509)
  AUTHORS   Jasim,A.A., Mohammed,B.T. and Lahuf,A.A.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (08-FEB-2019) Plant protection Department, Agriculture
            College-University of Kerbala, City center, Kerbala, Kerbala KK1
            3DR, Iraq
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..509
                     /organism="Penicillium tardochrysogenum"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="ala13-P.ta"
                     /isolation_source="Historical manuscripts"
                     /db_xref="taxon:1304713"
                     /country="Iraq: Kerbala"
     misc_RNA        <1..>509
                     /note="contains internal transcribed spacer 1, 5.8S
                     ribosomal RNA, internal transcribed spacer 2, and large
                     subunit ribosomal RNA"
ORIGIN
        1 ctgggtcacc tcccacccgt gtttatttta ccttgttgct tcggcgggcc cgccttaact
       61 ggccgccggg gggcttacgc ccccgggccc gcgcccgccg aagacaccct cgaactctgt
      121 ctgaagattg tagtctgagt gaaaatataa attatttaaa actttcaaca acggatctct
      181 tggttccggc atcgatgaag aacgcagcga aatgcgatac gtaatgtgaa ttgcaaattc
      241 agtgaatcat cgagtctttg aacgcacatt gcgccccctg gtattccggg gggcatgcct
      301 gtccgagcgt cattgctgcc ctcaagcacg gcttgtgtgt tgggccccgt cctccgatcc
      361 cgggggacgg gcccgaaagg cagcggcggc accgcgtccg gtcctcgagc gtatggggct
      421 ttgtcacccg ctctgtaggc ccggccggcg cttgccgatc aacccaaatt tttatccagg
      481 ttgacctcgg atcaggtagg gatacccgc
```

شكل 10: تسجيل العزلة الفطرية 2-*Penicillium tardochrysogenum* باسم Jasim,A.A., Mohammed,B.T. and Lahuf,A.A. في البنك الجيني العالمي Gen Bank

Summary:

This study was conducted in the Collage of Education for Pure Sciences at the University of Karbala as a part of series of isolation and diagnosis of fungi associated with historical manuscripts in the Center for the maintenance and restoration of manuscripts and the care of researchers for the period from 20/11/2018 to 20/1/2019, at the holy shrine of Hussein in the city of Karbala. In order to preserve the manuscripts and the use of zinc nanoparticles and silver nanoparticles to control the fungi that cause damage to the manuscripts and described as an additive to the restoration paste**.**

The isolated fungi were diagnosed in the traditional way , the total number of isolated fungal species was found. Enzymatic activity was also tested for the detection of lysate fungi of manuscript components. The enzymes were cellulase, protease, amylase and lipase.

The fungi were diagnosed molecularly by PCR method and were represented by seven fungi registered for the first time in Iraq in general and on the manuscripts in particular. They are *Alternaria atra* , *Aspergillus ustus, Cladosporium exasperatum, Chaetomium globosum, Microdochium nivale* , 1-*Penicillium tardochrysogenum* , 2- *Penicillium tardochrysogenum* . It was registered at the Genbank World Bank and carried serial numbers MK503427و MK503428و MK504425و MK504424و MK503439و MK504426و MK504427. The Blast program was used to identify the genetic tree of the detected fungi as well as to determine the relationship of homology to international isolates.

Frequency%, Occurrence% and DII Distribution Intensity Index were calculated for the fungi recorded in the Gene Bank and tested for the use of nanomaterials (Zinc nanoparticles and silver nanoparticles).

The phenotypic properties of the fungal colonies on the culture medium were studied after treatment with nanomaterials and compared with

control treatment. The fungi-affected manuscripts were treated with these two nanomaterials within the paste prepared for the purpose of restoration and maintenance of the manuscripts.

The results showed 557 fungal isolates, the beginning of the manuscript gave the highest percentage of fungal numbers 239 by 43.76%. The results of the enzyme tests of the seven recorded fungi showed that *Alternaria atra* and *Aspergillus ustus* had the highest efficacy of cellulase enzyme in relation to the diameter of the corona formed 47.44 and 47.00 mm which are not significantly different. *Aspergillus ustus* and *Chaetomium globosum* were not significantly different. The amylase showed high activity of the *Microdochium nivale* with a halo diameter of 60.22 mm in terms of the halo diameter which was not significantly different from the *Aspergillus ustus* with a halo diameter of 59.33 mm. which are significantly different from the *Microdochium nivale* with a halo diameter of 63.22 mm.

Aspergillus ustus showed the highest percentage of appearance (11.6%), the highest percentage of frequency (14.93%) and the highest distribution density (44.82%), while the *Chaetomium globosum* recorded the lowest percentage of appearance, frequency and distribution density (7.0, 12.47 and 24.71% respectively).

The molecular results of the fungi recorded in the World GeneBank and through the genetic tree and the results showed that Iraqi isolation of *Aspergillus ustus* was 100% similar to Egyptian, Brazilian, Chinese, American and Dutch isolates. *1,2 Penicillium tardochrysogenum* has 100% similarity with the Spanish, Indian, North African, Chinese and Slovakian isolates.

All seven fungi recorded in the World GeneBank, were affected by added nanocomposites by silver nanoparticles and zinc nanoparticles .

Alternaria atra and Penicillium tardochrysogenum1 had the highest inhibition rate of 10 mm fungal colony diameter, when treated with 25 mg / L zincnanoparticle maixed with PDA, which did not significantly differ from *Microdochium nivale* and *1-Penicillium tardochrysogenum. Alternaria atra* and 2-*Penicillium tardochrysogenum* , showed the highest inhibition rate of fungal colony diameter of 13.33 mm when treated with 25 mg / l nanoparticles of PDA.

Microscopic examination of fungal hypha showed that they were had effected byb nanocomposites with increasing concentration of nanomaterial. This effect ranges from the complete destruction of the fungal hypha and its explosion, especially in high concentrations of nanomaterials, to the aggregation of fungal cell protoplasm, especially in medium concentrations of nanomaterials, or deviation in the course of the fungus hypha keep away from the toxic substance by agglomeration in a certain place of the microscopic space under examination, especially in low concentrations, as well as reduction of conidia either small size or deformation depending on the type of fungus and the concentration of nanomaterials.

Samples have taken from old manuscripts after treatment with the 25 mg per liter of each individual zinc or silver nanoparticles were reduced the number of fungi compared to the manuscript before restoration.

Ministry of Higher Education and Scientific Research
University of Karbala
College of Education for Pure Sciences
Department of Biology

Estimating the effectiveness of some Nanoparticles in Control contamination by Fungi isolated from some Historical Manuscripts on the at the Al-Hussein Holy

Athesis

submitted to the Council of The College of Education for Pure Science , University of Karbala in partial fulfillment of requirements for the degree of Master of Science / botany

by

ALAA AQEEL JASIM AL- HUSSEINI
(Bachelor of science in/2004)
Under Supervision of
Prof. Dr. Ban Taha Mohammed

1441 A.H **2019 A.D**