

CNEN/SP

**ipen** Instituto de Pesquisas  
Energéticas e Nucleares

AUTARQUIA ASSOCIADA A UNIVERSIDADE  
DE SÃO PAULO

# **A APLICABILIDADE DA RADIAÇÃO GAMA NO CONTROLE DE FUNGOS QUE AFETAM PAPÉIS**

**MARIA GUIOMAR CARNEIRO TOMAZELLO**

**Tese apresentada como parte dos  
requisitos para obtenção do Grau de  
Doutor em Ciências na Área de  
Tecnologia Nuclear.**

**Orientador:  
Prof. Dr. Frederico Maximiliano Wiendl**

**São Paulo  
1994**

**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES  
AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

**A APLICABILIDADE DA RADIAÇÃO GAMA  
NO CONTROLE DE FUNGOS QUE AFETAM PAPÉIS**

**MARIA GUIOMAR CARNEIRO TOMAZELLO**



**Tese apresentada como parte dos  
requisitos para obtenção do Grau de  
Doutor em Tecnologia Nuclear**

**Orientador: Prof. Dr. FREDERICO MAXIMILIANO WIENDL**

**São Paulo**

**1994**

**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES  
AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

**MARIA GUIOMAR CARNEIRO TOMAZELLO**



**Orientador: Prof. Dr. FREDERICO MAXIMILIANO WIENDL**

**São Paulo**

**1994**

**À minha mãe,**

**Guiomar**

***OFEREÇO***

**Ao meu marido, Mário**

**e à minha filha Flávia,**

***DEDICO***

## AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Frederico Maximiliano Wiendl, pela orientação, estímulo e amizade;

Ao Dr. Mário Tomazello Filho, pelas sugestões e apoio no desenvolvimento deste trabalho;

Ao Dr. Regis Ramière do Centro de Estudos Nucleares de Grenoble, França, pelo estímulo e orientação iniciais e cessão de bibliografia nas visitas realizadas ao Atelier Regional de Conservação - NUCLEART;

À Universidade Metodista de Piracicaba, pela oportunidade de aperfeiçoamento e concessão de bolsa de estudos através do FAP - Fundo de Apoio à Pesquisa;

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN pela oportunidade de realização da pós-graduação ao nível de doutorado;

Às acadêmicas do curso de Licenciatura em Ciências - Habilitação em Biologia da UNIMEP, Raquel Foroni Castelani e Silva Goretti Cardoso de Moraes pela colaboração na execução da parte experimental;

Aos técnicos TES Luís Anselmo Lopes da Seção de Entomologia do CENA e Eng<sup>a</sup> Agr<sup>a</sup> Heloisa Duarte de Moraes do Departamento de Fitopatologia da ESALQ, pela colaboração na execução da parte experimental;

À Dra. Iracema Helena Schoenlein-Crusius do Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, pelo auxílio na identificação dos fungos;

À Dra. Sandra Lia Baptista Barrotti da Divisão de Produtos Florestais, Têxteis e Couros do Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo S.A. - IPT, pelo auxílio nas análises das propriedades físico mecânicas dos papéis irradiados;

À MS. Marinéia de Lara Haddad do Departamento de Entomologia da ESALQ/USP, pelo auxílio nas análises estatísticas;

Ao Eng<sup>o</sup> Florestal Júlio Cesar da Costa, da Indústria de Papel Simão - Unidade de Piracicaba, pelas facilidades de cessão de papéis e equipamentos;

À Divisão de Biblioteca e Documentação, pela doação de exemplares de livros e revistas;

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura - CENA/USP e aos Departamentos de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Genética, Fitopatologia e Ciências Florestais da ESALQ/USP, pelas facilidades de uso de laboratório e empréstimo de vidraria;

À CAPES - Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela concessão de bolsa de estudos durante a realização do curso;

À Clotilde Maria Batochio Cunha, pela digitação do trabalho;

A todos que direta ou indiretamente colaboraram para a execução deste trabalho.

## ÍNDICE

Páginas

RESUMO .....	xi
SUMMARY .....	xiii
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. OBJETIVOS .....	4
3. REVISÃO DE LITERATURA .....	5
3.1. Degradação de papéis e documentos gráficos.....	5
3.2. Fungos que afetam papéis e documentos gráficos.....	7
3.3. Métodos de controle dos fungos que afetam papéis.....	25
3.4. Controle de fungos que afetam papéis através da radiação eletromag- nética.....	27
3.5. Efeito da radiação gama no papel/celulose.....	35
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	40
4.1. Tipos de papéis.....	40
4.2. Isolamento, identificação e descrição dos fungos que afetam papéis.....	42

4.3. Irradiação de esporos de fungos, em suspensão aquosa, com diferentes doses de radiação gama.....	45
4.4. Irradiação de papéis inoculados artificialmente com fungos em diferentes estágios de desenvolvimento.....	47
4.4.1. Irradiação de papéis inoculados com fungos na fase inicial de desenvolvimento dos esporos e formação de colônias.....	47
4.4.2. Irradiação de papéis inoculados com fungos na fase de colônias adultas.....	49
4.5. Irradiação de papéis contaminados naturalmente por fungos.....	50
4.6. Irradiação de papéis e efeitos nas suas propriedades físico-mecânicas.....	51
4.7. Detalhamento e caracterização dos ensaios.....	57
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>66</b>
5.1. Isolamento, identificação e descrição dos fungos que afetam papéis.....	66
5.2. Irradiação de esporos de fungos, em suspensão aquosa, com diferentes doses de radiação gama.....	78
5.3. Irradiação de papéis inoculados artificialmente por fungos em diferentes estágios de desenvolvimento.....	95

5.3.1. Irradiação de papéis contaminados por fungos na fase inicial de desenvolvimento dos esporos e formação de colônias.....	95
5.3.2. Irradiação de papéis inoculados por fungos, na fase de colônias adultas.....	105
5.4. Irradiação de papéis contaminados naturalmente por fungos.....	111
5.5. Irradiação de papéis e efeitos nas suas propriedades físico-mecânicas.....	119
6. CONCLUSÕES .....	129
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	132
8. APÊNDICE.....	146

## LISTA DE TABELAS

	Páginas
TABELA 1 - Relação de espécies de fungos isolados de papéis afetados e respectivas referências bibliográficas.....	12
TABELA 2 - Efeito da temperatura e da dose de irradiação gama na sobre vivência de espécies de fungos que afetam papéis.....	33
TABELA 3 - Microrganismos - fungos e bactérias - em porcentagem, isolados de amstras de papéis afetados naturalmente.....	72
TABELA 4 - Valores de coeficiente angular e de correlação linear e $D_0$ relativos à curva de sobrevivência do <i>Cladosporium cladosporioides</i> ...	80
TABELA 5 - Valores de coeficiente angular e de correlação linear e $D_0$ relativos à curva de sobrevivência do <i>Aspergillus niger</i> .....	85
TABELA 6 - Valores de coeficiente angular e de correlação linear e $D_0$ relativos à curva de sobrevivência do <i>Penicillium purpurogenum</i> .....	86

## LISTA DE TABELAS

	Páginas
TABELA 1 - Relação de espécies de fungos isolados de papéis afetados e respectivas referências bibliográficas.....	12
TABELA 2 - Efeito da temperatura e da dose de irradiação gama na sobre vivência de espécies de fungos que afetam papéis.....	33
TABELA 3 - Microrganismos - fungos e bactérias - em porcentagem, isolados de amstras de papéis afetados naturalmente.....	72
TABELA 4 - Valores de coeficiente angular e de correlação linear e $D_0$ relativos à curva de sobrevivência do <i>Cladosporium cladosporioides</i> ...	80
TABELA 5 - Valores de coeficiente angular e de correlação linear e $D_0$ relativos à curva de sobrevivência do <i>Aspergillus niger</i> .....	85
TABELA 6 - Valores de coeficiente angular e de correlação linear e $D_0$ relativos à curva de sobrevivência do <i>Penicillium purpurogenum</i> .....	86

TABELA 7 - Valores de coeficiente angular e de correlação linear e $D_0$ relativos à curva de sobrevivência do <i>Epicoccum nigrum</i> .....	89
TABELA 8 - Colônias adultas de <i>Cladosporium cladosporioides</i> formadas a partir de papéis filtro inoculados e irradiados.....	108
TABELA 9 - Colônias adultas de <i>Epicoccum nigrum</i> formadas a partir de papéis filtro inoculados e irradiados.....	109
TABELA 10 - Microrganismos isolados de papéis autênticos e irradiados.....	113
TABELA 11 - Microrganismos isolados de papéis autênticos submetidos a pré-tratamentos e irradiados.....	118
TABELA 12 - Efeito de diferentes doses de radiação gama nas propriedades físico-mecânicas de papéis.....	123
TABELA 13 - Efeito de diferentes doses de radiação gama nas propriedades físico-mecânicas de papéis.....	124

TABELA 14 - Efeito de diferentes doses de radiação gama nas propriedades físico-mecânicas de papéis.....	125
TABELA 15 - Efeito de diferentes doses de radiação gama nas propriedades físico-mecânicas de papéis.....	126
TABELA 16 - Efeito de diferentes doses de radiação gama nas propriedades físico-mecânicas de papéis.....	127
TABELA 17 - Efeito de diferentes doses de radiação gama nas propriedades físico-mecânicas de papéis.....	128

## LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1 - Crescimento do fungo na superfície do papel.....	21
FIGURA 2 - Estrutura dos fungos e danos causados em papéis.....	22
FIGURA 3 - O processo de formação de manchas de amarelecimento causadas por fungos.....	24
FIGURA 4 - Aspecto geral e detalhe de papéis afetados por fungos.....	68
FIGURA 5 - Aspecto geral e detalhe de papéis afetados por fungos.....	69
FIGURA 6 - Microrganismos - fungos e bactérias - presentes em amostras de papéis afetados naturalmente.....	71
FIGURA 7 - Porcentagem e frequência de microrganismos - fungos e bactérias isoladas de amostras de papéis afetados naturalmente.....	73
FIGURA 8 - Características das colônias de fungos isoladas de papéis afetados cultivados em meio de cultura.....	76

FIGURA 9 - Características das colônias de fungos isoladas de papéis afetados cultivados em meio de cultura.....	77
FIGURA 10 - Colônias de <i>Penicillium purpurogenum</i> , <i>Cladosporium cladosporioides</i> e <i>Aspergillus wentii</i> formados em meio de cultura.....	79
FIGURA 11 - Número de colônias e curvas de sobrevivência de <i>Cladosporium cladosporioides</i> formadas em meio de cultura.....	82
FIGURA 12 - Colônias de <i>Aspergillus niger</i> formadas em meio de cultura a partir de esporos.....	83
FIGURA 13 - Número de colônias e curvas de sobrevivência de <i>Aspergillus niger</i> formadas em meio de cultura.....	84
FIGURA 14 - Número de colônias e curvas de sobrevivência de <i>Aspergillus wentii</i> formadas em meio de cultura.....	87
FIGURA 15 - Colônias de <i>Aspergillus wentii</i> formadas em meio de cultura a partir de germinação de esporos.....	88

- FIGURA 16 - Colônias de *Aspergillus niger* formadas em meio de cultura a partir de germinação de esporos..... 92
- FIGURA 17 - Número de colônias e curvas de sobrevivência de *Penicillium purpurogenum* formadas em meio de cultura..... 93
- FIGURA 18 - Número de colônias e curvas de sobrevivência de *Epicoccium nigrum* formadas em meio de cultura..... 94
- FIGURA 19 - Número de colônias de *Cladosporium cladosporioides* formadas em papel de filtro a partir de esporos na fase inicial de desenvolvimento..... 97
- FIGURA 20 - Número de colônias de *Aspergillus niger* formadas em papel de filtro a partir de esporos na fase inicial de desenvolvimento..... 99
- FIGURA 21 - Número de colônias de *Aspergillus wentii* formadas em papel de filtro a partir de esporos na fase inicial de desenvolvimento..... 100
- FIGURA 22 - Colônias de *Aspergillus wentii* formadas em papel de filtro a partir de esporos na fase inicial de desenvolvimento..... 101

- FIGURA 23 - Colônias de *Penicillium purpurogenum* formadas em papel de filtro a partir de esporos na fase inicial de desenvolvimento..... 102
- FIGURA 24 - Colônias de *Epicoccum nigrum* formadas em papel de filtro a partir de esporos na fase inicial de desenvolvimento..... 103
- FIGURA 25 - Efeito da radiação gama em papéis de livros afetados por microrganismos..... 116

**A APLICABILIDADE DA RADIAÇÃO GAMA  
NO CONTROLE DE FUNGOS QUE AFETAM PAPÉIS**

**Autora: MARIA GUIOMAR CARNEIRO TOMAZELLO**

**Orientador: Prof. Dr. FREDERICO MAXIMILIANO WIENDL**

**RESUMO**

Os papéis e documentos gráficos são afetados por agentes biológicos, químicos e físicos. Dentre os agentes biológicos, os fungos e os insetos são os mais importantes, causando os maiores danos aos materiais bibliográficos e provocando a deterioração e destruição de documentos de valor científico-histórico ou cultural. Os métodos tradicionais de prevenção de ataque de fungos consistem (i) no controle da temperatura, umidade relativa do ar, luminosidade, circulação do ar, etc; e (ii) na aplicação de fumigantes como o óxido de etileno, timol, formaldeído, etc. No entanto, verifica-se que pelo aumento do acervo o ataque de fungos é cada vez mais freqüente e são maiores as restrições para a aplicação de fumigantes pela toxicidade, efeitos cancerígenos, poluição ambiental e prejuízos em algumas propriedades dos materiais tratados. Em paralelo a essas medidas têm sido conduzidas, a partir do final da década de 60, experiências com métodos físicos - como a radiação gama - em materiais afetados por fungos e insetos.

Pelo exposto, no presente trabalho foram realizados (i) isolamentos, cultivo, identificação e descrição dos fungos que afetam papéis; (ii) estudos dos efeitos da radiação gama em diversos estágios de desenvolvimento dos principais fungos (fase de esporos; fase inicial de germinação dos esporos e de formação de colônias; fase de colônias adultas) e meios de irradiação (água e papel), com pré-tratamentos de umidade e temperatura e (iii) estudo dos efeitos da radiação gama nas propriedades físico-mecânicas de papéis autênticos e submetidos a pré-tratamentos de temperatura e umidade.

Os resultados permitiram concluir que: (i) os papéis de impressão em condições inadequadas de conservação são afetados por bactérias e fungos, esses principalmente, dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, entre outros; (ii) os fungos são mais sensíveis à radiação gama na fase de esporos e em suspensão em água (3 kGy) e mais resistentes na fase de colônias adultas e no papel (10 kGy); (iii) os fungos e bactérias presentes em papéis desenvolvem colônias a partir de esporos ou estruturas em estado de latência, quando em condições favoráveis, mesmo quando expostos a elevadas doses de radiação (20 kGy); (iv) o papel antigo (couchê) apresentou, em relação ao papel moderno (sulfite) menores alterações nas propriedades físico/mecânicas pela ação da radiação gama, sendo que o papel moderno já apresenta variações significativas das propriedades em tratamento com dose de 5 kGy.

A radiação gama constitui-se em um método para o controle de fungos em papéis e documentos gráficos, havendo necessidade de pesquisas para a diminuição da dose aplicada, que incluam tratamentos - temperatura, umidade, composição de atmosfera - antes e durante a irradiação.

**THE APPLICABILITY OF GAMMA RADIATION  
ON THE CONTROL OF FUNGI AFFECTING PAPERS**

Author: MARIA GUIOMAR CARNEIRO TOMAZELLO

Adviser: Prof. Dr. FREDERICO MAXIMILIANO WIENDL

**SUMMARY**

The paper and graphic documents can be affected by biological, chemical and physical agents. Among the biological agents, the most important are the fungi and insects, causing greater damage to bibliographic materials and promoting the deterioration and destruction of scientific-historical or cultural valuable documents. The traditional methods of fungal attack prevention consist: (i) control of temperature, relative humidity, light, air circulation, etc. and (ii) application of fumigants, like ethylene oxide, thymol formaldehyde, etc.. However, fungal attacks are becoming more frequent and fumigant applications more restricted by the toxicity, cancerous effects, environmental pollution and damage to some properties of treated material. Research with physical methods, like gamma radiation, in materials affected by fungi and insects have been conducted, at the same time, since the late sixties.

Thus the following aspects were studied in this research: (i) isolation, culture, identification and description of fungi affecting papers; (ii) studies of gamma radiation effects on different developing stages of several fungi (spore phase, spore germination and colony formation; adult colonies), and irradiation media (water and papers) with humidity and temperature pre-treatments and (iii) studies of gamma ray effects on the physical and mechanical properties of authentic papers submitted to previous temperature and humidity treatments.

The following conclusions were drawn the results obtained: (i) the printing papers kept under non-adequate conditions were affected by bacteria and fungi (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, etc.); (ii) fungii are more sensitive to gamma radiation in the spore phase and in water (3 kGy) and more resistant at the adult colony phase and in paper (19 kGy); (iii) fungi and bacteria in papers developed colonies from spores or dormancy structures, under favorable conditions, even if submitted to elevated radiation dose; (iv) the old paper ("glazed") showed smaller alterations in physical-mechanical properties due to gamma radiation than the modern paper ("sulfite"), the modern paper being affected by doses as low as 5 kGy; (v) the gamma radiation constitutes a method for the control of fungi in papers and graphic documents, more research being needed for the reduction of the lethal dose which include treatments - temperature, humidity, atmosphere compositions - before and after irradiation.

## 1. INTRODUÇÃO

A invenção do papel na China, por volta do ano 105 D.C., promoveu profundas alterações nos métodos de registro da escrita. Introduzido pelos árabes no mundo ocidental em 1094, com a instalação de um moinho papelero em Xátiva - Espanha, o papel difundiu-se para os demais países do Continente Europeu. Em 1803, ocorreram significativos avanços com o desenvolvimento da primeira máquina de fabricação de papel na Inglaterra e, atualmente, o setor é caracterizado pelo seu alto nível tecnológico (LIMA *et alii*, 1988; ROTH, 1993).

Por outro lado o acervo bibliográfico produzido ao longo dos séculos exige a contínua aplicação de medidas de prevenção e controle do ataque de agentes biológicos. Na antiguidade recomendava-se o uso de óleo de cedro para a proteção dos papiros e a colocação de pimenta e plantas aromáticas entre as páginas dos livros (CARRERA, 1981). A partir do século XVIII foram utilizados os primeiros produtos químicos para a desinfecção dos documentos gráficos, desenvolvidos e sintetizados para o tratamento de sementes e uso na medicina.

É crescente a necessidade de maior atenção na conservação de materiais bibliográficos sejam de propriedade do Estado ou de particulares. Menciona-se, como

exemplo, a inundação de inúmeros e importantes museus em Florença - Itália, em 1970. Todo o material bibliográfico afetado pelas águas foi transportado para os Alpes para que, com o congelamento, fosse inibido o desenvolvimento de fungos manchadores até o tratamento curativo de cada obra. Em menor escala, acidentes e contaminações que afetam material bibliográfico têm ocorrido com frequência como resultado de condições inadequadas de conservação (MINDLIN, 1993).

Em alguns acervos têm sido adotadas medidas de controle ambiental - temperatura, umidade relativa do ar, luminosidade, circulação do ar etc. - para a prevenção da ação dos agentes biológicos, químicos e físicos (CHAMBERLAIN, 1986; POSTLETHWAITE, 1991; ZEISLER *et alii*, 1993). No entanto, verifica-se que o ataque dos fungos e insetos é cada vez mais frequente e importante exigindo, na maioria dos casos, a aplicação de medidas curativas.

Os métodos tradicionais de controle de fungos consistem na fumigação do material bibliográfico com gases como óxido de etileno, timol, formaldeído, etc. Apesar da eficiência, a aplicação desses gases tem sido cada vez mais restringida e controlada pela elevada toxicidade, flamabilidade, efeitos cancerígenos, efeito residual, poluição ambiental e prejuízos em algumas propriedades dos materiais tratados (BROKERHOF, 1989; POSTLETHWAITE, 1991).

Em paralelo à utilização de produtos químicos têm sido conduzidas, a partir do final da década de 60, experiências com métodos físicos visando estudar o efeito das radiações de alta frequência, ultravioleta e gama em materiais bibliográficos

afetados por fungos e insetos (BELYAKOVA, 1961; BORS *et alii*, 1968; KUBAT *et alii*, 1968).

O uso da radiação gama pode trazer excelentes resultados biocidas não apresentando resíduos de ordem química e/ou radioatividade, podendo atingir completa penetração do objeto. A radiação não tem provocado alterações significativas e perceptíveis na aparência dos materiais tratados de forma rotineira (URBAN *et alii*, 1978; URBAN e JUSTA, 1986).

No entanto, há necessidade das pesquisas do uso da radiação gama, uma vez que, dependendo das doses utilizadas podem ocorrer danos em materiais que contém celulose, como o papel e textéis (BROKERHOF, 1989).

Na conservação de material bibliográfico de valor cultural devem ser aplicados métodos físicos e/ou químicos de desinfecção, que necessariamente mantenham as propriedades básicas e originais da obra, proporcionando condições para aumentar sua longevidade.

## 2. OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivos:

- i) isolamento e identificação dos fungos presentes em diferentes tipos de papéis;
- ii) estudo da irradiação de esporos dos principais fungos, em suspensão aquosa, em diferentes doses de radiação gama;
- iii) estudo do efeito da radiação gama em papéis inoculados por fungos, em diversas fases de desenvolvimento: fase inicial de desenvolvimento dos esporos e fase de colônias adultas;
- iv) estudo do efeito da radiação gama em papéis contaminados naturalmente por fungos;
- v) estudo do efeito da radiação gama nas propriedades físico-mecânicas dos papéis;

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1. Degradação de papéis e documentos gráficos

Os papéis e documentos gráficos podem ser afetados por agentes biológicos, químicos e físicos, dentre os quais os insetos e microrganismos (fungos, bactérias, actinomicetos), acidez, lignina residual, poluição atmosférica (NO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>), tintas de impressão, luz, temperatura, umidade e outros fatores relacionados que contribuem para a redução de sua vida útil e que até causam sua destruição (BROKERHOF, 1989; ZEISLER *et alii*, 1993).

Os fungos e os insetos são os mais importantes, causando os maiores danos aos materiais bibliográficos e provocando a deterioração e destruição de documentos de valor científico, histórico ou cultural. Apesar de indesejável, essa ação constitui-se em um inevitável processo natural de envelhecimento, decomposição e reutilização de compostos orgânicos. Esse ciclo não pode ser totalmente interrompido, mas reduzido a valores tão baixos quanto possíveis através de medidas preventivas ou curativas (KOWALIK, 1969; AGRAWAL, 1989; BROKERHOF, 1989).

No Brasil, segundo GUARNIERI (1980), SALGADO (1980) e CARRERA (1981), as observações em bibliotecas e museus têm revelado alarmante

índice de deterioração dos documentos, papéis, fotografias e livros. Essa situação se agrava pelas limitações de recursos humanos e de pesquisas, que têm reduzido o desenvolvimento de programas de preservação de bens culturais.

CARRERA (1981) relata que desde a antiguidade a destruição de livros e documentos por insetos tem sido motivo de preocupação e de busca de medidas de proteção dos papiros, pergaminhos e papéis. Menciona-se que no Brasil o primeiro registro foi escrito em 1817, na COROGRAFIA BRASÍLICA do Padre Manuel A. de Casal que informa que na cidade de São Paulo "os insetos menos danificam as bibliotecas", ao contrário das outras cidades como Santos, Rio de Janeiro, Salvador etc.

Segundo BROKERHOF (1989) existem milhares de espécies de insetos, cada uma com seu próprio hábito e exigências, sendo que expressivo número degrada papéis, documentos gráficos em museus, coleções particulares, etc.. Essa constatação tem sido feita em todos os países do mundo, seja no Brasil (LÉLIS, 1980; CARRERA, 1981; SERIPIERRI e LUCAS, 1991), EUA (STORY, 1985; POSTLETHWAITE, 1991), Rússia (DVORIASHINA, 1987), Europa (KOWALIK, 1979; BROKERHOF, 1989), etc.

LELIS (1980), CARRERA (1981) e SERIPIERRI e LUCAS (1991) citam, dentre outros autores, que os principais insetos que atacam papéis e materiais bibliográficos são os cupins (*Coptotermis havilandi*, cupim subterrâneo; *Cryptotermis brevis*, cupim de madeira seca; *Heterotermis* spp., cupim subterrâneo); os besouros (*Dorcatoma bibliophagus*, *Anobium (Stegobium) paniceum*, *Trychorinus (Catorama)*

*herbarium*, besouro anobídeo mexicano), as baratas (*Periplaneta americana*, *Periplaneta australasiae*, etc.), as traças dos mais diversos grupos (*Thysanura* sp., *Tinea* sp., *Ctenolepisma longicaudata* e traça dos papéis (*Liposcelis devinatorius*, o piolho dos livros).

### 3.2. Fungos que afetam papéis e documentos gráficos

De acordo com ALEXOPOULOS (1962), os fungos ou eumicetos são extremamente numerosos em gêneros e espécies, estimando-se que esse grupo é representado por cerca de 80.000 espécies, ocorrendo em praticamente todos os ambientes. São organismos desprovidos de clorofila, não realizando a fotossíntese como as plantas sendo, portanto, incapazes de produzir os seus próprios compostos orgânicos. A nutrição é denominada heterotrófica e se faz através de mecanismos de absorção, de forma parasitária, saprófita ou mesmo em simbiose com determinadas plantas. Dessa forma, os fungos são dependentes de outros organismos vivos ou de matéria orgânica em decomposição para retirarem as substâncias necessárias para a sua vida.

Os fungos são classificados com base na morfologia de suas estruturas reprodutivas e vegetativas e nas características de seu ciclo biológico. A estrutura vegetativa dos fungos é de natureza filamentosa, denominada hifa, que se ramifica com o crescimento contínuo, formando o micélio. A estrutura reprodutiva, representada pelas frutificações, é responsável pela produção de esporos de origem sexuada ou assexuada (SZCZEPANOWSKA, 1986).

Segundo COCHRANE (1958), a maioria das espécies de fungos produz significativas quantidades de esporos, que podem chegar a valores de milhões, sendo dispersos de forma eficiente pelo ar, água e outros meios. Em condições normais os esporos germinam no substrato e, em condições desfavoráveis, atingem o estado de latência podendo permanecer viáveis por longo período mesmo em situações extremas.

O crescimento e a reprodução dos fungos que afetam papéis são, de acordo com KOWALIK (1980a), influenciados por inúmeros fatores ambientais, principalmente temperatura, o teor de umidade do substrato papel e a umidade relativa do ar, a luminosidade e o teor de oxigênio, as substâncias nutritivas e a acidez do papel.

Os grupos de espécies de fungos que atacam os papéis apresentam diferentes temperaturas para o máximo de crescimento do micélio e para a reprodução e variações com relação às temperaturas mínimas e máximas. De um modo geral, a melhor faixa de temperatura para os fungos que afetam papéis está compreendida entre 20 - 30°C (COCHRANE, 1958; CORUJEIRA, 1973; SZCZEPANOWSKA, 1986).

Entretanto, alguns autores (KOWALIK, 1969, 1980a; BROKERHOF, 1989) consideram que a faixa de temperatura para fungos que afetam papéis pode ser ampliada para 14 - 30°C ou até 5 - 50°C, sendo que algumas espécies como a *Cladosporium herbarium* e a *Penicillium* sp. podem se desenvolver, mesmo que lentamente a -7°C e -4°C, respectivamente. Da mesma forma, determinados fungos podem crescer em temperaturas superiores a 40°C e alguns até na faixa de 50 - 90°C (CORUJEIRA, 1973).

Com relação ao teor de umidade do papel, KOWALIK (1969), CORUJEIRA (1973) e KOWALIK (1980b) verificaram que para a germinação dos esporos e para o desenvolvimento de fungos que causam mofo em material bibliográfico como os dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, os valores de umidade devem estar já, no mínimo, entre 8 - 10%.

Segundo SZCZEPANOWSKA (1986) a umidade é a mais importante variável do crescimento dos fungos, afetando a germinação dos esporos e controlando todas as atividades vitais das colônias. Os valores ideais de umidade relativa do ar estão na faixa de 65-80% e em valores abaixo de 55%, os esporos tornam-se dormentes e incapazes de germinar KOWALIK, 1969; CORUJEIRA, 1973; DHAWAN, 1986; BROKERHOF, 1989). Considera-se que, de um modo geral, para o *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. as maiores taxas de germinação dos esporos ocorrem em torno de 80% e o crescimento micelial entre 60-65% (KOWALIK, 1980a).

A respeito da luminosidade KOWALIK (1969, 1980b) afirma que a intensidade da luz tem influência na taxa de crescimento dos fungos e que a radiação ultravioleta na faixa de 310-400 nm estimula a formação de frutificações de *Alternaria* sp, *Fusarium* sp. e *Aureobasidium* sp. Numerosas espécies de fungos como o *Helminthosporium* sp. e o *Stemphylium* sp, que possuem esporos pigmentados, apresentam alta resistência aos raios solares, e a presença da pigmentação é considerada como fator de proteção de fungos (COCHRANE, 1958). No entanto, para CORUJEIRA (1973) a luz não é considerada como requisito especial para o crescimento dos fungos, sendo que algumas espécies podem crescer indiferentemente na luz e no escuro; outras são estimuladas ou inibidas pela luz.

A disponibilidade de oxigênio também é importante para o crescimento dos fungos que afetam papéis e, de acordo com SZCZEPANOWSKA (1986), a restrição da aeração pode alterar o crescimento e a coloração das colônias.

Segundo KOWALIK (1969, 1980a,b,) as exigências nutricionais dos fungos que afetam papéis são carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio, enxofre, potássio, magnésio, fósforo e traços de ferro, zinco, cobre e manganês. A melhor fonte de carbono são todos os carboidratos, como a celulose e o amido, que são decompostos por ação de enzimas a compostos orgânicos mais simples. Os elementos minerais (traços) são um dos mais importantes requisitos nutricionais, que afetam as características das colônias e a fisiologia dos fungos (SZCZEPANOWSKA, 1986). Outras substâncias também podem ser utilizadas pelos fungos, como as ceras, os taninos, adesivos e impurezas do processamento de fabricação dos papéis.

Com relação a acidez do papel, os fungos em geral preferem substrato levemente ácido (pH em torno de 4,0 - 5,5). Entretanto, a maioria dos fungos pode crescer em maiores faixas de pH do papel, que pode apresentar variações extremas de 1,4 a 10,0, em função do seu sistema tampão. Após a germinação dos esporos e o crescimento das colônias ocorre uma acidificação em regiões do papel próximas às hifas pela excreção e acúmulo de substâncias do metabolismo, especialmente ácidos orgânicos, como o oxálico, cítrico, glucônico (KOWALIK, 1969; 1980a,b; SZCZEPANOWSKA, 1986).

É expressivo o número de gêneros e espécies de fungos que atacam papéis e documentos gráficos. Em papéis naturalmente afetados os fungos raramente ocorrem em culturas puras, sendo que normalmente grupos de espécies decompõem o substrato em um processo de sucessão. Segundo SZCZEPANOWSKA (1986), os fungos imperfeitos que induzem a biodeterioração de papéis podem ser divididos em dois grupos: o primeiro inicia o processo de degradação e são geralmente saprófitas do solo, o segundo, apresenta adaptabilidade para substratos definidos, como a celulose e continuam o processo de degradação iniciado pelo primeiro grupo (incluem os fungos celulolíticos).

Os gêneros mais frequentes são: *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Chaetomium*, *Mucor*, *Cladosporium* e outros. Segundo NYUKSHA (1983), existem em alguns gêneros como *Aspergillus* e *Penicillium*, espécies com elevada atividade biológica e distribuição mundial e são consideradas com destaque na deterioração de papéis. Além dos danos em materiais bibliográficos em bibliotecas, museus, etc., muitos desses fungos são também patogênicos ao homem provocando desde processos alérgicos até afetando as vias respiratórias etc. (NYUKSHA, 1983; KOWALIK, 1984).

A Tabela (1) traz uma relação de fungos isolados de papéis afetados e respectivas referências bibliográficas.

Tabela 1 - Relação de espécies de fungos isolados de papéis afetados e respectivas referências bibliográficas.

Espécies de fungos	Referências Bibliográficas
<i>Acrostalagmus cinnabarinus</i>	(12), (16)
<i>Acrostalagmus koningi</i>	(6)
<i>Acrothecium</i> sp.	(4), (12), (16)
<i>Alternaria</i> sp.	(16), (18)
<i>Alternaria alternata</i>	(17)
<i>Alternaria chartarum</i>	(4), (11)
<i>Alternaria solani</i>	(23)
<i>Alternaria tenuis</i>	(6), (12), (15), (19)
<i>Aspergillus</i> sp.	(1),(5),(16),(18),(21),(22),(25)
<i>Aspergillus amstelodami</i>	(4), (6), (15)
<i>Aspergillus chevalieri</i>	(11), (15), (17)
<i>Aspergillus clavatus</i>	(15)
<i>Aspergillus echinulatus</i>	(11)
<i>Aspergillus flavus</i>	(4),(6),(13),(14),(15),(16),(17)
<i>Aspergillus flavus-orizae</i>	(10)
<i>Aspergillus fumigatus</i>	(9),(12),(15),(16),(19),(21)
<i>Aspergillus melleus</i>	(17)
<i>Aspergillus nidulans</i>	(6), (15), (17), (23)
<i>Aspergillus niger</i>	(4),(6),(8),(9),(10),(14),(15),(16),(17),(19),(20), (22)
<i>Aspergillus ochraceus</i>	(15), (26)
<i>Aspergillus orizae</i>	(13)
<i>Aspergillus penicilloides</i>	(24)

<i>Aspergillus repens</i>	(1)
<i>Aspergillus ruber</i>	(1)
<i>Aspergillus stellatus</i>	(17)
<i>Aspergillus sydowi</i>	(17), (20)
<i>Aspergillus tamarii</i>	(6)
<i>Aspergillus terreus</i>	(4), (6), (7), (8), (15), (17), (22)
<i>Aspergillus ustus</i>	(6), (12), (17), (26)
<i>Aspergillus wentii</i>	(2), (4), (12), (15), (17), (22)
<i>Aspergillus versicolor</i>	(1), (2), (3), (8), (15), (17), (26)
<i>Aureobasidium</i> sp.	(4), (11)
<i>Aureobasidium fumigatus</i>	(15)
<i>Aureobasidium pululans</i>	(14), (16)
<i>Botryotrichum atrogriseum</i>	(12), (16)
<i>Botryotrichum peluliferum</i>	(6)
<i>Botrytis</i> sp.	(4), (21)
<i>Botrytis cinerea</i>	(12)
<i>Byssochlamys</i> sp.	(16)
<i>Byssochlamys fulva</i>	(9)
<i>Cephalosporium</i> sp.	(16), (19)
<i>Cephalosporium cremonium</i>	(4), (15), (16), (17)
<i>Cladosporium</i> sp.	(5), (7), (10), (16), (19)
<i>Cladosporium</i> <i>cladosporioides</i>	(15), (17), (22)
<i>Cladosporium herbarium</i>	(4), (6), (8), (11), (12), (15), (16)
<i>Chaetomella horrida</i>	(12), (16)
<i>Chaetomium</i> sp.	(16), (18)
<i>Chaetomium angustum</i>	(12)

<i>Chaetomium aterrimum</i>	(12)
<i>Chaetomium atrobrunneum</i>	(12)
<i>Chaetomium botrychodes</i>	(12)
<i>Chaetomium contortum</i>	(12)
<i>Chaetomium cochlioides</i>	(12)
<i>Chaetomium elatum</i>	(4),(5),(7),(8),(9),(10),(19),(22)
<i>Chaetomium fusiforme</i>	(12)
<i>Chaetomium globosum</i>	(1),(5),(6),(9),(14),(17),(19)
<i>Chaetomium indicum</i>	(8)
<i>Chaetomium ochraceum</i>	(12)
<i>Chaetomium olivaceum</i>	(12)
<i>Chaetomium spirale</i>	(9), (19)
<i>Chaetomium termofile</i>	(21), (22)
<i>Chaetomium turgipilosum</i>	(12)
<i>Coriolus versicolor</i>	(6), (22)
<i>Cunninghmella</i> sp.	(16)
<i>Curvularia lunata</i>	(4), (6), (8), (12), (16)
<i>Drechslera tetramera</i>	(21)
<i>Eidamella papyricola</i>	(6)
<i>Eidamella spinosa</i>	(12), (16)
<i>Epicoccum</i> sp.	(6), (16)
<i>Epicoccum nigrum</i>	(12), (16)
<i>Epicoccum purpurascens</i>	(4), (12)
<i>Eurotium</i> sp.	(19), (25)
<i>Eurotium herbariorum</i>	(24)
<i>Fusarium</i> sp.	(6), (10), (16), (18), (22)
<i>Fusarium avenaceum</i>	(6)

<i>Fusarium culmorum</i>	(6)
<i>Fusarium graminearum</i>	(6)
<i>Fusarium moniliforme</i>	(22)
<i>Fusarium orthoceras</i>	(11), (12), (13)
<i>Fusarium oxysporum</i>	(12), (17), (21)
<i>Fusarium sambucinum</i>	(6)
<i>Fusarium semitectum</i>	(21)
<i>Fusarium solani</i>	(12), (22)
<i>Gliomastix convoluta</i>	(12), (16)
<i>Gyrophana lacrymans</i>	(6)
<i>Glyocladium roseum</i>	(12), (16)
<i>Helminthosporium</i> sp.	(12), (16)
<i>Helminthosporium sativum</i>	(9), (19)
<i>Hormodendron</i>	(16)
<i>Humicola</i> sp.	(16)
<i>Humicola grisea</i>	(22)
<i>Lentinus tigrinus</i>	(6)
<i>Melanoma marthwadensis</i>	(16)
<i>Memnoniella</i> sp.	(16)
<i>Memnoniella schinata</i>	(6)
<i>Monilia</i> sp.	(16)
<i>Monotospora cuneiformis</i>	(16)
<i>Mucor</i> sp.	(5), (10), (16)
<i>Mucor fragilis</i>	(23)
<i>Mucor racemosus</i>	(1)
<i>Mycogone nigra</i>	(12), (16)
<i>Myrothecium</i> sp.	(16)

<i>Myrothecium verrucaria</i>	(6), (8)
<i>Nigrospora</i> sp.	(21)
<i>Nocardia</i> sp.	(10)
<i>Neurospora</i> sp.	(16)
<i>Neurospora crassa</i>	(22)
<i>Oospora crustacea</i>	(1)
<i>Paecilomyces varioty</i>	(1),(6),(7),(9),(16),(17),(22)
<i>Pelicularia</i> sp.	(16)
<i>Pelicularia isabelina</i>	(12)
<i>Penicillium</i> sp.	(1), (16), (18), (25)
<i>Penicillium brevi-compactum</i>	(15), (22)
<i>Penicillium camemberti</i>	(15)
<i>Penicillium camerunem</i>	(6)
<i>Penicillium chermesinum</i>	(17)
<i>Penicillium chrysogenum</i>	(1), (17), (22), (23), (26)
<i>Penicillium cyclopium</i>	(15), (26)
<i>Penicillium citrinum</i>	(1), (17)
<i>Penicillium coryophilum</i>	(17)
<i>Penicillium crustorum</i>	(15)
<i>Penicillium cyano-fulvum</i>	(1)
<i>Penicillium digitatum</i>	(9), (10), (19)
<i>Penicillium expansum</i>	(4)
<i>Penicillium fellutanum</i>	(1)
<i>Penicillium frequentans</i>	(6), (15), (17)
<i>Penicillium funiculosum</i>	(4), (6), (20), (22)
<i>Penicillium herquei</i>	(1)
<i>Penicillium islandicum</i>	(15)

<i>Penicillium jantinellum</i>	(7), (15)
<i>Penicillium luteum</i>	(16)
<i>Penicillium nigricans</i>	(15)
<i>Penicillium notatum</i>	(1),(2),(3),(8),(9),(10),(15),(19),(22)
<i>Penicillium ochrochodron</i>	(4)
<i>Penicillium oxalicum</i>	(1)
<i>Penicillium palitans</i>	(1)
<i>Penicillium purpurogenum</i>	(10)
<i>Penicillium roqueforti</i>	(1), (4), (15)
<i>Penicillium simplicissimum</i>	(1)
<i>Penicillium steckii</i>	(1)
<i>Penicillium tardum</i>	(1)
<i>Penicillium variable</i>	(1), (22)
<i>Penicillium verninatum</i>	(4), (12)
<i>Penicillium viricatum</i>	(1), (15)
<i>Pestalotia</i> sp.	(12), (16), (18)
<i>Peyronella glomerata</i>	(6)
<i>Phialophora</i> sp.	(16)
<i>Phoma</i> sp.	(16), (18)
<i>Phoma humicola</i>	(16)
<i>Phoma pigmentivora</i>	(4)
<i>Pullularia</i> sp.	(16)
<i>Pullularia pullulans</i>	(6)
<i>Rhinotrichum bloxami</i>	(1)
<i>Rhizopus</i> sp.	(5), (7), (10)
<i>Scopulariopsis</i> sp.	(16)
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	(9), (12), (15), (22)

<i>Sepedonium</i> sp.	(16)
<i>Sepedonium xylogenum</i>	(9)
<i>Spicaria</i> sp.	(16)
<i>Sporodesmium achinulatum</i>	(1)
<i>Sporodiniopsis dichotomus</i>	(1)
<i>Sporotrichum pulverulentum</i>	(22)
<i>Sporotrichum rosealeum</i>	(2), (3)
<i>Sporotrichum thermophile</i>	(21), (22)
<i>Stachilidium</i> sp.	(7)
<i>Stachybotrys atra</i>	(1),(4),(6),(7),(8),(15),(16),(21)
<i>Stachybotrys lobulata</i>	(16)
<i>Stysannus</i> sp.	(7)
<i>Stysannus stemonitis</i>	(9)
<i>Stemphylium</i> sp.	(4), (16)
<i>Stemphylium botryosum</i>	(1), (8)
<i>Stemphylium consortiale</i>	(6)
<i>Stemphylium piriforme</i>	(1)
<i>Syncephalastrum racemosum</i>	(20)
<i>Thermoascus aurantiacus</i>	(21), (22)
<i>Thielaviopsis paradoxa</i>	(6)
<i>Torula</i> sp.	(12), (16)
<i>Torula termopile</i>	(22)
<i>Trichocladium</i> sp.	(4), (12)
<i>Trichocladium opacum</i>	(16)
<i>Trichoderma</i> sp.	(5), (9), (16), (19)
<i>Trichoderma lignorum</i>	(1), (7)
<i>Trichoderma pseudokoningii</i>	(22)

<i>Trichoderma viride</i> (reesei)	(4),(8),(12),(14),(15),(16),(17),(18),(22)
<i>Trychothecium roseum</i>	(4), (12), (16)
<i>Ulocladium</i> sp.	(16)
<i>Ulocladium botrytis</i>	(14)
<i>Verticillium cinnabarinum</i>	(6)
<i>Verticillium tenerum</i>	(16)

---

(1) BELYAKOVA (1961); (2) BORS (1968); (3) BORS e BARDON (1968); (4) KOWALIK (1969); (5) CORUJEIRA (1973); (7) PAVON-FLORES (1974); (8) GALLO *et alii* (1978-1979); (9) BONETTI *et alii* (1979); (10) GUARNIERI (1980); (11) KOWALIK (1980a); (12) KOWALIK (1980b); (13) NYUKSHA (1983); (14) HORÁKOVÁ e MARTINEK (1984); (15) KOWALIK (1984); (16) DHAWAN (1986); (17) DHAWAN e AGRAWAL (1986); (18) SZCZEPANOWSKA (1986); (19) BROKERHOF (1989); (20) SHAH *et alii* (1989); (21) THAKRE e BHAJBHUJE (1989); (22) ERIKSSON *et alii* (1990); (24) ARAI (1992); (25) FLORIAN (1993); (26) REBRIKOVA e MANTUROVSKAYA (1993).

Os danos provocados no papel pelos fungos de diferentes espécies podem ser verificados desde a nível da sua superfície até alterações da estrutura das moléculas de celulose (SZCZEPANOWSKA, 1986; BROKERHOF, 1989). Os autores enumeram três tipos principais de danos (i) na superfície do papel (causados pelo crescimento das colônias; desenvolvimento dos corpos de frutificação sobre ou no

interior do substrato; interferência na estrutura do papel pelas formas de fixação dos fungos), (ii) descoloração do papel (causada por pigmentos produzidos nos corpos de frutificação; pigmentos localizados no micélio; pigmentos excretados no substrato; produtos do metabolismo que reagem quimicamente com o papel resultando em composto colorido), (iii) obstrução estrutural do papel (causada pela digestão enzimática da celulose). As hifas dos fungos resultantes da germinação dos esporos aderem firmemente nas irregularidades da superfície do papel e também excretar substâncias extracelulares (poli-sacarídeos) com propriedades adesivas. Os fungos produzem também estruturas especiais de fixação denominadas rizóides, haustórios e apressórios. Após a penetração das hifas no interior do substrato são produzidos os corpos de frutificação, que podem ser picnídio, acérvulo, peritécio e que irão produzir novos esporos disseminando a espécie no ambiente.

As Figuras (1) e (2) adaptadas de SZCZEPANOWSKA (1986) mostram o crescimento do fungo na superfície do papel.

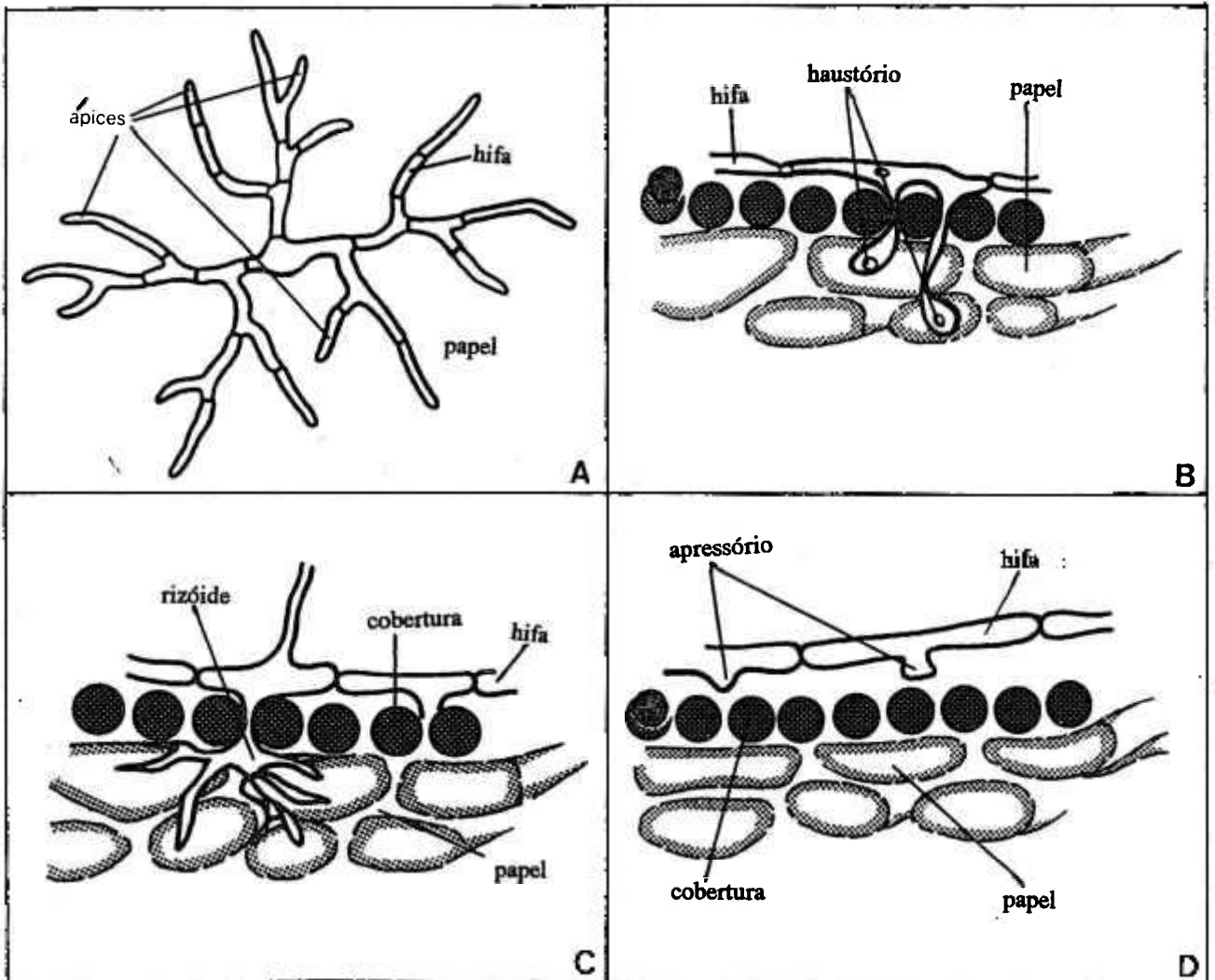


Figura 1 - Crescimento do fungo na superfície do papel, pela extensão apical das hifas (A) e estruturas de fixação e penetração das hifas no papel, dos tipos haustório (B), rizóide (C) e apressório (D). Adaptado de SZCZEPANOWSKA (1986).

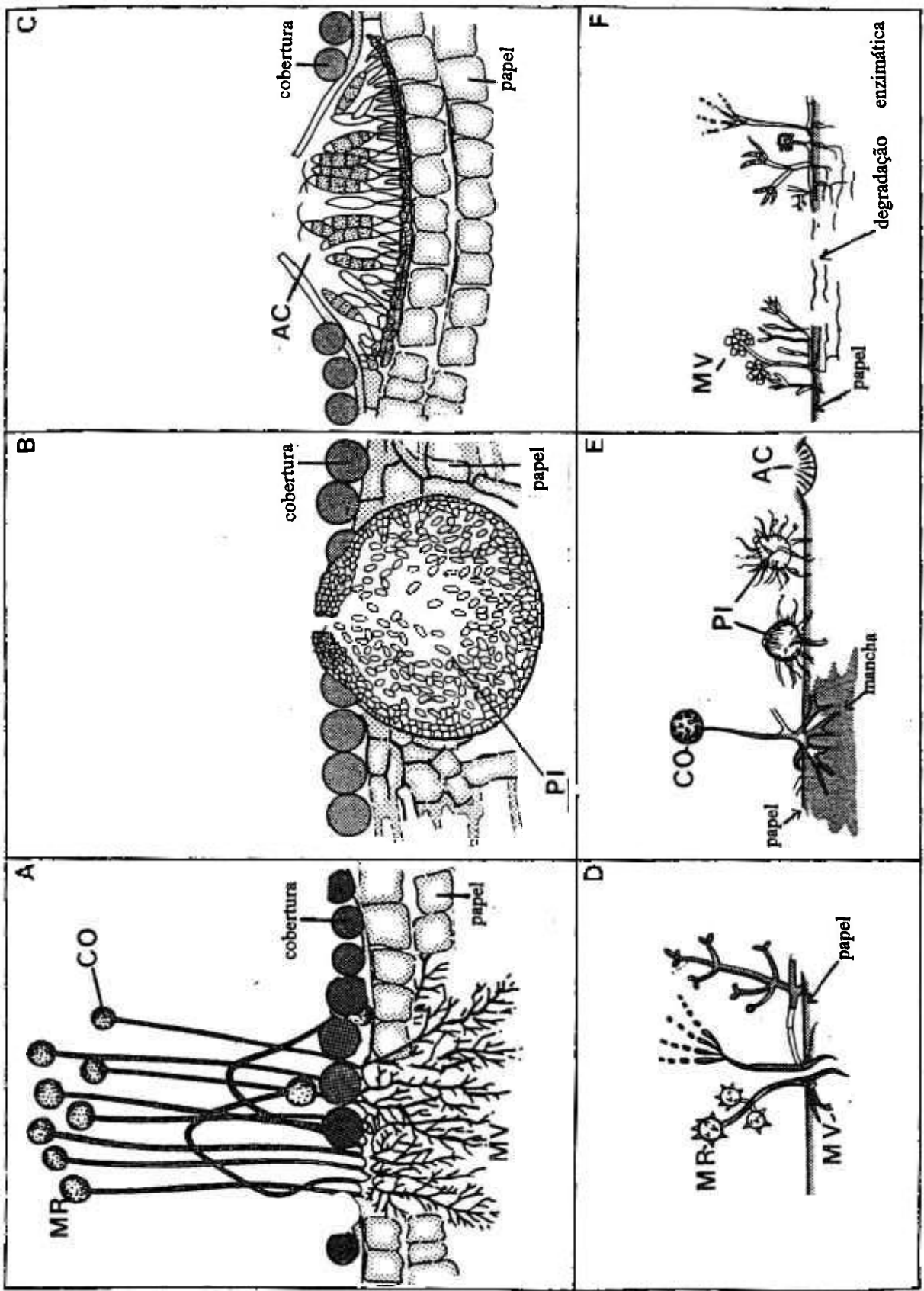


Figura 2 - Estrutura dos fungos e danos causados em papéis. Micélio vegetativo (mv) e reprodutivo (mr). Corpos de frutificação: conidióforo (co), picnidio (pi), acérvulo (ac). Danos na superfície do papel (A, B, C, D) manchas no papel (E), destruição da estrutura da folha por digestão enzimática (F). Adaptado de SZCZEPANOWSKA (1986).

ARAI (1992) pesquisou as relações entre fungos e a formação de manchas amarelas ("foxing") (Figura 3) em papéis e outros materiais. Estudos mostram que o amarelecimento pode ser causado por fatores inorgânicos (como ferro e compostos ferrosos) e aparece em papéis fabricados a partir de 1780, devido ao processo de branqueamento com cloro. Micélio de fungos também tem sido observados em áreas amarelecidas onde metais (zinco, ferro e cobre) não são detectados. O autor verificou contaminações por fungos nas regiões de coloração mais escura ("foxing") e ausência de contaminação nas áreas mais brancas do papel, ao redor das manchas.

Nas áreas de "foxing" não foram detectados metais (cobre, zinco e ferro). O *Aspergillus penicilloides* tem sido associado ao "foxing" em murais na tumba de Tutancamon-Egito.

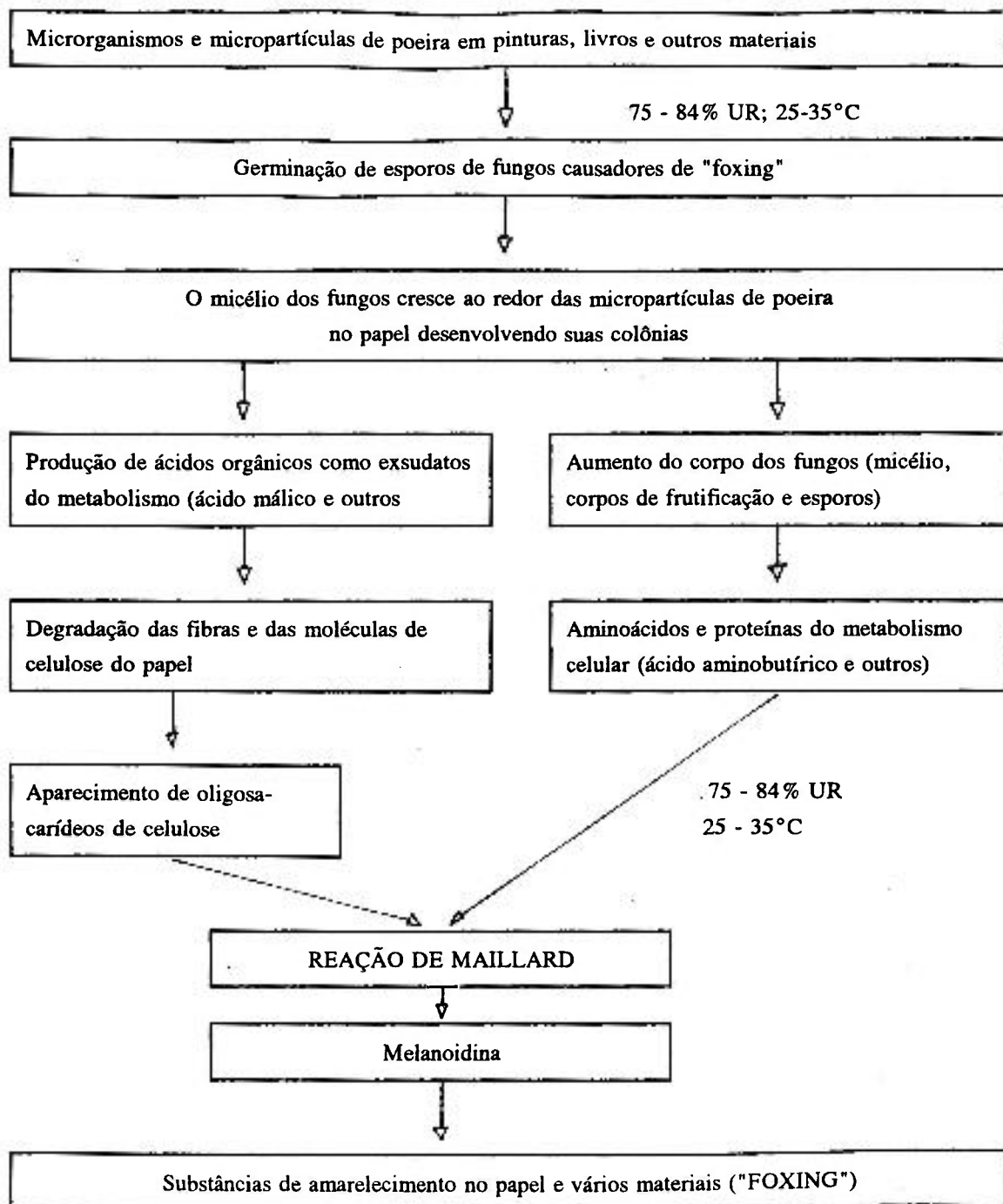


Figura 3 - O processo de formação de manchas de amarelecimento ("foxing") causadas por fungos (ARAI, 1992).

### 3.3. Métodos de controle dos fungos que afetam papéis

As medidas de controle de fungos que afetam papéis podem ser classificadas como preventivas e curativas. De acordo com CORUJEIRA (1973) e BROKERHOF (1989) é fundamental que, para a aplicação de métodos de controle preventivo, haja o perfeito conhecimento das informações sobre a ocorrência, as necessidades vitais e o comportamento dos fungos que afetam papéis.

As medidas preventivas visam basicamente impedir a entrada dos fungos no ambiente através de regulagem da entrada de ar, isolamento e inspeção das obras antes da sua inclusão no acervo. Os autores sugerem a instalação de filtros, obstrução de aberturas e outras medidas complementares, como a restrição a entrada de usuários, etc. Entretanto, inúmeros autores (FRANCO, 1972; CORUJEIRA, 1983; KOWALIK, 1979, 1980a; GUARNIERI, 1980; CHAMBERLAIN, 1982; STORY, 1985, BROKERHOF, 1989) consideram que as medidas de isolamento não são suficientes e algumas vezes práticas, para impedir a entrada de fungos na maioria das bibliotecas, preconizando a aplicação de medidas complementares de controle ambiental. Dentre essas medidas, citam-se temperatura em torno de 20°C, umidade relativa abaixo de 50 - 55% (os esporos dos fungos tornam-se inativos e não germinam), e local suficientemente arejado e racionalmente iluminado. Sugere-se o uso de ar condicionado e desumificadores para o controle ambiental, dependendo da região.

Autores como CORUJEIRA (1973) e KOWALIK (1980a) recomendam, também, um controle de qualidade dos papéis utilizados para a confecção de documentos gráficos, relatando que os papéis modernos apresentam baixa qualidade e contém grande quantidade de polímeros, materiais não fibrosos e impurezas que se constituem, além da celulose, um substrato para o crescimento e desenvolvimento de inúmeras espécies de fungos.

Embora sejam adotadas medidas preventivas, muitas vezes ocorrem ataques de microrganismos nos documentos gráficos, provocados por acidentes (inundações etc.), negligência e até desconhecimento sobre a fisiologia dos fungos e dos métodos de controle. Nesses casos são recomendadas medidas curativas que consistem na aplicação de fungicidas em câmaras de fumigação ou diretamente sobre os papéis. A principal vantagem da fumigação é a penetração do gás fumigante no material a ser tratado, oferecendo também a possibilidade do tratamento de grandes quantidades de livros e material bibliográfico. A ação fungicida e inseticida do gás depende das suas propriedades, concentração, tempo de exposição, temperatura, umidade relativa e pressão da câmara de fumigação (BROKERHOF, 1989).

São muitos os gases e líquidos utilizados e recomendados para o controle de fungos e insetos, cada um apresentando suas vantagens e desvantagens. Os mais usados são óxido de etileno, brometo de metila, timol, formaldeído, diclorobenzeno, etc (FRANCO, 1972; KOWALIK, 1969, 1980a,b; GALLO *et alii*, 1979; GUARNIERI, 1980; BALLARD e BAER, 1986; MAK, 1988; BROKERHOF, 1989; NYUKSHA *et*

*alii*, 1990). Entretanto, os autores são unânimes em alertar sobre a toxicidade dos produtos para o aplicador, usuário e meio ambiente e a presença de resíduos no material, após o tratamento, bem como as possibilidade de recontaminação dos objetos tratados.

#### 3.4. Controle de fungos que afetam papéis através da radiação eletromagnética

O primeiro trabalho utilizando a radiação gama como fungicida em documentos gráficos afetados por fungos foi realizado por BELYAKOVA (1961), em 1960, na Rússia. Em sua pesquisa com 30 diferentes espécies de fungos concluiu que a dose de 6,50 kGy foi suficiente para a desinfecção dos livros contaminados. Os fungos mais resistentes à radiação gama foram *Stemphylium genus* e *Stachybotrys alba* e os mais sensíveis foram *Aspergillus rubea*, *Oospora crustacea*, *Penicillium herquei*, *P. simplicissimum* e *Rhinostrichum parietinum*.

Ao estudarem o efeito sinérgico da radiação gama e temperatura no controle de fungos, BORS *et alii* (1968) observaram que a dose letal para o *Aspergillus versicolor* foi de 2 kGy à temperatura ambiente e pode ser reduzida para 1 kGy com o aumento da temperatura para 40°C. O mesmo efeito pode ser constatado para o *Penicillium notatum*, com o aumento da temperatura para 50°C, durante a irradiação. O crescimento do *Sporotrichum roseolum* foi suprimido com dose de radiação gama de 0,3 kGy e temperatura de 40°C, evidenciando sua baixa resistência à radiação.

Com o objetivo de determinar a dose letal para fungos celulolíticos, PAVON-FLORES (1974; 1975/1976) irradiou esporos de 36 espécies de fungos semeados em papel de filtro em meio de cultura, após 15 dias de incubação, em taxa de dose de 5,16 kGy/hora e doses totais de radiação de 5, 7, 9, 10 e 18 kGy. A maior parte das espécies de fungos foi inativada com doses baixas, exceto o *Stemphylium consortiale* que resistiu à dose de 9 kGy. Em taxas de dose de 0,20 e 0,90 kGy e dose total de 18 kGy, *Peyronella glomerata*, *Alternaria tenuis*, *Aureobasidium pullulans*, *Fusarium avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. sambucinum*, continuaram a se reproduzir e só foram inibidos em taxa de dose de 5,00 kGy/hora e dose total de 18 kGy. De acordo com a autora, o nível das alterações metabólicas das células dos fungos depende da dose de irradiação e taxa de dose; teor de água do meio; gênero, espécie, fase de desenvolvimento do fungo; densidade da cultura e outros.

Segundo BIASETTO (1975/76), os organismos vivos são tanto mais resistentes à radiação quanto mais primitivas e mais simples forem suas estruturas. Indica que para papéis infectados com fungos e bactérias, não há necessidade de se utilizar doses letais de irradiação, mas doses inferiores, suficientes para alterar a fisiologia e a capacidade de reprodução desses microrganismos.

VERO *et alii* (1976) estudaram o desenvolvimento "in vitro" de 11 fungos celulolíticos em função das doses de radiação gama, verificando que a dose letal para a maioria dos fungos foi de 5 kGy, com exceção do *Rhizopus* sp. que exigiu dose letal de 10 kGy.

No Instituto de Pesquisas Nucleares de Řež - República Tcheca, URBAN *et alii* (1978) verificaram que as doses de 5,00 e 0,25 kGy foram suficientes para matar todas as espécies de fungos e insetos da madeira, respectivamente. Com a elevação da temperatura para 50°C, devido ao efeito sinérgico, a dose necessária para a desinfecção é reduzida para 0,5 kGy. A principal vantagem da radiação gama é a facilidade de atravessar o objeto, matando os fungos e insetos presentes no seu interior. Entretanto, a radiação gama só tem efeito curativo, não podendo prevenir novos ataques.

BONETTI *et alii* (1979) ao pesquisarem as doses de irradiação em (i) papéis mofados, (ii) papéis semeados com suspensão de esporos e (iii) suspensão de esporos em água, verificaram que as doses letais foram inferiores a 10 kGy e variavam em função do ensaio e da espécie do fungo. O *Helminthosporium sativum* e *Paecilomyces varioty* comportaram-se como os mais resistentes à radiação. Apesar da dose de radiação de 7 kGy inibir o crescimento dos fungos, os autores recomendam doses de 10 kGy para papéis contendo diversas espécies de fungos. Foi ressaltada a importância da determinação da concentração de esporos de fungos nas suspensões para a correta interpretação dos resultados da radiosensibilidade de diversas espécies.

No Laboratório da Nucleart/CEA do Centro de Estudos Nucleares de Grenoble - França, RAMIÈRI (1981) tem utilizado desde 1970, a radiação gama na conservação de objetos de arte através da desinfecção de objetos de madeira, documentos gráficos e, até múmias, afetados por insetos e fungos. A radiação é usada também na consolidação de objetos de madeira e pedra impregnados com resinas plásticas (monômeros) e polimerizados sob a ação da radiação gama.

Em matéria publicada no "The Abbey Newsletter", McCALL (1984) relata uma experiência com radiação gama realizada nos arquivos do Instituto de Medicina "John Hopkins" para a desinfestação e desinfecção dos materiais de arquivo atacados por insetos, fungos e bactérias, em materiais de arquivo e papéis de valor histórico. A dose de 4,5 kGy em material bibliográfico foi letal para *Aspergillus niger* e outras espécies. A presença de *Penicillium* sp. em algumas amostras após a irradiação indicaram provável contaminação após o tratamento. É feita menção do baixo custo da utilização da radiação gama e a inexistência de resíduos químicos ou radioativos nos papéis tratados.

HORÁKOVÁ e MARTINEK (1984) concluíram que a dose de radiação gama de 8 kGy é letal para a maioria das espécies de fungos que afeta materiais bibliográficos sem alterar significativamente suas propriedades físicas e mecânicas, não recomendando tratamentos de irradiação repetidos, pelo seu efeito acumulativo. Papéis de filtro inoculados com suspensão aquosa de esporos de *Aspergillus flavus*, *A. niger* e *Trichoderma viride* foram esterilizados com dose de 6 kGy, enquanto que para papéis com *Ulocladium botrytis* foi necessário 8 kGy. Livros antigos, infectados naturalmente por fungos e irradiados com 8 kGy não apresentaram, segundo os autores, desenvolvimento de fungos mesmo tendo sido mantidos por 3 meses em condições de 100% UR e 30°C.

De acordo com HANUS (1985), para a aplicação da radiação gama na desinfecção de papéis, documentos e livros deve-se (i) determinar a dose necessária

para eliminar os fungos e bactérias, sem afetar os papéis; (ii) avaliar a possibilidade do efeito sinérgico da radiação e temperatura reduzindo a dose total da radiação necessária; (iii) estudar a possibilidade de reações de degradação de papéis e (iv) tomar as precauções especiais, necessárias na utilização de fontes radioativas.

LECLERC (1988) em uma revisão dos resultados das pesquisas sobre efeitos da radiação nas propriedades dos papéis, concluiu que a radiação gama provoca degradações inaceitáveis em materiais gráficos, apoiado principalmente nos trabalhos de PAVON-FLORES (1974;1975-76) e BUTTERFIELD (1987). Segundo BROKERHOF (1989), em uma pesquisa bibliográfica sobre métodos de controle de fungos e insetos que atacam objetos e coleções de valor cultural, relata que a radiação gama pode ser letal para esses organismos. De acordo com o trabalho para a (i) esterilização de equipamentos de laboratório/hospital, (ii) desinfecção de alimentos, (iii) desinfecção e (iv) desinfestação de objetos de arte são recomendadas doses de 25, 10, 5-18, 1-3 kGy, respectivamente.

Segundo TASSIGNY e BROUQUI (1978) citados por BROKERHOF (1989) na desinfecção da múmia de Ramsés II, afetada por inúmeras espécies de fungos, foi utilizada a dose de 18 kGy, sem provocar alterações significativas na roupa, cabelo, pele e dentes avaliadas através de ensaios mecânicos e observações microscópicas.

SHAH *et alii* (1989) consideram que a radiação gama é um método efetivo no controle do crescimento dos fungos que causam biodegradação de papéis. Os valores da dose letal ( $D_{10}$ ) de radiação gama para *Aspergillus niger*, *Syncephalastrum*

*racemosum*, *Aspergillus sydowi* e *Penicillium funiculosum* foram 0,80, 0,50, 0,40 e 0,50 kGy, respectivamente.

Em matéria publicada na Revista Contato, editada pelo governo francês, são comparadas a utilização do óxido de etileno e da radiação gama na conservação de objetos de arte. Em doses inseticidas (0,5 kGy), a radiação gama é tão eficiente quanto o óxido de etileno. Para esculturas de madeira policrômicas, os raios gama são excelente substituto do óxido de etileno, que exige a exposição do objeto ao vácuo, provocando a sua desidratação brusca e rápida. Em doses fungicidas (20 kGy) pode haver deterioração das macromoléculas orgânicas naturais e sintéticas como pinturas, verniz, resinas, etc. O artigo enfatiza, também, que as pesquisas estão sendo conduzidas no Laboratório Nucleart, instalado no Centro de Estudos Nucleares de Grenoble - França (ÓXIDO, 1990a, A RADIAÇÃO, 1990b).

A radiação gama tem sido utilizada por JUSTA e URBAN (1989), desde 1982, no Museu Central da Bohemia - República Tcheca, na conservação de objetos de arte e de valor cultural. Uma câmara de irradiação, com volume de 60 m<sup>3</sup>, foi a primeira a ser construída junto a um museu na Europa. A dose fungicida máxima utilizada no tratamento do papel é de 8 kGy, para evitar danos que podem ser causados aos papéis históricos pela ação da irradiação. É indicado o aumento da temperatura para 50°C, por 24 horas, antes da irradiação para se obter o efeito sinérgico, mantendo-se, entretanto, o material em estufa a 95% UR. Evita-se, dessa forma, a desidratação das estruturas dos fungos que resultaria em aumento de resistência aos raios gama. Essa influência da dose de irradiação e da temperatura em 4 espécies de fungos, dentre as 27 estudadas, são apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2 - Efeito da temperatura e da dose de irradiação gama na sobrevivência de espécies de fungos que afetam papéis. Fonte: JUSTA e URBAN (1989)

Gênero	Temperatura (°C)	Dose kGy	Após o tratamento
<i>Mucor fragilis</i>	40	4	+
	50	2	-
<i>Alternaria solani</i>	40	4	+
	50	2	-
<i>Aspergillus nidulans</i>	40	4	+
	50	2	-
<i>Penicillium chrysogenum</i>	40	2	-
	50	2	-

Legenda: + sobrevivência - não sobrevivência

Para CHAHINE e VILMONT (1988) há necessidade de uma verificação mais detalhada para se afirmar que 10 kGy são suficientes para exterminar fungos uma vez que para a esterilização de produtos agro-alimentares as doses requeridas são de 15 a 30 kGy. Para os autores, no caso da dose de 10 kGy ser realmente suficiente para exterminar fungos, a radiação gama poderia ser usada em couro e em pergaminho pois nenhuma degradação significativa foi observada nesses materiais tratados com essa dose.

PETUSHKOVA (1992) pesquisou o efeito sinérgico da combinação de diferentes concentrações de detergentes a base de amônia e várias doses de radiação

gama na esterilização de amostras de pergaminho artificialmente contaminadas com bactérias isoladas de manuscritos gregos medievais. A dose letal de 25 kGy caiu para 2,5 kGy na presença de 3 mg/ml de detergente.

Apesar das pesquisas para o controle de fungos utilizarem geralmente radiação gama, BROKERHOF (1989) considera que a radiação ultravioleta e os raios-x apresentam, também, efeito inseticida e fungicida. Os raios-x têm efeitos similares aos da radiação gama, sendo que os raios ultravioleta têm uma penetração limitada e não causam ionização e, elétrons acelerados apresentam, também, os mesmos efeitos que a radiação gama.

De acordo com BAILEY e HAAS (1984) a utilização de elétrons acelerados em artigos de couro afetados por fungos tem, dentre outras vantagens, o fácil ajuste das doses e taxas de dose e pode-se desligar o acelerador quando não está em uso, ao contrário da fonte de radiação gama.

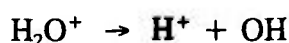
Microondas têm sido utilizadas no controle de insetos que atacam coleções de arte, sendo que materiais com alta umidade absorvem a energia da radiação que é convertida em vibrações das moléculas. A penetração é limitada e, segundo BROKERHOF (1989), a produção de calor durante o tratamento é o maior problema. O aquecimento por microondas baseia-se no princípio da relaxação dielétrica. Submetidas a um campo elétrico externo, as moléculas dipolares, como a água, deixam de movimentar-se de forma browniana e tendem a seguir uma direção. O aumento de temperatura é provocado por uma dissipação parcial da energia que orienta os dipolos (A RADIAÇÃO, 1990b).

REAGAN *et alii* (1982) estudaram a possibilidade do controle da traça dos tecidos com o uso de microondas, considerando que 4 minutos de exposição a 2450 MHz foram suficientes para eliminar essa praga.

### 3.5. Efeito da radiação gama no papel/celulose

A radiação gama ou X de alta energia quando interage com a matéria produz um íon e um elétron Compton de alta energia. Esse elétron pode produzir excitação e ionizar as moléculas vizinhas.

Segundo KUBÁT *et alii* (1968), o átomo atingido pela radiação principal contribui comparativamente pouco para a mudança química total. A excitação primária ou ionização é completada em cerca de  $10^{-14}$ s. Quando radicais livres estáveis são formados, a mudança química final pode ser completada depois de dias ou meses. A molécula excitada pode dissociar-se em 2 radicais ou em 2 moléculas. O radical livre pode ou não recombinar-se, resultando numa mudança química, ou reagir com outros radicais ou moléculas dando novos produtos. Como o papel contém uma certa quantidade de água é importante discutir a radiólise da água. Uma exposição da água a uma radiação de alta energia resulta na formação principalmente de íons  $H_2O^+$  e  $H_2O^{\cdot}$ . Esses íons são instáveis e se decompõem de acordo com as reações:





O radical hidroxila ou o átomo de hidrogênio podem reagir futuramente com uma molécula resultando em oxidação ou redução, respectivamente. Os radicais podem também recombinar-se dando hidrogênio molecular, peróxido de hidrogênio ou água.

Ainda segundo KUBÁT *et alii* (1968), a celulose quando exposta à radiação de alta energia pode sofrer degradação das suas moléculas e haver criação de radicais livres. A radiólise da celulose pode continuar, após a radiação, por um período considerável de tempo. Os autores irradiaram papéis em doses de 1 a 300 kGy e concluíram que acima de 10 kGy as propriedades físico-químicas dos papéis são rapidamente alteradas, com a lignina não demonstrando apresentar efeito protetor sobre a celulose.

Contrária a opinião de KUBÁT *et alii* (1968), PAVON-FLORES (1975 - 1976) considera que a lignina tem efeito protetor sobre a celulose durante a irradiação.

SORANTIN e BARDON (1967) irradiaram papéis de embalagem utilizando radiação gama de uma fonte de  $^{60}\text{Co}$  de 1.000 Ci e avaliaram a resistência das amostras à tração, estouro, rasgo e dobras. Os resultados indicaram diminuição da resistência mecânica dos papéis irradiados, sendo que após uma exposição de 80 h, taxa de 0,4 MGy/h e dose total de 32 MGy, a degradação dos papéis foi completa.

BORS *et alii* (1968) ao avaliarem papéis de embalagem irradiados com relação a resistência ao rasgo, dobras, estouro e tração verificaram, da mesma forma, forte diminuição dessas propriedades em doses superiores a 200 kGy.

As pesquisas sobre o efeito da radiação gama em madeira e celulose realizadas por LAWTON *et alii* (1951, 1953), citados por PASZNER (1968) indicam uma degradação significativa das moléculas de celulose em doses acima de 10 kGy, sendo obtido um produto solúvel em água em dose de 2 MGy.

PASZNER (1968) estudou a degradação da celulose em doses de radiação gama variando de 5 a 500 kGy, verificando que as alterações no valor da cristalinidade da celulose foram diretamente proporcionais ao aumento das doses.

KEENEY *et alii* (1968) estudaram o efeito de doses crescentes de radiação gama nas propriedades do papel toalha em relação ao rasgo, estouro e alongamento. Utilizando as doses de 5 a 80 kGy os autores verificaram que, para todas as amostras, houve uma redução de 3-5% nos valores originais das propriedades, para cada aumento de 10 kGy de radiação gama.

Em estudo sobre as propriedades mecânicas de papéis irradiados com radiação gama, BECK (1969) concluiu que tratamentos com doses de até 10 kGy não apresentaram alterações notáveis na resistência e na cor dos papéis antigos (séculos XVI até XIX) e novos (século XX).

Pesquisando o uso da radiação gama na restauração de papéis e madeira, BECK (1972) verificou que as propriedades mecânicas do papel não apresentaram alterações significativas até a dose de 10 kGy, com exceção da resistência às dobras, que diminuiu em comparação com o seu valor original, em doses de 5 kGy de irradiação.

PAVON-FLORES (1974) analisando o efeito da radiação gama nas

propriedades de 5 diferentes tipos de papéis através de testes físicos (resistência à dobras, rasgo e estouro) e químicos (número de cobre, grau de polimerização e acidez) e opacidade. A irradiação dos papéis na presença ou não do oxigênio, não afetou os resultados dos testes físicos e químicos. Concluiu que houve uma pequena alteração nos valores de resistência mecânica do papel irradiado a dose de 18 kGy e um decréscimo acentuado da resistência mecânica dos papéis irradiados e que sofreram envelhecimento artificial ( $105 \pm 2^\circ\text{C}$ ; 72 horas).

O efeito da radiação gama em pinturas e painéis de tecidos, afetados por fungos, avaliado por VERO *et alii* (1976) através da análise colorimétrica de 8 pigmentos, demonstrou que a dose de 10 kGy produziu variações na viscosidade da tinta e nas características cromáticas dos pigmentos.

GALLO *et alii* (1979) compararam a sensibilidade dos papéis irradiados (5, 20 e 100 kGy) e expostos ao óxido de etileno (125, 250 e 500 g/m<sup>3</sup>) a fungos que afetam papéis, sem verificar diferenças significativas entre os tratamentos.

CALVINI e SANTUCCI (1978-1979) pesquisaram as alterações nas propriedades físico-químicas de 2 tipos de papéis submetidos à radiação gama. O papel antigo mostrou degradação significativa a partir de 15 kGy, a nível das propriedades físicas e químicas (pH, grau de cristalinidade, de polimerização e de % de alfa-celulose). O papel moderno (Whatman n° 1 - celulose pura) envelhecido artificialmente, apresentou alterações em doses de irradiação inferiores a 10 kGy.

De acordo com HORÁKOVÁ e MARTINEK (1984) não foram verificadas

alterações significativas nas propriedades físico-químicas de papéis irradiados com doses totais de 7,2 kGy, exceto para a resistência à dobras duplas. As alterações resultantes da irradiação referiam-se particularmente aos parâmetros químicos (número de cobre e viscosidade).

HANUS (1985) ao irradiar papéis com doses de 3 a 26 kGy verificou que para a dose de 8 kGy não houve alteração significativa da resistência à dobras, verificada nas doses mais altas. O número de cobre aumentou em relação às doses mostrando um aumento do número de grupos redutores na celulose, havendo um decréscimo no grau de polimerização.

Segundo BUTTERFIELD (1987) é geralmente aceito que a maioria dos microrganismos é exterminada com uma dose total de 10 kGy, embora os autores geralmente não concordem em um valor de dose letal única de radiação, para todas as espécies de fungos. Estudou o efeito da radiação nas propriedades de 3 tipos de papéis envelhecidos ( $105 \pm 3^\circ\text{C}$ , 72 horas) e irradiados (10 kGy; taxa de dose 156 Gy/h). Os resultados mostraram que, em comparação com a testemunha, houve um decréscimo da resistência à dobras e resistência ao rasgo para os tratamentos de irradiação, envelhecimento e irradiação mais envelhecimento, sendo que neste último o comprometimento da qualidade dos papéis foi significativamente maior.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Tipos de papéis

Nos ensaios foram utilizados diferentes tipos de papéis classificados, de acordo com BARROTI (1988), com base na nomenclatura da Associação Nacional dos Fabricantes de Papel, em: couchê, sulfite e de filtro, de várias publicações descritas a seguir.

- Couchê: papel para impressão, com todas as qualidade para a reprodução perfeita de "clichês", conferidas pelo revestimento de origem mineral em uma ou duas faces

Revista: **SCIENTIA AGRICOLA**

Universidade de São Paulo - Campus de Piracicaba

ESALQ/USP

Piracicaba, São Paulo, Brasil, vol. 49, n<sup>o</sup> especial, 1992

carbonato de cálcio: presente

dióxido de titânio: presente

pH: 8,8

Composição de fibras: 100% de fibra curta

**Livro: FLORA BRASÍLICA**

F.C. HOEHNE

Fasc. 5 (Vol. XII, VI:97-114)

Impressores "Graphican" - F. LANZARA

Clichés Bremensis - Abril de 1942

carbonato de cálcio: presente

dióxido de titânio: presente

pH: 4,6

Composição de fibras: 100% de fibra curta

**Livro: QUÍMICA GENERAL - Aplicada a La Indústria Con Prácticas de  
Laboratório**

Dr. Enrique Calvet

Salvat Editores S.A. - Barcelona, 1930.

- **Sulfite:** papel para impressão de livros, serviços gerais de tipografia e mimeografia fabricado com pasta química branqueada, carga mineral acima de 10%, bem

encorpado.

Livro: **ZOOLOGIE**

Rémy Perrier

Editora Masson ET Cie, 1925

carbonato de cálcio: presente

dióxido de titânio: presente

pH: 4,6

Composição de fibras: 100% de fibra curta

- **Filtro:** papéis para fins específicos, denominados absorventes e/ou filtrantes, fabricados com pasta química, preferencialmente de fibra curta, formação uniforme, alta absorção e gramatura entre 18 e 150 g/m<sup>3</sup>, conforme a finalidade.

papel de filtro

densidade: 40 g/m<sup>3</sup>

#### **4.2. Isolamento, identificação e descrição dos fungos que afetam papéis**

Os fungos foram isolados de papéis de livros e revistas apresentando manchas de coloração típica, indicativas de contaminação por microrganismos pelas condições de conservação inadequadas, especialmente temperatura e umidade.

No isolamento dos fungos foram utilizadas nove publicações excedentes do acervo, com aparente contaminação (manchas escuras) e cedidas pelo Biblioteca Central da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

. Atlas D'Hybrides Artificiels de Cistes (*Cistus T.*)

M. Card

. Paris, G. Doin, 1933

. Crops and Soils Magazine

1972/73 - vol. 25 e 1975/77 - vol. 28-29

American Society of Agronomy

. I Residui della Vinificazione

Carpentieri & Ottavi

Casale Monferrato. Casa Editrice Ottavi, 1929

. Journal of Food Protection

1988 - vol. 51 - fascículos: 11, 12 e 13.

. Avicultura: Fonte de Riqueza

Eurico Santos

Editora O. Campos, s/d

Vitaminas: noções fundamentais, teor nos alimentos - vol. 1

Fonseca Ribeiro

S.P. Gráficas, 1942

No Ensaio (1), os papéis com as manchas foram destacados das publicações e, em câmara de fluxo, foram cortadas 50 sub-amostras (0,5 x 0,5 cm)/publicação, posteriormente transferidas para placas de Petri (05 amostras/placa) contendo meio de cultura BDA (batata, dextrose, ágar).

Os papéis, nas placas de Petri, foram mantidos durante 7 dias, à temperatura de  $23 \pm 2^\circ\text{C}$  e regime de 12 horas luz/12 horas escuro. As placas foram examinadas sob estereomicroscópio para observação do micélio e frutificações dos fungos desenvolvidos no meio de cultura, a partir das amostras de papéis. Foram feitos, também, exames microscópicos de lâminas preparadas com corantes e as estruturas dos fungos.

As características morfológicas de cada fungo foram comparadas para fins de identificação com as descritas por BARNETT e HUNTER (1972). O isolamento dos fungos foi feito pela transferência de fragmentos de micélio e meio de cultura, com o auxílio de agulha esterilizada, para placas de Petri contendo meio de cultura BDA. Os fungos isolados foram mantidos em condições de estufa ( $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ) para a condução dos demais ensaios.

#### 4.3. Irradiação de esporos de fungos, em suspensão aquosa, em diferentes doses de radiação gama

De colônias de *Cladosporium cladosporioides*, *Aspergillus wentii*, *Penicillium purpurogenum*, com 15 dias de idade em placas de Petri com meio de BDA, foram preparadas suspensões aquosas de esporos.

Para o Ensaio (2), as concentrações das suspensões de esporos de *C. cladosporioides*, *A. wentii*, *P. purpurogenum* foram de  $1 \times 10^5$ ,  $2 \times 10^5$  e  $2 \times 10^5$  esporos/ml, respectivamente. Dessas suspensões de esporos foram transferidos 5 ml para tubos de ensaio e irradiados em câmara de irradiação de  $^{60}\text{Co}$  com doses totais de 6,00 kGy e taxa de dose 4,432 kGy/h.

A fonte de  $^{60}\text{Co}$  utilizada nos experimentos foi GAMMA BEAN modelo 650, atividade de  $9102.10^{10}$  Bq (JAN/93) e  $7981.10^{10}$  Bq (JAN/94), do Centro de Energia Nuclear na Agricultura - CENA/USP, Piracicaba.

Após a irradiação, as suspensões de esporos de cada fungo foram diluídas em concentrações de  $10^4$ ,  $10^3$  e  $10^2$  esporos/ml e desta última diluição ( $10^2$  esporos/ml) foram transferidos 0,2 ml para placas de Petri com meio de BDA com três repetições e incubadas por 7 dias a  $23 \pm 2^\circ\text{C}$  com regime ininterrupto de luz. Após esse período, realizou-se a contagem do número de colônias dos fungos, formadas a partir da germinação dos esporos, por placa de Petri, obtendo-se o número médio para cada tratamento.

No Ensaio (3), esporos de *Cladosporium cladosporioides* em suspensão aquosa de  $1 \cdot 10^5$  esp/ml foram irradiados com doses de radiação gama de 1,0 a 6 kGy, sendo o plaqueamento realizado em diluições de  $10^5$ ,  $10^4$  e  $10^3$  esporos/ml, realizando-se a contagem do número de colônias do fungo, de acordo com o Ensaio (2).

Para o Ensaio (4) utilizou-se suspensão aquosa de *Aspergillus niger* numa concentração de  $2,5 \cdot 10^5$  esp/ml irradiada com doses totais de radiação gama, que variaram de 0,5 a 6,0 kGy. O plaqueamento, após a irradiação, foi realizado com diluições de  $10^5$ ,  $10^4$  e  $10^3$  esp/ml transferindo-se 0,2 ml para placas de Petri com meio de BDA e incubadas por 7 dias a  $(23 \pm 2)^\circ\text{C}$ . Após esse período realizou-se a avaliação da quantidade de colônias do fungo, formadas a partir da germinação de esporos, através de um sistemas de notas de 0 a 10. A nota 0 - indica a ausência de colônias de fungos e 10 - a cobertura total do meio de cultura com colônias de fungos e - 2,5; 5,0 e 7,5 - crescentes porcentagens de cobertura do meio de cultura com colônias de fungos.

No Ensaio (5) a concentração da suspensão aquosa de esporos de *Aspergillus niger* utilizada foi de  $1 \cdot 10^5$  esp/ml e plaqueamento com diluições de  $10^5$  e  $10^4$  esp/ml. As doses de radiação gama variaram de 0,25 a 1,5 kGy, realizando-se a contagem e a avaliação do número de colônias de acordo com os Ensaios (2) e (4).

No Ensaio (6) a concentração da suspensão aquosa de esporos de *Aspergillus niger* utilizada foi de  $2,5 \cdot 10^5$  esp/ml, doses de radiação gama que variaram de 0,25 a 1,5 kGy e plaqueamento com diluições de  $10^3$  e  $10^2$  realizando-se a contagem do número de colônias do fungo, de acordo com o Ensaio (2).

Para o Ensaio (7) foram utilizados esporos de *Aspergillus wentii* em uma concentração inicial de  $1,8 \cdot 10^5$  esp/ml, doses totais de radiação gama de 0,5 a 1,75 kGy e plaqueamento em diluições de  $10^5$ ,  $10^4$ ,  $10^3$  e  $10^2$  esp/ml realizando-se a contagem do número de colônias do fungo, de acordo com o Ensaio (2).

Para o Ensaio (8) utilizou-se suspensão aquosa de  $2,5 \cdot 10^5$  esporos/ml de *Penicillium purpurogenum*, irradiados com doses de 0,10 a 0,70 kGy e plaqueamento, após a irradiação, em diluições de  $10^5$ ,  $10^4$ ,  $10^3$  e  $10^2$  esp/ml realizando-se a contagem do número de colônias do fungo, de acordo com o Ensaio (2).

No Ensaio (9) utilizou-se *Epicoccum nigrum*, em suspensão aquosa na concentração inicial de  $1 \times 10^4$  esp/ml e doses totais de 0,5 a 2,50 kGy. O plaqueamento em placas de Petri contendo BDA, após a irradiação, foi realizado utilizando-se concentrações de  $10^4$ ,  $10^3$ ,  $10^2$  esp/ml realizando-se a contagem do número de colônias do fungo, de acordo com o Ensaio (2).

#### **4.4. Irradiação de papéis inoculados artificialmente com fungos em diferentes estágios de desenvolvimento**

##### **4.4.1. Irradiação de papéis inoculados por fungos, na fase inicial de desenvolvimento dos esporos e formação de colônias**

Suspensões aquosas de esporos de *Cladosporium cladosporioides* ( $10^6$  esporos/ml), *Penicillium purpurogenum* ( $1,9 \cdot 10^5$  esporos/ml), *Aspergillus niger* ( $10^5$

esporos/ml), *Aspergillus wentii* ( $1,8 \cdot 10^5$  esporos/ml) e *Epicoccum nigrum* ( $10^4$  esporos/ml), foram obtidas a partir de colônias dos fungos com 15 dias em placas de Petri em meio de BDA, a  $23 \pm 2^\circ\text{C}$  (Ensaio 10, 11, 12, 13 e 14).

Utilizando-se uma pipeta esterilizada foi feita a aplicação de 1 ml da suspensão de esporos dos fungos em tiras de papel de filtro (1 x 8 cm) previamente esterilizadas (HORÁKOVÁ e MARTINEK, 1984).

Os papéis embebidos com as suspensões de esporos foram mantidos em condições de laboratório por 48 horas, a temperatura ambiente e, transferidos em lotes de 4 tiras para sacos de papel esterilizados e levados para a câmara de irradiação.

Nos Ensaio 12 e 14 as amostras de papel permaneceram por 48 horas em placas de Petri antes da irradiação, ao invés de ficarem expostos ao ambiente.

Os esporos, na fase inicial de desenvolvimento, presentes nas tiras de papel foram irradiados com variadas doses totais de 0,7 a 6 kGy de radiação gama e taxas de dose entre 4,059 e 4,338 kGy/h. Após a irradiação os papéis foram transferidos para tubos de ensaio com BDA inclinado e mantidos por 4 dias a  $23 \pm 2^\circ\text{C}$  em regime de luz. Foram examinados sob estereomicroscópio para contagem do número de colônias do fungo e/ou avaliação da quantidade de colônias, formadas a partir da germinação dos esporos, na superfície dos papéis, por tubo de ensaio, através de um sistema de notas de 0 a 10, similar ao utilizado no Ensaio (4).

#### 4.4.2. Irradiação de papéis inoculados com fungos, na fase de colônias adultas

Nos Ensaio (15) e (16), suspensões aquosas de esporos de *Cladosporium cladosporioides* e *Epicoccum nigrum* nas concentrações iniciais de  $1 \times 10^4$  e  $1 \times 10^5$  esporos/ml, respectivamente, foram obtidas a partir de colônias dos fungos cultivados em BDA por 15 dias, a  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ . Com pulverizador de vidro foram feitas aplicações de 1 ml das suspensões de esporos dos fungos em tiras de papel de filtro (5 x 20 cm), previamente esterilizadas.

Esses papéis com esporos de fungos foram agrupados em lotes de 4 tiras e colocados em sacos plásticos, com algodão umedecido, formando uma câmara úmida, por 15 dias, possibilitando o crescimento e o desenvolvimento dos fungos. Após esse período, os papéis saturados de umidade e com manchas típicas dos fungos foram submetidos aos seguintes tratamentos:

- i) Secagem natural em condições normais de laboratório, por 96 horas;
- ii) Secagem natural em condições normais de laboratório por 72 horas e em estufa por 24 horas, a  $(50 \pm 2)^\circ\text{C}$ ;
- iii) Amostras sem secagem prévia, embaladas em sacos plásticos vedados;

Esses papéis dos 3 tratamentos foram acondicionados em sacos de papéis esterilizados e irradiados com doses de 0 a 20 kGy. Após a irradiação, os papéis foram

retirados das embalagens em sala asséptica, e cortadas sub-amostras de papel (0,5 x 0,5 cm) para plaqueamento em meio de BDA (5 amostras/placa/3 repetições) e posterior contagem da sobrevivência e crescimento dos fungos.

#### 4.5. Irradiação de papéis contaminados naturalmente por fungos

No Ensaio (17), lotes de 10 - 15 folhas de papéis dos livros *Zoologie/ 1925* e *Flora Brasílica/1942*, e da *Revista Scientia Agricola/1992*, apresentando contaminação natural com fungos e bactérias de diferentes gêneros, foram acondicionados em sacos plásticos e irradiados em câmara de irradiação de fonte de  $^{60}\text{Co}$  em doses totais variando de 0 a 20 kGy e taxa de dose de 4,730 kGy/h.

Após a irradiação as embalagens foram abertas em sala asséptica e cortadas sub-amostras de papel (0,5 x 0,5 cm) para plaqueamento em placas de Petri com meio de BDA com 5 amostras de papel/tratamento/placa de Petri e mantidas em estufa incubadora B.O.D., ( $23 \pm 2$ )°C por 7 dias, sob regime luz/escuro (12-12 horas). Após esse período foram feitos exames, sob estereomicroscópio, para observação das estruturas dos fungos desenvolvidos a partir de papéis irradiados.

No Ensaio (18) três conjuntos de 15 lotes de 7 folhas cada, do livro *Química General/1930*, com evidências de contaminação por fungos devido às manchas de coloração escura, foram submetidos a 3 pré-tratamentos:

(i) secagem em estufa seca, a temperatura de ( $50 \pm 2$ )°C, por 24 h;

- (ii) aquecimento em estufa úmida (95 % UR), a temperatura de  $(50 \pm 2)^\circ\text{C}$ , por 24 h;
- (iii) secagem em condições normais de laboratório por 24 h.

Após esses tratamentos os lotes de papel foram colocados em sacos plásticos, vedados e irradiados em câmara de  $^{60}\text{Co}$  com doses de 0 a 20 kGy e taxa de dose de 4,103 kGy/h. Depois da irradiação os sacos plásticos foram abertos em sala asséptica e cortadas sub-amostras de papel e plaqueadas em meio de BDA conforme descrito no ensaio anterior.

#### 4.6. Irradiação de papéis e efeitos nas suas propriedades físico-mecânicas

Papéis de publicações na sua forma original (Ensaio 19) foram irradiados em câmara de irradiação de fonte de  $^{60}\text{Co}$ , em doses de radiação gama de 0 a 20 kGy.

Os papéis irradiados foram mantidos, para condicionamento, em câmara de climatização, a temperatura de  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $65 \pm 2\%$  durante 3 horas, de acordo com as normas da ABNT - MB - 760/77 (1979), de "Condicionamento de papel, cartão e papelão para ensaios". A seguir, foram retiradas amostras de papel (2 x 25 cm; 8 x 8 cm) de acordo com as normas da ABNT - MB - 7158/82 (1982) de "Amostragem de papel, cartão e papel para ensaios".

A avaliação das características e das propriedades físico-mecânicas dos papéis irradiados, foi realizada de acordo com NAVARRO (1972), HALLARD e SANCHEZ (1975) e normas da ABNT (1979, 1982).

Os testes de alongamento e resistência foram feitos nas direções longitudinal e transversal, de acordo com as normas da ABNT - MB 1270/79 (1979), de "Direção de fabricação em papel, cartão e papelão".

As propriedades físico-mecânicas analisadas foram, de acordo com BARROTTI e BERGMAN (1988), as seguintes:

**Gramatura** - massa do papel, expressa em  $g/m^2$  obtida através de balança analítica quando se determina previamente a área da superfície das amostras.

**Espessura** - expressa em mm e obtida através de micrômetro padronizado, com 2 discos planos e paralelos, entre os quais são colocadas as amostras de papel.

**Volume Específico** (ou massa específica) - volume em  $cm^3$  de 1 g de papel, obtido através da fórmula:

$$V.E (cm^3/g) = \frac{\text{espessura (mm)}}{\text{gramatura (g/m}^2\text{)}} \times 1000$$

**Resistência à tração** - expressa em  $kN/m$ , obtida com um dinamômetro, através da fórmula:

$$RT \text{ (kN/m)} = \frac{\text{Carga da Ruptura } R}{\text{largura do corpo de prova } L}$$

**Alongamento** - deformação máxima da amostra de papel no momento da ruptura; determinado simultaneamente com a resistência à tração, usando um acessório do dinamômetro, através da fórmula:

$$A\% = \frac{\text{deformação } L'}{\text{separação inicial das garras} - L} \times 100$$

**Resistência ao rasgo** - expressa em mN, obtida em um aparelho tipo pêndulo Elmendorf, que mede o trabalho necessário para o rasgamento da amostra de papel, a uma distância fixada, calculada através da fórmula:

$$R \text{ (mN)} = \frac{16 \text{ leitura da escala do pêndulo} - L}{\text{número de folhas ensaiadas } i \text{ n}}$$

**Resistência ao estouro** - expressa em kPa, obtida em aparelho de Muller, que mede a pressão necessária para produzir o arrebatamento da amostra de papel ao se aplicar uma pressão uniformemente crescente, transmitida por um diafragma elástico, de área circular.

**Resistência a dobras duplas** - obtida em aparelho de Köller-Molin, que determina o número das dobras necessárias que o papel suporta antes de sua ruptura.

Foram analisadas a natureza dos pigmentos utilizados como revestimento dos papéis, os valores de pH e a composição das suas fibras, de acordo com

metodologias preconizadas por KUAN e BENAZZI (1988), BARROTI e BERGMAN (1988) e KUAN, BENAZZI e BERGMAN (1988).

No Ensaio (19), conjuntos de 15 lotes de 7 folhas cada do livro Química General/1930, na sua forma original foram submetidas a 3 tratamentos anteriores à radiação, já descritos no ítem 4.5, sendo que 2 folhas de cada lote foram utilizadas no Ensaio (18), para plaqueamento de sub-amostras de papel em placas de Petri. As outras 5 restantes de cada lote foram acondicionadas em câmara de climatização a temperatura de  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $65 \pm 2\%$  durante 3 horas. De acordo com as normas da ABNT, foi realizada a avaliação das características e das propriedades físico-mecânicas dos papéis irradiados.

Nesse ensaio, além de folhas de papel acetinado do livro Química General, foram irradiadas e utilizadas para os testes físico-mecânicos, folhas de papel sulfite - tipo padrão, cedidas pela Indústria de Papel Piracicaba. Essas folhas também foram submetidas aos 3 pré-tratamentos.

#### **4.7. Detalhamento e caracterização dos ensaios**

Foram realizados 19 ensaios, de acordo com os ítems 4.2. a 4.7., caracterizados a seguir:

**Ensaio 1**

**Objetivos:** Isolamento e identificação dos fungos

**Papéis:** as nove publicações utilizadas para o isolamento de fungos, relacionadas no ítem 4.1.

**Técnicas:** plaqueamento das amostras de papéis (0,5 x 0,5 cm) em placas de Petri, com meio de BDA, para isolamento e identificação dos fungos.

**Ensaio 2**

**Objetivo :** Irradiação de esporos de fungos, em suspensão aquosa, para determinação da radiosensibilidade.

**Fungos:** *Cladosporium cladosporioides*, *Aspergillus wentii* e *Penicillium purpurogenum*

**Concentrações das suspensões:**  $1 \times 10^5$  esp/ml,  $2 \times 10^5$  esp/ml e  $2 \times 10^5$  esp/ml, respectivamente.

**Doses de radiação:** 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5, 5,0 e 6,0 kGy.

**Taxa de dose:** 4,432 kGy/h

**Técnicas:** plaqueamento da suspensão diluída (diluição:  $10^2$  esp/ml) em placas de Petri, com meio de BDA, para contagem do número de colônias.

### Ensaio 3

**Objetivo :** Irradiação de esporos de fungos, em suspensão aquosa, para determinação da radiosensibilidade.

**Fungo:** *Cladosporium cladosporioides*

**Concentração da suspensão:**  $1 \cdot 10^5$  esporos/ml

**Doses de radiação:** 1,0, 2,0, 3,0, 4,0, 4,5, 5,0 e 6,0 kGy

**Taxa de dose:** 4,242 kGy/h

**Técnicas:** plaqueamento das suspensões diluídas (diluições:  $10^5$ ,  $10^4$  e  $10^3$  esp/ml) em placas de Petri, com meio de BDA, para contagem do número de colônias.

### Ensaio 4

**Objetivo :** Irradiação de esporos de fungos, em suspensão aquosa, para determinação da radiosensibilidade.

**Fungo:** *Aspergillus niger*

**Concentração da suspensão:**  $2,5 \cdot 10^5$  esporos/ml

**Doses de radiação:** 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5, 5,0 e 6,0 kGy

**Taxa de dose:** 4,195 kGy/h

**Técnicas:** plaqueamento das suspensões diluídas (diluições:  $10^5$ ,  $10^4$  e  $10^3$  esp/ml) em placas de Petri, com meio BDA, para avaliação da quantidade de colônias.

**Ensaio 5**

**Objetivo :** Irradiação de esporos de fungos, em suspensão aquosa, para determinação da radiosensibilidade.

**Fungo:** *Aspergillus niger*

**Concentração da suspensão:**  $10^5$  esporos/ml

**Doses de radiação:** 0,25, 0,50, 0,60, 0,70, 0,80, 0,90, 1,00, 1,25, e 1,50 kGy

**Taxa de dose:** 4,195 kGy/h

**Técnicas:** plaqueamento das suspensões diluídas (diluições:  $10^5$ , e  $10^4$  esp/ml) em placas de Petri, com meio de BDA, para contagem do número de colônias.

**Ensaio 6**

**Objetivo :** Irradiação de esporos de fungos, em suspensão aquosa, para determinação da radiosensibilidade.

**Fungo:** *Aspergillus niger*

**Concentração da suspensão:**  $2,5 \cdot 10^5$  esporos/ml

**Doses de radiação:** 0,25, 0,50, 0,60, 0,70, 0,80, 0,90, 1,00, 1,25, e 1,50 kGy

**Taxa de dose:** 4,150 kGy/h

**Técnicas:** plaqueamento das suspensões diluídas (diluições:  $10^3$ , e  $10^2$  esp/ml) em placas de Petri, com meio BDA, para contagem e avaliação da quantidade de colônias.

**Ensaio 7**

**Objetivo :** Irradiação de esporos de fungos, em suspensão aquosa, para determinação da radiosensibilidade.

**Fungo:** *Aspergillus wentii*

**Concentração da suspensão:**  $1,8 \cdot 10^5$  esporos/ml

**Doses de radiação:** 0,50, 1,00, 1,25, 1,50, e 1,75 kGy

**Taxa de dose:** 4,059 kGy/h

**Técnicas:** plaqueamento das suspensões diluídas (diluições:  $10^5$ ,  $10^4$ ,  $10^3$  e  $10^2$  esp/ml) em placas de Petri, com meio de BDA, para contagem do número de colônias.

**Ensaio 8**

**Objetivo :** Irradiação de esporos de fungos, em suspensão aquosa, para determinação da radiosensibilidade.

**Fungo:** *Penicillium purpurogenum*

**Concentração da suspensão:**  $1,8 \cdot 10^5$  esporos/ml

**Doses de radiação:** 0,10, 0,30, 0,40, 0,45, 0,46, 0,47, 0,48, 0,49, 0,50, 0,55, 0,60 e 0,70 kGy

**Taxa de dose:** 4,103 kGy/h

**Técnicas:** plaqueamento das suspensões diluídas (diluições:  $10^5$ ,  $10^4$ ,  $10^3$  e  $10^2$  esp/ml) em placas de Petri, com meio de BDA, para contagem do número de colônias.

### **Ensaio 9**

**Objetivo :** Irradiação de esporos de fungos, em suspensão aquosa, para determinação da radiosensibilidade.

**Fungo:** *Epicoccum nigrum*

**Concentração da suspensão:**  $1 \times 10^4$  esporos/ml

**Doses de radiação:** 0,50, 0,75, 1,00, 1,25, 1,50, 1,75, 2,00, 2,25, 2,50 kGy

**Taxa de dose:** 3,925 kGy/h

**Técnicas:** plaqueamento das suspensões diluídas (diluições:  $10^4$ ,  $10^3$  e  $10^2$  esp/ml) em placas de Petri, com meio de BDA, para contagem do número de colônias.

### **Ensaio 10**

**Objetivo :** Irradiação de papéis inoculados por fungos, na fase inicial de desenvolvimento de esporos, para determinação da radiosensibilidade.

**Papel:** papel de filtro

**Fungo:** *Cladosporium cladosporioides*

**Concentração da suspensão:**  $10^5$  esporos/ml

**Doses de radiação:** 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5, 5,0, 6,0, 7,0, 8,0, 9,0, 10,0 e 15,0 kGy

**Taxa de dose:** 4,338 kGy/h

**Técnicas:** plaqueamento das tiras de papel inoculadas por fungos em tubos de ensaio com BDA inclinado, para contagem do número de colônias.

### **Ensaio 11**

**Objetivo:** Irradiação de papéis inoculados por fungos, na fase inicial de desenvolvimento de esporos, para determinação da radiosensibilidade.

**Papel:** papel de filtro

**Fungo:** *Aspergillus niger*

**Concentração da suspensão:**  $10^5$  esporos/ml

**Doses de radiação:** 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5, 5,0, 5,5 e 6,0 kGy

**Taxa de dose:** 4,195 kGy/h

**Técnicas:** plaqueamento das tiras de papel inoculadas por fungos em tubos de ensaio com BDA inclinado, para avaliação da quantidade de colônias.

**Ensaio 12**

**Objetivo :** Irradiação de papéis inoculados por fungos, na fase inicial de desenvolvimento de esporos, para determinação da radiosensibilidade.

**Papel:** papel de filtro

**Fungo:** *Aspergillus wentii*

**Concentração da suspensão:**  $1,8 \cdot 10^5$  esporos/ml

**Doses de radiação:** 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,25, 2,50, 2,75 e 3,0 kGy

**Taxa de dose:** 4,059 kGy/h

**Técnicas:** plaqueamento das tiras de papel contaminadas por fungos em tubos de ensaio com BDA inclinado, para avaliação da quantidade de colônias.

**Ensaio 13**

**Objetivo :** Irradiação de papéis inoculados por fungos, na fase inicial de desenvolvimento de esporos, para determinação da radiosensibilidade.

**Papel:** papel de filtro

**Fungo:** *Penicillium purpurogenum*

**Concentração da suspensão:**  $1,9 \cdot 10^5$  esporos/ml

**Doses de radiação:** 0,10, 0,20, 0,30, 0,40, 0,50, 0,60, 0,70, 0,80, 0,90, 1,00, 2,00, 3,00, 4,00 e 5,00 kGy

**Taxa de dose:** 4,242 kGy/h

**Técnicas:** plaqueamento das tiras de papel inoculadas por fungos em tubos de ensaio com BDA inclinado, para avaliação da quantidade de colônias.

#### **Ensaio 14**

**Objetivo :** Irradiação de papéis inoculados por fungos, na fase inicial de desenvolvimento de esporos, para determinação da radiosensibilidade.

**Papel:** papel de filtro

**Fungo:** *Epicoccum nigrum*

**Concentração da suspensão:** 10<sup>5</sup> esporos/ml

**Doses de radiação:** 1,0, 2,0, 3,0, 4,0, 4,5, 5,0, 5,5, 6,0, 7,0, 8,0 e 9,0 kGy.

**Taxa de dose:** 4,059 kGy/h

**Técnicas:** plaqueamento de sub-amostras de papel artificialmente contaminadas por fungos, em placas de Petri com BDA, para avaliação da quantidade de colônias.

#### **Ensaio 15**

**Objetivo :** Irradiação de colônias de fungos na fase adulta em papéis artificialmente inoculados, para determinação da radiosensibilidade.

**Papel:** papel de filtro

**Fungo:** *Cladosporium cladosporioides*

**Concentração da suspensão:**  $1.10^4$  esp/ml

**Pré-tratamentos:** (i) secagem natural em condições normais de laboratórios por 96 horas; (ii) secagem natural em condições normais de laboratório por 72 horas e em estufa seca por 24 horas, a  $(50 \pm 2)^\circ\text{C}$ ; (iii) amostras sem secagem prévia, embaladas em sacos plásticos vedados.

**Doses de radiação:** 2,0, 4,0, 6,0, 10,0 e 20,0 kGy.

**Taxa de dose:** 3,969 kGy/h

**Técnicas:** plaqueamento de sub-amostras de papel artificialmente contaminadas por fungos, em placas de Petri com BDA, para contagem do número de colônias.

## **Ensaio 16**

**Objetivo :** Irradiação de colônias de fungos na fase adulta em papéis artificialmente contaminados, para determinação da radiosensibilidade.

**Papel:** papel de filtro

**Fungo:** *Epicoccum nigrum*

**Concentração da suspensão:**  $1 \times 10^5$  esp/ml

**Pré-tratamentos:** (i) secagem natural em condições normais de laboratórios por 96 horas; (ii) secagem natural em condições normais de laboratório por 72 horas e em estufa seca

por 24 horas, a  $(50 \pm 2)^\circ\text{C}$ ; (iii) amostras sem secagem prévia, embaladas em sacos plásticos vedados.

**Doses de radiação:** 2,0, 4,0, 6,0, 10,0 e 20 kGy.

**Taxa de dose:** 3,969 kGy/h

**Técnicas:** plaqueamento de sub-amostras de papel artificialmente contaminadas por fungos, em placas de Petri com BDA, para contagem do número de colônias.

### **Ensaio 17**

**Objetivo :** Irradiação de papéis contaminados naturalmente por fungos (papéis autênticos) para determinação da radiosensibilidade.

**Papel:** papel tipo sulfite (Zoologie - Remy Perrer/1925) e tipo couchê (Revista Scientia Agricola/ESALQ/USP/ 1992) e (Flora Brasílica/1942).

**Fungo:** *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Cladosporium cladosporioides*, *Rhizopus* sp., *Epicoccum nigrum*, *Fusarium* sp. e *Alternaria tenuis*

**Doses de radiação:** 2,5, 5,0, 7,5, 10,0, 12,5, 15,0, 17,5 e 20,0 kGy.

**Taxa de dose:** 4,730 kGy/h

**Técnicas:** plaqueamento de sub-amostras de papel naturalmente contaminadas por fungos, em placas de Petri com BDA, para contagem do número de colônias.

**Ensaio 18**

**Objetivo :** Irradiação de papéis contaminados naturalmente por fungos (papéis autênticos) para determinação da radiosensibilidade.

**Papel:** papel tipo couchê (Livro Química General/1930).

**Doses de radiação:** 1,0, 2,0, 3,0, 4,0, 5,0, 6,0, 7,0, 8,0, 9,0, 10,0, 12,5, 15,0, 17,5 e 20 kGy.

**Taxa de dose:** 4,103 kGy/h

**Técnicas:** plaqueamento de sub-amostras de papel naturalmente contaminadas por fungos, em placas de Petri com BDA, para contagem do número de colônias.

**Ensaio 19**

**Objetivo:** Irradiação de papéis e avaliação dos efeitos nas suas propriedades físico-mecânicas.

**Papel:** tipo couchê (Livro Química General) e papel tipo sulfite (Padrão IPP).

**Doses de radiação:** 5,0, 10,0, 15,0 e 20,0 kGy.

**Taxa de dose:** 4,103 kGy/h

**Técnicas:** conforme descritas no item 4.6.

## **5. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **5.1. Isolamento, identificação e descrição dos fungos que afetam papéis**

Na superfície do papel de algumas obras verificou-se a presença de hifas e de corpos de frutificação de fungos, fortemente pigmentados e de cor escura, aderindo firmemente nas irregularidades do substrato. Foram também observados sinais mais severos provocados pelos fungos, causando a desintegração do papel, pela ação das enzimas produzidas pelo crescimento micelial, na parede celulósica das fibras, além de manchas afetando significativas áreas da folha de papel. Essas manchas são, provavelmente, resultado da reação dos exsudatos do metabolismo dos fungos, com as fibras do papel, conforme salienta SZCZEPANOWSKA (1986). Nas obras danificadas os fungos estavam presentes nas folhas internas e localizadas próximas ao dorso dos livros e revistas, conforme destacam REBRIKOVA e MANTUROVSKYA (1993). Este fato indica a existência de condições favoráveis à germinação dos esporos e crescimento micelial e frutificação dos fungos pela anterior exposição do material à ação da água e conseqüente umedecimento dos papéis (Figuras 4 a 5).

Essas condições de umidade do papel, umidade relativa do ar e temperatura ambiente, segundo KOWALIC (1969, 1980a,b) e CORUJEIRA (1973) favorecem o intenso desenvolvimento desses fungos que produzem segundo GUARNIERI (1982) significativa quantidade de esporos, que podem chegar a milhões e são dispersos de forma eficiente pelo ar e outros meios. Esses esporos podem ficar em estado de latência (BROKERHOF, 1989) e permanecer viáveis por longo período em condições extremas, germinando em ambiente favorável (DHAWAN, 1986). Além das condições ambientais o intenso desenvolvimento dos fungos indica que também são atendidos os seus requerimentos nutricionais quanto às fontes de carbono (celulose, amido), oxigênio, nitrogênio e traços de elementos minerais como o K, Mg, P, Fe, Zn, Mn, etc, além de outras impurezas e contaminantes do processamento e armazenamento dos papéis (KOWALICK, 1969, 1980a; SZCZEPANOWSKA, 1986).

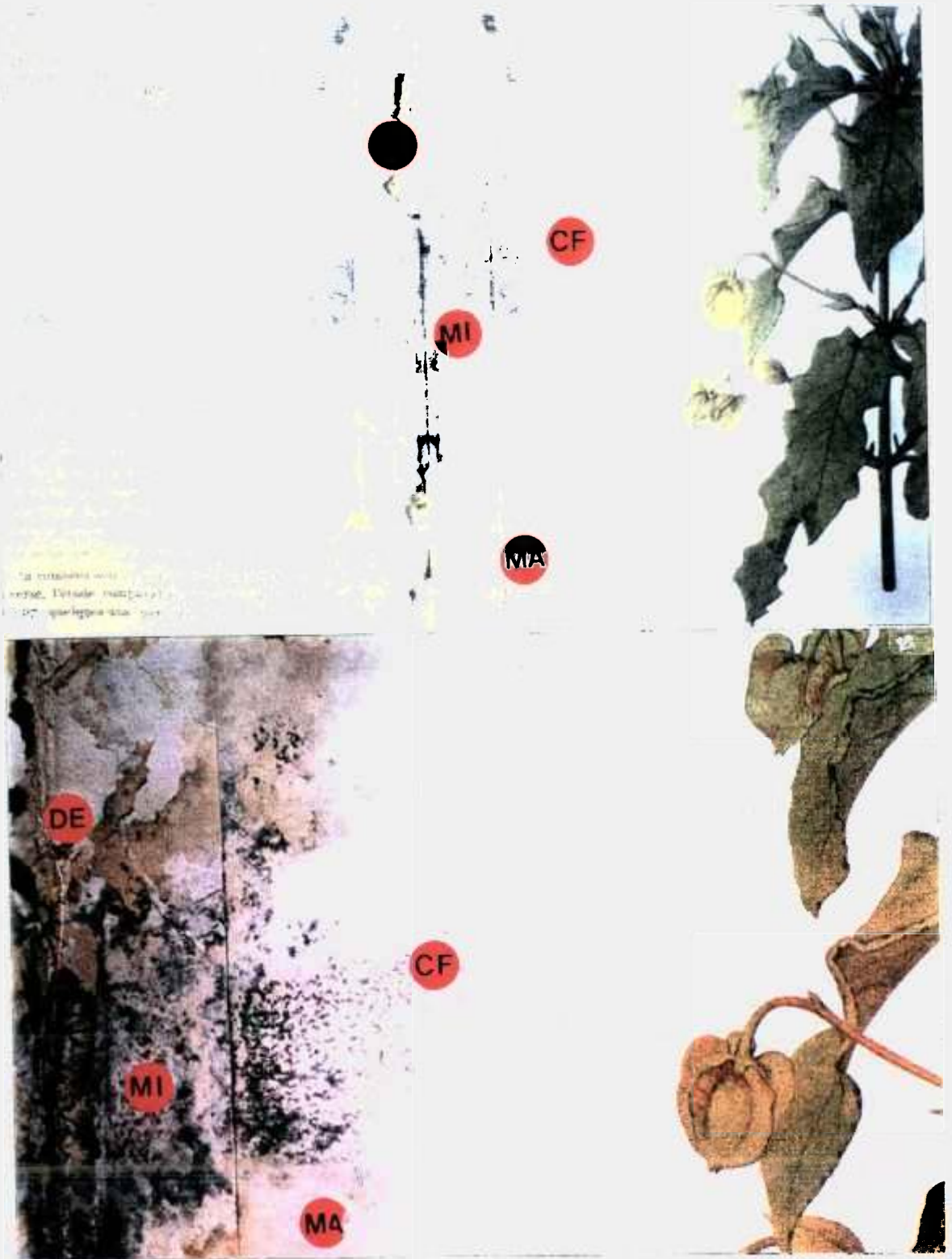


Figura 4 - Aspecto geral e detalhe de papéis afetados por fungos. Presença de micélio (mi), corpos de frutificação (cf) e de manchas (ma) nos papéis e a desintegração (de) de suas fibras.



Figura 5 - Aspecto geral e detalhe de papéis afetados por fungos. Presença de micélios (mi) e de corpos de frutificação (cf) e de manchas (ma).

O plaqueamento das amostras afetadas de papel das revistas e livros proporcionou o desenvolvimento de inúmeras espécies de fungos, além de bactérias, na superfície do meio de BDA (Figura 6). Esses fungos foram identificados pelas características do micélio, dos corpos de frutificação e dos esporos através de exames macro e microscópicos e de acordo com as descrições apresentadas por BARNETT e HUNTER (1972).

Os resultados da Tabela 3 indicam que na contaminação natural do papel estão presentes várias espécies de fungos, que ocorrem em diferentes porcentagens de frequência, dependendo do material e nível de danos. Entretanto, os mais frequentes são os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, que ocorrem em até 90% dos papéis, seguindo-se o *Cladosporium* com cerca de 30%. Na Figura 7, verifica-se que esses fungos compreendem cerca de 54% dos isolados, estando incluídos, em posição de destaque, na extensa relação de 191 gêneros/espécies de fungos causadores de danos em papéis citados na literatura (Tabela 1). Além desses foram também isolados fungos dos gêneros e espécies *Rhizopus* sp., *Nigrospora sphaerica*, *Phomopsis* sp., *Chaetomium* sp., *Trichoderma pseudokoningii*, *Epicoccum nigrum*, *Curvularia* sp. e *Fusarium* sp., em menores porcentagens, além de bactérias.

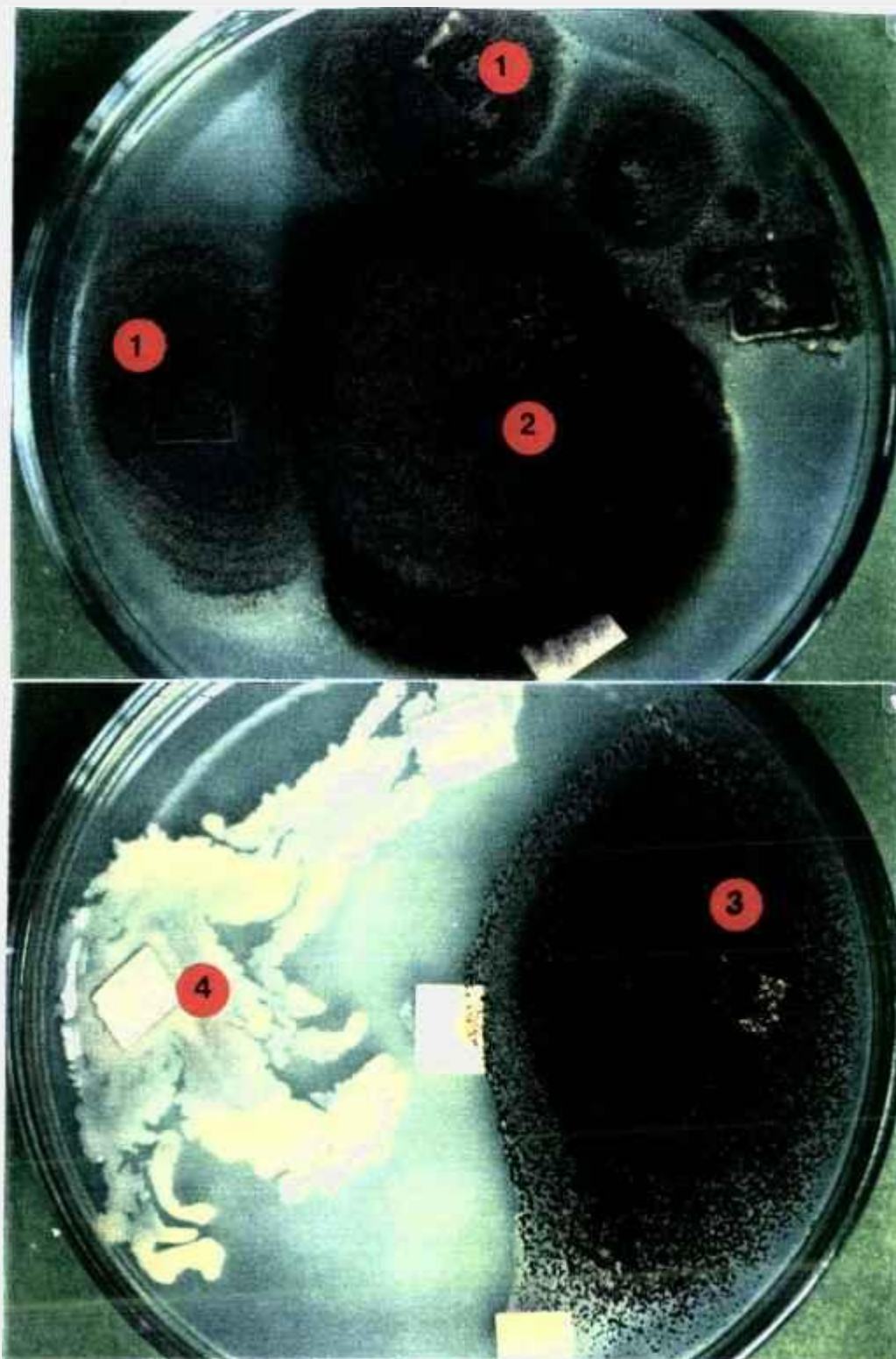


Figura 6 - Microrganismos - fungos e bactérias - presentes em amostras de papéis afetados naturalmente, plaqueados em meio de cultura. *Penicillium purpurogenum* (1), *Cladosporium cladosporioides* (2), *Aspergillus niger* (3) e bactérias (4).

Tabela 3 - Microrganismos - fungos e bactérias - em porcentagem, isolados de amostras de papéis afetados naturalmente.

Espécies	Amostras de Papéis								
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
<i>Aspergillus</i> spp*	20***	16	4	10	58	70	-	88	58
<i>Penicillium</i> spp**	16	10	4	22	6	-	-	70	90
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	26	26	2	20	4	4	2	10	-
<i>Rhizopus</i> sp	2	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Nigrospora sphaerica</i>	4	-	-	-	2	-	-	-	-
<i>Phomopsis</i> sp	-	2	-	-	-	-	-	-	-
<i>Chaetomium</i> sp	-	2	-	-	-	-	-	-	2
<i>Trichoderma pseudokoningii</i>	-	-	2	-	-	-	-	-	-
<i>Epicoccum nigrum</i>	-	-	2	-	-	-	-	-	-
<i>Curvularia</i> sp	-	-	-	2	-	-	-	-	10
<i>Fusarium</i> sp	-	-	-	-	2	2	-	4	12
NI a	4	-	-	14	-	-	-	-	-
NI b	2	-	-	10	2	-	-	-	-
NI c	-	8	-	-	4	-	-	-	-
NI d	6	-	-	4	-	-	-	-	-
NI e	-	16	-	-	4	-	-	-	-
Bactérias	16	30	62	70	14	94	78	78	-

\* Representados por *Aspergillus niger*, *A. wentii* e *A. spp.*

\*\* Representados por *Penicillium purpurogenum*, *P. decumbens* e *P. spp.*

\*\*\* Frequência, em porcentagem, a partir do plaqueamento de 50 amostras.

\*\*\*\* NI: fungo não identificado.

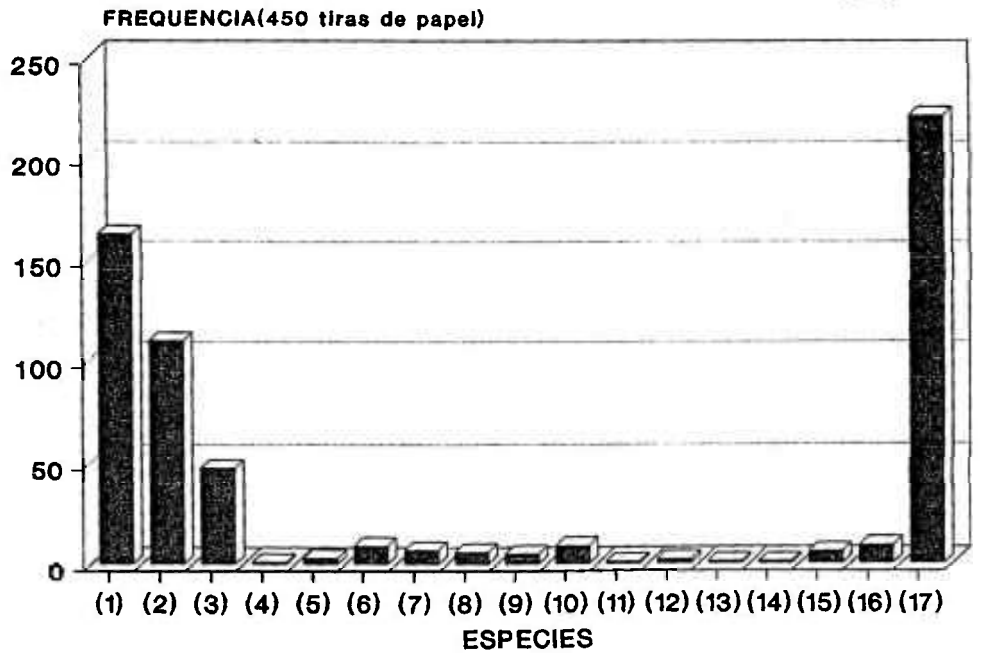
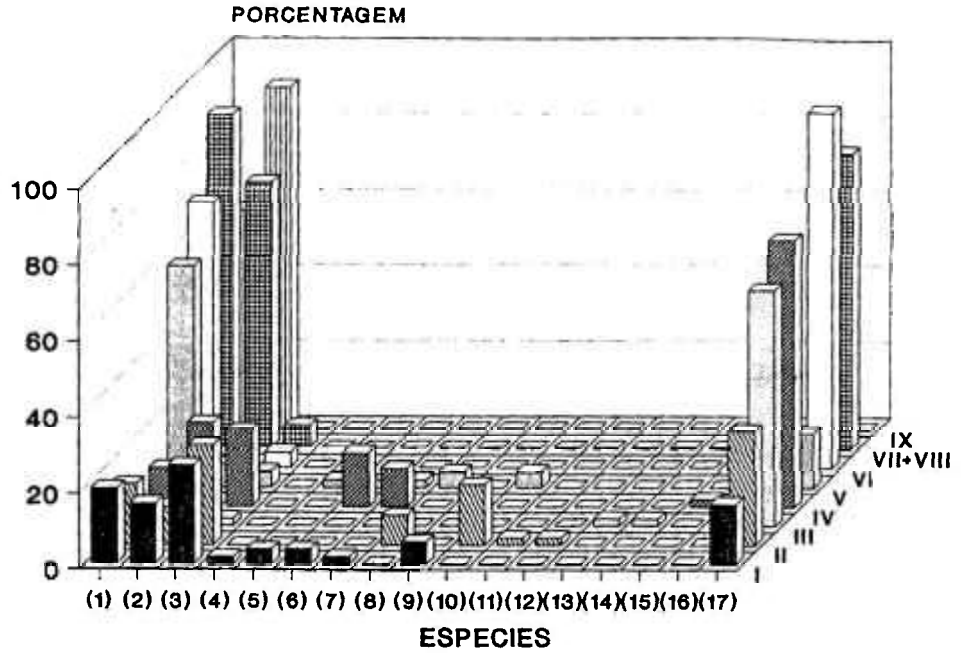


Figura 7 - Porcentagem (A) e Frequência (B) de microrganismos - fungos e bactérias - isolados de amostras de papéis afetados naturalmente. (1) *Aspergillus* spp.; (2) *Penicillium* sp.; (3) *Cladosporium cladosporioides*; (4) *Rhizopus* sp.; (5) *Nigrospora sphaerica*; (6 a 10) fungos não identificados; (11) *Phomopsis* sp.; (12) *Chaetomium* sp.; (13) *Trichoderma pseudokoningii*; (14) *Epicoccum nigrum*; (15) *Curvularia* sp.; (16) *Fusarium* sp.; (17) bactérias.

Os fungos isolados apresentam características na fisiologia que os diferem de inúmeras outras espécies, conferindo-lhes maior capacidade de crescimento e reprodução em diferentes substratos, como o papel. O *Penicillium* sp. e o *Cladosporium* sp. podem se desenvolver, mesmo que lentamente, à temperatura de  $-4^{\circ}\text{C}$ ; a germinação dos esporos de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. pode ocorrer em teores de umidade de 7 - 9%; os esporos de *Aspergillus flavus* podem manter a viabilidade em estado latente por mais de 12 anos; seu crescimento micelial pode ocorrer em umidade relativa abaixo de 45% e produz mais de 20 metabólitos, como celulases, amilases, etc (KOWALIK, 1980a; NYUKSHA, 1983). Segundo SZCZEPANOWSKA (1986), os gêneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Fusarium*, iniciam o processo de degradação dos papéis e são geralmente saprófitas do solo; os gêneros *Trichoderma* (*T. viride* e *T. reesei*) e *Chaetomium* dão continuidade ao processo de degradação, iniciado pelo primeiro grupo, apresentando adaptabilidade para o substrato celulose. Com relação ao substrato, o *Aspergillus flavus*, *Chaetomium globosum*, *Curvularia lunata* são considerados fortemente celulolíticos, o *Cladosporium herbaceum* e o *Fusarium avenaceum* medianamente celulolíticos; o *Aspergillus niger*, *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. como não celulolíticos (PAVON-FLORES, 1974). Ainda, segundo GUARNIERI (1980), *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. crescem em grande variedade de substratos, como madeira, tecidos e papéis, sendo que o *P. purpurogenum* causa manchas no substrato, citando também como importantes os gêneros *Chaetomium*, *Cladosporium* e *Mucor*.

As bactérias são raramente citadas na literatura especializada como microrganismos afetando papéis. Dentre os autores, KOWALIK (1969, 1980a,b, 1984) e mais recentemente PETUSHKOVA (1992) fizeram referências a alguns gêneros de bactérias como *Bacillus* sp., *Micrococcus* sp., *Aerobacter aerogenes*, *Cellfalcicula* sp., *Cellvibrio* sp., *Cytophaga* sp., descrevendo aspectos gerais da fisiologia e condições ideais de crescimento e multiplicação, como o pH, umidade relativa, temperatura, etc.

As características das colônias do *Aspergillus niger*, *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium purpurogenum* e *Epicoccum nigrum* em meio de cultura são apresentados nas Figuras 8 e 9, evidenciando a coloração e textura do micélio e os corpos de frutificação típicos das espécies.

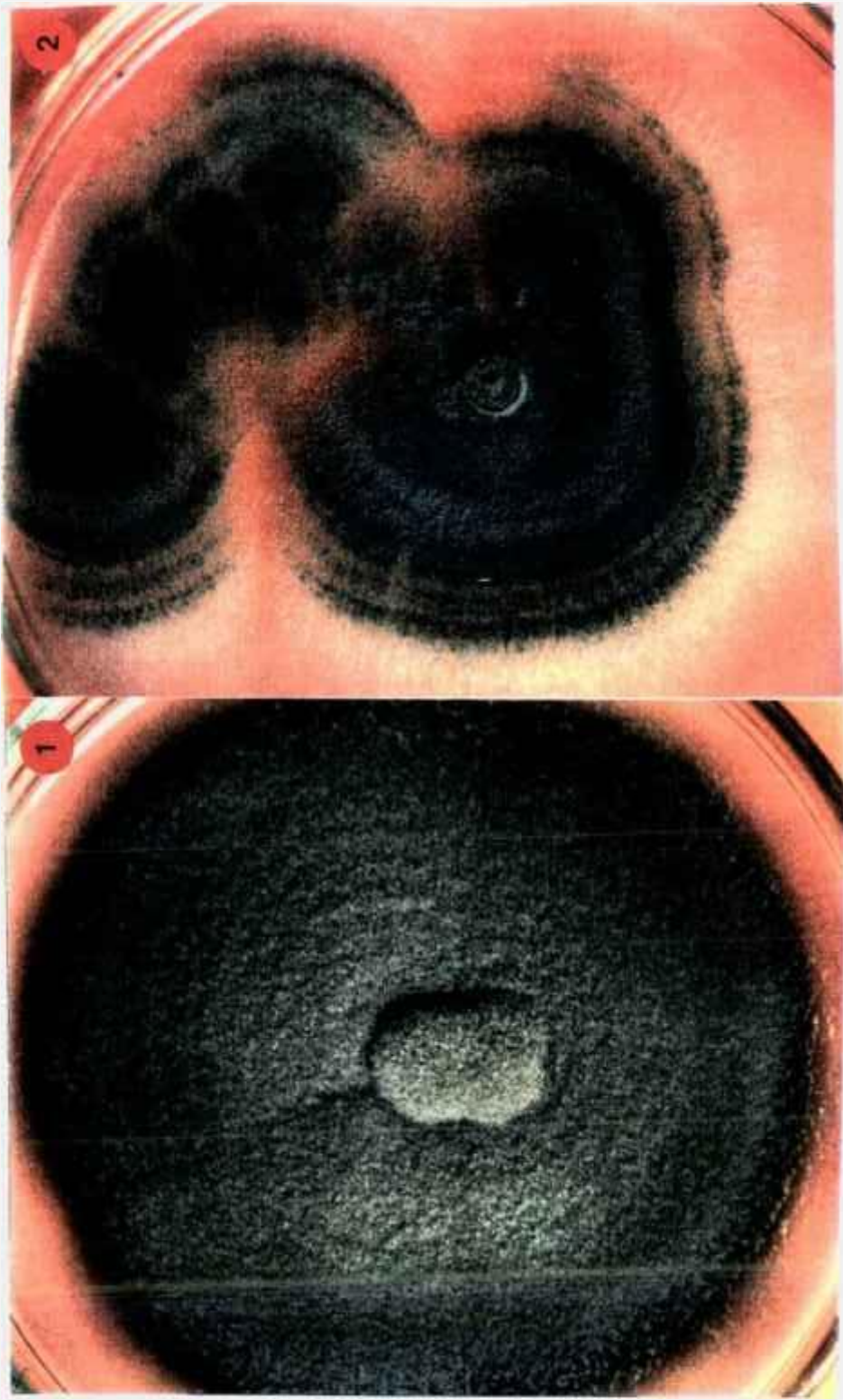


Figura 8 - Características das colônias de fungos isolados de papéis afetados cultivadas em meio de cultura. (1) *Cladosporium cladosporioides*, (2) *Penicillium purpurogenum*.

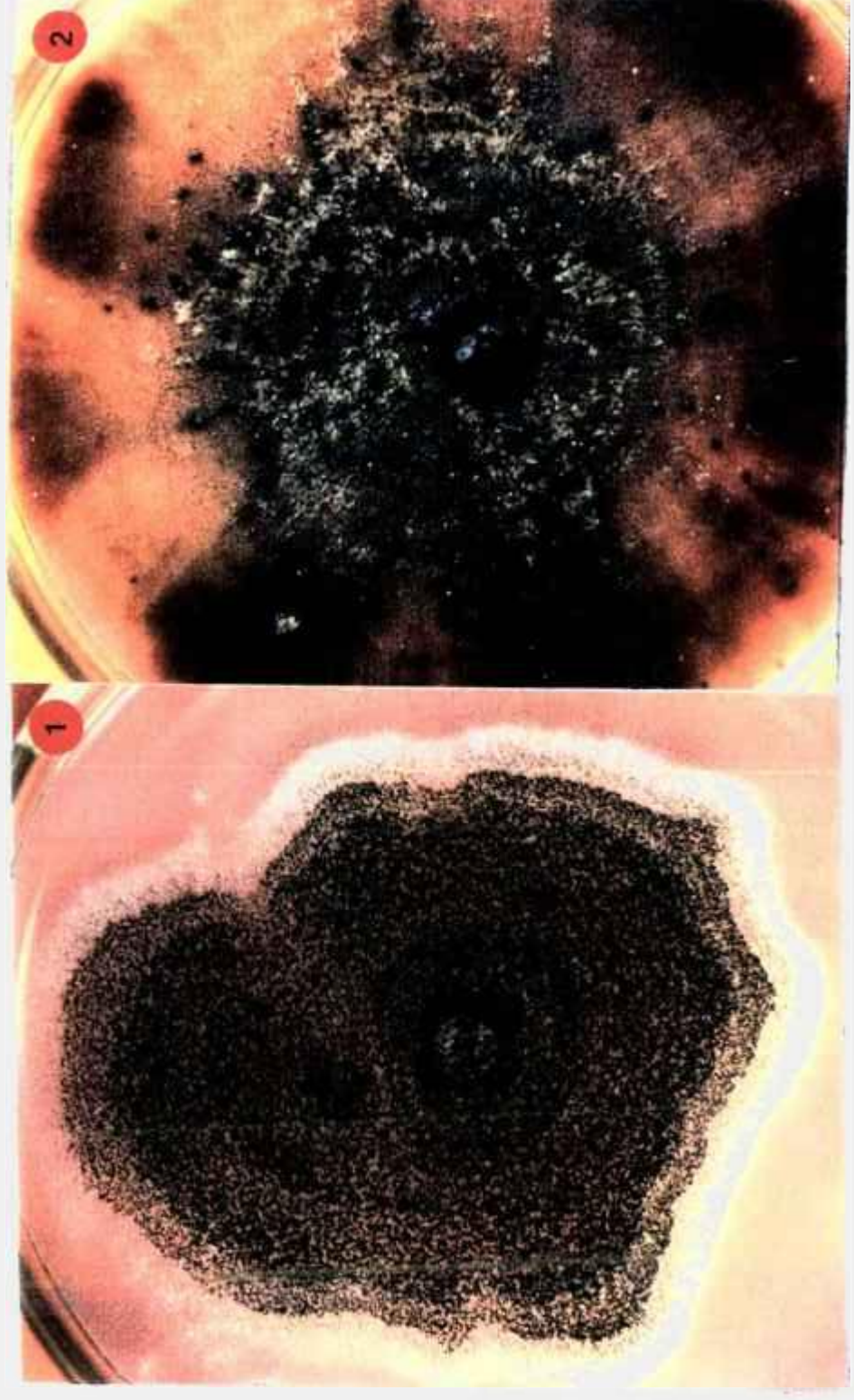


Figura 9 - Características das colônias de fungos isolados de papéis afetados cultivadas em meio de cultura. (1) *Aspergillus niger*, (2) *Epicoccum nigrum*.

## 5.2. Irradiação de esporos de fungos em suspensão aquosa, com diferentes doses de radiação gama

Os esporos dos fungos que mantiveram-se viáveis após a exposição à radiação gama, deram origem a colônias típicas das espécies em meio de cultura de BDA (Figuras 10 a 18), Apêndices 1 a 8 referentes aos Ensaios 2 a 9).

Na Figura (10) (Ensaio 2, Apêndice 1) são apresentados os resultados da contagem do número de colônias de *Aspergillus wentii*, *Cladosporium cladosporioides* e *Penicillium purpurogenum* formadas a partir dos esporos expostos previamente a doses de 0 a 6 kGy de radiação gama. Os resultados desse ensaio exploratório demonstraram que, em relação à testemunha, doses acima de 0,5, 1,5 e 4,0 kGy afetaram a viabilidade de todos os esporos de *Penicillium purpurogenum*, *Aspergillus wentii* e *Cladosporium cladosporioides*, respectivamente. Esses valores são relativos ao plaqueamento de suspensões de  $10^2$  esporos/ml.

A partir desses resultados iniciais pesquisou-se o efeito de doses crescentes de radiação gama em diferentes suspensões de esporos das espécies de fungos.

Os resultados da irradiação de esporos de *Cladosporium cladosporioides* são apresentados na Figura 11 (Ensaio 3, Apêndice 2), verificando-se que o plaqueamento dos esporos deu origem a colônias de fungos em meio de cultura até as doses de 1,0 e 2,0 kGy, para as suspensões de  $10^3$  e  $10^4 - 10^5$  esporos/ml, respectivamente. A figura (11) indica a curva de sobrevivência dos esporos sendo que, dentre os pontos

experimentais, foi traçada a reta que melhor se ajustou à parte retilínea da curva. A partir dessa reta foram obtidos para o *Cladosporium cladosporioides* os coeficientes de correlação linear ( $r$ ), coeficiente angular ( $b$ ), e a dose  $D_0$  que corresponde a uma sobrevivência de 37% dos esporos (Tabela 4), de acordo com BONETTI *et alii* (1979).

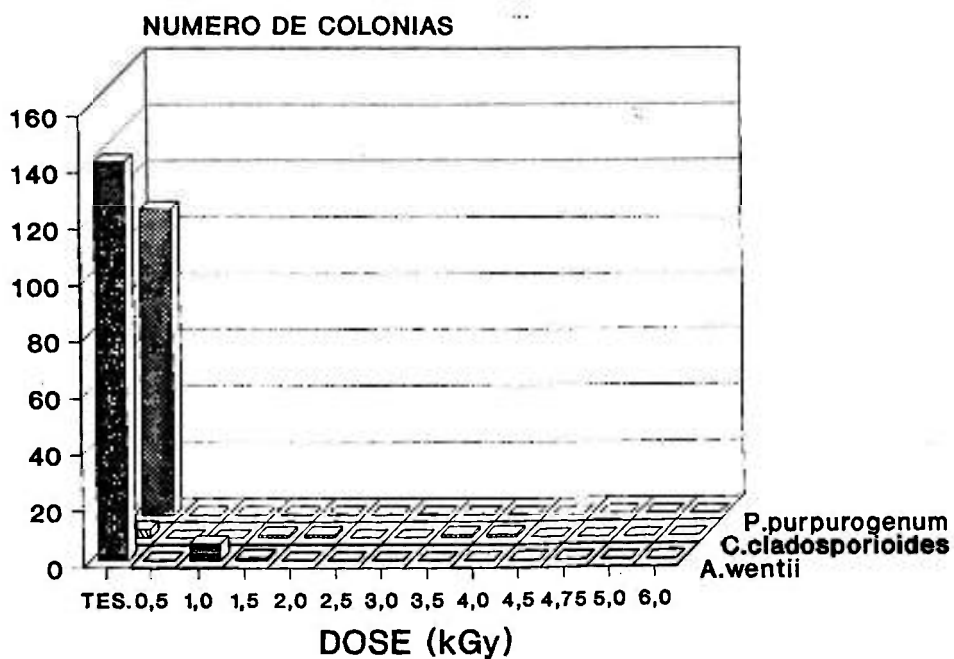


Figura 10 - Colônias de *Penicillium purpurogenum*, *Cladosporium cladosporioides* e *Aspergillus wentii* formados em meio de cultura a partir de esporos irradiados com doses crescentes de radiação gama na suspensão de  $10^2$  esporos/ml.

Para o *Aspergillus niger* observou-se a formação de colônias em doses de até 0,5 e 1,0 kGy de radiação gama pelo plaqueamento de suspensões de  $10^3$  e  $10^4 - 10^5$  esporos/ml, respectivamente (Figura 12, Apêndice 3, Ensaio 4). Quando foram avaliados os efeitos de doses em intervalos menores foram formadas colônias até a dose de 0,9 kGy a partir do plaqueamento de suspensões de  $10^4$  e  $10^5$  esporos/ml (Figura 12, Apêndice 4, Ensaio 5). Os mesmos resultados foram obtidos para suspensões de  $10^2$  e  $10^3$  esporos/ml (Figura 13, Apêndice 5, Ensaio 6). A partir da curva de sobrevivência dos esporos (Figura 13) foram obtidos os valores dos coeficientes angular (b), coeficiente de correlação linear (r) e da dose  $D_0$  que corresponde a uma sobrevivência de 37% dos esporos (Tabela 5).

Tabela 4 - Valores do coeficiente angular (b), coeficiente de correlação linear (r) e  $D_0$  relativos à curva de sobrevivência do *Cladosporium cladosporioides* (Figura 11).

Fungo	Diluição	b	r	$D_0$ (kGy)
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	$10^5$	-0,69315	-0,966578	1,43
Suspensão inicial:	$10^4$	-0,5495	-0,866026	1,80
$10^5$ esp/ml	$10^3$	-*	-	-

\* Insuficiência de pontos.

Para o *Aspergillus wentii* as colônias foram formadas até a dose de 0,5 kGy para todas as suspensões - de  $10^2$  a  $10^5$  esporos/ml - observando-se um aumento no número de colônias do fungo nos tratamentos testemunha e 0,5 kGy de radiação, em função do aumento do número de esporos viáveis presentes na suspensão (Figura 14, Apêndice 6, Ensaio 7). Esses resultados podem ser visualizados nas Figuras 15 e 16, evidenciando-se as características e o número de colônias do *Aspergillus wentii* nos tratamentos testemunha e 0,5 kGy de radiação pelo plaqueamento das 4 suspensões de esporos. A dose letal para essa espécie é superior a 0,5 kGy, para os esporos suspensos em água, não sendo feita a regressão linear por insuficiência de pontos.

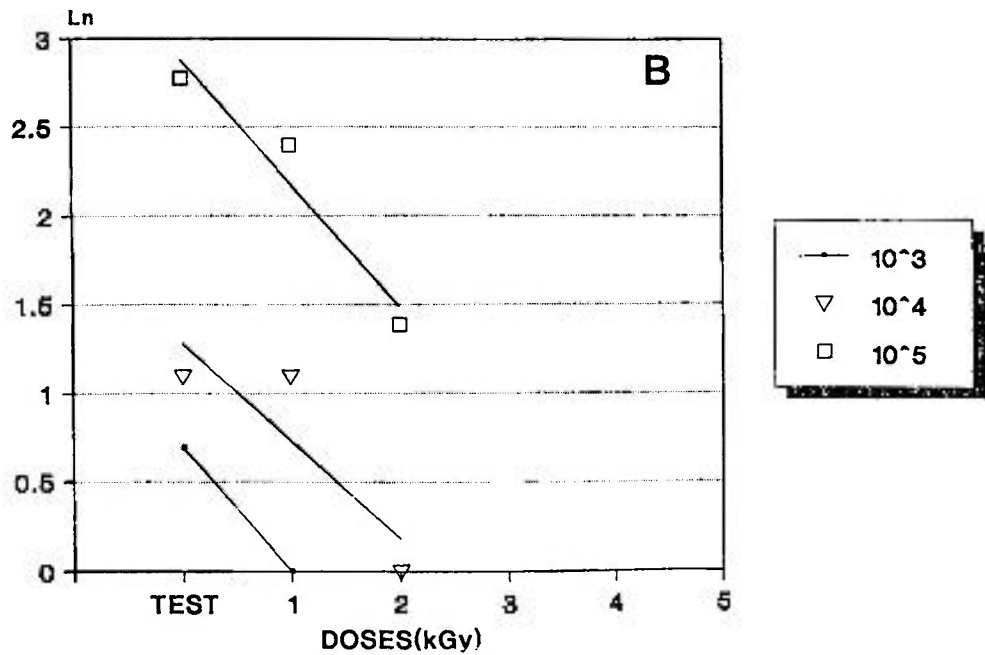
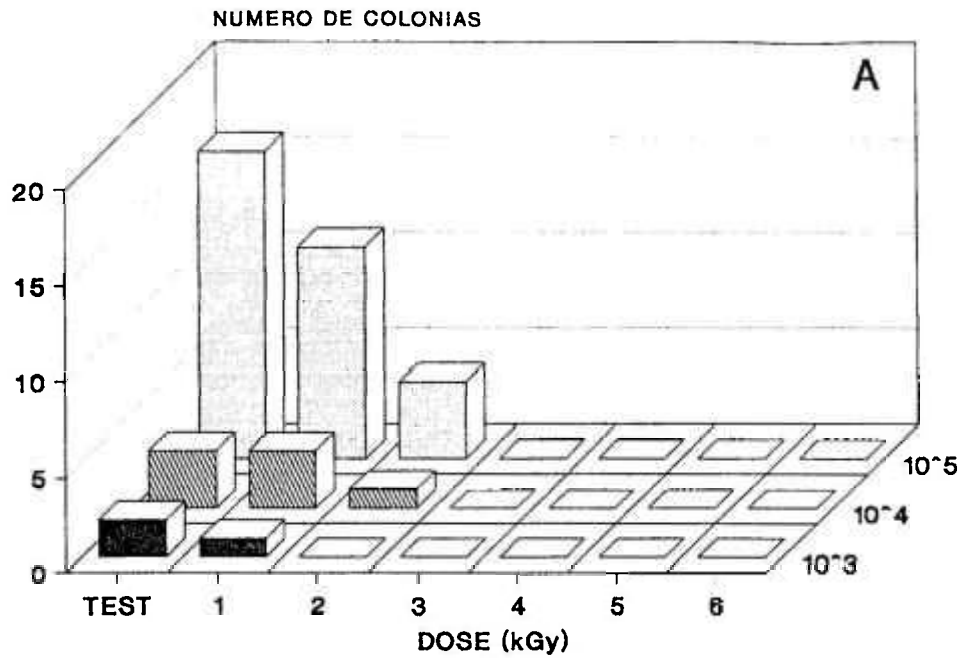
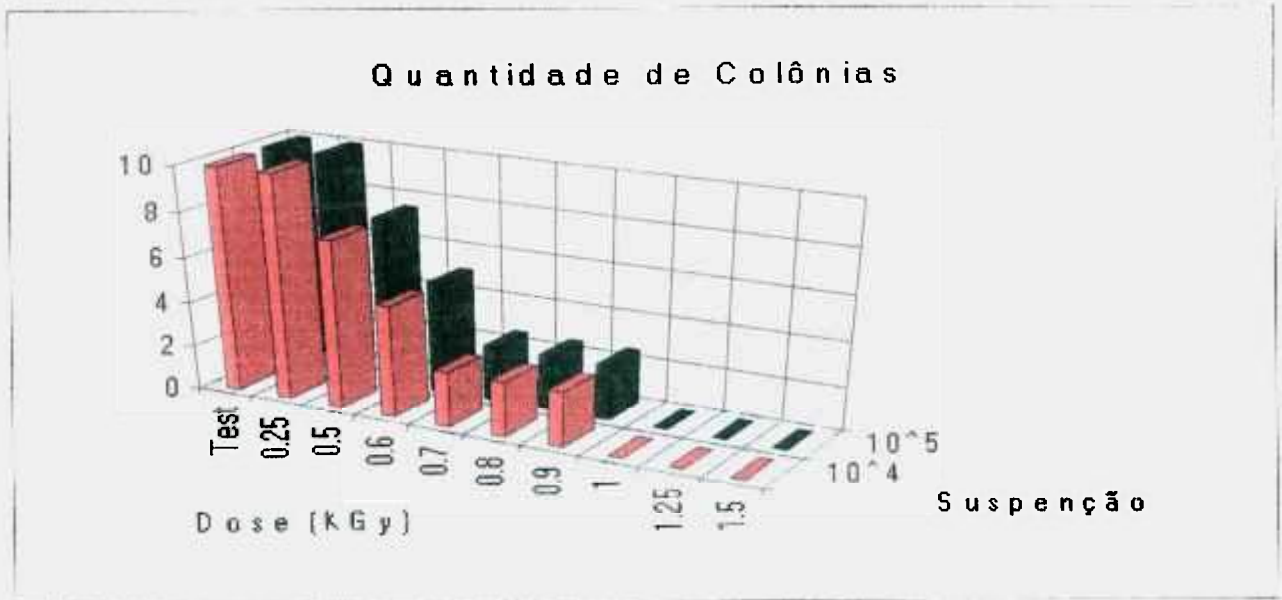
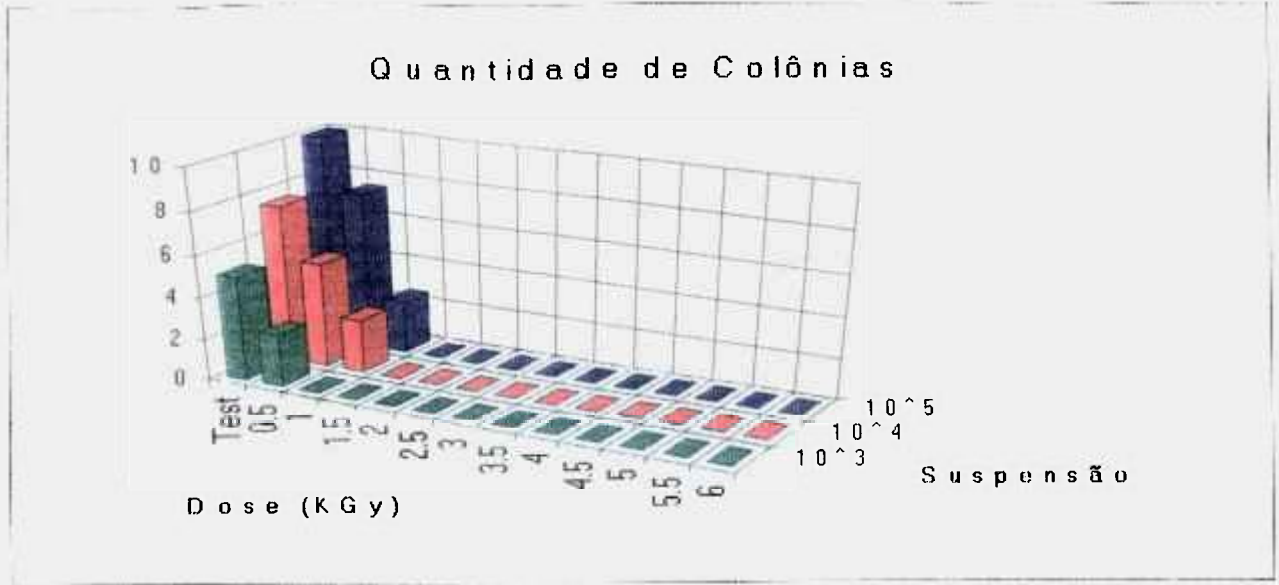
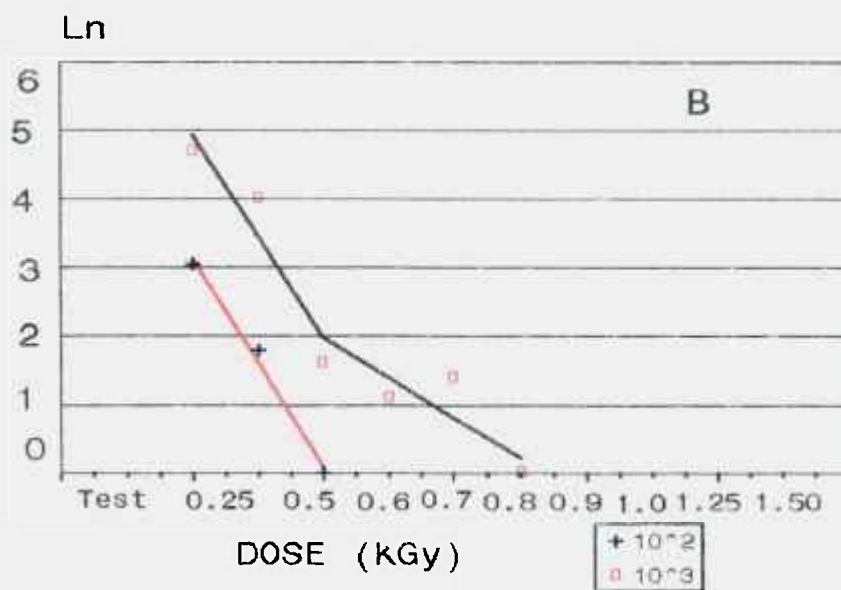
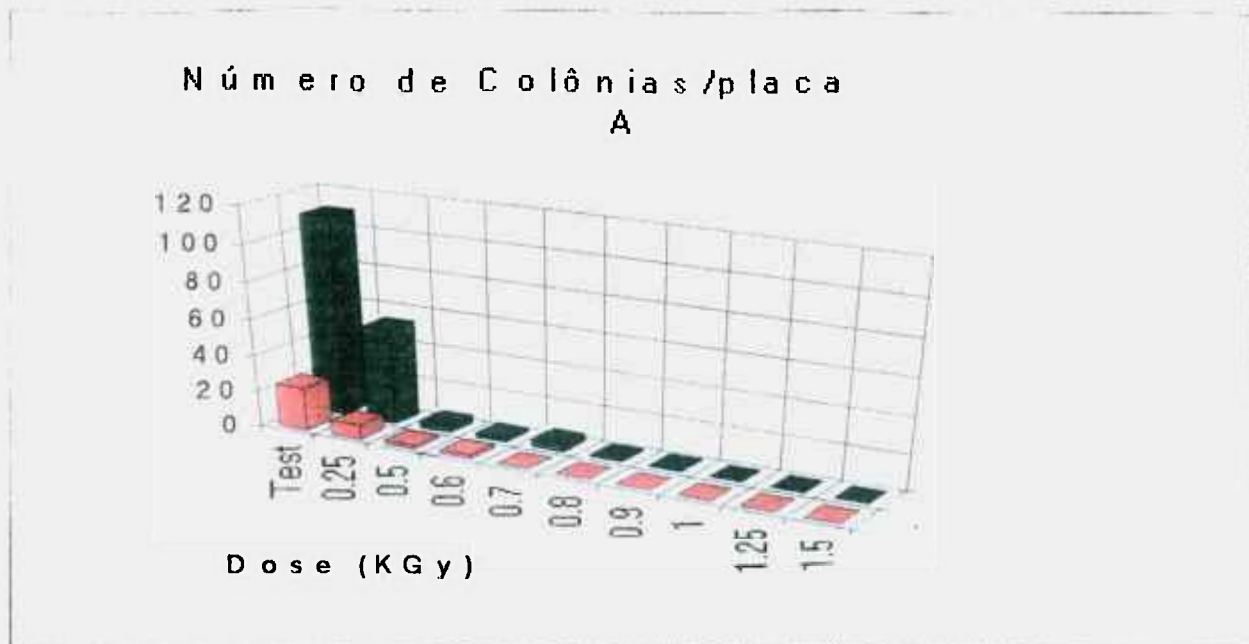


Figura 11 - Número de colônias (A) e curvas de sobrevivência (B) de *Cladosporium cladosporioides* formados em meio de cultura a partir de esporos irradiados a doses crescentes de radiação gama nas suspensões de 10<sup>3</sup>, 10<sup>4</sup> e 10<sup>5</sup> esporos/ml.



**Figura 12** - Colônias de *Aspergillus niger* formadas em meio de cultura a partir de esporos irradiados com doses crescentes de radiação gama nas suspensões de  $10^3$ ,  $10^4$  e  $10^5$  (A) e  $10^5$  e  $10^4$  (B) esporos/ml.



**Figura 13** - Número de colônias (A) e curvas de sobrevivência (B) de *Aspergillus niger* formadas em meio de cultura a partir de esporos irradiados com doses crescentes de radiação gama nas suspensões de  $10^3$  e  $10^2$  esporos/ml

Tabela 5 - Valores do coeficiente angular (b), coeficiente de correlação linear (r) e  $D_0$  relativos à curva de sobrevivência do *Aspergillus niger* (Figura 14).

Fungo	Diluição	b	r	$D_0$ (kGy)
<i>Aspergillus niger</i>	$10^3$	-5,89394	-0,970341	0,168
Suspensão inicial:				
$2,5 \cdot 10^5$ esp/ml	$10^2$	-6,0900	-0,994826	0,163

Para o *Penicillium purpurogenum* em suspensões de  $10^2$  a  $10^5$  esporos/ml expostos a doses crescentes de radiação (até 0,70 kGy) não foi verificada a formação de colônias do fungo nas suspensões mais diluídas ( $10^2$  e  $10^3$  esporos/ml) em doses de radiações mais baixas (0,30 kGy). Por outro lado, nas suspensões mais concentradas ( $10^5$  esporos/ml) somente em doses de radiação acima de 0,5 kGy houve inibição completa no desenvolvimento de colônias (Figura 17, Apêndice 7, Ensaio 8). As curvas de sobrevivência dos esporos do fungo para as várias diluições são indicadas na Figura 17 e, a partir dessas retas, foram obtidos os valores de b, r e  $D_0$ .

Tabela 6 - Valores do coeficiente angular (b), coeficiente de correlação linear (r) e  $D_0$  relativos à curva de sobrevivência do *Penicillium purpurogenum* (Figura 17).

Fungo	Diluição	b	r	$D_0$ (kGy)
<i>Penicillium purpurogenum</i>	$10^5$	-12,7822	-0,98034	0,077
Suspensão inicial:	$10^4$	-13,4195	-0,9694	0,074
$1,8 \cdot 10^5$ esp/ml	$10^3$	*	-	-
	$10^2$	-	-	-

\* Insuficiência de pontos.

Para o *Epicoccum nigrum* (Figura 18, Apêndice 8, Ensaio 9) os resultados evidenciam que para a suspensão de  $10^2$  esporos/ml não foram formadas colônias do fungo em doses acima de 1,75 kGy; para a suspensão de  $10^4$  esporos/ml essa resposta foi atingida a 2,25 kGy. A Figura 18 indica as curvas de sobrevivência dos esporos para as várias diluições, observando-se um comportamento diferenciado dos outros fungos: a radiação gama parece não afetar a viabilidade dos esporos do *Epicoccum nigrum* de uma forma esperada.

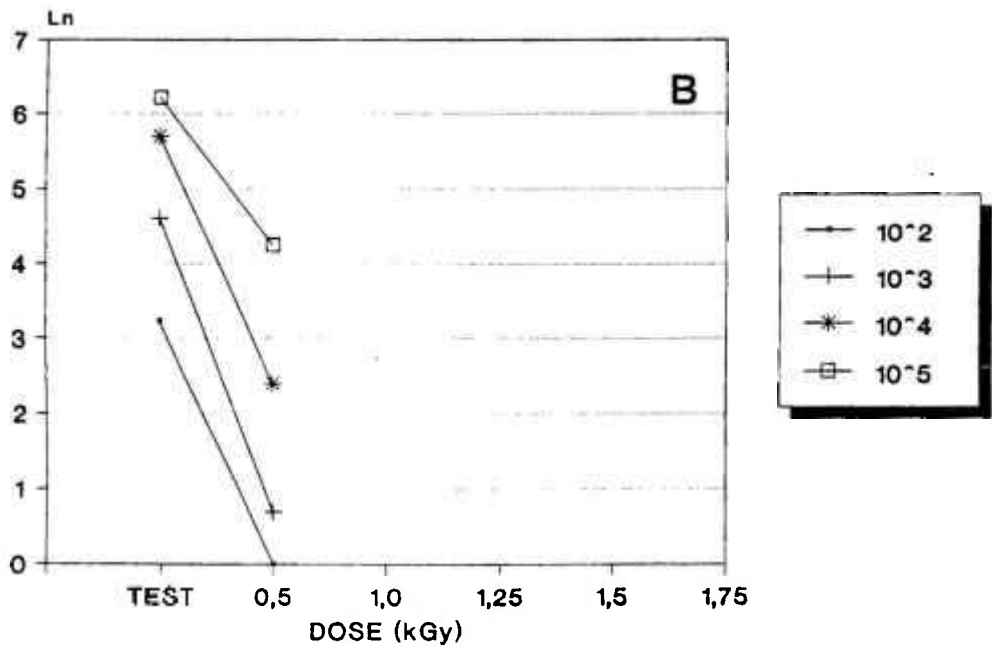
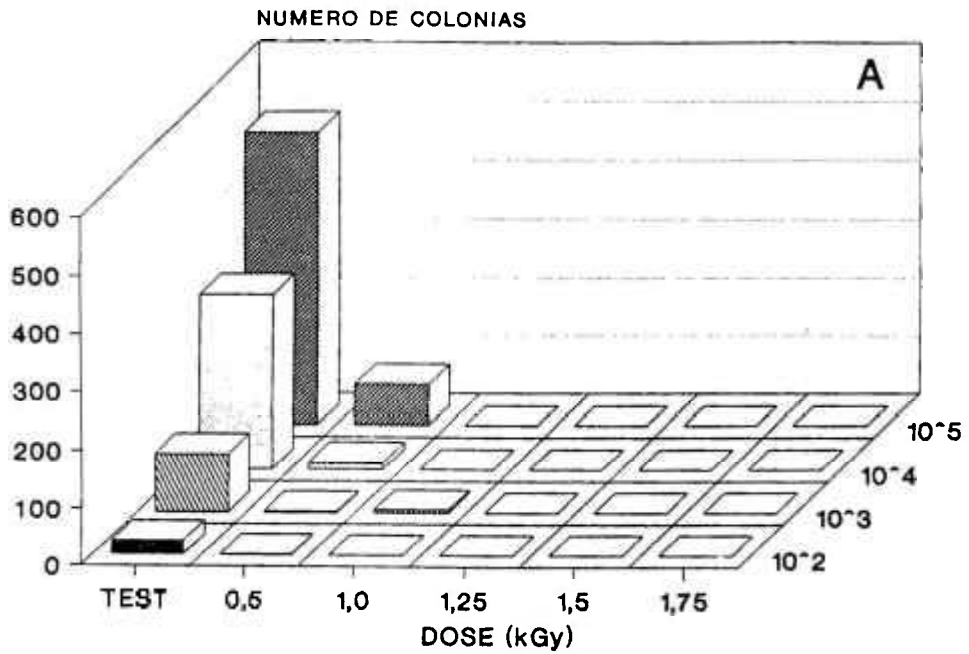


Figura 14 - Número de colônias (A) e curvas de sobrevivência (B) de *Aspergillus wentii* formadas em meio de cultura a partir de esporos irradiados a doses crescentes de radiação gama nas suspensões de  $10^2$  a  $10^5$  esporos/ml.

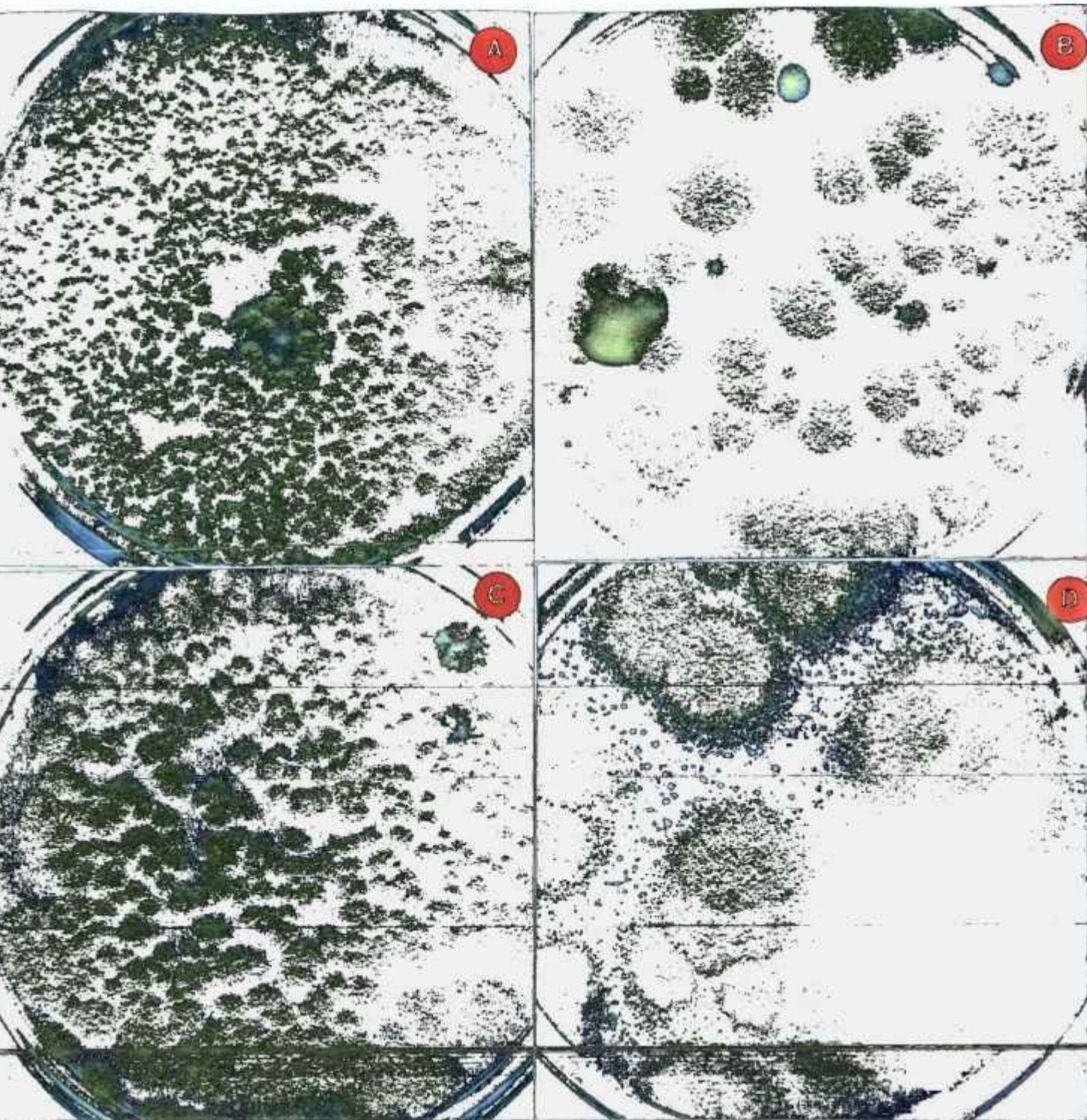


Figura 15 - Colônias de *Aspergillus wentii* formadas em meio de cultura a partir de germinação de esporos irradiados nas diluições de  $10^3$  (A - testemunha; B - 0,5 kGy) e  $10^4$  esporos/ml (C - testemunha; D - 0,5 kGy).

Para a diluição de  $10^4$  esp/ml o desenvolvimento de amostras irradiadas se mostrou idêntico ao da testemunha, a não ser para doses de 2,25 e 2,50 kGy, em que houve uma queda acentuada de esporos viáveis.

Esse comportamento se repetiu para outras diluições, portanto, não foram determinadas doses  $D_0$  (dose correspondente a 37% de sobrevivência) para as diluições de  $10^3$  a  $10^2$  esp/ml. Na Tabela 7, estão representados os valores do coeficiente angular (b) e do coeficiente de correlação linear (r), relativos à curva de sobrevivência do *Epicoccum nigrum*.

Tabela 7 - Valores do coeficiente angular (b), coeficiente de correlação linear (r), relativos à curva de sobrevivência do *Epicoccum nigrum* (Figura 18).

Fungos	Diluição	b	r
<i>Epicoccum nigrum</i>	$10^4$	*	-
Suspensão inicial:	$10^3$	-0,4056	-0,3193
$10^4$ esp/ml	$10^2$	-0,6289	-0,5483

\* Insuficiência de pontos.

Os resultados dos ensaios demonstram que os esporos dos fungos apresentam diferentes níveis de sensibilidade (ou de resistência) às doses de radiação gama,

quando em suspensão aquosa. As inclinações das retas obtidas (Figuras 11, 13, 17 e 18) indicam a sensibilidade de cada fungo ao tratamento com radiação gama. Das espécies estudadas a mais resistente foi o *Cladosporium cladosporioides*, a mais sensível foi o *Penicillium purpurogenum* e as intermediárias, *Aspergillus niger*, *Aspergillus wentii* e *Epicoccum nigrum*.

Segundo BONETTI *et alii* (1979), para uma interpretação correta da radiosensibilidade de diferentes fungos deve-se levar em conta a concentração da suspensão de esporos em água no momento da irradiação. Daí, a importância do estudo das curvas de sobrevivência.

Quanto às diluições para o plaqueamento dos esporos, após a irradiação, os resultados permitem concluir que, de um modo geral, as melhores suspensões estão entre  $10^5$  e  $10^4$  esporos/ml, possibilitando a formação, desenvolvimento e a contagem de efetivo número de colônias de fungos em meio de cultura/placa de petri. Isto deve-se a significativa redução do número de colônias dos fungos nos tratamentos testemunha e irradiados, formadas a partir do plaqueamento das suspensões mais diluídas de esporos viáveis ( $10^2$  e  $10^3$  esporos/ml) conforme mostram as Figuras 15 e 16).

Dentre a literatura consultada sobre a sensibilidade de esporos de fungos "in vitro" destacam-se os trabalhos conduzidos por CHATRATH (1974) e MARTIN e MENTEN (1985) que obtiveram para os esporos de *Colletotrichum gloeosporioides* doses erradicantes de radiação gama entre 1,0 e 2,0 kGy.

Doses em torno de 5 kGy, foram suficientes, segundo BONETTI *et alii* (1979) para inviabilizar os esporos de inúmeras espécies de fungos em suspensão em água pertencentes aos gêneros *Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *Penicillium notatum*, *P. digitatum*, *Trichoderma* sp., *Byssoclamys fulva*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Chaetomium spirale*, *C. elatum* e *C. globosum*, com exceção do *Helminthosporium* que exigiu 6 kGy provavelmente devido a morfologia e número de células dos esporos.

Resultados semelhantes foram obtidos por VERO *et alii* (1973) ao irradiar 11 espécies de fungos, em suspensão aquosa. Segundo os autores 5 kGy de radiação gama foram suficientes para matar todos os esporos dos fungos estudados, com exceção do *Rhizopus* sp., que necessitou de uma dose maior, entre 5 e 10 kGy. O *Aspergillus terreus* e o *Penicillium jantinelum* quando irradiados com 2 kGy apresentaram pequeno número de esporos viáveis, enquanto que o *Cladosporium* sp., irradiado com 2 kGy apresentou ainda grande viabilidade de esporos, sendo portanto necessário uma dose superior a 2 kGy mas abaixo de 5 kGy. Dos outros fungos estudados os mais sensíveis à radiação foram *Chaetomium globosum*, *Trichoderma lignorum*, *Stryanus* sp., *Scopulariopsis brevicaulis* e *Paecilomyces* sp., todos exterminados com 2 kGy de radiação gama.

A maior sensibilidade dos esporos dos fungos à radiação gama quando em suspensão aquosa se deve, segundo PAVON-FLORES (1974), à radiólise da água que provoca a formação de íons e radicais ativados que contribuem para a alteração celular.

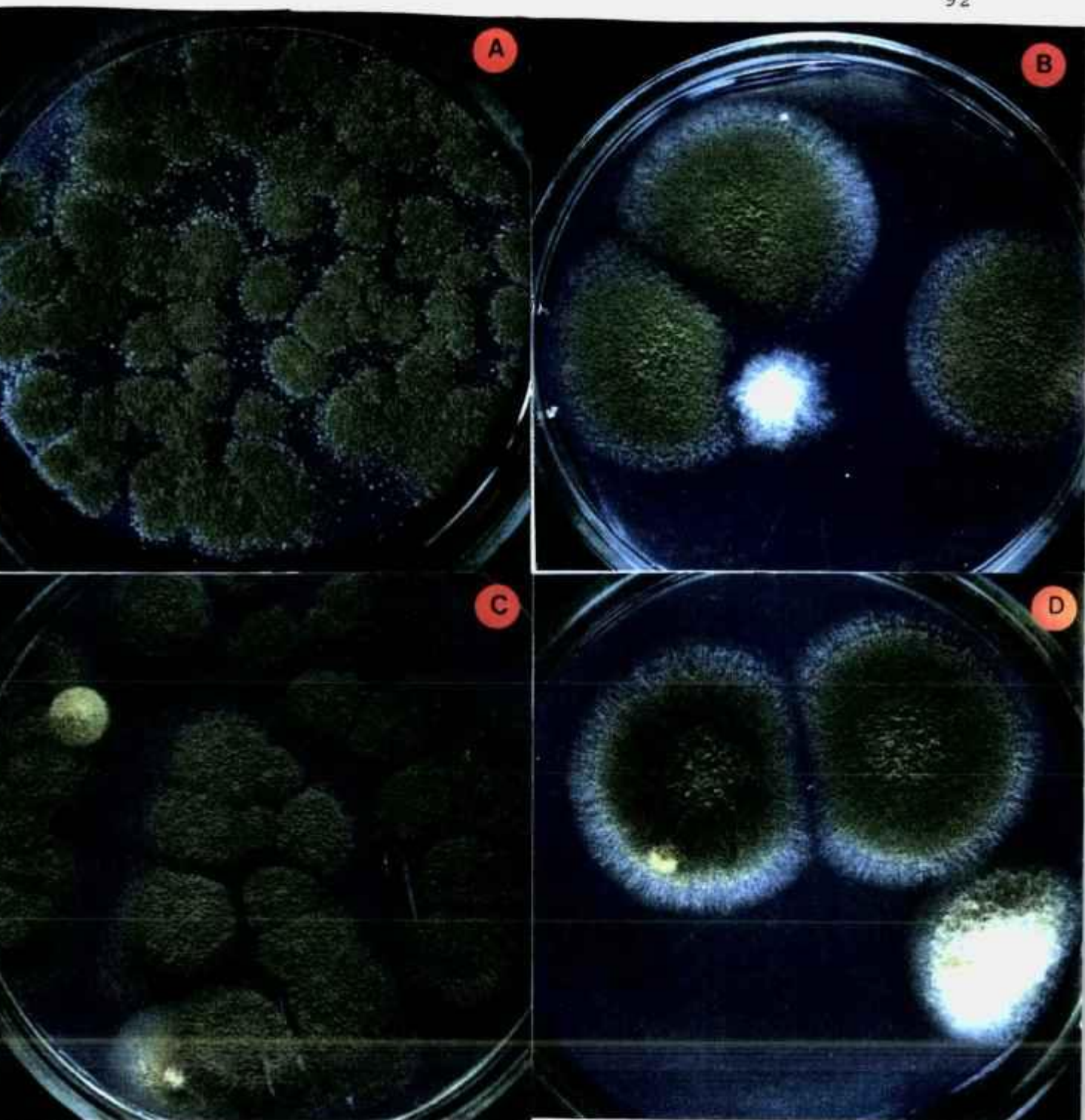


Figura 16 - Colônias de *Aspergillus wentii* formadas em meio de cultura, a partir da germinação dos esporos irradiados nas diluições de  $10^3$  (A - testemunha; B - 0,5 kGy) e  $10^2$  esporos/ml (C - testemunha; D - 0,5 kGy).

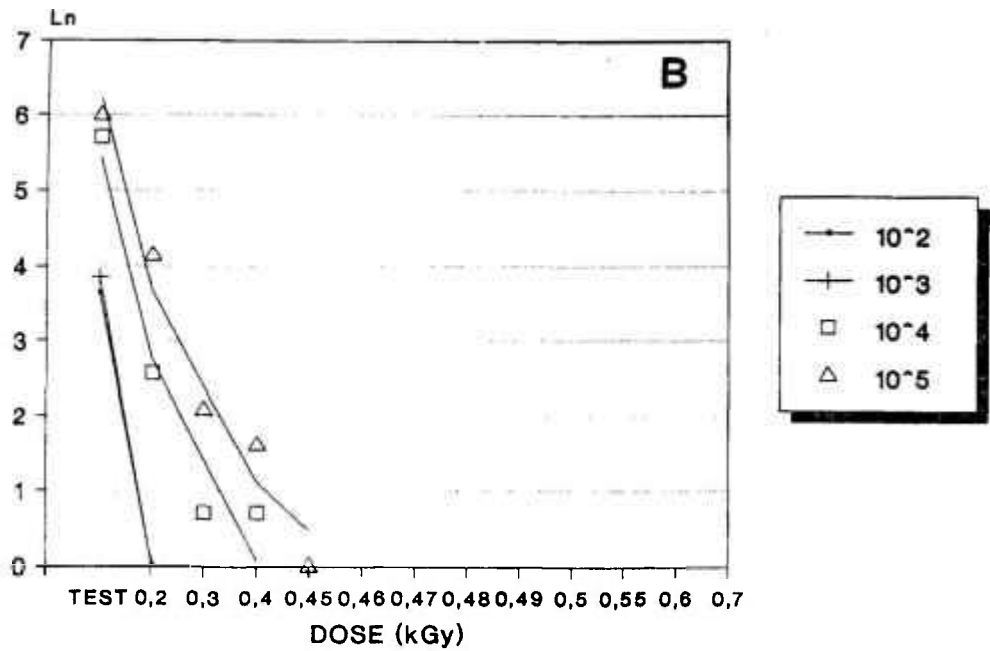
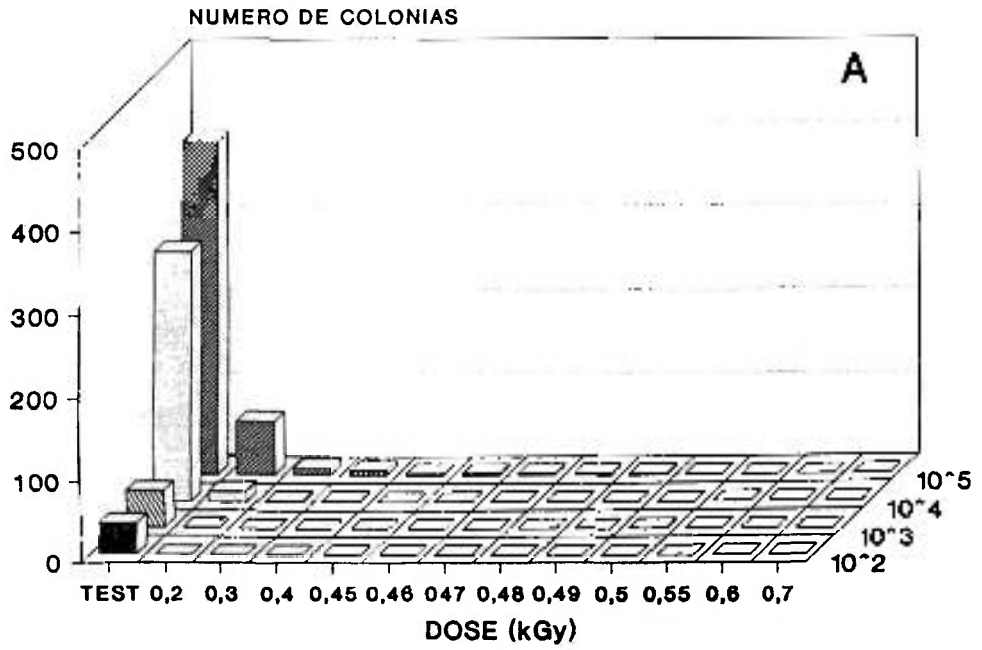


Figura 17 - Número de colônias (A) e curvas de sobrevivência (B) de *Penicillium purpurogenum* formadas em meio de cultura, a partir de esporos irradiados a doses crescentes de radiação gama, nas suspensões 10<sup>2</sup> a 10<sup>5</sup> esporos/ml.

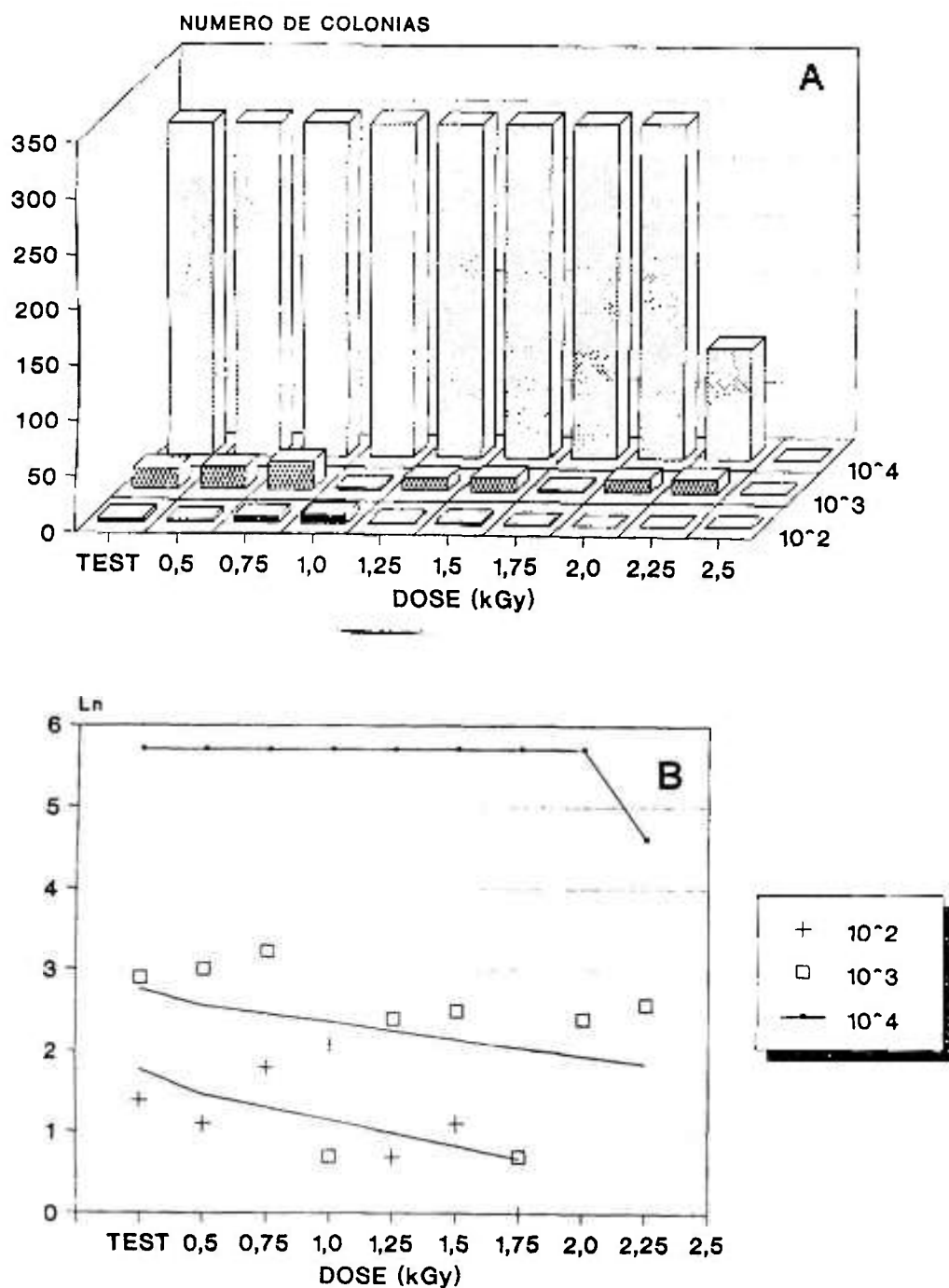


Figura 18 - Número de colônias (A) e curvas de sobrevivência (B) de *Epicoccum nigrum* formadas em meio de cultura, a partir de esporos irradiados a doses crescentes de radiação gama, nas suspensões 10<sup>2</sup> a 10<sup>4</sup> esporos/ml.

Por outro lado, as moléculas dissociadas, excitadas, possuem, graças à água, uma mobilidade que facilita sua migração aumentando assim os pontos de contato.

As taxas de dose utilizadas no presente trabalho em torno de 4 kGy/h foram as maiores possíveis de serem obtidas no equipamento de radiação gama utilizado nos experimentos. De acordo com PAVON-FLORES (1974) taxas de dose elevadas causam alterações traumáticas nos microrganismos que não são observadas em taxas menores. A autora obteve os melhores resultados na esterilização de papéis utilizando taxa de 5,16 kGy/h.

### **5.3 - Irradiação de papéis inoculados artificialmente por fungos em diversos estágios de desenvolvimento.**

#### **5.3.1 - Irradiação de papéis contaminados por fungos, na fase inicial de desenvolvimento dos esporos e formação de colônias**

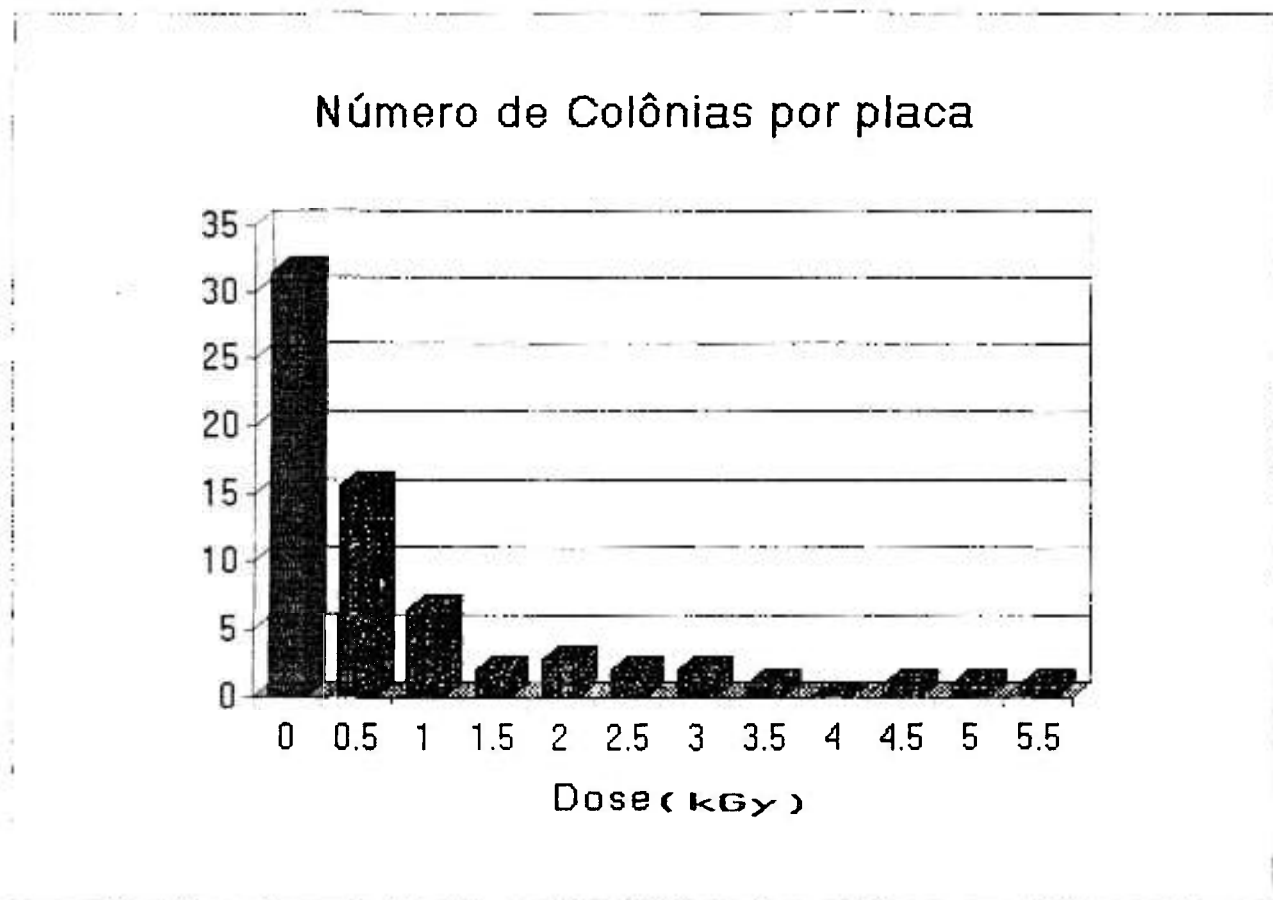
A embebição dos papéis de filtro com suspensão de esporos dos fungos, em condições de laboratório (48 horas - temperatura ambiente) visa proporcionar a sua germinação na superfície do revestimento e das fibras que formam a folha de papel (Figuras 1, 2 e 6). Nesse período, segundo HORÁKOVÁ e MARTINEK (1984) e SZCZEPANOWSKA (1986) os esporos germinam e formam os tubos de germinação e, posteriormente, as hifas que irão se desenvolver na superfície e no interior das fibras, originando as colônias dos fungos no papel (Figuras 4 e 5).

A irradiação de papéis inoculados com esporos de espécies de fungos nessas fases possibilita verificar a sua radiosensibilidade em condições próximas às de uma contaminação natural de material bibliográfico. Permite, da mesma forma, a comparação do comportamento dos fungos à irradiação nesta fase, na fase de colônias adultas e quando os esporos estão em suspensão em água.

Os resultados da contagem do número de colônias formadas nos papéis a partir dos esporos de *Cladosporium cladosporioides*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus wentii*, *Penicilium purpurogenum* e *Epicoccum nigrum*, que se mantiveram viáveis após exposição a radiação gama são apresentados nas Figuras 19 a 24, Ensaios 10 a 14, Apêndices 9 a 13.

Os resultados apresentados na Figura 19 (Ensaio 10, Apêndice 9) demonstram que para o *Cladosporium cladosporioides* doses acima de 5,5 kGy afetaram a viabilidade de esporos na fase de germinação e de início da formação das colônias no substrato papel de filtro. Reduções significativas foram detectadas a partir de 1,5 kGy de radiação.

Doses de radiação mais baixas (em torno de 3kGy) foram suficientes para afetar a viabilidade de todos os esporos dessa espécie em suspensão aquosa (Figura 11).



**Figura 19** - Número de colônias de *Cladosporium* formadas em papel de filtro, a partir de esporos na fase inicial de desenvolvimento, irradiados com doses crescentes de radiação gama.

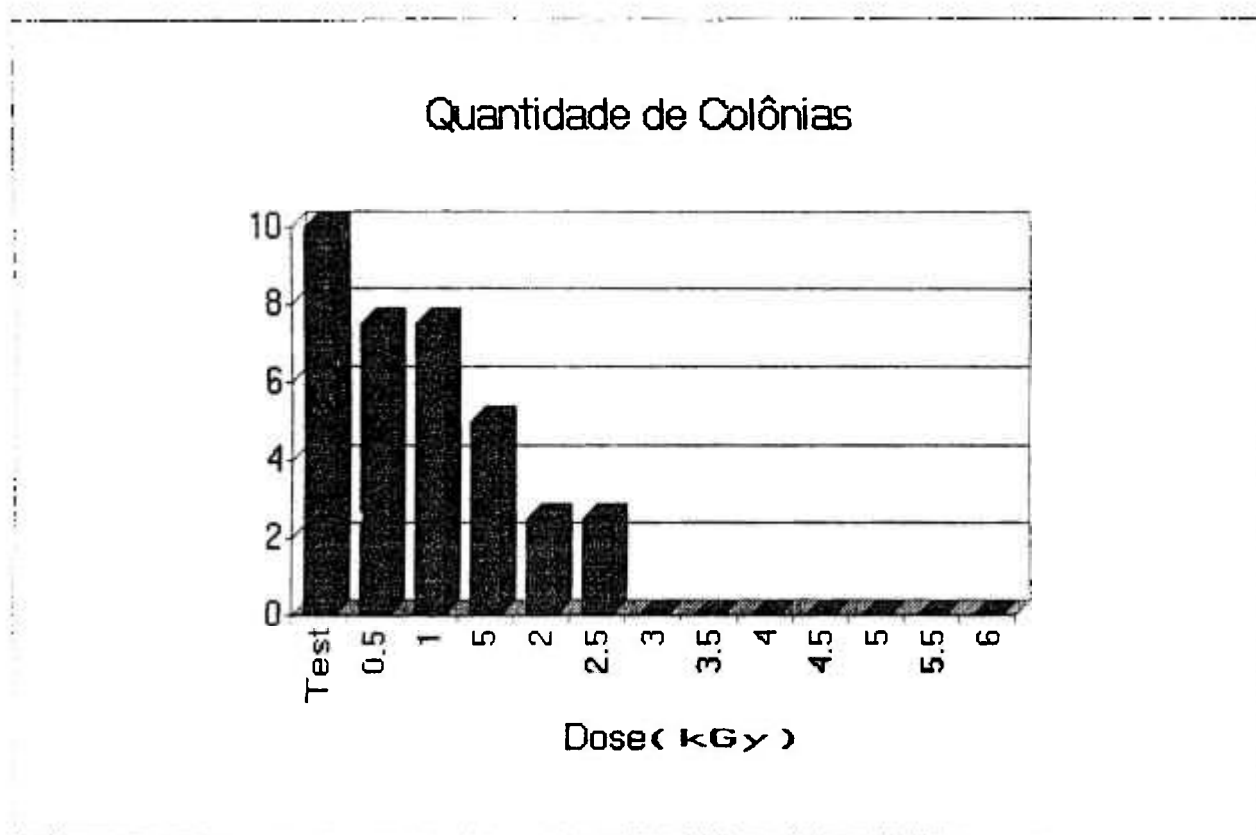
No Ensaio 11 (Figura 20, Apendice 10) os resultados mostram que os esporos em fase de germinação e das hifas de *Aspergillus niger* foram afetados com doses acima de 2,5 kGy com redução significativa a partir de 1,5 kGy. Da mesma forma, a irradiação de esporos de *Aspergillus niger* suspensos em água exigiu doses mais baixas, (em torno de 1,0 kGy) para afetar todos os esporos (Figuras 12 e 13).

Para o *Aspergillus wentii* (Ensaio 12, Figuras 21 e 22, Apendice 11) os resultados demonstraram que a dose de 1,5 kGy e doses acima foram letais para os esporos na fase inicial de germinação no substrato papel.

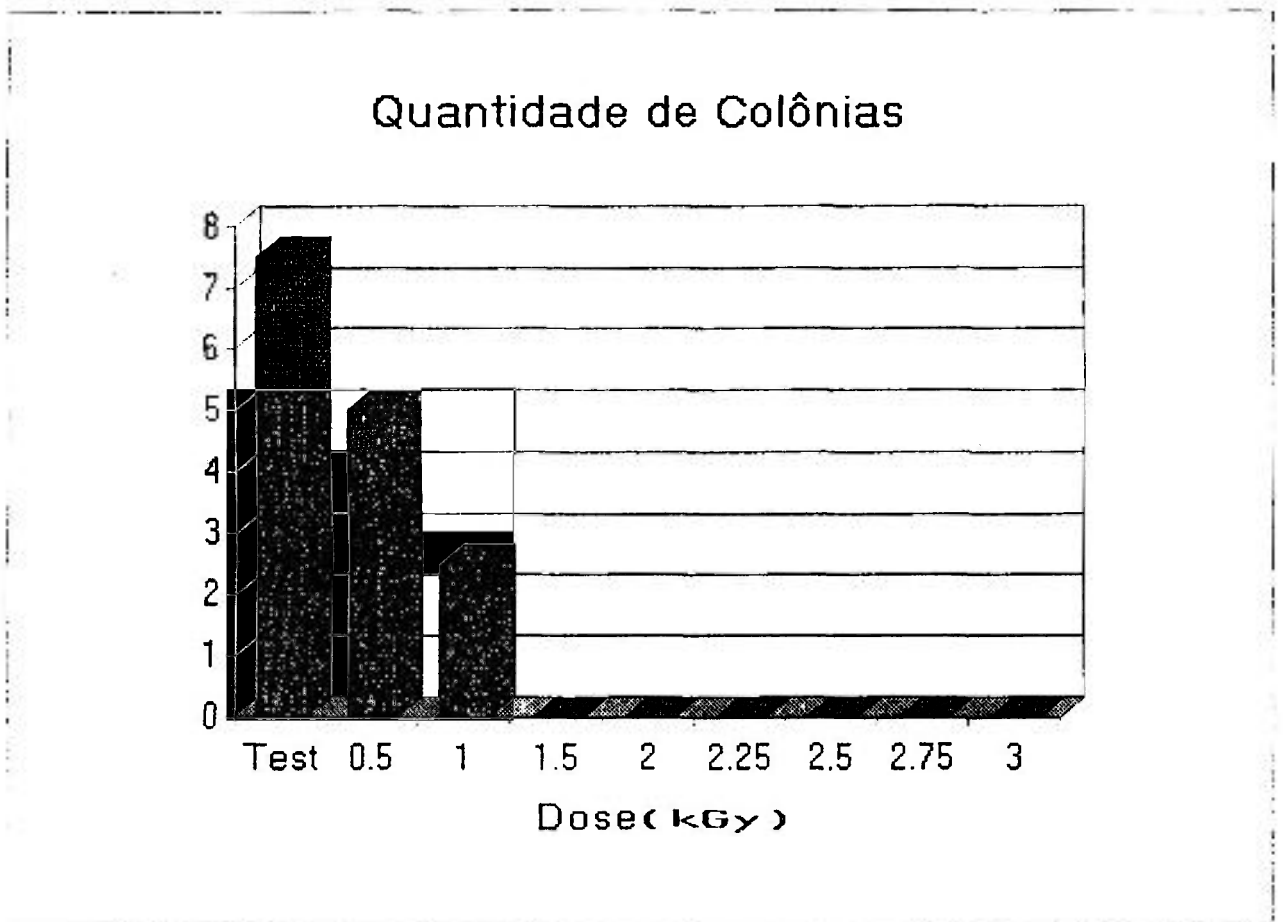
Por outro lado, esporos suspensos em água e irradiados com doses acima de 0,5 kGy, não deram origem a colônias do fungo em meio de cultura (Figura 14).

No Ensaio 13 (Figura 23, Apendice 12) os resultados indicam que doses acima de 0,70 kGy afetaram todos os esporos de *Penicillium purpurogenum* na fase inicial de germinação no substrato papel com reduções significativas a partir de 0,5 kGy. As doses letais para os esporos do fungo suspensos em água foram de 0,50 e 0,55 kGy (Figura 17).

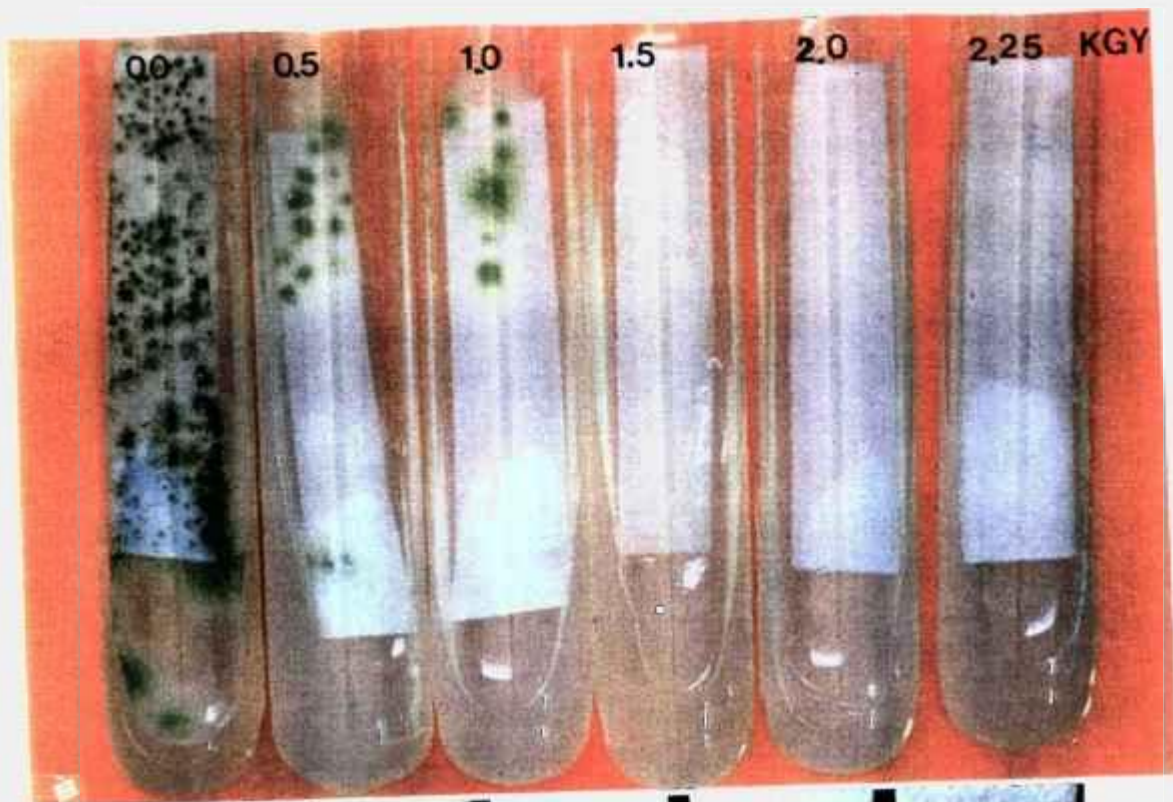
Para o *Epicocum nigrum* (Ensaio 14, Figura 24, Apendice 13) os resultados demonstram que para a dose de 2 kGy e acima desse valor não houve desenvolvimento de colônias do fungo em meio cultura. Essas doses foram próximas às obtidas na irradiação dos esporos dessa espécie (Ensaio 9).



**Figura 20** - Colônias de *Aspergillus niger* formadas em papel de filtro, a partir de esporos na fase inicial de desenvolvimento, irradiados com doses crescentes de radiação gama.



**Figura 21** - Avaliação da quantidade de colônias de *Aspergillus wentii* formadas em papel de filtro, a partir de esporos na fase inicial de desenvolvimento, irradiados com doses crescentes de radiação gama.



101

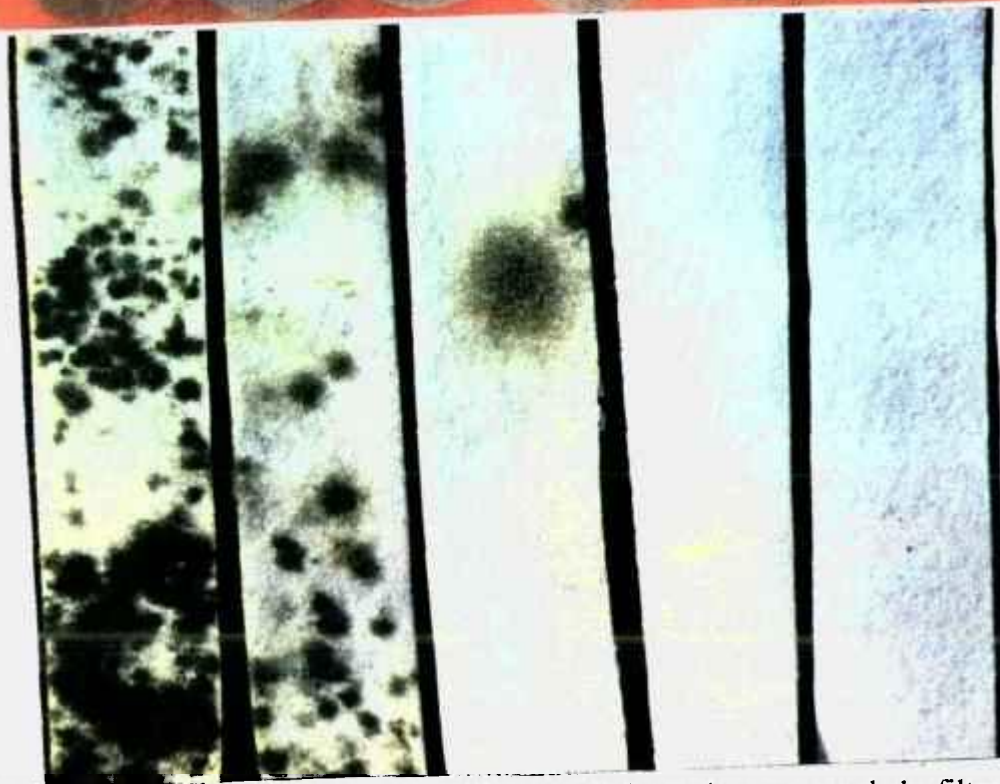
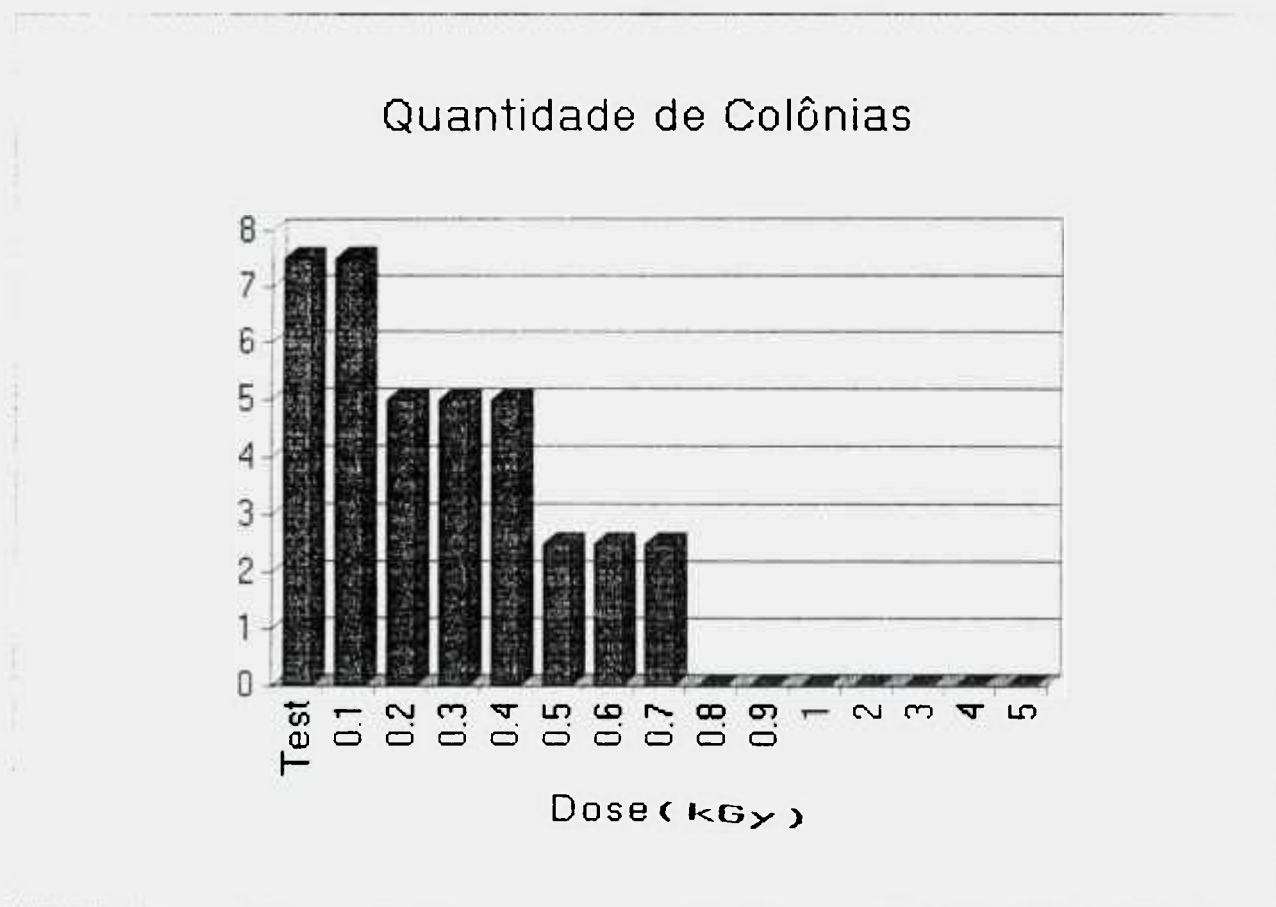
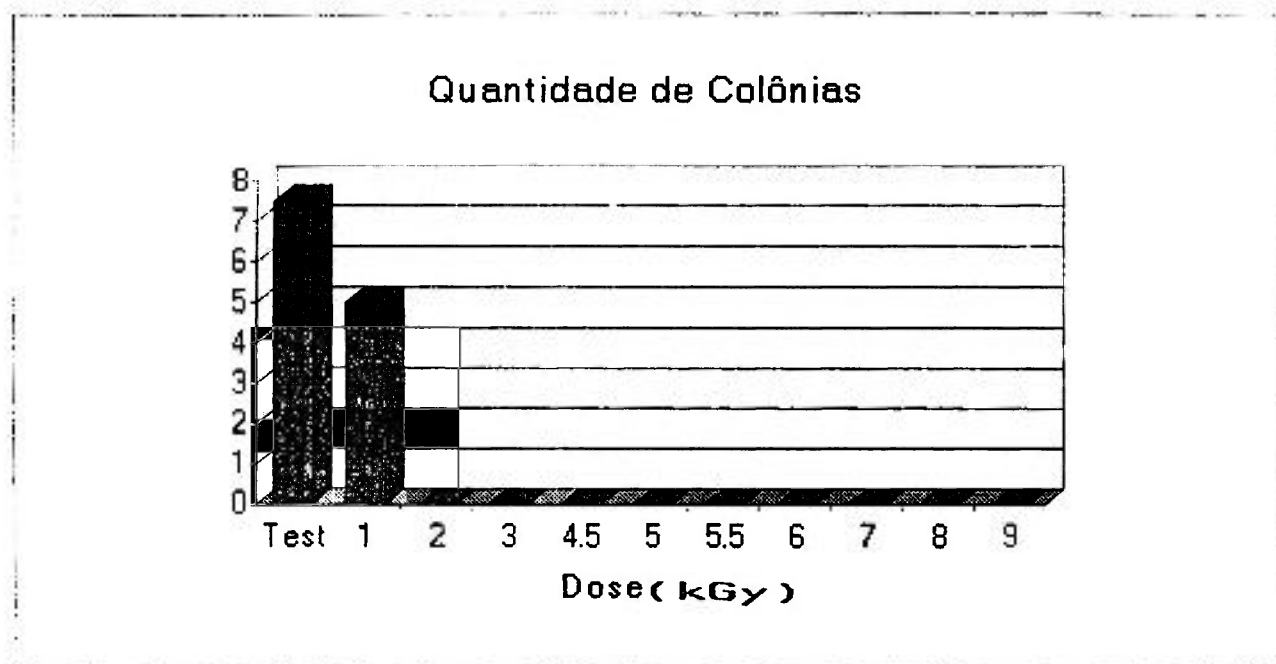


Figura 22 - Colônias de *Aspergillus wentii* formadas em papel de filtro, a partir de esporos na fase inicial de desenvolvimento, irradiados em doses crescentes de radiação gama. Em tubos de ensaio (A) e destaque dos papéis de filtro (B).



**Figura 21** - Avaliação da quantidade de colônias de *Penicillium purpurogenum* formadas em papel de filtro, a partir de esporos na fase inicial de desenvolvimento, irradiados com doses crescentes de radiação gama.



**Figura 24** - Avaliação da quantidade de colônias de *Epicocum nigrum* formadas em papel de filtro, a partir de esporos na fase de desenvolvimento, irradiados com doses crescentes de radiação gama.

Os resultados dos Ensaio 10 a 14 mostraram que, a exemplo dos ensaios de irradiação dos esporos em suspensão em água, as 5 espécies de fungos apresentam, para suspensões com concentrações similares de esporos, diferentes níveis de sensibilidade (ou de resistência) às doses de radiação gama. A espécie mais resistente foi o *Cladosporium cladosporioides* (5,5-6,0 kGy), a mais sensível foi o *Penicillium purpurogenum* (0,7 - 0,8 kGy) e as intermediárias *Aspergillus wentii* (1,0 - 1,5 kGy) *Epicoccum nigrum* (1,0 - 2,0 kGy) e *Aspergillus niger* (2,5 - 3,0 kGy). Essa ordem de sensibilidade (ou resistência) dos fungos foi, de modo geral, a mesma quando a radiação foi aplicada nos esporos suspensos em água embora os valores foram sempre superiores, demonstrando que o nível das alterações metabólicas dos fungos depende do teor de água do meio, do substrato, da concentração dos esporos e da fase de desenvolvimento. Resultados, portanto, coincidentes com os obtidos por PAVON-FLORES (1974).

A redução na diferença entre os valores de radiosensibilidade do *Aspergillus wentii* e do *Epicoccum nigrum* para os esporos em suspensão em água (Ensaio 7 e 9) em relação aos esporos na fase inicial de desenvolvimento (Ensaio 12 e 14) parece ser devido ao maior teor de umidade das amostras de papel que permaneceram 48 horas em placas de Petri antes da irradiação, ao contrário das amostras das demais espécies de fungos, que ficaram expostos ao ambiente antes da irradiação.

De acordo com BONETTI *et alii* (1979) a dose letal varia em função da concentração de esporos do fungo do material, no momento da irradiação, sendo que os autores, de modo geral obtiveram maiores valores de doses esterilizantes em papéis inoculados com suspensões mais concentradas de esporos. Para os 5 fungos estudados,

em que foram utilizadas suspensões de esporos da ordem de  $10^5$  esp/ml, a dose de 6 kGy seria suficiente para inviabilizar todos os esporos "in vitro" e em papel - fase inicial de germinação e formação de colônias. Esses resultados estão de acordo com HORÁKOVÁ e MARTINEK (1984) que, irradiando papéis de filtro inoculados com suspensão de esporos, consideram a dose de 6 kGy suficiente para matar os esporos de *Aspergillus flavus*, *A. niger* e *Trichoderma viride* e de 8 kGy para o *Ulocladium botrytis*.

Para papéis contendo e esporos de diversas espécies de fungos, em fase inicial de desenvolvimento, os resultados concordam com os obtidos por BONETTI *et alii* (1979) que sugerem que 10 kGy seriam suficientes para matar a maioria das espécies. Os fungos, na sua fase inicial de germinação tornam-se mais sensíveis aos efeitos da radiação gama devido, principalmente, ao maior teor de água em suas estruturas, segundo JUSTA e URBAN (1989).

### **5.3.2. Irradiação de papéis inoculados por fungos, na fase de colônias adultas**

A embebição dos papéis pela pulverização dos esporos dos fungos em suspensão em água e as condições de câmara úmida por 20 dias proporcionaram i) a germinação dos esporos na superfície das fibras de papel, ii) o desenvolvimento de abundante e vigoroso micélio dos fungos na superfície e no interior das fibras, originando a formação de colônias típicas, iii) a produção de inúmeros corpos de

frutificação dos fungos, principalmente nas bordas dos papéis. Estes aspectos indicam que nos Ensaio 15 e 16 (Tabelas 8 e 9) as condições de umidade e temperatura favoráveis para o *Cladosporium cladosporioides* e *Epicocum nigrum* possibilitaram, inclusive, a formação de frutificações iniciando novo ciclo do seu desenvolvimento.

Nesses ensaios foram utilizados papéis de filtro previamente esterilizados e posteriormente inoculados com suspensão de esporos de *Cladosporium cladosporioides* e *Epicocum nigrum* para evitar a interferência dos microrganismos contaminantes naturais dos papéis, possibilitando o normal desenvolvimento dos fungos inoculados. Trabalhos semelhantes foram conduzidos por BELYAKOVA (1961), PAVON-FLORES, (1970), BONETTI *et alii* (1979), HORÁKOVÁ e MARTINEK (1984).

Os pré-tratamentos a que os papéis com colônias adultas dos fungos foram submetidos, tiveram como objetivos pesquisar alternativas - principalmente temperatura e umidade para a redução da dose de radiação necessária para matar os fungos conforme recomendam BORS *et alii* (1968) e JUSTA e URBAN (1989), considerando que as doses letais altas certamente afetam as propriedades físico-mecânicas dos papéis (PAVON-FLORES, 1974); CALVINI e SANTUCCI, 1978/1979; BUTTERFIELD, 1987).

O *Cladosporium cladosporioides* (micélio e esporos) presente no papel e seco ao ambiente por 96 horas (tratamento A) foi reisolado em 33% das amostras dos tratamentos testemunha e de 2,0 kGy de irradiação, com redução para 7% a 10 kGy e dose letal acima desse valor. O *Epicocum nigrum* nesse tratamento foi recuperado em

33% na testemunha e 2,0 e 4,0 kGy de irradiação, com redução para 7% a 10 kGy e dose letal acima desse valor (Tabelas 8 e 9). Quando as amostras desse papel com micélio e esporos desses dois fungos foram irradiadas no seu estado saturado em água (tratamento C) verificou-se uma redução na porcentagem de recuperação após 4,0 kGy e no valor da dose letal (6,0 kGy) principalmente para o *Epicoccum nigrum*. Esses resultados demonstram o efeito da água - ou teor de umidade do meio ou das estruturas do fungo - na sensibilidade dos organismos a radiação gama conforme destacam PAVON-FLORES (1974; 1975/1976), JUSTA e URBAN (1989).

Com relação ao efeito do pré-tratamento das amostras de papel com micélio e esporos a temperatura de 50°C (tratamento B) antes da irradiação foram verificadas distintas reações: i) o *Cladosporium cladosporioides* não foi reisolado nos tratamentos testemunha e de irradiação até a dose de 20 kGy, exceto por uma única colônia (13%) a 2 kGy; ii) o *Epicoccum nigrum*, ao contrário, foi reisolado em 33% das amostras testemunha (50°C, 24 horas) e das amostras irradiadas até 4 kGy, com reduções para 20 e 13% nas doses de 3 e 2 kGy, respectivamente, quando a dose letal foi atingida. O *Cladosporium cladosporioides* apresentou um comportamento característico dos microrganismos termosensíveis, enquanto que o *Epicoccum nigrum* de termoresistente, conforme destacam COCHRANE (1958) e ERIKSSON *et alii* (1990).

Tabela 8 - Colônias de *Cladosporium cladosporioides* formadas em meio cultura a partir de amostras de papel de filtro artificialmente inoculados e irradiados, com diferentes pré-tratamentos.

Dose (kGy)	Pré-tratamentos	A	B	C
		(Ambiente)	(Seco 50°C)	(Úmido)
testemunha		5*	-	3
2		5	1	5
4		3	-	2
6		-	-	1
10		1	-	-
20		-	-	-

**Pré-tratamento A** = Amostras de papel com colônias de *Cladosporium cladosporioides*, secas ao ambiente (96 horas) e irradiadas.

**Pré-tratamento B** = Amostras de papel com colônias de *Cladosporium cladosporioides*, secas ao ambiente (72 horas), em estufa seca a 50°C (24 horas) e irradiadas.

**Pré-tratamento C** = Amostras de papel com colônias de *Cladosporium cladosporioides* úmidas e irradiadas.

\* Os valores referem-se ao número de colônias do fungo reisoladas em 15 amostras de papel de filtro plaqueadas em meio de BDA (3 placas de Petri/5 amostras de papel).

Tabela 9 - Colônias de *Epicoccum nigrum* formadas em meio de cultura a partir de amostras de papel de filtro artificialmente inoculados e irradiados, com diferentes pré-tratamentos.

Dose (kGy)	Pré-tratamentos	A	B	C
		(Ambiente)	(Seco 50°C)	(Úmido)
testemunha		5*	5	5
2		5	5	5
4		5	5	2
6		4	3	1
10		4	2	-
20		-	-	-

**Pré-tratamento A** = Amostras de papel com colônias de *Epicoccum nigrum*, secas ao ambiente (96 horas) e irradiadas.

**Pré-tratamento B** = Amostras de papel com colônias de *Epicoccum nigrum*, secas ao ambiente (72 horas), em estufa seca a 50°C (24 horas) e irradiadas.

**Pré-tratamento C** = Amostras de papel com colônias de *Epicoccum nigrum*, úmidas e irradiadas.

\* Os valores referem-se ao número de colônias do fungo reisoladas em 15 amostras de papel de filtro plaqueadas em meio de BDA (3 placas de Petri/ 5 amostras de papel).

As diferenças obtidas nas respostas dos fungos à secagem (ambiente e em estufa à 50°C) e à radiação indicam i) a importância da identificação e do conhecimento do comportamento de cada microrganismo a temperatura e às doses de radiação, iii) necessidade do desenvolvimento de pesquisa utilizando temperatura e umidade nas fases pré e durante radiação, conforme destacam BORS *et alii* (1968), HANUS (1985) e JUSTA e URBAN (1989).

Os resultados obtidos nos Ensaio 15 e 16, apesar de preliminares, indicam o aumento da resistência à radiação gama que apresentam as densas colônias adultas de fungos. Segundo PAVON-FLORES (1979) (i) quanto mais velhas forem as culturas maior a dose necessária para inibir o seu crescimento e (ii) a dose necessária para inibir toda uma população de células depende não somente da resistência própria de cada célula, mas do número de células.

Os resultados estão coerentes com os obtidos por PAVON-FLORES (1979) que, em pesquisa com 36 fungos inoculados em papel de filtro (culturas de 15 dias), concluiu ser necessário 18 kGy, taxa de dose 5,16 kGy para matar todos os fungos. Por outro lado, contrariam os reportados por BELYAKOVA (1961) que, utilizando papéis de filtro infectados com culturas de fungos de 10 dias, considerou 6,5 kGy suficiente para inviabilizar o crescimento de 30 espécies.

Quanto à temperatura, BROKERHOF (1989) considera de grande importância um aumento da temperatura pelo efeito sinérgico na ação letal da radiação. URBAN *et alii* (1978) consideram a temperatura de 50°C associada a uma dose de 0,5 kGy suficiente para matar todos os esporos dos fungos.

Em pesquisa mais recente, JUSTA e URBAN (1989) verificaram que o pré-aquecimento do papel por 24 horas, em estufa a 50°C com 95% de umidade relativa, é eficaz na diminuição da dose letal, considerada como igual a 2 kGy, (Tabela 2). Segundo os autores, o aquecimento em estufa resulta em aumento da resistência do microrganismo à radiação gama. BORS *et alii*, (1968) consideram que a temperatura e a irradiação devem ser aplicados simultaneamente porque um pré-aquecimento da amostra de papel não resulta em efeito positivo; sendo que HORÁKOVÁ e MARTINEK (1984) concluíram que 80°C e 2 kGy são suficientes para matar todos os esporos dos fungos em papéis.

Pesquisas sobre a variável temperatura antes e durante a irradiação são necessárias para reduzir a dose letal para fungos avaliando inclusive, o efeito do aquecimento nas características físico/química/mecânica dos papéis.

#### 5.4. Irradiação de papéis contaminados naturalmente por fungos

Os resultados do Ensaio 17, referentes ao isolamento de microrganismos de papéis contaminados naturalmente e irradiados mostraram diferenças com relação aos tipos de papéis, espécies de microrganismos presentes e doses de irradiação (Tabela 10).

Nas amostras de papel sulfite - Livro Zoologie/1925 foram isolados inúmeros gêneros de fungos, além de bactérias. Nas amostras testemunha isolou-se maior número de colônias de *Penicillium* spp., seguindo-se *Aspergillus* spp.,

*Cladosporium cladosporioides*, *Epicoccum nigrum* e bactérias. Nas amostras irradiadas verificou-se um decréscimo do número de colônias de *Aspergillus* spp. em doses de até 17,5 kGy.

O *Cladosporium cladosporioides* e *Aspergillus* spp. ocorreram em números variáveis desde a testemunha até a dose mais alta de 20 kGy. Outros gêneros e espécies de fungos (*Fusarium* sp., *Alternaria tenuis*, *Rhizopus* sp.) foram isolados em pequeno número de colônias e somente em alguns tratamentos de irradiação, indicando que ocorrem em baixa frequência no papel ou são suplantados pela competição pelos fungos mencionados.

Por outro lado, nas amostras de papel couchê - Revista Scientia Agricola - de publicação recente (1992), constatou-se a ocorrência de poucos gêneros de fungos e em pequeno número de colônias.

Tabela 10 - Microrganismos isolados de papéis autênticos contaminados naturalmente e irradiados com diferentes doses de radiação gama.

Dose kGy	Tipos de papéis	Fungos e Bactérias								
		I *	II	III **	IV	V	VI	VII	VIII	IX
0	A	-	4	15	-	-	1	-	-	2
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	22
	C	1 ***	-	-	-	-	-	-	1	-
2,5	A	7	5	-	-	1	-	-	-	-
	B	-	1	-	1	1	-	-	1	23
	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5,0	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	22
	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7,5	A	4	5	4	1	1	-	-	-	-
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	10
	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10,0	A	4	4	1	-	1	-	1	-	4
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	37
	C	-	1	-	-	-	-	-	2	-
12,5	A	5	4	4	-	-	-	-	-	4
	B	-	-	-	1	-	-	-	-	14
	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15,0	A	2	2	2	-	-	-	-	-	-
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	30
	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17,5	A	-	2	1	-	-	-	-	-	-
	B	1	1	-	-	-	-	-	-	17
	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20,0	A	2	2	-	-	-	-	-	-	-
	B	1	-	-	1	-	-	-	-	12
	C	-	-	-	1	-	-	-	-	-

Papéis: A = papel sulfite (Livro Zoologie/1925); B = papel couchê (Revista Scientia Agricola/ 1992); C = papel acetinado (Livro Flora Brasílica/1942).

I = *Aspergillus* spp; II = *Cladosporium cladosporioides*; III = *Penicillium* sp.; IV = *Alternaria tenuis*; V = *Fusarium* sp.; VI = *Epicoccum nigrum*; VII = *Rhizopus* sp.; VIII = Fungos não identificados; IX = bactérias.

\* *Aspergillus* spp.: *A. niger*, *A. wentii*, *A. sp.*; \*\* *Penicillium* sp.: *P. decumbens*, *P. purpurogenum*, *P. sp.*  
\*\*\* Os valores foram obtidos a partir da contagem do número de colônias de fungos e bactérias em 50 sub-amostras de papéis plaqueados em meio de cultura (BDA).

No tratamento de 2,5 kGy foram isoladas colônias de cada fungo dos gêneros *Cladosporium cladosporioides*, *Alternaria tenuis*, *Fusarium* sp.; na dose de 17,5 kGy, uma colônia de *Cladosporium cladosporioides* e na de 20 kGy *Aspergillus* spp. *Alternaria tenuis* também com uma colônia cada. Nesse papel é elevada a contaminação por bactérias mesmo nas taxas de irradiação mais altas e que não mostram sinais visíveis de sua presença na superfície dos papéis.

Para amostras de papel acetinado - Livro Flora Brasílica - de publicação antiga (1942) mas em bom estado de conservação foram isolados poucos fungos e nenhuma bactéria. Verificou-se uma colônia dos gêneros *Aspergillus* spp., *Cladosporium cladosporioides*, *Alternaria tenuis*, nas amostras dos tratamentos testemunha, 10 e 20 kGy de radiação gama, respectivamente.

Os resultados da análise microbiológica mostraram que os papéis da obra mais antiga - Zoologie/1925 - apresentaram maior número de colônias de fungos em meio de cultura, independente das doses de radiação.

As espécies de fungos presentes nos 3 tipos de papéis são relacionadas como causadoras de danos em material bibliográfico (Tabela 1).

De acordo com FLORIAN (1993) na lista dos 44 conhecidos fungos xerofílicos (requerem baixa atividade de água) 12 são *Aspergillus*, 14 *Penicillium* e 7 *Eurotium*. Dos 11 restantes, 7 são espécies raras. A presença dessas espécies em materiais de arquivo indica a sua natureza xerofílica e os dados dos isolamentos da publicação mais antiga sugerem que os esporos dos fungos permaneceram em estado de

latência por longo período, conforme verificado por FLORIAN (1993); REBRIKOVA e MANTUROVSKAYA (1993); BROKERHOF (1989), vindo a germinar em condições favoráveis do meio de cultura.

Por outro lado, nos papéis da publicação Scientia Agricola (1992) foram isoladas bactérias em elevada frequência e um reduzido número de fungos, em relação aos demais papéis, indicando que foram contaminados durante sua fabricação, manuseio e/ou impressão sem apresentarem, no entanto, sinais ou manchas. As bactérias e fungos são os principais microrganismos que afetam a qualidade das polpas e papéis nas indústrias de celulose e papel sendo controlados com aplicações sistemáticas e contínuas de microbiocidas (MICROBIOLOGY, 1955; SANBORN, 1965; LATORRE *et alii*, 1990).

A presença e o desenvolvimento de microrganismos em materiais bibliográficos dependem de fatores ambientais como temperatura, luz, oxigênio, dióxido de carbono, viabilidade de água, pH, características osmóticas do substrato (FLORIAN, 1993). Dentre esses, o pH exerce influência importante, sendo que os valores abaixo de 7 (ácido) favorecem os fungos e os acima (básico) as bactérias (KOWALIK, 1969, 1980a,b; SZCZEPANOWSKA, 1986).

De fato, os papéis das publicações Flora Brasílica (1932), Zoologie (1925) e Scientia Agricola (1992) apresentavam valores de pH 4, 4,8 e 8,8, respectivamente. Quanto à radiosensibilidade das bactérias, os resultados são coincidentes com os observados por PETUSHKOVA (1992) que determinou a dose de 25 kGy letal para *Bacillus* sp., *Micrococcus* sp. e outras bactérias presentes em pergaminhos gregos medievais.

O aparecimento de esporos viáveis em amostras irradiadas com altas doses de radiação (20 kGy) contraria os resultados obtidos por BONETTI *et alii* (1979), que utilizaram doses menores de 10 kGy não se podendo afirmar, entretanto, de acordo com a Figura 25, que em doses mais altas de irradiação todos os esporos serão afetados, não dando origem a novas colônias.

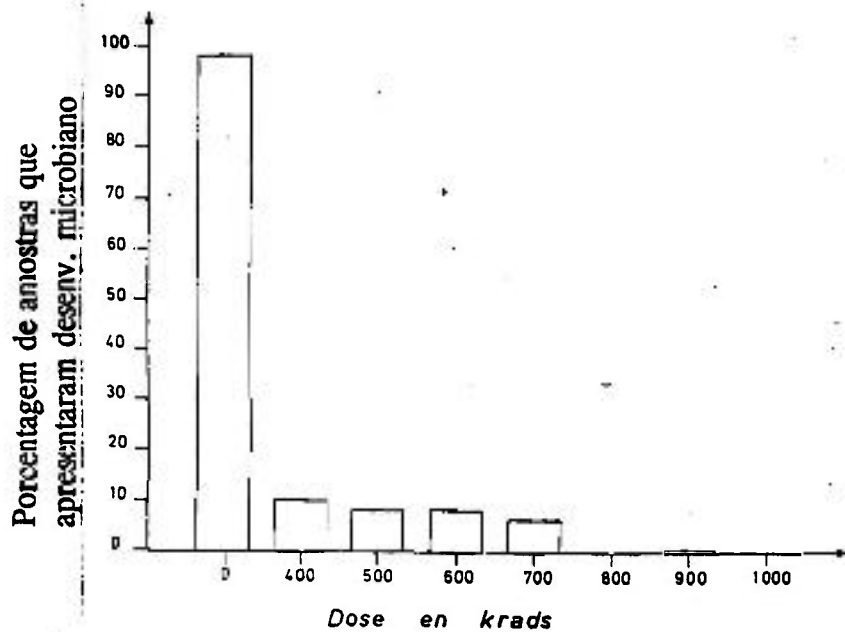


Figura 25 - Efeito da radiação gama em amostras de papéis de livros afetados por microrganismos (BONETTI *et alii*, 1979).

Da mesma forma, HORÁKOVÁ e MARTINEK (1984) concluem que 8 kGy são suficientes para matar os esporos dos fungos e esterilizar folhas de papéis antigos, analisados três meses após a irradiação, em que permaneceram a uma umidade relativa de 100% e temperatura de 30°C.

Entretanto, FLORIAN (1993) afirma que a umidade absoluta do substrato (e não somente a umidade relativa do ambiente) é a mais importante variável na germinação dos esporos e a ausência de colônias de fungos não significa a inexistência de esporos viáveis em estado de latência, que poderão germinar se receberem um tratamento de ativação.

Na Tabela 11 (Ensaio 18), são apresentados os resultados de pré-tratamentos, principalmente temperatura e umidade, realizados em papel de publicação antiga Química General, 1930 como alternativa para a redução da dose esterilizante para microrganismos, conforme recomendam JUSTA e URBAN (1989).

Os fungos apresentaram reações diferenciadas em relação aos pré-tratamentos e doses de radiação. Os pré-tratamentos A (condições normais de laboratório) e C (aquecimento a 50°C, 95% UR, 24 horas) reduziram significativamente o número de fungos isolados em relação ao B (aquecimento a 50°C, seco, 24 horas), para as mesmas doses e doses crescentes de radiação.

Esses resultados corroboram as afirmações de JUSTA e URBAN (1989) que o aquecimento a seco aumenta a resistência das estruturas dos fungos a radiação gama relacionada, também, com a redução do teor de água do substrato.

Tabela 11 - Microrganismos isolados de papéis<sup>(1)</sup> contaminados naturalmente e submetidos a pré-tratamentos de temperatura e umidade e irradiados em doses crescentes de radiação gama.

Fungos	Dose	Pré-tratamentos*			Bactérias	Doses	Pré-tratamentos*		
	kGy	A	B	C		kGy	A	B	C
	test	1**	-	1		test	1	2	1
	1,0	1	1	-		1,0	1	2	1
	2,0	-	1	-		2,0	-	2	-
	3,0	-	2	-		3,0	1	1	1
	4,0	-	-	-		4,0	1	-	-
	5,0	2	3	1		5,0	-	1	2
	6,0	-	-	1		6,0	-	1	-
	7,0	-	2	-		7,0	-	2	5
	8,0	-	3	1		8,0	1	1	5
	9,0	-	3	-		9,0	1	1	-
	10,0	-	5	-		10,0	2	-	-
	12,5	-	3	-		12,5	-	-	5
	15,0	1	-	-		15,0	2	1	5
	17,5	-	2	1		17,5	1	2	1
	20,0	-	-	-		20,0	1	1	2

(1) papel acetinado do livro Química General/1930.

\* Pré-tratamentos: A = condições normais de laboratório; B = aquecimento prévio em estufa a seco 50°C, 24 horas; C = aquecimento prévio em estufa úmida 95% UR, 50°C, 24 horas;

\*\* Número de colônias de fungos e bactérias desenvolvidas em 15 amostras de papéis em meio de cultura.

As bactérias apresentaram reações diferenciadas em relação aos fungos no que se refere aos pré-tratamentos e doses de radiação. Os maiores valores encontrados no pré-tratamento C em comparação com A e B indicam que o pré-aquecimento por 24 horas a 50°C e em alta umidade relativa, proporciona a rápida multiplicação das bactérias em valores exponenciais que, posteriormente não são afetadas pelas taxas de radiação de até 20 kGy, conforme verificado em ensaios anteriores e na literatura (PETUSHKOVA, 1992). Nos demais pré-tratamentos (A e B), apesar da redução do número de colônias de bactérias em algumas doses, verificou-se, da mesma forma, uma resistência nas doses de 20 kGy.

### **5.5. Irradiação de papéis e efeitos nas suas propriedades físico-mecânicas**

Os resultados do Ensaio 19, de avaliação dos efeitos da radiação gama e dos pré-tratamentos de secagem nas propriedades físico-mecânicas dos papéis antigos e modernos são apresentados nas tabelas 12 a 17, e os da análise estatística e do teste de Tukey nos Apêndices 14 a 23.

O papel antigo (tipo acetinado, livro Química General, 1930), não mostrou variações significativamente diferentes - com relação às doses de radiação e pré-tratamentos de secagem - para as seguintes propriedades físico-mecânicas: dobra transversal e longitudinal; alongamento transversal e longitudinal; arrebentamento (tabelas 12, 13, 14 e Apêndices 17, 18, 21, 22 e 23).

Foram observados para alguns parâmetros - resistência à tração e resistência ao rasgo - variações significativas em relação aos tratamentos de irradiação e secagem. Esses resultados não mostraram, de forma nítida, variações das propriedades físico-mecânicas dos papéis em resposta ao aumento das doses de radiação (Apêndices 15, 16, 19, 20). As variações das características básicas e originais das amostras de papel interferiram nos resultados dos tratamentos de irradiação. Esses aspectos podem ser verificados pelas variações de gramatura ( $\text{g/m}^2$ ) e espessura (mm) do papel que chegam a apresentar diferenças de até 12% e 30%, que são consideradas normais em papéis antigos e decorrentes da qualidade e homogeneidade da polpa de celulose, do processo de fabricação do papel e tintas utilizadas durante a impressão. Nesses casos, a amostragem recomendada pelas normas NBR e ISO não é suficiente para evitar interferência nos resultados das variações intrínsecas das amostras de papel sugerindo-se, dentro do possível, para papéis antigos, analisar e selecionar previamente as amostras antes da realização dos tratamentos.

O papel moderno (tipo sulfite, fabricado pela IPP, 1993) não mostrou variações significativamente diferentes, em relação às doses de radiação e pré-tratamentos de secagem para alongamento transversal (Tabelas 15, 16, 17 e Apêndice 18).

As propriedades do papel de resistência ao rasgo longitudinal e transversal; dobras transversal e longitudinal; alongamento longitudinal; tração longitudinal são afetadas de forma significativa nos tratamentos com doses de radiação de 5, 10, 15 e 20 kGy, respectivamente (Apêndices 15, 19, 20, 21, 22).

Quanto aos pré-tratamentos observa-se que as amostras submetidas a secagem em estufa úmida foram mais sensíveis para a dobra - transversal e longitudinal apresentando variações significativas a dose de 5 kGy, abaixo da dose de 10 kGy verificada nos outros pré-tratamentos (Apêndices 21, 22).

Ao contrário, as amostras secas em estufa úmida comportam-se como mais resistentes à radiação pois as alterações significativas para a resistência ao rasgo transversal e longitudinal foram verificadas a 10 e 15 kGy, acima da dose de 5 kGy dos demais pré-tratamentos (Apêndices 19, 20).

Quanto às propriedades de alongamento e arrebentamento, não foram observadas variações significativas.

Os parâmetros gramatura e espessura não interferiram nos resultados sendo mais homogêneos nos papéis modernos - pelos avanços na tecnologia de fabricação - em comparação com os antigos (Apêndice 14). Em termos comparativos e de uma forma geral, o papel antigo tipo acetinado apresentou, em relação ao papel moderno tipo sulfite, menores alterações nas propriedades físico-mecânicas pela ação das doses de radiação gama. Essas diferenças parecem ser devidas à composição (tipo e mistura de fibras) e pelo processo de fabricação (grau de refino, grau de ligação fibra a fibra, materiais não fibrosos, acabamento e cobertura) do papel conforme destaca PAVON-FLORES (1974). Segundo a autora, os papéis constituídos de celulose pura são os que mais sofrem alterações pois as cadeias de moléculas mais longas parecem ser mais afetadas que as outras. Ao contrário, os rearranjos moleculares explicam a estabilidade das características mecânicas.

Com relação às doses máximas de radiação gama que afetam as propriedades físico-mecânicas dos papéis existem diferenças entre os autores. Enquanto HANUS (1985) e HORÁKOVÁ & MARTINEK (1984) indicam valores de 7,2 a 8,0 kGy; LAWTON *et alii* (1951) citados por PASZNER, (1968); BECK (1969, 1972) e KUBAT *et al.* (1968), relatam doses limites de 10 kGy; CALVINI & SANTUCCI observaram degradações significativas a partir de 15 kGy; até PAVON-FLORES (1974) que verificou pequena alteração na resistência mecânica (dobra, rasgo e estouro) de 5 tipos de papéis irradiados com dose de 18 kGy. KEENEY *et alii* (1968), utilizando doses de 5 a 80 kGy verificaram que houve redução de 3-5%, nos valores originais das propriedades do papel toalha, em relação ao rasgo, estouro e alongamento, para cada aumento de 10 kGy de radiação gama.

Por outro lado, a literatura mostra que a resistência às dobras é a propriedade físico-mecânica mais afetada e com maiores variações, a partir de doses de 5 e 8 kGy, segundo BECK (1972), HORÁKOVÁ e MARTINEK (1984) e HANUS (1985), coincidente com o valor de 5-10 kGy encontrado no presente trabalho.

Em pesquisa recente, FLIEDER *et alii* (1994), ao irradiarem 3 tipos de papel com doses de até 3 kGy concluíram que as perdas de resistência à tração e estouro podem ser consideradas como insignificantes, porém, a partir de 1 kGy já ocorrem oxidações e despolimerização acentuadas em função do aumento do índice de cobre de papel e da queda do grau de polimerização viscosimétrica.

As perdas de resistência mecânica apesar de existirem podem ser aceitáveis, porém, as alterações químicas mostram uma degradação acentuada da celulose a partir do tratamento com radiação gama conforme destacam PAVON-FLORES (1974), BUTTERFIELD (1986).

Tabela 12 - Efeito de diferentes doses de radiação gama nas propriedades físico-mecânicas de papéis. Tratamento (50°C/24 h, 95% UR). Papel antigo.

Características/Propriedades	Doses de radiação					Método usado
	I	II	III	IV	V	
Físico/Químicas						
Espessura mm	0,0933	0,0969	0,00957	0,0925	0,0920	
Gramatura g/m <sup>2</sup>	84,99	87,04	82,18	88,56	84,98	
Resistência à tração kN/m						NBR 7536-1982
dir. longitudinal	2,06	1,88	2,05	2,20	2,02	
dir. transversal	1,43	1,40	1,47	1,34	1,45	
Alongamento T %						NBR 6041-1983
dir. longitudinal	1,0	0,95	1,1	1,5	1,1	
dir. transversal	1,7	1,3	1,8	1,8	1,6	
Resistência ao rasgo mN						NBR 7538-1982
dir. longitudinal	196	210	196	216	192	
dir. transversal	216	220	214	233	204	
Res. dobras duplas MIT n°						ISO 5626-1978
dir. longitudinal	1	1	2	2	1	
dir. transversal	2	2	2	2	1	
Res. arrebentamento kPa	83,4	81,4	75,5	84,3	86,3	ISO 2758-1983

Doses de radiação: test. (I); 5 kGy (II); 10 kGy (III); 15 kGy (IV); 20 kGy (V).

Tabela 13 - Efeito de diferentes doses de radiação gama nas propriedades físico-mecânicas de papéis. Tratamento (50°C/24 h). Papel antigo.

Características/Propriedades	Doses de radiação					Método usado
	I	II	III	IV	V	
Físico/Químicas						
Espessura mm	0,0863	0,0800	0,0836	0,0844	0,0869	
Gramatura g/m <sup>2</sup>	85,37	84,11	82,17	85,33	85,38	
Resistência à tração kN/m						NBR 7536-1982
dir. longitudinal	1,95	1,92	1,95	1,82	2,05	
dir. transversal	1,52	1,27	1,28	1,50	1,23	
Alongamento T %						NBR 6041-1983
dir. longitudinal	1,2	1,1	1,0	1,2	1,1	
dir. transversal	1,5	1,6	1,5	1,8	1,5	
Resistência ao rasgo mN						NBR 7538-1982
dir. longitudinal	196	176	157	171	176	
dir. transversal	196	188	176	188	190	
Res. dobras duplas MIT n°						ISO 5626-1978
dir. longitudinal	1	2	1	1	1	
dir. transversal	2	2	2	2	1	
Res. arrebentamento kPa	84,3	83,4	82,4	78,4	78,4	ISO 2758-1983

Doses de radiação: test. (I); 5 kGy (II); 10 kGy (III); 15 kGy (IV); 20 kGy (V).

Tabela 14 - Efeito de diferentes doses de radiação gama nas propriedades físico-mecânicas de papéis. Tratamento (ambiente). Papel antigo.

Características/Propriedades	Doses de radiação					Método usado
	I	II	III	IV	V	
Físico/Químicas						
Espessura mm	0,0817	0,0825	0,0825	0,0796	0,0833	
Gramatura g/m <sup>2</sup>	85,07	81,54	84,46	83,88	87,35	
Resistência à tração kN/m						NBR 7536-1982
dir. longitudinal	2,09	1,87	1,66	2,04	1,94	
dir. transversal	1,23	1,25	1,23	1,32	1,32	
Alongamento T %						NBR 6041-1983
dir. longitudinal	0,92	0,85	0,88	0,90	1,00	
dir. transversal	1,40	1,30	1,40	1,70	1,60	
Resistência ao rasgo mN						NBR 7538-1982
dir. longitudinal	169	180	157	167	157	
dir. transversal	182	190	161	180	190	
Res. dobras duplas MIT n°						ISO 5626-1978
dir. longitudinal	1	1	1	1	1	
dir. transversal	2	1	1	1	2	
Res. arrebentamento kPa	84,3	83,4	82,4	78,4	78,4	ISO 2758-1983

Doses de radiação: test. (I); 5 kGy (II); 10 kGy (III); 15 kGy (IV); 20 kGy (V).

Tabela 15 - Efeito de diferentes doses de radiação gama nas propriedades físico-mecânicas de papéis. Tratamento (50°C/24 h, 95% UR). Papel moderno.

Características/Propriedades	Doses de radiação					Método usado
	I	II	III	IV	V	
Físico/Químicas						
Espessura mm	0,0973	0,0985	0,0992	0,0983	0,0992	
Gramatura g/m <sup>2</sup>	71,16	71,47	71,19	70,58	71,27	
Resistência à tração kN/m						NBR 7536-1982
dir. longitudinal	5,28	5,38	5,23	5,28	5,23	
dir. transversal	2,96	2,98	2,89	3,01	2,83	
Alongamento T %						NBR 6041-1983
dir. longitudinal	2,7	2,5	2,40	2,4	2,5	
dir. transversal	5,7	5,6	5,60	5,6	5,8	
Resistência ao rasgo mN						NBR 7538-1982
dir. longitudinal	386	392	382	378	363	
dir. transversal	451	441	435	445	410	
Res. dobras duplas MIT n°						ISO 5626-1978
dir. longitudinal	145	122	98	108	104	
dir. transversal	69	56	50	43	47	
Res. arrebentamento kPa	249	243	241	248	230	ISO 2758-1983

Doses de radiação: test. (I); 5 kGy (II); 10 kGy (III); 15 kGy (IV); 20 kGy (V).

Tabela 16 - Efeito de diferentes doses de radiação gama nas propriedades físico-mecânicas de papéis. Tratamento (50°C/24 h). Papel moderno.

Características/Propriedades	Doses de radiação					Método usado
	I	II	III	IV	V	
Físico/químicas						
Espessura mm	0,0962	0,0948	0,0952	0,0965	0,0967	
Gramatura g/m <sup>2</sup>	70,84	70,00	70,26	69,76	71,70	
Resistência à tração kN/m						NBR 7536-1982
dir. longitudinal	5,6	5,32	5,43	5,44	5,13	
dir. transversal	3,10	2,97	2,90	3,05	2,96	
Alongamento T %						NBR 6041-1983
dir. longitudinal	2,4	2,3	2,4	2,0	2,0	
dir. transversal	5,0	5,5	4,6	4,8	4,3	
Resistência ao rasgo mN						NBR 7538-1982
dir. longitudinal	390	363	353	353	331	
dir. transversal	445	408	388	390	367	
Res. dobras duplas MIT n°						ISO 5626-1978
dir. longitudinal	114	119	113	67	68	
dir. transversal	62	65	44	43	37	
Res. arrebentamento kPa	246	237	226	216	212	ISO 2758-1983

Doses de radiação: test. (I); 5 kGy (II); 10 kGy (III); 15 kGy (IV); 20 kGy (V).

Tabela 17 - Efeito de diferentes doses de radiação gama nas propriedades físico-mecânicas de papéis. Tratamento (Ambiente). Papel moderno.

Características/Propriedades	Doses de radiação					Método usado
	I	II	III	IV	V	
Físico/químicas						
Espessura mm	0,0958	0,0978	0,0973	0,0967	0,0967	
Gramatura g/m <sup>2</sup>	69,87	70,29	71,02	70,94	70,12	
Resistência à tração kN/m						NBR 7536-1982
dir. longitudinal	5,52	5,39	5,40	5,41	5,26	
dir. transversal	3,02	3,01	2,97	3,03	2,89	
Alongamento T %						NBR 6041-1983
dir. longitudinal	2,2	2,2	2,1	1,9	2,1	
dir. transversal	5,2	5,6	5,6	5,3	5,4	
Resistência ao rasgo mN						NBR 7538-1982
dir. longitudinal	398	386	366	359	347	
dir. transversal	447	422	431	392	386	
Res. dobras duplas MIT n°						ISO 5626-1978
dir. longitudinal	97	113	84	92	79	
dir. transversal	58	60	55	44	47	
Res. arrebentamento kPa	245	239	228	222	223	ISO 2758-1983

Doses de radiação: test. (I); 5 kGy (II); 10 kGy (III); 15 kGy (IV); 20 kGy (V).

## 6. CONCLUSÕES

1 - Os papéis de impressão em condições inadequadas de conservação contêm bactérias e fungos, principalmente, dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, entre outros.

2 - Os esporos dos fungos em suspensão aquosa, irradiados com diferentes doses de radiação gama apresentam diferentes níveis de sensibilidade:

- as doses  $D_0$  - Sobrevivência de 37% dos esporos - foram de 1,43; 0,168 e 0,077 kGy para o *Cladosporium cladosporioides*, *Aspergillus niger* e *Penicillium purpurogenum*, respectivamente.

- as doses letais foram de 2,0-3,0; 2,25-2,50; 0,9-1,0; 0,5-1,0 e 0,5-0,6 kGy para *Cladosporium cladosporioides*, *Epicoccum nigrum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus wentii* e *Penicillium purpurogenum*, respectivamente.

3 - Os fungos na fase inicial de desenvolvimento dos esporos e formação de colônias em papéis e irradiados com diferentes doses de radiação gama apresentam, da mesma forma, diferentes níveis de sensibilidade:

- as doses letais foram de 5,5-6,0; 2,5-3,0; 1,0-2,0; 1,0-1,5 e 0,7-0,8 kGy para *Cladosporium cladosporioides*, *Aspergillus niger*, *Epicoccum nigrum*, *Aspergillus wentii* e *Penicillium purpurogenum*, respectivamente.

4 - Os fungos na fase de colônias adultas em papéis e submetidos a pré-tratamentos de temperatura e umidade e irradiados com diferentes doses de radiação gama apresentam, também, diferentes níveis de sensibilidade:

- as doses letais foram de 2,0; 6,0 e 10,0 kGy para *Cladosporium cladosporioides*, em papéis secos em estufa 50°C, úmidos e secos ao ambiente, respectivamente. As doses letais foram de 10 kGy para o *Epicoccum nigrum* nos 3 pré-tratamentos dos papéis.

5 - A sensibilidade à radiação gama foi menor para o *Cladosporium cladosporioides*, intermediária para o *Epicoccum nigrum* e maior para o *Penicillium purpurogenum*, *Aspergillus wentii* e *Aspergillus niger*, em quaisquer de suas fases de crescimento e desenvolvimento.

6 - Os fungos são mais sensíveis à radiação gama na fase de esporos e em suspensão em água e mais resistentes na fase de colônias adultas e no papel, em função do teor de água do meio.

7 - Os fungos e bactérias como contaminantes naturais de papéis e submetidos à pré-tratamentos de temperatura e umidade e irradiados com diferentes doses de radiação gama:

- desenvolvem colônias a partir de esporos ou estruturas de resistência em estado de latência, quando em condições favoráveis, mesmo em elevadas doses de radiação; com suas frequências determinadas pelo pH do papel.

- o pré-tratamento dos papéis com 50°C, 95% UR, 24 h, foi mais eficaz na redução dos fungos em relação ao de 50°C, seco, 24 h, para as mesmas doses de radiação.

8 - A irradiação de papéis com diferentes doses de radiação gama mostrou que:

- o papel antigo (couchê) apresentou, em relação ao papel moderno (sulfite), menores alterações nas propriedades físico-mecânicas provavelmente devido a sua composição e processo de fabricação, mesmo quando irradiado com doses altas (15 e 20 kGy).

- o papel moderno apresenta variações nas propriedades físico/mecânicas em função das doses de radiação, desde alterações na resistência ao rasgo (0 - 5 kGy), à dobra (5 - 10 kGy); ao alongamento (10 - 15 kGy); até à tração (15 - 20 kGy).

9 - A radiação gama constitui-se em um método para o controle de fungos em papéis e documentos gráficos, havendo necessidade de pesquisas para a diminuição das doses aplicadas, que incluam tratamentos - temperatura, umidade, composição da atmosfera - antes e durante a irradiação.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRAWAL, O.P. An overview of the studies on biodeterioration of cultural property in India. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON BIODETERIORATION OF CULTURAL PROPERTY. Lucknow, **Abstract**, p.1.

ALEXOPOULOS, C.J. **Introductory mycology**. New York: John Wiley and Sons, 1962. 613p.

ARAI, H. Relationships between fungi and brown spots found in various materials. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON BIODETERIORATION OF CULTURAL PROPERTY, 2., 1992. Tokyo, **Proceedings**, p.320-326.

A RADIAÇÃO GAMA E CONSERVAÇÃO DE OBJETOS DO PATRIMÔNIO. **Contacto**, São Paulo, 3:10-11, 1990b.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Condicionamento de papel, cartas e papelão para ensaio**. Rio de Janeiro, 1977. 3p. (ABNT-MB-760/77).

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Direção de fabricação de papel, cartas e papelão.** Rio de Janeiro, 1979. 2p. (ABNT-MB-1270/79).

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Amostragem de papel e papelão para ensaio.** Rio de Janeiro, 1982. 5p. (ABNT-MB-7158/82).

BAILEY, D.G.; HAAS, M.J. Eletron bean irradiation of fresh hides, salted hides and leather, microbial control and effect on physical properties. In: ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN LEATHER CHEMISTS ASSOCIATION A HOT SPRINGS, 1984. Virginia, **Proceedings**, p.20-25.

BALLARD, M.W.; BAER, N.S. Ethylene oxide fumigation: results and risk. **Restaurator**, Copenhagen, 7:143-168, 1986.

BARNETT, H.L. e HUNTER, B.B. **Illustrated genera of imperfect fungi.** 3<sup>a</sup> ed., Minneapolis: Burgess 1972. 241p.

BARROTTI, S.L.B.; BERGMAN, S. Propriedades do papel e ensaio para sua avaliação. In: SENAI/IPT, **Celulose e Papel**, São Paulo, 1988. p.819-842.

BARROTTI, S.L.B. Tipos de papel. In: SENAI/IPT, Celulose e Papel, São Paulo, 1988. p.843-855.

BECK, W. L'emploi des radiations ionisantes pour l'assainissement du bois ancien. In: SYMPOSIUM ON THE WEATHERING OF WOOD, 1969. Ludwigsburg, Actes, p.51-68.

BECK, W. Utilisation de rayons ionisants pour l'assainissement des papiers et de vieux bois. **Internationaler Graphischer Restauratorenentag**, Vienna, 69:39-51, 1972.

BELYAKOVA, L.A. Gamma-radiation as a disinfecting agent for books infected with mould spores. **Microbiology**, New York, 29:548-550, 1961.

BIASETTO, E.A. Disinfestazione dei libri (cartacei e membranaceae) a mezzo di radiazioni ionizzanti. **Atti dell'Istituto Veneto di Scienze, Lettere ed Arti**. (134):99-102, 1975/76.

BONETTI, M.; GALLO, F.; MAGAUDDA, D.; MARCONI, C.; MONTANARI, M. Essais sur l'utilisation des rayons  $\gamma$  pour la sterilisation des matériaux libraires. **Studies in Conservation**, London, 24:59-68, 1979.

BORS, J.; KÜHN, W.; BARDON, A. A possible control of paper destroying fungi by means of gamma rays. **Das Papier**, Darmstadt, 22(4):180-185, 1968.

BROKERHOF, A.W. Control of fungi and insects in objects and collections of cultural value. Amsterdam: Central Research Laboratory, 1989. 78p.

BUTTERFIELD, F.J. The potencial long-term effects of gamma irradiation on paper. **Studies in Conservation**, London, 32:181-191, 1987.

CALVINI, P.; SANTUCCI, L. Alcuni dati sugli effetti dell' irradiazione gamma sulla carta. **Bollettino del'Istituto Centrale Per la Patologia del Libro**, Roma, (35): 55-62, 1978-79.

CARRERA, N. História dos insetos inimigos dos livros. **Ciência e Cultura**, São Paulo, 33(3):353-361, 1981.

CHAHINE, C.; VILMONT, L. Effect du rayonnement gamma sur le cuir et le parchemin. In: JOURNEES D'ETUDES DEL'INSTITUT INTERNATIONAL DE CONSERVATION, Poitiers, Actes, p.47-107, 1988.

CHAMBERLAIN, W.R. A new approach to treating fungus in small libraries.  
**Biodeterioration Research**, 1:323-330, 1986.

CHATRATH, M.S. Effect of gamma radiation on spores of *Colletotrichum* spp. **Indian Society Nuclear Technical Agriculture and Biology**, New Delhi, 3(1):6-8, 1974.

COCHRANE, V.W. **Physiology of fungi**. New York, John Wiley & Sons, 1958.  
342p.

CORUJEIRA, L.A. Métodos de prevenção e eliminação de fungos em materiais bibliográficos. **Revista de Biblioteconomia**, Brasília, 1(1):59-65, 1973.

DHAWAN, S.; AGRAWAL, P.O. Fungal flora of miniatura paper paintings and lithographs. **International Biodeterioration**, London, 22(2):95-99, 1986.

DHAWAN, S. Microbial deterioration of paper material a literature review. Lucknow, **National Research Laboratory for Conservation of Cultural Properties**, 1986.  
18p.

DVORIASHINA, Z.P. Biodamage protection of book collections in the USSR. **Restaurator**, Copenhagen, 8:182-188, 1987.

ERIKSSON, K.-E.L.; BLANCHETTE, R.A.; ANDER, P. **Microbial and enzymatic degradation of wood and wood components**. New York: Springer-Verlag, 1990. 407p.

FLIEDER, F.; RAMIÈRE, R.; LEROY, M.; RAKOTONIRAINY, M.; DESCALLE, P. Recherches sur l'effect du rayonnement gamma pour la désinfection des papiers. In: JOURNÉES INTERNATIONALES D'ETUDES DE L'ASSOCIATION POUR LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE SUR LES ARTS GRAPHIQUES, 10., 1994, Paris, *Actes*, p.79-86.

FLORIAN, M.L.E. Conidial fungi (mould) activity on artifact materials - a new look at prevention, control and eradication. In: TRIENNIAL MEETING ICOM - COMMITTEE FOR CONSERVATION, 10., 1993, New York: **Proceedings**, p.15-23.

FRANCO, W.A. Combate ao mofo dos livros. **Boletim do Instituto de Biblioteconomia da Bahia**, Salvador, 11(1):131-133, 1972.

GALLO, F.; MARCONI, C.; MONTANARI, M. Saggi sulla sensibilità ai microrganismi di carte trattate con i raggi gamma e con l'assido di etilene. **Bollettino dell'Istituto Centrale Per la Patologia Del Libro**, Roma, (35):63-91, 1979.

GUARNIERI, A.C. **Notas sobre o mofo nos livros e papéis.** São Paulo, Museu da Indústria, Comércio e Tecnologia de São Paulo - SICCT, 1980. 48p.

HALLARD, A.; SANCHEZ, C. **Métodos de ensaios nas indústrias de celulose e papel.** São Paulo, 1975. Ed. Brusco, 458p.

HANUS, J. Gamma radiation for use in archives and libraries. **The Abbey Newsletter**, New York, **9(2):34**, 1985.

HORÁKOVÁ, H.; MARTINEK, F. Desinfection of a archive documents by ionizing radiation. **Restaurator**, Copenhagen, **6:205-216**, 1984.

JUSTA, P.; URBAN, J. The use of gamma radiation for conservation purposes. In: EUROPEAN SYMPOSIUM ON SCIENCE AND TECHNOLOGY AND EUROPEAN CULTURAL HERITAGE, 1989. Bologna, **Proceedings**, 4p.

KENNEY, N.H.; REINOLDS, H.H.; TRAGESER, D.A. Effects of irradiation of handsheets. **Tappi**, New York, **51(12):47-49**, 1968.

KOWALIK, R. Microbiodeterioration of library materials. Part 1. Chapters 1-3, **Restaurator**, Copenhagen, **4:99-114**, 1980a.

- KOWALIK, R. Some remarks of a microbiologist on protection of library materials against insects. **Restaurator**, Copenhagen, 3:117-122, 1979.
- KOWALIK, R. Microbiodeterioration of library materials. Part 2. Microdecomposition of basic organic library materials. Chapters 5-9, **Restaurator**, Copenhagen, 6:61-115, 1984.
- KOWALIK, R. Microbiodeterioration of library materials. Part 2. Microdecomposition of basic organic library materials. Chapter 4, **Restaurator**, Copenhagen, 4:135-219, 1980b.
- KOWALIK, R. Some problems of microbiological deterioration of paper. **Annali della Scuola Speciale per Archivisti e Bibliotecari dell'Università di Roma**, Roma, (1-2):61-80, 1969.
- KUAN, G.S.S.; BENAZZI, R.C. Colagem superficial e revestimento. In: SENAI/IPT, **Celulose e Papel**, São Paulo, 1988, p.757-794.
- KUAN, G.S.S.; BENAZZI, R.C.; BERGMAN, S. Matérias primas. In: SENAI/IPT, **Celulose e Papel**, São Paulo, 1988, p.561-581.

KUBAT, J.; MARTIN-LOF, S.; RUVO, A. The effect of gamma-radiation on some paper properties. *Svensk Papperstidning*, Stockholm, 23(15):851-856, 1968.

LATORRE, W.C.; CANALES, C.Y.G.; ZIMMER, C.; GALLARDO, V. Monitoração On-Line de Depósitos Microbiológicos em Máquinas de Papel. In: CONGRESSO ANUAL DE CELULOSE E PAPEL, 23., 1990. 12p.

LECLERC, F. Effets des rayons gamma sur le papier: état de la question. In: JOURNEES D'ETUDES DE L'INSTITUT INTERNATIONAL DE CONSERVATION, 1988, Poitiers, *Actes*, p.91-95.

LELIS, A.T. de. Deterioração, preservação e conservação de documentos gráficos. *O Papel*, São Paulo, 41(3):55-60, 1980.

LIMA, A.F.; RODÉS, L.; PHILIPP, P. Introdução: alguns dados sobre a história do papel e perfil do setor. In: SENAI/IPT, Celulose e Papel, São Paulo, 1988, p.1-12.

MARTIN, L.R.; MENTEN, J.O.M. Efeito da radiação gama sobre patógenos transmitidos por sementes de feijoeiro, *Phaseolus vulgaris*. Piracicaba, ESALQ/CENA, 1985. 9p.

MAK, P.Y.C. The use of physical methods and commercially available fumigants against insect pests in museums and libraries. In: ANNUAL IIC-CG CONFERENCES, 14., 1988. Toronto, **Proceedings**.

McCALL, N. Gamma radiation. **The Abbey Newsletter**, New York, 8(2):25, 1984.

MICROBIOLOGY OF PULP AND PAPER. New York: TAPPI, 1955. 282p. (Tappi Monograph Series, 15).

MINDLIN, G. O homem é o maior inimigo do papel. **O Papel**, São Paulo, 54(7):7, 1993.

NAVARRO, J.S. Ensayos fisicos-mecanicos del papel. **Alcoy**, Marfil, 259p, 1972.

NYUKSHA, J.P. Some special cases of biological deterioration of books. **Restaurator**, Copenhagen, 5:177-182, 1983.

NYUKSHA, J.P; GROMOV, D.A.; POKROVSKAJA, J.V. Mass processing of documents for fungi contamination control. In: TRIENNIAL MEETING ICOM COMMITTEE FOR CONSERVATION, 9., 1990. Dresden, **Abstract**, p.1.

ÓXIDO DE ETILENO PARA DESINFETAR OBJETOS ETNOGRÁFICOS. **Contacto**, São Paulo, 3:8-9, 1990a.

PAVON-FLORES, S.C. Gamma radiation as fungicide and its effects on paper. **Bulletin of American Institute for Conservation**, Illinois, 16(1):15-44, 1975/76.

PAVON-FLORES, S.C. Contribution a l'étude des propriétés fungicides des rayonnements gamma et leurs effets sur des papiers de différentes qualités. Paris, 1974. 59p. (These - École Pratique des Hautes Etudes).

PAZNER, L. Effect of inter- and intra-crystalline swelling on cellulose degradation by gamma-rays. **Svensk Papperstidning**, Stockholm, 22(30):822-828, 1968.

PETUSHKOVA, J.P. Studies on biodeterioration of the medieval Greek manuscript. In: **INTERNATIONAL ON BIODETERIORATION OF CULTURAL PROPERTY**, 1992, Yokahoma, **Proceedings**, 18p.

POSTLETHWAITE, A.W. Achieving integrated pest erradication with heightened sensitivities to collections safety and and human toxicity. Suitland: Smithsonian Institution, s/d. 12p.

RAMIÈRE, R. Protection de l'environnement culturel par les techniques nucléaires.

In: CONFERENCE INTERNATIONALE SUR LES APPLICATIONS INDUSTRIELLES DE LA TECHNOLOGIE DES RADIOISOTOPES ET DES RAYONNEMENTS. 1981, Grenoble, Actes, 1-19p.

REAGAN, B.M. Erradication of insects from wool textiles. **Journal of the American Institute for Conservation**, Washington, 21:1-34, 1982.

REBRIKOVA, N.L.; MANTUROVSKAYA. Study of factors facilitating the loss of viability of microscopic fungi in library and museum collections. In: TRIENNIAL MEETING ICOM - COMMITTEE FOR CONSERVATION, 10., 1993. New York, **Proceedings**, 7p.

ROTH, O. O papel - tudo começou num tanque de lavadeira. **O Papel**, São Paulo, 54(7):9-10, 1993.

SALGADO, M.L.G. Formação de pessoal técnico em conservação e restauração. **O Papel**, São Paulo, 41(3):43-46.

SANBORN, J.R. **Slime control in the pulp and paper industry**. New York: Lockwood Trade Journal, 1965. 132p.

SERIPIERRI, D.; LUCAS, L.A. **Conservação de acervos documentais para Técnicos de Ensino Superior - TES**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1991. 51p.

SHAH, S.; RAVAL, M.; CHHAPTAR, H.S. Studies on biodegradation of papers. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON BIODETERIORATION OF CULTURAL PROPERTY, 1989. Lucknow, **Abstract**, p.3

SORANTIN, H.; BARDON, A. Verhalten von technischen papieren im strahlenfeld. **Das Papiers**, 21(3):114-116, 1967.

STORY, K.O. Approaches to pest management in museums. Suitland: Conservation Analytical Laboratory, Smithsonian Institution. 1985. 165p.

SZCZEPANOWSKA, H. Biodeterioration of art objects on paper. **The Paper Conservation**, London, 10:31-39, 1986.

THAKRE, R.P.; BHAIJBHUJE, M.N. Biodeterioration of books and journals. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON BIODETERIORATION OF CULTURAL PROPERTY, 1989. Lucknow, **Abstract**, p.5.

URBAN, J.; SANTAR; SEDLACKOVA, J.; PIPOTA, J. Use of gamma radiation for conservation purposes in Czechoslovakia. In: TRIENNIAL MEETING ICOM - COMMITTEE FOR CONSERVATION, 5., 1978, Zagreb, **Proceedings**, 10p.

URBAN, J.; JUSTA, P. La radioconservación en el Museo de Bohemia Central de Rostoky. **Museum**, London, 38(151);165-167, 1986.

VERO, L.B.; MAGAUDDA, G.; ROSSI, P.D.; LAURENZI, M.T. Radiosterilizzazione di tavole dipinte: azione sui microorganismi e effetti collaterali sulla colla di coniglio e su alcuni pigmenti. In: **Congresso Internazionale di Applicatione dei Metodi Nucleari nel Campo delle Opere d'Arte**. Maggio, p.24-29, 1973. Roma, Italia, p.603-624.

ZEISLER, P.; HAMM, U.; GÖTTSCHING, L. Chemical and physical as condition of paper in archives and libraries. **Das Papier**, Darmstadt, 47(2):62-73, 1993.

**8 - APÊNDICES**

Apêndice 1 - Número de colônias de *Penicillium purpurogenum*, *Cladosporium cladosporioides* e *Aspergillus wentii*, formadas em meio de cultura a partir de esporos irradiados em doses crescentes de radiação gama.

n° colônias/placa		Doses (KGy)											
Microorganismos	test	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	4,75	5,0	6,0
<i>Aspergillus wentii</i>	141*	0	6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	3	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0
<i>Penicillium purpurogenum</i>	108	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

\* Cada número corresponde à média do número de colônias desenvolvidas em 4 placas de Petri (repetições).

\*\* Diluição:  $10^2$  esporos/ml.

Apêndice 2 - Número de colônias de *Cladosporium cladosporioides* formadas em meio de cultura a partir de esporos irradiados em doses crescentes de radiação gama.

Doses (kGy)	Suspensões (n <sup>o</sup> de esporos/ml)		
	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>
Testemunha	16*	3	2
1	11	3	1
2	4	1	0
3	0	0	0
4	0	0	0
5	0	0	0
6	0	0	0

\* Cada número corresponde à média do número de colônias desenvolvidas em 4 placas de Petri (repetições).

Apêndice 3 - Colônias de *Aspergillus niger* formadas em meio de cultura a partir de esporos irradiados em doses crescentes de radiação gama.

Doses (kGy)	Suspensões (nº de esporos/ml)		
	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>
Testemunha	++++*	+++	++
0,5	+++	++	+
1,0	-	+	-
1,5	-	-	-
2,0	-	-	-
2,5	-	-	-
3,0	-	-	-
3,5	-	-	-
4,0	-	-	-
4,5	-	-	-
5,0	-	-	-
5,5	-	--	-
6,0	-	-	-

- nenhuma colônia (nota 0,0);
- + poucas colônias (nota 2,5);
- ++ número médio de colônias (nota 5,0);
- +++ muitas colônias (nota 7,5);
- ++++ muito mais colônias (10,0).

\* Cada símbolo corresponde à média do número de colônias desenvolvidas em 4 placas de Petri (repetições).

Apêndice 4 - Colônias de *Aspergillus niger* formadas em meio de cultura a partir de esporos irradiados em doses crescentes de radiação gama.

Doses (kGy)	Suspensões (nº de esporos/ml)	
	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>
Testemunha	++++*	++++
0,25	++++	++++
0,50	+++	+++
0,60	++	++
0,70	11**	10
0,80	5	3
0,90	2	1
1,00	0	0
1,25	0	0
1,50	0	0

- nenhuma colônia (nota 0,0);  
 + poucas colônias (nota 2,5);  
 ++ número médio de colônias (nota 5,0);  
 +++ muitas colônias (nota 7,5);  
 ++++ muito mais colônias (10,0).

\* Cada símbolo corresponde às observações de 4 placas de Petri (repetições).

\*\* Cada número corresponde à média do número de colônias desenvolvidas em 4 placas de Petri (repetições).

Apêndice 5 - Número de colônias de *Aspergillus niger* formadas em meio de cultura a partir de esporos irradiados em doses crescentes de radiação gama.

Doses (kGy)	Suspensões (n <sup>o</sup> de esporos/ml)	
	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>
Testemunha	110*	21
0,25	55	6
0,50	5	1
0,60	3	1
0,70	4	0
0,80	1	0
0,90	1	1
1,00	0	0
1,25	0	0
1,50	0	0

\* Cada número corresponde à média do número de colônias desenvolvidas em 4 placas de Petri (repetições).

Apêndice 6 - Número de colônias de *Aspergillus wentii* formadas em meio de cultura a partir de esporos irradiados em doses crescentes de radiação gama.

Doses (kGy)	Suspensões (n° de esporos/ml)			
	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>
0	500*	300	100	25
0,5	70	11	2	1
1,0	-	-	-	-
1,25	-	-	-	-
1,50	-	-	-	-
1,75	-	-	-	-

\* Cada número corresponde à média do número de colônias desenvolvidas em 4 placas de Petri (3 repetições).

Apêndice 7 - Número de colônias de *Penicilium purpurogenum* formadas em meio de cultura a partir de suspensão de esporos em doses crescentes de radiação gama.

Doses (kGy)	Suspensões (n° de esporos/ml)			
	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>
testemunha	400*	300	47	38
0,20	63	13	01	0
0,30	08	02	0	0
0,40	05	02	0	0
0,45	01	0	0	0
0,46	01	0	0	0
0,47	01	0	0	0
0,48	01	0	0	0
0,49	01	0	0	0
0,50	01	0	0	0
0,55	0	0	0	0
0,60	0	0	0	0
0,70	0	0	0	0

\* Cada número corresponde à média do número de colônias desenvolvidas em 4 placas de Petri (repetições).

Apêndice 8 - Número de colônias de *Epicoccum nigrum* formadas em meio de cultura a partir de esporos irradiados em doses crescentes de radiação gama.

Doses (kGy)	Suspensões (nº de esporos/ml)		
	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>
testemunha	300	18	4
0,50	300	20	3
0,75	300	25	6
1,00	300	2	8
1,25	300	11	2
1,50	300	12	3
1,75	300	2	1
2,00	300	12	-
2,25	100	13	-
2,50	-	-	-

\* Cada número corresponde à média do número de colônias desenvolvidas em 4 placas de Petri (repetições).

Apêndice 9 - Número de colônias de *Cladosporium cladosporioides* formadas em papel de filtro, a partir de esporos na fase inicial de desenvolvimento, irradiados em doses crescentes de radiação gama.

Doses (KGy)	Papel de Filtro
Testemunha	31*
0,5	16
1,0	7
1,5	2
2,0	3
2,5	2
3,0	2
3,5	1
4,0	-
4,5	1
5,0	1
5,5	1
6,0	-
7,0	-
8,0	-
9,0	-
10,0	-
15,0	-

\* Cada número corresponde à média do número de colônias desenvolvidas em 4 placas de Petri (repetições).

Apêndice 10 - Colônias de *Aspergillus niger* formadas em papel de filtro, a partir de esporos na fase inicial de desenvolvimento, irradiados em doses crescentes de radiação gama.

Dose (kGy)	Papel de Filtro
Testemunha	++++*
0,5	+++
1,0	+++
1,5	++
2,0	+
2,5	+
3,0	-
3,5	-
4,0	-
4,5	-
5,0	-
5,5	-
6,0	-

- nenhuma colônia (nota 0,0);  
 + poucas colônias (nota 2,5);  
 ++ número médio de colônias (nota 5,0);  
 +++ muitas colônias (nota 7,5);  
 ++++ muito mais colônias (10,0).

\* Cada símbolo corresponde à observação de colônias desenvolvidas em 4 placas de Petri (repetições).

Apêndice 11 - Colônias de *Aspergillus wentii* formadas em papel filtro, a partir de esporos na fase inicial de desenvolvimento, irradiados em doses crescentes de radiação gama.

Dose (kGy)	Papel de Filtro
Testemunha	++++ <sup>*</sup>
0,5	++
1,0	+
1,5	-
2,0	-
2,25	-
2,50	-
2,75	-
3,0	-

- nenhuma colônia (nota 0,0);

+ poucas colônias (nota 2,5);

++ número médio de colônias (nota 5,0);

+++ muitas colônias (nota 7,5);

++++ muito mais colônias (10,0).

\* Cada número corresponde à média do número de colônias desenvolvidas em 4 placas de Petri (repetições).

Apêndice 12 - Colônias de *Penicillium purpurogenum* formadas em papel de filtro, a partir de esporos na fase inicial de desenvolvimento, irradiados em doses crescentes de radiação gama.

Dose (kGy)	Papel de Filtro
Testemunha	+ + + <sup>*</sup>
0,10	+ + +
0,20	+ +
0,30	+ +
0,40	+ +
0,50	+
0,60	+
0,70	+
0,80	-
0,90	-
1,00	-
2,00	-
3,00	-
4,00	-
5,00	-

- nenhuma colônia (nota 0,0);
- + poucas colônias (nota 2,5);
- + + número médio de colônias (nota 5,0);
- + + + muitas colônias (nota 7,5);
- + + + + muito mais colônias (10,0).

<sup>\*</sup> Cada símbolo corresponde à observação de colônias desenvolvidas em 4 placas de Petri (repetições).

Apêndice 13 - Colônias de *Epicoccum nigrum* formadas em papel de filtro, a partir de esporos na fase inicial de desenvolvimento, irradiados em doses crescentes de radiação gama.

Dose (kGy)	Papel de Filtro
Testemunha	+ + + *
1,0	+ +
2,0	-
3,0	-
4,0	-
4,5	-
5,0	-
5,5	-
6,0	-
7,0	-
8,0	-
9,0	-

- nenhuma colônia (nota 0,0);
- + poucas colônias (nota 2,5);
- + + número médio de colônias (nota 5,0);
- + + + muitas colônias (nota 7,5);
- + + + + muito mais colônias (10,0).

\* Cada símbolo corresponde à observação de colônias desenvolvidas em 4 placas de Petri (repetições).

## Apêndice 14 - Análise da variável gramatura.

## NOME DOS FATORES

FATOR	NOME
A	PAPEL
B	TRAT
C	DOSE

## QUADRO DA ANALISE DE VARIANCIA

CAUSAS DA VARIACAO	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F	PROB.>F
PAPEL	1	4467.4375036	4467.4375036	2516.7407	0.00001
TRAT	2	13.7690195	6.8845098	3.8784	0.02534
DOSE	4	36.2807095	9.0701774	5.1097	0.00162
PAP&TRA	2	1.1263114	0.5631557	0.3173	0.73394
PAP&DOS	4	41.1679076	10.2919769	5.7980	0.00076
TRA&DOS	8	55.4963103	6.9370388	3.9080	0.00117
PAP&TRA&DOS	8	54.8103445	6.8512931	3.8597	0.00128
RESIDUO	60	106.5053114	1.7750885		
TOTAL	89	4776.5934178			

MEDIA GERAL = 77.824997

COEFICIENTE DE VARIACAO = 1.712 %

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE ANTIGO DO FATOR PAPEL

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	5	20	9	86.345557	86.345557	a	A
2	4	15	9	85.929999	85.929999	a	AB
3	1	0	9	85.163330	85.163330	ab	AB
4	2	5	9	84.099999	84.099999	bc	BC
5	3	10	9	82.813332	82.813332	c	C

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE MODERNO DO FATOR PAPEL

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	4	15	9	71.217775	71.217775	a	A
2	3	10	9	70.985557	70.985557	a	A
3	2	5	9	70.666668	70.666668	a	A
4	5	20	9	70.574443	70.574443	a	A
5	1	0	9	70.453332	70.453332	a	A

## Apêndice 15 - Análise da variável Tração - Longitudinal.

## QUADRO DA ANÁLISE DE VARIANÇIA

CAUSAS DA VARIACAO	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F	PROB.>F
PAPEL	1	2215.2997947	2215.2997947	30863.0121	0.00001
TRAT	2	0.0054919	0.0027460	0.0383	0.96273
DOSE	4	2.5240036	0.6310009	8.7909	0.00002
PAP#TRA	2	2.3217636	1.1608818	16.1731	0.00001
PAP#DOS	4	1.9900912	0.4975228	6.9314	0.00009
TRA#DOS	8	1.4171493	0.1771437	2.4679	0.01331
PAP#TRA#DOS	8	3.3240554	0.4155069	5.7887	0.00001
RESIDUO	300	21.5335411	0.0717785		
TOTAL	329	2248.4158908			

MEDIA GERAL = 5.603109

COEFICIENTE DE VARIACAO = 4.782 %

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE ANTIGO DO FATOR PAPEL

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	1	0	33	3.140333	3.140333	a	A
2	4	15	33	3.078727	3.078727	a	AB
3	5	20	33	3.062515	3.062515	ab	AB
4	3	10	33	2.890030	2.890030	b	B
5	2	5	33	2.889182	2.889182	b	B

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE MODERNO DO FATOR PAPEL

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	1	0	33	8.363333	8.363333	a	A
2	4	15	33	8.223333	8.223333	a	A
3	3	10	33	8.216970	8.216970	a	A
4	2	5	33	8.203333	8.203333	a	A
5	5	20	33	7.963333	7.963333	b	B

MEDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NIVEL DE SIGNIFICANÇIA INDICADO  
D.M.S. 5% = 0.17778 - D.M.S. 1% = 0.21043

## Apêndice 15 - continuação

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE ANTIGO DO FATOR PAPEL E UMIDO DO FATOR TRAT

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	4	15	11	3.367545	3.367545	a	A
2	1	0	11	3.150000	3.150000	ab	AB
3	3	10	11	3.132545	3.132545	ab	AB
4	5	20	11	3.092546	3.092546	ab	AB
5	2	5	11	2.882545	2.882545	b	B

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE ANTIGO DO FATOR PAPEL E SECO DO FATOR TRAT

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	5	20	11	3.135000	3.135000	a	A
2	1	0	11	3.078455	3.078455	ab	A
3	3	10	11	2.990000	2.990000	ab	A
4	2	5	11	2.930000	2.930000	ab	A
5	4	15	11	2.785000	2.785000	b	A

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE ANTIGO DO FATOR PAPEL E AMBIENTE DO FATOR TRAT

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	1	0	11	3.192545	3.192545	a	A
2	4	15	11	3.083637	3.083637	ab	A
3	5	20	11	2.960000	2.960000	ab	A
4	2	5	11	2.855000	2.855000	bc	AB
5	3	10	11	2.547546	2.547546	c	B

## Apêndice 15 - continuação

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE MODERNO DO FATOR PAPEL E UMIDO DO FATOR TRAT

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	2	5	11	8.230000	8.230000	a	A
2	1	0	11	8.080000	8.080000	a	A
3	4	15	11	8.070000	8.070000	a	A
4	3	10	11	8.000001	8.000001	a	A
5	5	20	11	7.999999	7.999999	a	A

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE MODERNO DO FATOR PAPEL E SECO DO FATOR TRAT

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	1	0	11	8.560000	8.560000	a	A
2	4	15	11	8.320000	8.320000	ab	AB
3	3	10	11	8.300001	8.300001	ab	AB
4	2	5	11	8.140000	8.140000	bc	BC
5	5	20	11	7.850000	7.850000	c	C

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE MODERNO DO FATOR PAPEL E AMBIENTE DO FATOR TRAT

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	1	0	11	8.450000	8.450000	a	A
2	3	10	11	8.350909	8.350909	a	AB
3	4	15	11	8.280000	8.280000	ab	AB
4	2	5	11	8.240000	8.240000	ab	AB
5	5	20	11	8.040000	8.040000	b	B

MEDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NIVEL DE SIGNIFICANCIA INDICADO  
D.M.S. 5% = 0.30793 - D.M.S. 1% = 0.36448

### Apêndice 16 - Análise da variável Tração - Transversal.

QUADRO DA ANÁLISE DE VARIANCIA

CAUSAS DA VARIACAO	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F	PROB.>F
PAPEL	1	505.9604887	505.9604887	23110.6685	0.00001
TRAT	2	0.4866963	0.2433481	11.1154	0.00010
DOSE	4	1.3252303	0.3313076	15.1331	0.00001
PAP*TRA	2	1.1873977	0.5936989	27.1183	0.00001
TRA*DOS	8	1.4733393	0.1841674	8.4122	0.00001
PAP*DOS	4	0.3204799	0.0801200	3.6596	0.00656
PAP*TRA*DOS	8	1.0447221	0.1305903	5.9649	0.00001
RESIDUO	300	6.5678821	0.0218929		
TOTAL	329	518.3662364			

MEDIA GERAL = 3.304012

COEFICIENTE DE VARIACAO = 4.478 %

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE ANTIGO DO FATOR PAPEL

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	1	0	33	2.142970	2.142970	a	A
2	4	15	33	2.121697	2.121697	ab	A
3	5	20	33	2.038364	2.038364	bc	AB
4	3	10	33	2.028364	2.028364	bc	AB
5	2	5	33	1.997515	1.997515	c	B

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE MODERNO DO FATOR PAPEL

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	4	15	33	4.633333	4.633333	a	A
2	1	0	33	4.617879	4.617879	a	A
3	2	5	33	4.566667	4.566667	ab	AB
4	3	10	33	4.470000	4.470000	bc	BC
5	5	20	33	4.423333	4.423333	c	C

MEDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NIVEL DE SIGNIFICANCIA INDICADO  
D.M.S. 5% = 0.09819 - D.M.S. 1% = 0.11622

## Apêndice 16 - continuação

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE ANTIGO DO FATOR PAPEL E UMIDO DO FATOR TRAT

NUM.Ordem	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	3	10	11	2.250000	2.250000	a	A
2	5	20	11	2.215000	2.215000	a	AB
3	1	0	11	2.182546	2.182546	ab	AB
4	2	5	11	2.142546	2.142546	ab	AB
5	4	15	11	2.042545	2.042545	b	B

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE ANTIGO DO FATOR PAPEL E SECO DO FATOR TRAT

NUM.Ordem	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	1	0	11	2.361364	2.361364	a	A
2	4	15	11	2.297546	2.297546	a	A
3	3	10	11	1.952545	1.952545	b	B
4	2	5	11	1.940000	1.940000	b	B
5	5	20	11	1.887545	1.887545	b	B

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE ANTIGO DO FATOR PAPEL E AMBIENTE DO FATOR TRAT

NUM.Ordem	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	4	15	11	2.025000	2.025000	a	A
2	5	20	11	2.012546	2.012546	a	A
3	2	5	11	1.910000	1.910000	a	A
4	1	0	11	1.885000	1.885000	a	A
5	3	10	11	1.882545	1.882545	a	A

## Apêndice 16 - continuação

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE MODERNO DO FATOR PAPEL E UNIDO DO FATOR TRAT

NUM.Ordem	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	4	15	11	4,600000	4,600000	a	A
2	2	5	11	4,560000	4,560000	ab	A
3	1	0	11	4,530000	4,530000	ab	AB
4	3	10	11	4,420000	4,420000	bc	AB
5	5	20	11	4,330000	4,330000	c	B

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE MODERNO DO FATOR PAPEL E BECO DO FATOR TRAT

NUM.Ordem	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	1	0	11	4,740000	4,740000	a	A
2	4	15	11	4,670000	4,670000	ab	AB
3	2	5	11	4,540000	4,540000	bc	ABC
4	5	20	11	4,520000	4,520000	bc	BC
5	3	10	11	4,440000	4,440000	c	C

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE MODERNO DO FATOR PAPEL E AMBIENTE DO FATOR TRAT

NUM.Ordem	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	4	15	11	4,630000	4,630000	a	A
2	2	5	11	4,600000	4,600000	a	AB
3	1	0	11	4,583636	4,583636	ab	AB
4	3	10	11	4,550000	4,550000	ah	AB
5	5	20	11	4,420000	4,420000	b	B

MEDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NIVEL DE SIGNIFICANCIA INDICADO  
D.M.S. 5% = 0.17006 - D.M.S. 1% = 0.20129

## Apêndice 17 - Análise da variável Alongamento - Longitudinal.

## QUADRO DA ANALISE DE VARIANCIA

CAUSAS DA VARIACAO	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F	PROB.>F
PAPEL	1	118.2426641	118.2426641	2880.7916	0.00001
TRAT	2	4.8085471	2.4042736	58.5762	0.00001
DOSE	4	0.2827933	0.0706983	1.7225	0.14370
PAP*TRA	2	0.8254345	0.4127173	10.0552	0.00018
PAP*DOS	4	2.3185041	0.5796260	14.1217	0.00001
TRA*DOS	8	1.6923426	0.2115428	5.1539	0.00003
PAP*TRA*DOS	8	0.7405760	0.0925720	2.2554	0.02342
RESIDUO	300	12.3135597	0.0410452		
TOTAL	329	141.2244215			

MEDIA GERAL = 1.658439

COEFICIENTE DE VARIACAO = 12.216 %

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE ANTIGO DO FATOR PAPEL

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	4	15	33	1.200000	1.200000	a	A
2	5	20	33	1.075000	1.075000	ab	AB
3	1	0	33	1.065909	1.065909	ab	AB
4	3	10	33	0.991667	0.991667	b	B
5	2	5	33	0.966667	0.966667	b	B

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE MODERNO DO FATOR PAPEL

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	1	0	33	2.357576	2.357576	a	A
2	2	5	33	2.332121	2.332121	a	A
3	3	10	33	2.308485	2.308485	a	AB
4	5	20	33	2.170000	2.170000	b	BC
5	4	15	33	2.116970	2.116970	b	C

MEDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NIVEL DE SIGNIFICANCIA INDICADO  
D.M.S. 5% = 0.13444 - D.M.S. 1% = 0.15913

## Apêndice 17 - continuação

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE MODERNO DO FATOR PAPEL E UNIDO DO FATOR TRAT

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	2	5	11	2.475455	2.475455	a	A
2	5	20	11	2.475455	2.475455	a	A
3	1	0	11	2.472727	2.472727	a	A
4	3	10	11	2.450000	2.450000	a	A
5	4	15	11	2.425455	2.425455	a	A

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE MODERNO DO FATOR PAPEL E SECO DO FATOR TRAT

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	3	10	11	2.400000	2.400000	a	A
2	1	0	11	2.350000	2.350000	a	A
3	2	5	11	2.325455	2.325455	a	A
4	4	15	11	2.000000	2.000000	b	B
5	5	20	11	2.000000	2.000000	b	B

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE MODERNO DO FATOR PAPEL E AMBIENTE DO FATOR TRAT

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	1	0	11	2.250000	2.250000	a	A
2	2	5	11	2.195455	2.195455	a	AB
3	3	10	11	2.075455	2.075455	ab	AB
4	5	20	11	2.034546	2.034546	ab	AB
5	4	15	11	1.925455	1.925455	b	B

MEDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NIVEL DE SIGNIFICANCIA INDICADO  
D.M.S. 5% = 0.23286 - D.M.S. 1% = 0.27562

## Apêndice 17 - continuação

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE ANTIGO DO FATOR PAPEL E UNIDO DO FATOR TRAT

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	4	15	11	1.500000	1.500000	a	A
2	3	10	11	1.100000	1.100000	b	B
3	5	20	11	1.100000	1.100000	b	B
4	1	0	11	1.025000	1.025000	b	B
5	2	5	11	0.950000	0.950000	b	B

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE ANTIGO DO FATOR PAPEL E SECO DO FATOR TRAT

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	1	0	11	1.247727	1.247727	a	A
2	4	15	11	1.200000	1.200000	ab	A
3	5	20	11	1.125000	1.125000	ab	A
4	2	5	11	1.100000	1.100000	ab	A
5	3	10	11	1.000000	1.000000	b	A

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE ANTIGO DO FATOR PAPEL E AMBIENTE DO FATOR TRAT

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	5	20	11	1.000000	1.000000	a	A
2	1	0	11	0.925000	0.925000	a	A
3	4	15	11	0.900000	0.900000	a	A
4	3	10	11	0.875000	0.875000	a	A
5	2	5	11	0.850000	0.850000	a	A

## Apêndice 18 - Análise da variável Alongamento - Transversal.

### QUADRO DA ANÁLISE DE VARIANCIA

CAUSAS DA VARIACAO	G.L.	S.Q.	G.M.	VALOR F	PROB.>F
PAPEL	1	1160.3812252	1160.3812252	15023.2417	0.00001
TRAT	2	11.4254533	5.7127267	73.9616	0.00001
DOSE	4	0.6180007	0.1545002	2.0003	0.09337
PAP+TRA	2	10.1201362	5.0600681	65.5118	0.00001
TRA+DOS	8	6.8183489	0.8522936	11.0345	0.00001
PAP+DOS	4	4.7006473	1.1751618	15.2146	0.00001
PAP+TRA+DOS	8	2.9294866	0.3661858	4.7409	0.00007
RESIDUO	300	23.1717211	0.0772391		
TOTAL	329	1220.1650193			

MEDIA GERAL = 3.436636

COEFICIENTE DE VARIACAO = 8.087 %

#### TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE DENTRO DE ANTIGO DO FATOR PAPEL

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	4	15	33	1.754546	1.754546	a	A
2	3	10	33	1.583636	1.583636	ab	AB
3	5	20	33	1.566667	1.566667	b	AB
4	1	0	33	1.527424	1.527424	bc	B
5	2	5	33	1.375000	1.375000	c	B

#### TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE DENTRO DE MODERNO DO FATOR PAPEL

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	2	5	33	5.558485	5.558485	a	A
2	1	0	33	5.325152	5.325152	b	B
3	3	10	33	5.258485	5.258485	b	B
4	4	15	33	5.241818	5.241818	b	B
5	5	20	33	5.175151	5.175151	b	B

MEDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NIVEL DE SIGNIFICANCIA INDICADO  
D.M.S. 5% = 0.18442 - D.M.S. 1% = 0.21829

## Apêndice 18 - continuação

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE MODERNO DO FATOR PAPEL E UMIDO DO FATOR TRAT

NUM.Ordem	NUM.Trat.	NOME	NUM.Repet.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	5	20	11	5.850000	5.850000	a	A
2	1	0	11	5.700000	5.700000	a	A
3	4	15	11	5.650000	5.650000	a	A
4	3	10	11	5.600000	5.600000	a	A
5	2	5	11	5.550000	5.550000	a	A

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE MODERNO DO FATOR PAPEL E SECO DO FATOR TRAT

NUM.Ordem	NUM.Trat.	NOME	NUM.Repet.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	2	5	11	5.500000	5.500000	a	A
2	1	0	11	5.050000	5.050000	b	B
3	4	15	11	4.775454	4.775454	bc	BC
4	3	10	11	4.550000	4.550000	cd	CD
5	5	20	11	4.325455	4.325455	d	D

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE MODERNO DO FATOR PAPEL E AMBIENTE DO FATOR TRAT

NUM.Ordem	NUM.Trat.	NOME	NUM.Repet.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	2	5	11	5.625455	5.625455	a	A
2	3	10	11	5.625455	5.625455	a	A
3	5	20	11	5.350000	5.350000	ab	AB
4	4	15	11	5.300000	5.300000	b	AB
5	1	0	11	5.225455	5.225455	b	B

MEDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NIVEL DE SIGNIFICANCIA INDICADO  
D.M.S. 5% = 0.31943 - D.M.S. 1% = 0.37809

## Apêndice 18 - continuação

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE DOSE  
DENTRO DE ANTIGO DO FATOR PAPEL E UMIDO DO FATOR TRAT

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MÉDIAS	MÉDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	4	15	11	1.850000	1.850000	a	A
2	3	10	11	1.800000	1.800000	a	A
3	1	0	11	1.732273	1.732273	a	A
4	5	20	11	1.650000	1.650000	a	AB
5	2	5	11	1.300000	1.300000	b	B

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE DOSE  
DENTRO DE ANTIGO DO FATOR PAPEL E SECO DO FATOR TRAT

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MÉDIAS	MÉDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	4	15	11	1.850000	1.850000	a	A
2	2	5	11	1.550000	1.550000	ab	A
3	3	10	11	1.525455	1.525455	b	A
4	1	0	11	1.500000	1.500000	b	A
5	5	20	11	1.500000	1.500000	b	A

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE DOSE  
DENTRO DE ANTIGO DO FATOR PAPEL E AMBIENTE DO FATOR TRAT

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MÉDIAS	MÉDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	4	15	11	1.563636	1.563636	a	A
2	5	20	11	1.550000	1.550000	a	A
3	3	10	11	1.425455	1.425455	a	A
4	1	0	11	1.350000	1.350000	a	A
5	2	5	11	1.275000	1.275000	a	A

### Apêndice 19 - Análise da variável Rasgo - Longitudinal.

#### QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA

TIPO DE UNIDADE	S.L.	S.G.	S.M.	VALOR F	PROB.>F
TRATE	1	7691.1964274	7691.1964274	19495.8152	0.00001
TRAT	2	101.4486973	50.7228486	260.4719	0.00001
DOSE	4	55.2137644	21.3034411	109.3974	0.00001
ANTIGO	2	15.0600081	14.0300040	72.0468	0.00001
MODERNO	3	10.2077695	4.1502598	21.3162	0.00001
PAPEL	4	18.4753120	7.1183275	36.5566	0.00001
ANTIGO*MODERNO	6	3.5996554	1.9997967	3.5944	0.00077
RESIDUO	300	53.4203393	0.1747745		
TOTAL	329	2031.6181997			

MEDIA GERAL = 14.048909

COEFICIENTE DE VARIACAO = 1.141 %

#### TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE DENTRO DE ANTIGO DO FATOR PAPEL

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	2	5	33	9.572727	9.572727	a	A
2	1	0	33	9.533333	9.533333	a	A
3	4	15	33	9.400000	9.400000	a	A
4	5	20	33	8.933333	8.933333	b	B
5	3	10	33	8.666667	8.666667	b	B

#### TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE DENTRO DE MODERNO DO FATOR PAPEL

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	1	0	33	19.966666	19.966666	a	A
2	2	5	33	19.400000	19.400000	b	B
3	3	10	33	18.716666	18.716666	c	C
4	4	15	33	18.508788	18.508788	c	C
5	5	20	33	17.790909	17.790909	d	D

MEDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NIVEL DE SIGNIFICANCIA INDICADO  
D.M.S. 5% = 0.29283 - D.M.S. 1% = 0.34660

## Apêndice 19 - continuação

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE MODERNO DO FATOR PAPEL E UMIDO DO FATOR TRAT

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	2	5	11	20.000000	20.000000	a	A
2	1	0	11	19.700000	19.700000	ab	AB
3	3	10	11	19.500000	19.500000	ab	AB
4	4	15	11	19.300000	19.300000	b	B
5	5	20	11	18.500000	18.500000	c	C

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE MODERNO DO FATOR PAPEL E SECO DO FATOR TRAT

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	1	0	11	19.899999	19.899999	a	A
2	2	5	11	18.500000	18.500000	b	B
3	3	10	11	18.000000	18.000000	bc	B
4	4	15	11	17.926364	17.926364	c	B
5	5	20	11	17.172727	17.172727	d	C

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE MODERNO DO FATOR PAPEL E AMBIENTE DO FATOR TRAT

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	1	0	11	20.300000	20.300000	a	A
2	2	5	11	19.700000	19.700000	b	A
3	3	10	11	18.649999	18.649999	c	B
4	4	15	11	18.300000	18.300000	c	BC
5	5	20	11	17.700000	17.700000	d	C

MEDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NIVEL DE SIGNIFICANCIA INDICADO  
D.M.S. 5% = 0.50720 - D.M.S. 1% = 0.60034

### Apêndice 19 - continuação

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE ANTIGO DO FATOR PAPEL E UMIDO DO FATOR TRAT

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	4	15	11	11.000000	11.000000	a	A
2	2	5	11	10.518182	10.518182	a	AB
3	3	10	11	10.000000	10.000000	b	BC
4	1	0	11	10.000000	10.000000	b	BC
5	5	20	11	9.800000	9.800000	b	C

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE ANTIGO DO FATOR PAPEL E SECO DO FATOR TRAT

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	1	0	11	10.000000	10.000000	a	A
2	2	5	11	9.000000	9.000000	b	B
3	5	20	11	9.000000	9.000000	b	B
4	4	15	11	8.700000	8.700000	b	B
5	3	10	11	8.000000	8.000000	c	C

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE ANTIGO DO FATOR PAPEL E AMBIENTE DO FATOR TRAT

NUM.ORDEM	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	2	5	11	9.200000	9.200000	a	A
2	1	0	11	8.600000	8.600000	b	AB
3	4	15	11	8.500000	8.500000	bc	B
4	3	10	11	8.000000	8.000000	c	B
5	5	20	11	8.000000	8.000000	c	B

## Apêndice 20 - Análise da variável Rasgo - Transversal.

## QUADRO DA ANÁLISE DE VARIANCIA

CAUSAS DA VARIACAO	G.L.	S.D.	Q.M.	VALOR F	PROB.>F
PAPEL	1	10663,6375877	10663,6375877	43436,2304	0,00001
TRAT	2	184,4519914	92,2259957	375,6645	0,00001
DOSE	4	96,6283866	24,1570967	98,3992	0,00001
PAP*TRA	2	22,0649894	11,0324947	44,9387	0,00001
TRAI*DOS	8	40,3634601	5,0454325	20,5516	0,00001
PAP*IDOS	4	73,3743252	18,3435813	74,7190	0,00001
PAP*TRA*IDOS	8	15,5735009	1,9466876	7,9294	0,00001
RESIDUO	300	73,6502971	0,2455010		
TOTAL	329	11169,7445385			

MEDIA GERAL = 15,608788

COEFICIENTE DE VARIACAO = 3,174 %

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE ANTIGO DO FATOR PAPEL

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	4	15	33	10,266667	10,266667	a	A
2	2	5	33	10,166666	10,166666	a	A
3	1	0	33	10,039394	10,039394	ab	AB
4	5	20	33	9,721212	9,721212	bc	BC
5	3	10	33	9,427273	9,427273	c	C

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE MODERNO DO FATOR PAPEL

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	1	0	33	22,833333	22,833333	a	A
2	2	5	33	21,600000	21,600000	b	B
3	3	10	33	21,333333	21,333333	b	B
4	4	15	33	20,812121	20,812121	c	C
5	5	20	33	19,887878	19,887878	d	D

MEDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NIVEL DE SIGNIFICANCIA INDICADO

D.M.S. 5% = 0,32879 - D.M.S. 1% = 0,38917

## Apêndice 20 - continuação

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE ANTIGO DO FATOR PAPEL E UNIDO DO FATOR TRAT

NUM.Ordem	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	4	15	11	12,000000	12,000000	a	A
2	2	5	11	11,200000	11,200000	b	B
3	3	10	11	10,900000	10,900000	bc	BC
4	1	0	11	10,818182	10,818182	bc	BC
5	5	20	11	10,400000	10,400000	c	C

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE ANTIGO DO FATOR PAPEL E SECO DO FATOR TRAT

NUM.Ordem	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	1	0	11	10,000000	10,000000	a	A
2	5	20	11	9,700000	9,700000	a	A
3	4	15	11	9,600000	9,600000	a	AB
4	2	5	11	9,600000	9,600000	a	AB
5	3	10	11	9,000000	9,000000	b	B

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE ANTIGO DO FATOR PAPEL E AMBIENTE DO FATOR TRAT

NUM.Ordem	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	2	5	11	9,700000	9,700000	a	A
2	1	0	11	9,300000	9,300000	ab	A
3	4	15	11	9,200000	9,200000	ab	A
4	5	20	11	9,063636	9,063636	b	A
5	3	10	11	8,381818	8,381818	c	B

## Apêndice 20 - continuação

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE MODERNO DO FATOR PAPEL E UNIDO DO FATOR TRAT

NUM.Ordem	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	1	0	11	23.000000	23.000000	a	A
2	4	15	11	22.700000	22.700000	ab	AB
3	2	5	11	22.500000	22.500000	ab	AB
4	3	10	11	22.200000	22.200000	b	B
5	5	20	11	20.833333	20.833333	c	C

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE MODERNO DO FATOR PAPEL E SECO DO FATOR TRAT

NUM.Ordem	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	1	0	11	22.700000	22.700000	a	A
2	2	5	11	20.800000	20.800000	b	B
3	3	10	11	19.800000	19.800000	c	C
4	4	15	11	19.736363	19.736363	c	CD
5	5	20	11	19.063636	19.063636	d	D

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE MODERNO DO FATOR PAPEL E AMBIENTE DO FATOR TRAT

NUM.Ordem	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	1	0	11	22.800000	22.800000	a	A
2	3	10	11	22.000000	22.000000	b	B
3	2	5	11	21.500000	21.500000	b	B
4	4	15	11	20.000000	20.000000	c	C
5	5	20	11	19.700000	19.700000	c	C

MEDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NIVEL DE SIGNIFICANCIA INDICADO  
D.M.S. 5% = 0.56949 - D.M.S. 1% = 0.67406

## Apêndice 21 - Análise da variável Dobras Duplas - Longitudinal.

## QUADRO DA ANÁLISE DE VARIANCIA

CAUSAS DA VARIACAO	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F	PROB.>F
PAPEL	1	829907.2757576	829907.2757576	2635.0319	0.00001
TRAT	2	8282.9878788	4141.4939394	13.1496	0.00004
DOSE	4	17509.1515152	4377.2878788	13.8983	0.00001
PAP&TRA	2	7732.0060606	3866.0030303	12.2749	0.00005
PAP&DOS	4	17408.3757576	4352.0939394	13.8183	0.00001
TRA&DOS	8	9564.5575758	1195.5696970	3.7960	0.00049
PAP&TRA&DOS	8	9521.8424242	1190.2303030	3.7791	0.00050
RESIDUO	300	94485.4545455	314.9515152		
TOTAL	329	994411.6515152			

MEDIA GERAL = 51.378788

COEFICIENTE DE VARIACAO = 34.541 %

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE ANTIGO DO FATOR PAPEL

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	2	5	33	1.272727	1.272727	a	A
2	3	10	33	1.272727	1.272727	a	A
3	4	15	33	1.242424	1.242424	a	A
4	1	0	33	1.212121	1.212121	a	A
5	5	20	33	1.151515	1.151515	a	A

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE MODERNO DO FATOR PAPEL

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	1	0	33	118.545455	118.545455	a	A
2	2	5	33	118.181818	118.181818	a	A
3	3	10	33	98.424242	98.424242	b	B
4	4	15	33	88.909091	88.909091	bc	BC
5	5	20	33	83.575758	83.575758	c	C

MEDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NIVEL DE SIGNIFICANCIA INDICADO  
D.M.S. 5% = 11.77654 - D.M.S. 1% = 13.93908

## Apêndice 21 - continuação

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE MODERNO DO FATOR PAPEL E UNIDO DO FATOR TRAT

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	1	0	11	144.909091	144.909091	a	A
2	2	5	11	122.363636	122.363636	b	AB
3	4	15	11	107.909091	107.909091	bc	BC
4	5	20	11	103.545455	103.545455	bc	BC
5	3	10	11	98.000000	98.000000	c	C

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE MODERNO DO FATOR PAPEL E SECO DO FATOR TRAT

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	2	5	11	118.818182	118.818182	a	A
2	1	0	11	114.000000	114.000000	a	A
3	3	10	11	113.272727	113.272727	a	A
4	5	20	11	68.000000	68.000000	b	B
5	4	15	11	66.636364	66.636364	b	B

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE MODERNO DO FATOR PAPEL E AMBIENTE DO FATOR TRAT

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	2	5	11	113.363636	113.363636	a	A
2	1	0	11	96.727273	96.727273	ab	AB
3	4	15	11	92.181818	92.181818	b	AB
4	3	10	11	84.000000	84.000000	b	B
5	5	20	11	79.181818	79.181818	b	B

MEDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NIVEL DE SIGNIFICANCIA INDICADO  
D.M.S. 5% = 20.39757 - D.M.S. 1% = 24.14319

## Apêndice 21 - continuação

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE ANTIGO DO FATOR PAPEL E UNIDO DO FATOR TRAT

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	3	10	11	1.727273	1.727273	a	A
2	4	15	11	1.727273	1.727273	a	A
3	1	0	11	1.363636	1.363636	a	A
4	5	20	11	1.272727	1.272727	a	A
5	2	5	11	1.181818	1.181818	a	A

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE ANTIGO DO FATOR PAPEL E SECO DO FATOR TRAT

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	2	5	11	1.636364	1.636364	a	A
2	1	0	11	1.272727	1.272727	a	A
3	5	20	11	1.181818	1.181818	a	A
4	3	10	11	1.090909	1.090909	a	A
5	4	15	11	1.000000	1.000000	a	A

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE ANTIGO DO FATOR PAPEL E AMBIENTE DO FATOR TRAT

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	1	0	11	1.000000	1.000000	a	A
2	2	5	11	1.000000	1.000000	a	A
3	3	10	11	1.000000	1.000000	a	A
4	4	15	11	1.000000	1.000000	a	A
5	5	20	11	1.000000	1.000000	a	A

## Apêndice 22 - Análise da variável Dobras Duplas - Transversal.

## QUADRO DA ANALISE DE VARIANCIA

CAUSAS DA VARIACAO	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F	PROB.>F
PAPEL	1	208053.9272727	208053.9272727	2899.8165	0.00001
TRAT	2	162.6181818	81.3090909	1.1333	0.32357
DOSE	4	5893.5333333	1473.3833333	20.5357	0.00001
PAP#TRA	2	216.5090909	108.2545455	1.5088	0.22117
PAP#DOS	4	5637.4969697	1409.3742424	19.6436	0.00001
TRA#DOS	8	1286.2303030	160.7787879	2.2409	0.02433
PAP#TRA#DOS	8	1249.0666667	156.1333333	2.1762	0.02887
RESIDUO	300	21524.1818182	71.7472727		
TOTAL	329	244023.5636364			

MEDIA GERAL = 26.763636

COEFICIENTE DE VARIACAO = 31.649 %

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE ANTIGO DO FATOR PAPEL

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	SZ	IZ
1	3	10	33	1.939394	1.939394	a	A
2	1	0	33	1.818182	1.818182	a	A
3	2	5	33	1.606061	1.606061	a	A
4	4	15	33	1.545455	1.545455	a	A
5	5	20	33	1.363636	1.363636	a	A

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE MODERNO DO FATOR PAPEL

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	SZ	IZ
1	1	0	33	63.030303	63.030303	a	A
2	2	5	33	60.484848	60.484848	a	A
3	3	10	33	48.939394	48.939394	b	B
4	5	20	33	43.787879	43.787879	bc	B
5	4	15	33	43.121212	43.121212	c	B

## Apêndice 22 - continuação

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE ANTIGO DO FATOR PAPEL E UMIDO DO FATOR TRAT

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	3	10	11	2.090909	2.090909	a	A
2	2	5	11	2.000000	2.000000	a	A
3	4	15	11	1.636364	1.636364	a	A
4	1	0	11	1.545455	1.545455	a	A
5	5	20	11	1.272727	1.272727	a	A

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE ANTIGO DO FATOR PAPEL E SECO DO FATOR TRAT

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	1	0	11	2.272727	2.272727	a	A
2	4	15	11	1.909091	1.909091	a	A
3	3	10	11	1.818182	1.818182	a	A
4	2	5	11	1.818182	1.818182	a	A
5	5	20	11	1.272727	1.272727	a	A

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE ANTIGO DO FATOR PAPEL E AMBIENTE DO FATOR TRAT

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	3	10	11	1.909091	1.909091	a	A
2	1	0	11	1.636364	1.636364	a	A
3	5	20	11	1.545455	1.545455	a	A
4	4	15	11	1.090909	1.090909	a	A
5	2	5	11	1.000000	1.000000	a	A

## Apêndice 22 - continuação

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE MODERNO DO FATOR PAPEL E UNIDO DO FATOR TRAT

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	1	0	11	69.272727	69.272727	a	A
2	2	5	11	55.818182	55.818182	b	B
3	3	10	11	50.363636	50.363636	bc	BC
4	5	20	11	47.090909	47.090909	bc	BC
5	4	15	11	42.727273	42.727273	c	C

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE MODERNO DO FATOR PAPEL E SECD DO FATOR TRAT

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	2	5	11	65.363636	65.363636	a	A
2	1	0	11	61.727273	61.727273	a	A
3	4	15	11	42.727273	42.727273	b	B
4	3	10	11	41.909091	41.909091	b	B
5	5	20	11	37.000000	37.000000	b	B

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE MODERNO DO FATOR PAPEL E AMBIENTE DO FATOR TRAT

NUM.ORDEN	NUM.TRAT.	NOME	NUM.REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	2	5	11	60.272727	60.272727	a	A
2	1	0	11	58.090909	58.090909	a	AB
3	3	10	11	54.545455	54.545455	ab	ABC
4	5	20	11	47.272727	47.272727	bc	BC
5	4	15	11	43.909091	43.909091	c	C

MEDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NIVEL DE SIGNIFICANCIA INDICADO  
D.M.S. 5% = 9.73552 - D.M.S. 1% = 11.52326

## Apêndice 23 - Análise da variável Arrebetamento.

## QUADRO DA ANÁLISE DE VARIANÇIA

CAUSAS DA VARIACAO	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F	PROB.>F
PAPEL	1	202.6326696	202.6326696	9459.2733	0.00001
TRAT	2	0.2799163	0.1399582	6.5335	0.00208
DOSE	4	0.6679294	0.1669823	7.7950	0.00004
PAP#TRA	2	0.2166132	0.1083066	5.0560	0.00716
PAP#DOS	4	0.3366184	0.0841546	3.9285	0.00435
TRA#DOS	8	0.3113199	0.0389150	1.8166	0.07298
PAP#TRA#DOS	8	0.2610957	0.0326370	1.5236	0.14772
RESIDUO	300	6.4264768	0.0214216		
TOTAL	329	211.1326394			

MEDIA GERAL = 1.611182

COEFICIENTE DE VARIACAO = 9.084 %

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE ANTIGO DO FATOR PAPEL

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	1	0	33	0.864545	0.864545	a	A
2	5	20	33	0.833333	0.833333	a	A
3	4	15	33	0.830000	0.830000	a	A
4	2	5	33	0.823333	0.823333	a	A
5	3	10	33	0.786667	0.786667	a	A

TESTE DE TUKEY PARA MEDIAS DE DOSE  
DENTRO DE MODERNO DO FATOR PAPEL

NUM. ORDEM	NUM. TRAT.	NOME	NUM. REPET.	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	1	0	33	2.513636	2.513636	a	A
2	2	5	33	2.446667	2.446667	ab	AB
3	3	10	33	2.360000	2.360000	bc	BC
4	4	15	33	2.333030	2.333030	c	BC
5	5	20	33	2.320606	2.320606	c	C

MEDIAS SEGUIDAS POR LETRAS DISTINTAS DIFEREM ENTRE SI AO NIVEL DE SIGNIFICANCIA INDICADO  
D.M.S. 5% = 0.09712 - D.M.S. 1% = 0.11496