فصلنامه علمی – پژوهشی تحقیقات علوم چوب و کاغذ ایران
شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/IJWPR.2017.113143
جلد ۳۲، شماره ۳، صفحه ۳۵۸-۳۴۵ (۱۳۹۶)

ارزیابی تأثیر ضد قارچی تیوفانات متیل بر قارچ‌های مخرب کاغذ و کاربرد آن در حفاظت آثار کاغذی

محبوب عبدالعلی‌زاده[1*]، مهرناز آزادی بویاغچی[2]، محسن محمدی آچاچلویی[3]
و محمد محمدی‌پور[4]

۱*- نویسنده مسئول، کارشناس ارشد مرمت اشیای فرهنگی و تاریخی، تبریز mahboob9067@yahoo.com

۲- استادیار، عضو هیئت‌علمی مرمت اشیای فرهنگی و تاریخی، دانشگاه هنر اصفهان

۳- استادیار، عضو هیئت‌علمی مرمت اشیای فرهنگی و تاریخی، دانشگاه هنر اصفهان

۴- عضو هیئت‌علمی بخش تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان‌شرقی

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۶

چکیده

آثار کاغذی به دلیل ماهیت آلی خود بیشتر مورد حمله عوامل بیولوژیکی مثل قارچ‌ها، باکتری‌ها و حشرات قرار می‌گیرند. در آرشیوها معمولاً بیشترین نوع تخریب بیولوژیکی کاغذ، به قارچ‌ها مربوط می‌شود. اهمیت حفاظت آثار کاغذی باعث شده تا روش-های متفاوتی در قارچ‌زدایی این آثار بکار گرفته شود. روش ضدعفونی شیمیایی یکی از پرکاربردترین شیوه‌های ضدعفونی است. در این پژوهش کاربرد قارچ‌کش تیوفانات متیل بر قارچ‌های مخرب آثار کاغذی موردمطالعه قرارگرفته است. مطالعات آزمایشگاهی انجام‌شده برای بررسی تأثیرات تیوفانات متیل بر کاغذ و قارچ، شامل پیرسازی تسریعی کاغذ، بررسی میزان تأثیرگذاری قارچ‌کش تیوفانات متیل بر قارچ‌های *Aspergillus niger*، *Aspergillus flavus* و *Penicilliurn sp* و تعیین میزان پایداری قارچ‌کش بعد از پیرسازی تسریعی است. بررسی‌ها نشان داد که تیوفانات متیل در تمامی غلظت‌های ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ppm به‌طور کامل از رشد قارچ *P. sp.* جلوگیری کرد. قارچ *A.flavus* تنها در غلظت ۱۰ppm مقداری رشد داشت؛ اما در بقیه غلظت‌ها هیچ رشدی از این قارچ دیده نشد. قارچ *A.niger* نیز در غلظت‌های بالای ۱۰۰ppm توانایی رشد نداشت. بر اساس نتایج، کاغذهای تیمار شده پس از قرارگیری در شرایط پیرسازی تسریعی همچنان توانایی مهار رشد قارچ‌ها را دارد. به‌طورکلی، نتایج حاصل از هاله رشد و هاله عدم رشد، نشانگر آن بود که در غلظت ۲۰۰ppm هر سه قارچ به‌طور کامل قابل کنترل هستند.

واژه‌های کلیدی: کاغذ، تیوفانات متیل، کشت قارچ، پیرسازی تسریعی، حفاظت و مرمت

مقدمه

میکروارگانیسم‌ها مهمترین عوامل زوال بیولوژیکی هستند (Mesquita *et al.*, 2009). میکروارگانیسم‌های اصلی که به کاغذ حمله می‌کنند عبارت‌اند از باکتری‌ها و قارچ‌ها که متعلق به گونه سلولولیتیک و همچنین گونه‌های غیر سلولولیتیک می‌باشند. بیشترین نوع تخریب بیولوژیکی کاغذ به قارچ‌ها مربوط می‌شود، زیرا قارچ‌ها تحمل خوبی به تغییرات محیطی نشان می‌دهند (Manente *et al.*, 2012; Fabbri *et al.*, 1997). میکروارگانیسم‌ها باعث ایجاد آسیب‌های جدی مانند تضعیف یا سستی کاغذ و کتاب می‌شوند. کاغذهایی که تحت تأثیر رشد قارچ قرار می‌گیرند، اغلب دچار فاکسینگ (لکه‌های قرمز- قهوه‌ای که در اثر

فعالیت قارچ‌ها بر سطح کاغذ ایجاد می‌گردد) شده و تضعیف ساختار و تغییر رنگ در آنها ظاهر می‌شود (Gutarowska, 2012; Arai, 2000). قارچ‌ها به دلیل نداشتن کلروفیل نمی‌توانند دی‌اکسید کربن را به کربوهیدرات‌های موردنیاز برای رشدشان تبدیل کنند، به همین دلیل به‌طور مستقیم کربوهیدرات را از مواد آلی تهیه می‌کنند (McCleary, 1987). هنگامی‌که قارچ‌ها به چسب و آهار به‌کاررفته در کاغذ و صحافی (به‌عنوان مثال، نشاسته که هم به‌عنوان چسب در صحافی و هم به‌صورت ماده آهاردهنده کاغذ از زمان‌های قدیم کاربرد داشته است) حمله می‌کنند باعث پوسیدگی این مواد می‌شوند. کپک پس از هضم نشاسته به سلولز حمله کرده و کاغذ را فاسد می‌کند (Ghahri, 2006). قارچ‌ها زمانی که مواد لازم برای رشدشان را متابولیسم می‌کنند، موادی از قبیل اسیدهای سیتریک، اگزالیک، لاکتیک و اسیدهای آلی دیگر را دفع می‌کنند و این مواد باعث تخریب ساختار کاغذ شده و منجر به زوال آن می‌گردد (McCleary, 1987). البته قارچ‌های حساسیت‌زا باعث آسیب رسیدن به انسان نیز می‌شوند. به‌طوری‌که باوجود آلودگی میکروبی بیش‌ازاندازه در هوای داخل یک موزه یا کتابخانه، سلامتی اشخاص به‌طورجدی به خطر می‌افتد (Gutarowska, 2012; Zyska, 1997). تعداد زیادی از قارچ‌های آسیب‌رسان به کاغذ، متعلق به جنس‌های *Penicilliurn*، *Aspergillus* و *Chaetomium* است (*Gallo*, 1992). برای مقابله با قارچ از روش‌های فیزیکی و شیمیایی می‌توان استفاده کرد (Nitterus, 2000). بیشتر محققان بر این باورند که فاکتور اصلی مورد کنترل در کتابخانه‌ها، رطوبت نسبی هواست (Reis *et al.*, 2011) که از روش‌های فیزیکی در کنترل قارچ محسوب می‌گردد. روش‌های فیزیکی دیگر مانند کنترل دما، محیط‌های کم اکسیژن، اشعه گاما و اشعه فرابنفش نیز ازجمله روش‌های کاربردی در مبارزه با کاغذهای آلوده به قارچ هستند. این روش‌ها برای مدت زیاد دوام نمی‌آورند. زیرا اثر فوری داشته و از خود پسماندی در اثر باقی نمی‌گذارند (Sequeira *et al.*, 2012) اما روش‌های شیمیایی می‌توانند در مدت زمان زیادی کاغذ را محافظت کنند. هریک از روش‌های مورداستفاده دارای محدودیت‌ها و احیاناً معایب یا مزایای خاص خود هستند. به‌طورکلی، انتخاب کارآمدترین روش‌های درمانی موادی که از کاغذ تشکیل‌شده‌اند مهم است تا بتواند رشد حشرات و میکروارگانیسم‌ها را مهار کند و یا از رشد آنها جلوگیری کند. انتخاب یک ماده مناسب در آفت‌زدایی آثار کاغذی نیازمند داشتن ویژگی‌های منحصربه‌فرد است. از مهمترین این ویژگی‌ها، توانایی از بین بردن تمامی میکروارگانیسم‌ها و مدت زمان پایداری آن ماده است (Velikova *et al.*, 2011).

در رابطه با مواد آفت‌کش کاغذ، Roman و همکاران (۲۰۱۳)، به نقش مهم آفت‌کش‌ها اشاره کرده و به‌شرح آفت‌کش‌های مهم در مرمت و حفاظت آثار کاغذی پرداخته و همچنین نقش این مواد را در امر مرمت و حفاظت پررنگ دانسته‌اند. به‌طوری‌که شاید بتوان گفت، بیش از ۵۰ نوع ترکیبات شیمیایی از گروه‌های مختلف تا قبل از سال ۱۹۹۰ در حوزه حفاظت کتاب آزمایش شده است (Velikova *et al.*, 2011). Adelantado و همکاران (۲۰۰۵) تأثیر دو نوع قارچ‌کش تجاری که به‌عنوان ماده ضد قارچ ثبت و شناخته‌شده‌اند و ترکیب ۳۰ به ۷۰ آب و الکل را بر رشد قارچ‌های *Aspergillus niger* و *Penicillium rugulosum* مطالعه کردند. Bacilkova (۲۰۰۶) در مبحث مبارزه با قارچ، بر افزایش اثربخشی الکل‌ها با افزایش طول زنجیره اشاره داشته؛ و بر اساس مطالعه ایشان، ترکیب آب و الکل، اثربخش‌تر از الکل خالی است. Weaver-Meyers و همکاران (۱۹۹۸) دی‌اکسید کلرین را بررسی کردند. نتایج به‌کارگیری دی‌اکسید کلرین به حالت گاز، در کنترل حملات قارچی آثار کاغذی، نشانگر پایین بودن خطرات کاربرد این ماده در درازمدت است. Rakotonirainy و همکاران (۱۹۹۹) مطالعه‌ای در رابطه با تأثیرات چند قارچ‌کش تجاری با نام‌های اکونازول، ارتوفنیل فنل، ایمازالیل و تیابندازول بر روی کاغذ انجام دادند، از میان این مواد، هیچ‌یک به‌اندازه تیابندازول در قارچ‌زدایی خوب عمل نکرد.

Fabbri و همکاران (۱۹۹۷)، تأثیرات ضد قارچی مواد آنتی‌بیوتیک، ضد قارچ‌های آزولی و بازدارنده‌های سنتزی کیتین را مورد بررسی قرار دادند. با توجه به نتیجه حاصل‌شده، بیشترین اثربخشی مربوط به گروه ضدقارچ آزولی بود. استفاده از داروهای هومیوپاتیک به‌عنوان عامل ضد قارچ در حفاظت کتاب و مواد کاغذی، تحقیق جدیدی است که برای اولین بار توانسته نقش و توانمندی داروهای هومیو را در حفاظت کاغذ در برابر قارچ‌ها بررسی کند. شش نوع داروی هومیو با توانایی مختلف مورد آزمایش قرار داده شد که از میان آنها دو نوع دارو با نام‌های Sulphur Iodatum 1000 (1M) و Petroleum 30 تأثیر بیشتری را نشان دادند. این داروها بی‌خطر بوده و اثرات زیان‌آوری در کتاب ایجاد نمی‌کند (Garg, 1995).

مشکلات موجود در بخش ضدعفونی و درمان آثار کاغذی که مورد حمله عوامل بیولوژیکی قرار گرفته‌اند، همواره موجب به‌کارگیری فنون جدید شده است؛ و متخصصان حوزه مرمت و حفاظت آثار تاریخی از سایر علوم در این زمینه کمک می‌گیرند. مطالعه نانو مواد در جلوگیری از حمله قارچ به آثار کاغذی ازجمله فنون جدید به‌شمار می‌رود؛ اما مطالعات گسترده و کامل در این زمینه انجام نشده و در حال حاضر این تحقیقات ادامه دارد. Eimani و همکاران (۲۰۱۱) به کاربرد نانو ساختارهای اکسید روی در حفاظت آثارکاغذی پرداخته‌اند. تأثیر این ماده بر ویژگی‌های کاغذ و نیز نقش آن در جلوگیری از قارچ مورد مطالعه قرار گرفته است. Hadadi و همکاران (۱۳۹۱) به بررسی اثر حفاظتی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم در محفظه‌های نگهداری و نمایش آثار کاغذی پرداخته‌اند. بر این اساس لایه‌نشانی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر روی محفظه نگهداری کاغذ نتایج قابل توجهی داشته است. Aryafar و همکاران (۲۰۱۵) به بهینه‌سازی کربوکسی متیل سلولز (CMC) (یکی از مهمترین مواد مورد استفاده در حفاظت و مرمت آثار کاغذی) در برابر عوامل میکروارگانیسم به کمک نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم پرداخته و ارتقاء کیفیت پلیمر CMC را توسط نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم مورد ارزیابی قرار داده‌اند.

ماده‌ای که در این پژوهش بررسی شد تیوفانات متیل نام دارد. این ماده به‌صورت بلورهای بی‌رنگ است (ISIRI 18443, 2014) و معمولاً به حالت پودر یا غبار بکار می‌رود. تیوفانات متیل (*Thiophanate methyl*) با نام تجاری توپسین ام (*Topsin M*) و از گروه قارچ‌کش‌های بنزیمیدازول است که جزو قوی‌ترین مواد قارچ‌کش به ثبت رسیده است (Gisi *et al.*, 2005). فرمول شیمیایی آن *C12H14N4O4S2* است که قابلیت حل شدن در استون، سیکلوهگزانون، متانول، استونیتریل و اتیل استات را دارد (Krieger, 2010). قارچ‌کش تیوفانات متیل از سال ۱۹۶۰ به‌عنوان ماده قارچ‌کش در قارچ‌زدایی مورد استفاده قرار گرفت (Hirschfeld *et al.*, 2010). بر اساس دسته‌بندی سازمان بهداشت جهانی[1] تیوفانات متیل دارای کلاس خطر U (در صورت استفاده در شرایط معمولی، سمیت حاد ندارد) و بر اساس دسته‌بندی آژانس حفاظت از محیط‌زیست[2] در کلاس IV قرارگرفته است (استاندارد ملی ایران به شماره ۱۸۴۴۳). این ماده از طریق رشد ساختارهای میکروسکوپی لوله مانند[3] مضر در سلول های قارچی عمل کرده، درنتیجه از تقسیم سلولی صحیح جلوگیری می‌کند (Nauha *et al.*, 2009). با توجه به مطالب گفته‌شده، مبحث مبارزه با قارچ‌های مخرب کاغذ یکی از مهمترین مواردی است که موزه‌ها و کتابخانه‌ها با آن درگیر هستند؛ بنابراین، این پژوهش سعی بر آن دارد تا با بررسی تأثیر تیوفانات متیل بر قارچ‌های مخرب کاغذ، قدرت این ماده را در مبارزه با قارچ سنجیده و امکان حفاظت آثار کاغذی توسط این ماده ارزیابی گردد.

مواد و روش‌ها

تهیه قارچ

برای ارزیابی و بررسی تأثیر قارچ‌کش در این

1- WHO
2- EPA
3- Microtubule

پژوهش، سه نوع قـارچ *Aspergillus niger* (*IBRC-M 30064*)، *Aspergillus flavus* (*IBRC-M 30054*) و *Penicilliurn sp* (*IBRC-M 30030*) به دلیل قرارگیری این قارچ‌ها در جـزو قـارچ‌هـای مخـرب آثـار کاغـذی انتخاب گردید. به‌طوری‌که در زوال‌های بیولوژیکی آثـار کاغذی این قارچ‌ها عمدتاً نقش به‌سزایی دارند. قارچ‌های ذکرشده به‌صورت کشت تازه تهیه شدند. برای کشت قارچ از روش کشت در محیط کشت PDA (Potato Dextrose Agar) براسـاس شـیوه پیشـنهادی شـرکت تولیدکننـده (شرکت Merck آلمان)، ۳۹ گرم در لیتـر، اسـتفاده شـد. پیش از کشت، ابزار و محل نمونه‌بـرداری بـا اسـتفاده از آب‌ژاول، اتانول و اشعه UV استریل گردید. برای حصول اطمینان از استریل، ابزار یکبـار دیگـر بـه همـراه محـیط کشت آماده‌شـده در اتـوکلاو بـا دمـای ۱۲۱C° و فشـار ۲۰pis به مدت ۲۰ دقیقه، ضـدعفونی و اسـتریل شـدند. لازم به ذکر است کـه در مبحـث کشـت قـارچ از اصـول ارائـه‌شـده در اسـتانداردهای ملـی ایـران (ISIRI) بـه شماره‌های ۳۱۹۴، ۹۴۸۸ و ۹۸۹۹ استفاده شد. قارچ‌های تهیه‌شده بلافاصله هریک در سه پتری‌دیش تکثیر داده شد تا در مواقع نیاز استفاده گردد.

آزمایش بیولوژیکی کاغذ

برای اطمینـان از اینکـه کاغـذ مورداسـتفاده در ایـن پژوهش، عاری از هرگونه ماده قارچ‌زدا اسـت، آزمـایش بیولوژیکی بر روی آن انجام شد. قارچ‌ها به روش تلقـیح و بـه‌تعـداد 10^5 اسـپور (شـمارش‌شـده بـه‌وسـیله لام هماسیتومتر) در هر میلی‌لیتر از سوسپانسیون، از هـر سـه قارچ شمارش شده و در پلیت‌های استریل حاوی محـیط کشت PDA افزوده شد. سپس کاغذهای گـرد بـا قطـر ۵ میلی‌متر به تعداد ۵ عدد در داخل پلیت قرار گرفت. بعـد از قرارگیری پلیت‌ها در دمای ۳±۲۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسـبی ۷۵ درصـد بـه مـدت ۳۵ روز در داخـل انکوباتور، نتایج مشاهده شد.

تعیین غلظت مؤثر تیوفانات متیل

هدف از اجرای این آزمون، میزان تأثیرگذاری قارچ-کش تیوفانات متیل بر روی قارچ‌های آسـیب‌رسـان بـه کاغذ و تعیین غلظت‌های مؤثر بر قارچ‌های مـوردنظر و مشاهده کنترل یا عدم کنترل رشد قارچ توسط این مـاده است. برای بررسی میزان تأثیر محلول تیوفانات متیل بر سه نوع قـارچ *A. niger*، *A. flavus* و *P. sp*، از روش هالـه رشـد اسـتفاده شـد. بـرای بررسـی میـزان تـأثیر قارچ‌کش، غلظت‌های ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ppm از ماده تیوفانات متیل انتخاب شـد تـا میـزان تـأثیر از کمترین غلظت تا بیشترین غلظـت مـورد بررسـی قـرار گیرد. بعد از اتمام کار، پتری‌دیش‌ها در داخل انکوباتور به مدت سه هفته در دمای ۳±۲۷ و رطوبـت نسـبی ۷۵ درصد قرار داده شدند. با گذشت زمان نمونه‌ها به‌صورت مداوم و مرتب کنترل گردید و در هر کنترل، هالـه رشـد به‌وسیله کولیس اندازه‌گیـری شـد. در ایـن روش، ابتـدا محیط کشت تهیه‌شـده و اسـتریل گردیـد و بعـد در آب مقطر (pH= ۶/۶۸) استریل شده در اتوکلاو، غلظت پایه از تیوفانات متیل تهیه شد. برای آماده‌سازی غلظت‌های انتخاب‌شده، از غلظت پایه، مقدار موردنظر برداشته شـد و با محیط کشت به حجم رسید. به‌عبارت‌دیگر قارچ‌کش تیوفانات متیـل بـا محـیط کشـت ترکیـب شـد. بعـد از آماده‌سازی محیط آغشته به ماده قارچ‌کش، از هـر سـه قارچ موردبررسی که قبلاً در پتری‌دیـش‌هـای جداگانـه تکثیر شده بود، با یک دیسک نیم سانتیمتری بـرش داده و در داخل پتری‌دیش‌های حاوی محیط کشت آغشته به ماده قارچ‌کش با ۵ تکرار قرار داده شد تا میـزان رشـد آنها با گذشت زمان نسبت بـه نمونـه شـاهد (منظـور از نمونه شاهد عبارت است از پتری‌دیـش حـاوی محـیط کشت استریل شده و بدون هیچ‌گونه افزودنی که هر سـه قارچ موردنظر در داخل آن کشـت داده‌شـده تـا بتـوان میزان رشد نمونه‌های دیگر را نسـبت بـه نمونـه شـاهد سنجید) مورد مقایسه قرار گیرد.

تعیین میزان پایداری تیوفانات متیل

مواد در شرایط مختلف می‌توانند دچار تغییر شوند. شرایط محیطی مختلف در مواد تأثیر گذاشته و در خصوصیات آن تغییراتی احتمالی حاصل می‌گردد. هدف از تعیین پایداری، تعیین میزان ابقای خاصیت قارچ‌کشی تیوفانات متیل بعد از پیرسازی تسریعی دما- رطوبت است. روش آزمون بدین‌صورت بوده که ابتدا تعدادی کاغذ فیلتر MN ساخت شرکت مونکتل آلمان، با محلول تیوفانات متیل در متانول ساخت شرکت مرک آلمان با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ppm به روش اسپری بر سطح کاغذ، تیمار شدند. کاغذهای تهیه شده، طبق استاندارد ISIRI (استاندارد ملی ایران) به شماره ۴۷۰۶ به مدت ۲۸۸ ساعت برای پیرسازی به داخل محفظه پیرسازی انتقال داده شدند. طبق استاندارد ذکرشده، عملیات پیرسازی نمونه‌ها در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۶۵ درصد انجام شد. نمونه‌ها بعد از خشک شدن، در پاکت‌های استریل نگهداری شده و به آزمایشگاه قارچ‌شناسی انتقال یافتند. با رعایت اصول و با دقت کافی نمونه‌ها در اندازه‌های نیم سانتیمتری برش خورده (به‌صورت گرد و با قطر نیم سانتیمتر) و در محیط استریل قرار گرفت. محیط کشت استریل شده به مقدار کافی در پتری‌دیش‌ها ریخته شد و قارچ‌ها به روش تلقیح[1] و به‌تعداد 10^5 اسپور (شمارش‌شده به‌وسیله‌ی لام هماسیتومتر) در هر میلی‌لیتر از سوسپانسیون، به داخل پتری‌دیش افزوده شدند. درنهایت کاغذهای تهیه‌شده به همراه نمونه‌های شاهد خود به‌طور مجزا و هریک با ۵ تکرار به روی محیط کشت قرار گرفت و بعد پتری‌دیش‌ها به داخل انکوباتور منتقل شد. با گذشت زمان نمونه‌ها به‌صورت مداوم مشاهده و کنترل شدند و هاله‌ی عدم رشد اندازه‌گیری شد.

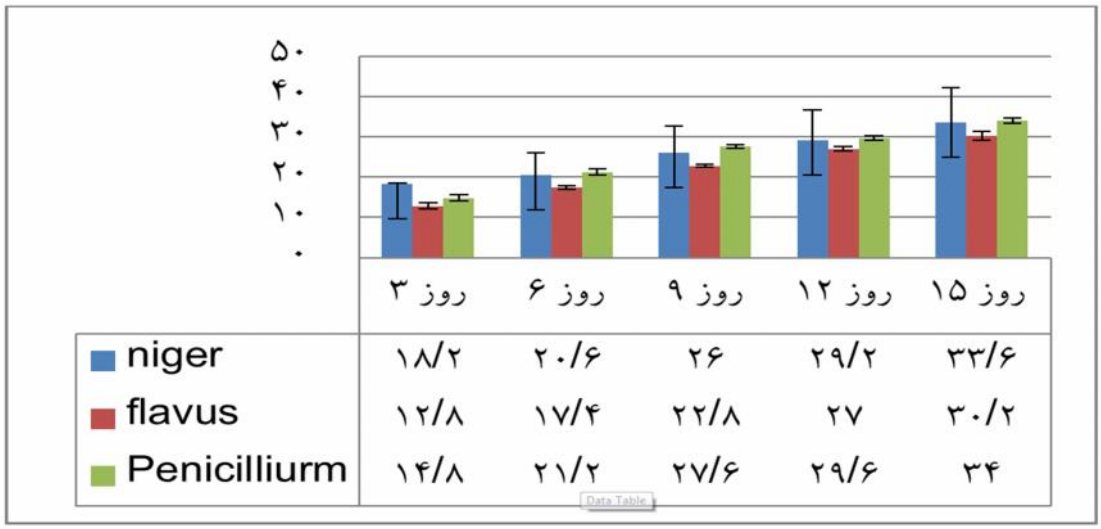
نتایج

تأثیرگذاری تیوفانات متیل بر رشد قارچ

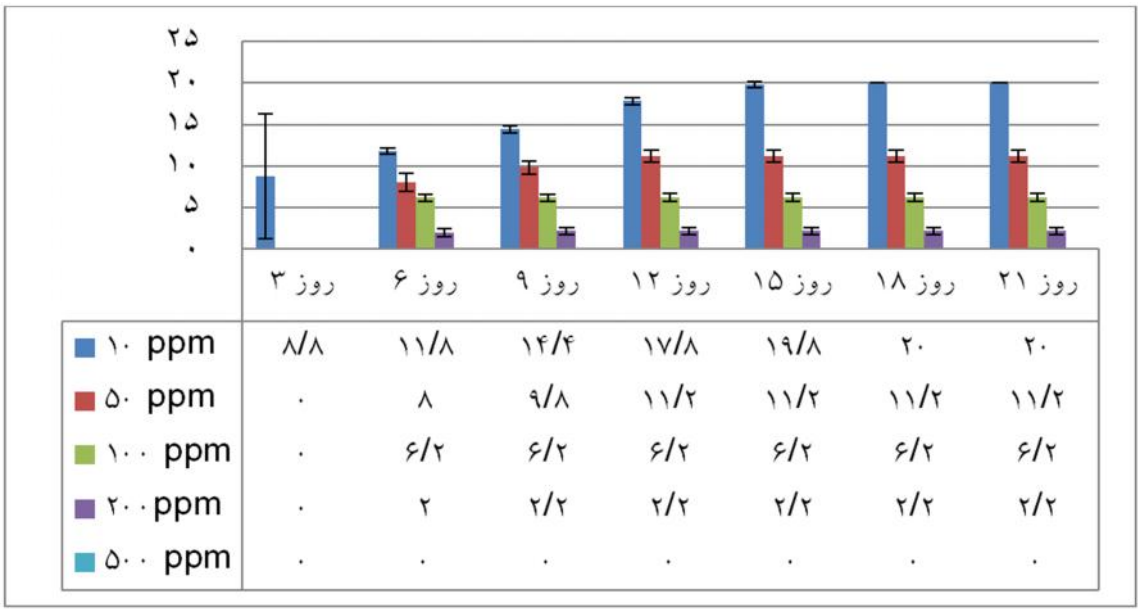
نتایج به‌دست‌آمده از میانگین رشد قارچ‌های آسپرژیلوس نیجر، آسپرژیلوس فلاووس و پنیسیلیوم اس پی، در محیط‌های حاوی ماده‌ی تیوفانات متیل، در غلظت‌های ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ppm در مدت زمان ۲۱ روز و نیز میزان رشدشان در محیط عاری از ماده‌ی تیوفانات متیل نمونه‌ی شاهد در طول ۱۵ روز، در شکل ۱ نشان داده‌شده است. این نمودار، بیانگر میانگین رشد قارچ‌های شاهد در هر سه نوع قارچ موردمطالعه است که داده‌های این نمودار، درواقع رشد نرمال قارچ‌ها را در دمای ۳±۲۷ و رطوبت نسبی ۷۵ درصد برحسب میلی‌متر نشان می‌دهد. بر اساس نتایج، سرعت رشد قارچ آسپرژیلوس فلاووس نسبت به دو نوع دیگر کندتر بوده اما برخلاف *A. flavus*، *A. niger* و *P. sp* نسبتاً سریع‌تر رشد کرده‌اند. ازآنجایی‌که این آزمون در سه تکرار انجام شد، سرعت رشد قارچ‌ها در هر سه آزمون نتیجه‌ی مشابهی داشت. به‌طورکلی، باتوجه به نتایج به‌دست‌آمده، نمونه‌های شاهد بدون هیچ‌گونه عاملی که منجر به توقف رشد باشد، به رشد خود ادامه داده و بعد از گذشت ۱۵ روز پتری‌دیش‌های مورد آزمون در هر سه قارچ به بیشترین حد رشد رسیده است.

میزان رشد قارچ آسپرژیلوس نیجر در محیط‌های آغشته به ماده‌ی قارچ‌کش (شکل ۲)، در غلظت‌های مورد مطالعه نشان داد که قدرت رشد و تکثیر قارچ در اثر تیوفانات متیل کاهش پیداکرده و نسبت به رشد شاهد (شکل۱) در همه‌ی غلظت‌ها، رشد آهسته‌تری دارد. در بازه‌ی زمانی ۰ تا ۱۵ روز، قارچ آسپرژیلوس نیجر قادر به رشد بوده اما این مقدار رشد در مقایسه با رشد شاهد بسیار کندتر اتفاق افتاده است. به‌طوری‌که بعد از گذشت ۱۵ روز، رشد قارچ کاملاً متوقف شده است. با توجه به نتایج، با افزایش غلظت، تأثیر قارچ‌کش تیوفانات متیل بر قارچ آسپرژیلوس نیجر بیشتر شده و به‌میزان بیشتری رشد این قارچ را مهار کرده است.

1- inoculation

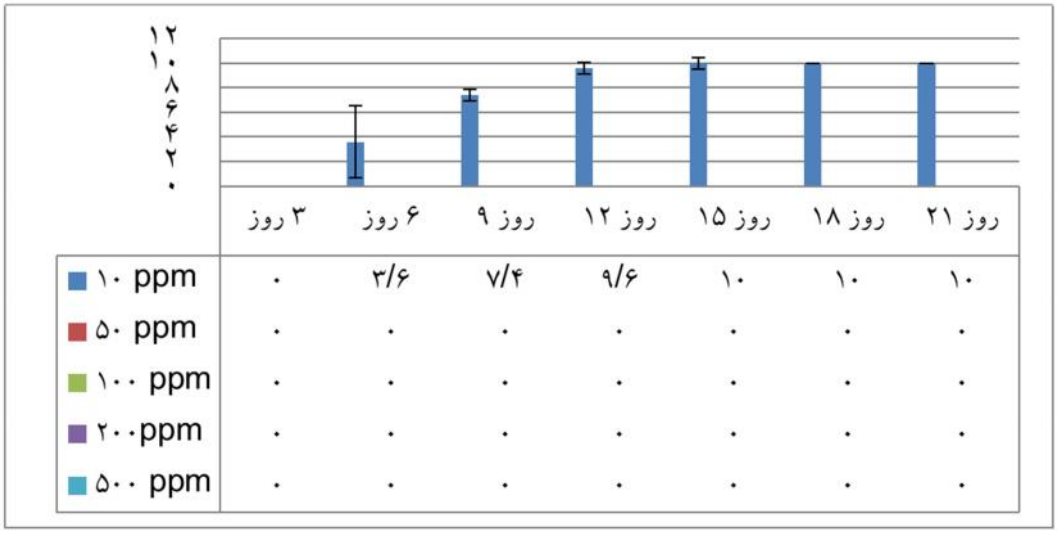


شکل ۱- میانگین رشد قارچ‌های شاهد



شکل ۲- میانگین رشد قارچ آسپرژیلوس نیجر (برحسب میلی‌متر)

نتایج به‌دست‌آمده برای قارچ‌های *A. flavus* و *P. sp* متفاوت‌تر از *A. niger* بود. به‌طوری‌که بعد از گذشت ۲۱ روز از کشت، قارچ *A. flavus* تنها در غلظت ۱۰ppm رشد داشت (شکل ۳). در بقیه‌ی غلظت‌ها هیچ‌گونه رشدی از این قارچ مشاهده نشد. در غلظت ۱۰ppm نیز *A. flavus* در مقایسه با رشد شاهد خود رشد کندتری داشته و بعد از گذشت ۱۵ روز، رشد قارچ کاملاً متوقف شده است. در غلظت‌های ۱۰ppm و بالاتر، قارچ‌کش تیوفانات متیل قادر است تا به‌طور کامل از رشد قارچ *A. flavus* جلوگیری کند.



شکل ۳- میانگین رشد قارچ *A. flavus* (برحسب میلی‌متر)

قارچ‌کش تیوفانات متیل در تمامی غلظت‌های موردبررسی قادر به کنترل کامل *P. sp* بود. با توجه به جدول ۱ بعد از گذشت ۲۱ روز از کشت هیچ‌گونه رشدی در پتری‌دیش‌ها دیده نشد. لازم به ذکر است که نتایج در هر سه تکرار یکسان بوده و در هر سه تکرار رشدی از این قارچ در تمامی غلظت‌ها مشاهده نشد.

جدول ۱- میانگین هاله رشد قارچ *P. sp* (برحسب میلی‌متر)

غلظت	۳ روز	۶ روز	۹ روز	۱۲ روز	۱۵ روز	۱۸ روز	۲۱ روز
10ppm	–	–	–	–	–	–	–
50ppm	–	–	–	–	–	–	–
100ppm	–	–	–	–	–	–	–
200ppm	–	–	–	–	–	–	–
500ppm	–	–	–	–	–	–	–

–: هیچ‌گونه رشدی وجود ندارد.

درصد بازدارندگی تیوفانات متیل

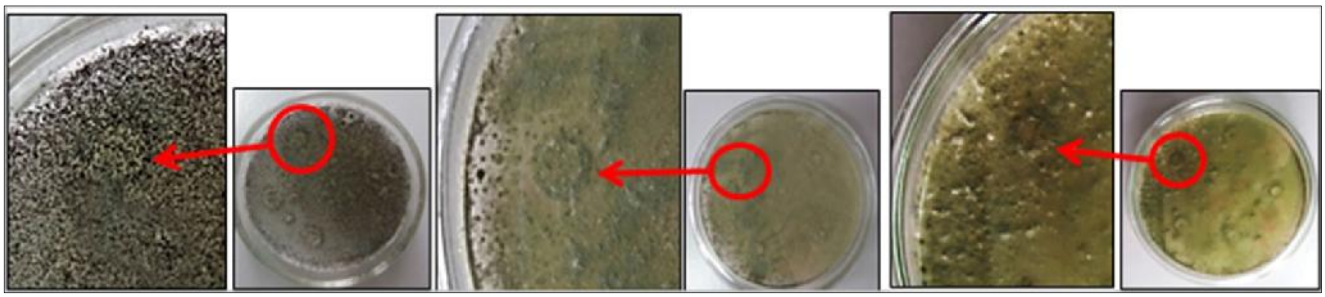
درصد بازدارندگی تیوفانات متیل در قارچ *A. niger*، در غلظت‌های مختلف نشان داد که با افزایش غلظت، درصد بازدارندگی نیز افزایش پیدا می‌کند. به‌طوری‌که در غلظت ۱۰ppm درصد بازدارندگی ۴۱ درصد است اما در ۵۰۰ppm این مقدار به ۱۰۰ درصد رسیده است. در غلظت ۲۰۰ppm نیز ۹۳ درصد بازدارندگی داشته است. درصد بازدارندگی تیوفانات متیل در غلظت ۱۰ppm در *A. flavus* ۶۶ درصد است؛ اما در غلظت‌های بالاتر از ۱۰ppm توانسته رشد قارچ *A. flavus* را به‌طور کامل کنترل کند. در قارچ *P. sp* نیز رشد قارچ به‌طور کامل کنترل‌شده و در تمامی غلظت‌های مورد مطالعه، قارچ‌کش تیوفات متیل، رشد قارچ *P. sp* را متوقف کرده است. با توجه به جدول ۲، تیوفانات متیل در تمامی غلظت‌ها، ۱۰۰ درصد بازدارنده‌ی رشد قارچ *P. sp* است.

جدول ۲- درصد بازدارندگی قارچ‌کش تیوفانات متیل

غلظت	۱۰ppm	۵۰ppm	۱۰۰ppm	۲۰۰ppm	۵۰۰ppm
Aspergillus niger	۴۱	۵۰	۸۱	۹۳	۱۰۰
Aspergillus flavus	۶۶	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
Penicilliurn sp	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

آزمایش بیولوژیکی کاغذ

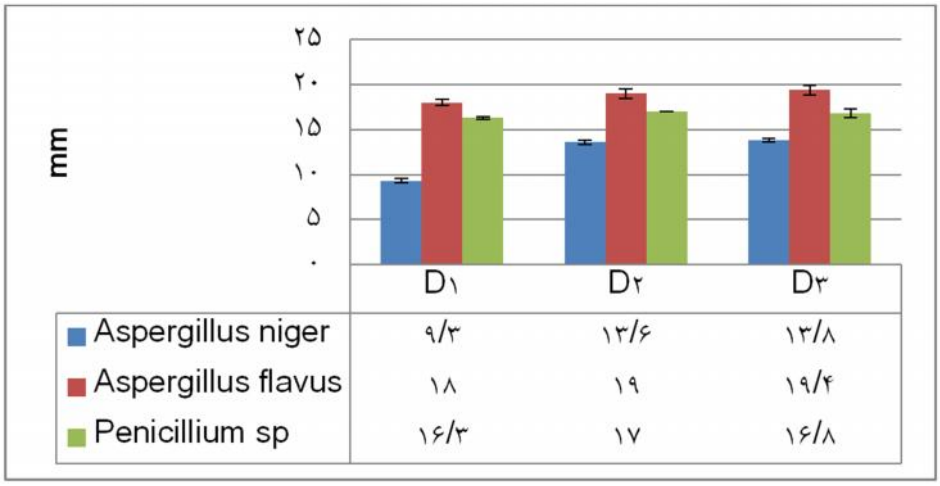
برای اطمینان از اینکه کاغذ مورداستفاده در این پژوهش، عاری از هرگونه ماده‌ی قارچ‌زدا است، آزمایش بیولوژیکی بر روی آن انجام شد. با افزودن تعداد معین 10^5 اسپور در هر میلی‌لیتر از سوسپانسیون از هر سه قارچ، در پلیت‌های حاوی محیط کشت و قرار دادن نمونه‌های کاغذ در داخل پلیت و بعد از قرارگیری پلیت‌ها در دمای ۲۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۵ درصد به مدت ۳۵ روز در داخل انکوباتور، مشاهده شد که قارچ‌ها به کاغذ حمله کرده و سطح کاغذ را پوشانده‌اند. از این‌رو نتیجه این شد که کاغذ مورد استفاده عاری از هرگونه ماده‌ی ضد قارچ است. با توجه به شکل۴، در هر سه نوع قارچ مورد مطالعه، کاغذ-های قرار گرفته در داخل پلیت مورد حمله‌ی قارچ‌ها قرار گرفته‌اند.



شکل ۴- تأثیر قارچ آسپرژیلوس فلاووس (راست)، ***P. sp*** (وسط) و **A. niger** (چپ) بر کاغذ بدون تیمار بعد از ۳۵ روز

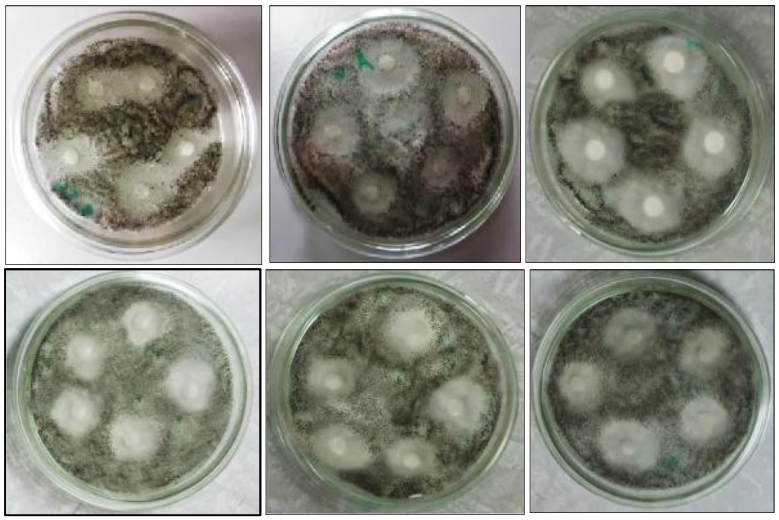
تعیین میزان پایداری قارچ‌کش

منظور از تعیین میزان پایداری، درواقع مشاهده‌ی میزان تأثیر قارچ‌کش تیوفانات متیل بر روی قارچ‌های *A. niger*، *A. flavus* و *P. sp* بعد از پیرسازی تسریعی دما-رطوبت است. هاله‌ی عدم رشد در نمونه‌های شاهد رشد شکل ۵ قابل‌مشاهده است. این نمودار، بعد از گذشت ۲۱ روز از کشت، نتایج را برحسب میلی‌متر نشان می‌دهد. *A. niger* در نمونه‌های D1= ۵۰ppm، D2= ۱۰۰ ppm و D3= ۲۰۰ ppm هاله‌ی عدم رشدی به‌قطر ۹/۳، ۱۳/۶ و ۱۳۸/۸ میلی‌متر دارد (شکل ۶). نمونه‌های D1، D2 و D3 در ظرف‌های حاوی قارچ *A. flavus* به‌ترتیب دارای هاله‌ی عدم رشد به‌قطر ۱۸، ۱۹ و ۱۹/۴ میلی‌متر در اطراف خود دارند (شکل ۷). قارچ *P. sp* نیز در غلظت‌های D1، D2 و D3 دارای هاله‌ی عدم رشد به‌قطر ۱۶/۳، ۱۷ و ۱۶/۸ میلی‌متر است (شکل ۸). این نتایج بیانگر آن است که تأثیرگذاری تیوفانات متیل بر قارچ *A. flavus* و *P. sp* بیشتر از *A. niger* است. این نتیجه قبلاً در محیط‌های آغشته به ماده‌ی تیوفانات متیل نیز به‌دست‌آمده بود. از این‌رو نتایج به‌دست‌آمده از هاله‌ی عدم رشد در این آزمون با نتایج حاصل‌شده از هاله‌ی رشد در آزمون قبلی مشابه هستند و این امر بیانگر تصدیق نتایج به‌دست‌آمده است.

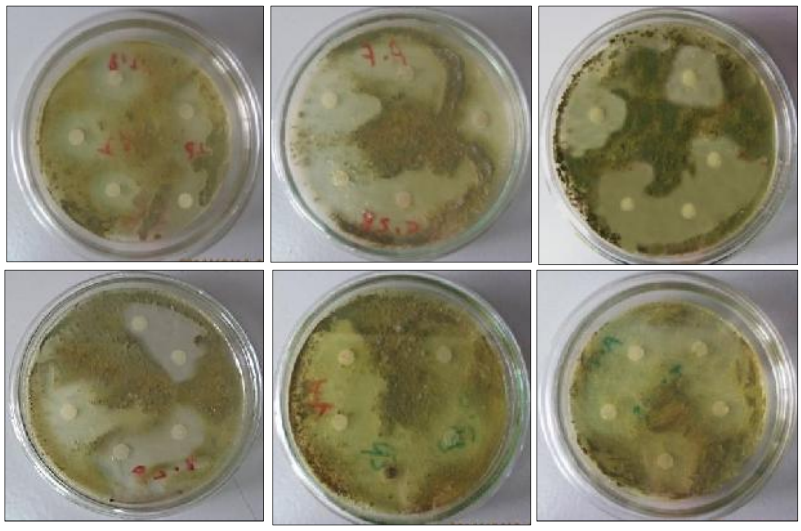


شکل ۵- هاله عدم رشد در نمونه‌های شاهد تیمار (بدون پیرسازی) بعد از ۲۱ روز

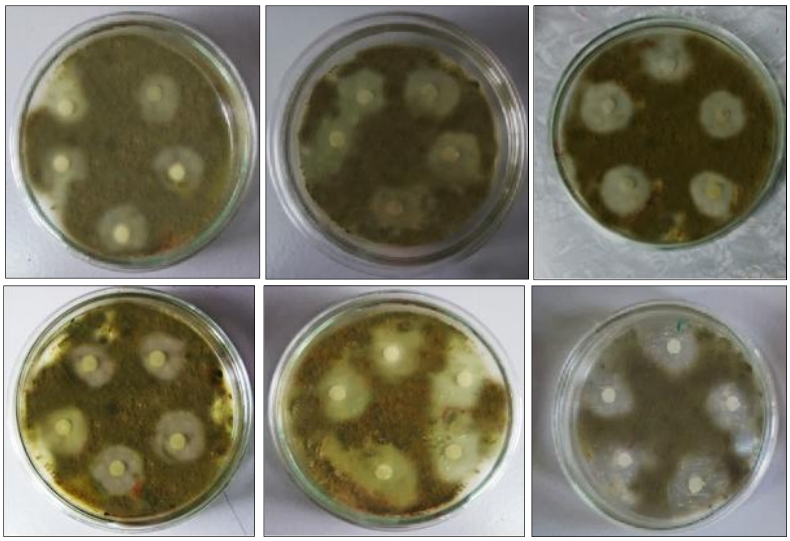
مقایسه‌ی نتایج نمونه‌های تیمار شده با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ppm (D1، D2 و D3) از ماده‌ی تیوفانات متیل قبل از قرارگیری در شرایط پیرسازی تسریعی دما-رطوبت، با نتایج نمونه‌های TA-12-D1، TA-12-D2 و TA-12-D3 که در شرایط پیرسازی قرار گرفته‌اند، در شکل ۹، نتیجه - می‌شود که نمونه‌های تیمار شده، بعد از پیرسازی همچنان قدرت تأثیرگذاری بر هر سه قارچ مورد بررسی را دارند. به‌طوری‌که بعد از پیرسازی میزان تأثیرگذاری تیوفانات متیل کاهش یا افزایش پیدا نکرد (شکل ۵ تا ۸). البته هاله‌ی عدم رشد در قارچ *A. niger* نسبت به قارچ‌های *A. flavus* و *P. sp* در کاغذهای تیمار شده، بعد از پیرسازی کمتر است (شکل ۹). هاله‌ی عدم رشد نمونه‌های تیمار بدون پیرسازی (D1، D2 و D3) نیز در قارچ *A. niger* نسبت دو قارچ دیگر کمتر است (شکل ۵).



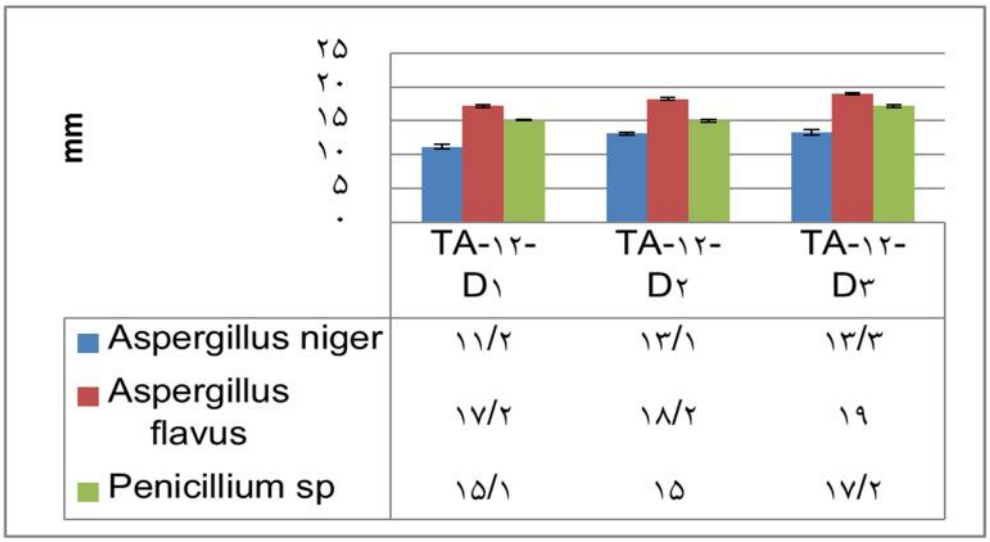
شکل ۶- هاله عدم رشد قارچ A. niger: بالا (کاغذ تیمار شده)، پایین (کاغذ تیمارشده پس از پیرسازی تسریعی) بعد از ۲۱ روز؛ از سمت چپ به راست: ۵۰ppm، ۱۰۰ppm، ۲۰۰ppm



شکل ۷– هاله عدم رشد قارچ *A. flavus*: بالا (کاغذ تیمار شده)، پایین (کاغذ تیمارشده پس از پیرسازی تسریعی) بعد از ۲۱ روز؛ از سمت چپ به راست: ۵۰ppm، ۱۰۰ppm، ۲۰۰ppm



شکل ۸– هاله عدم رشد قارچ P. sp: بالا (کاغذ تیمار شده)، پایین (کاغذ تیمارشده پس از پیرسازی تسریعی) بعد از ۲۱ روز؛ از سمت چپ به راست: ۵۰ppm، ۱۰۰ppm، ۲۰۰ppm



شکل ۹- هاله عدم رشد قارچ‌های ***A. niger***، ***A. flavus*** و ***P. sp*** (تیمار+پیرسازی) بعد از ۲۱ روز

بحث

یافته‌ها نشان داد که قدرت تأثیرگذاری تیوفانات متیل بر رشد قارچ‌های *A. niger*، *A. flavus* و *P. sp* قابل‌ملاحظه است. ارزیابی میزان رشد قارچ‌ها در محیط‌های حاوی قارچ‌کش، بیانگر میزان قدرت این قارچ‌کش در مهار قارچ است. درصد بازدارندگی تیوفانات متیل از رشد هر سه قارچ موردنظر، میزان تأثیرگذاری ماده را نشان می‌دهد. در غلظت‌های پایین، تیوفانات متیل قادر به کنترل کامل قارچ‌های *P. sp* و *A. flavus* است. اما درصد بازدارندگی آن در قارچ *A. niger* نسبت به دو قارچ دیگر کمتر است. قدرت تأثیرگذاری تیوفانات متیل بعد از طی فرایند پیرسازی تسریعی و درواقع با گذشت زمان، برجای‌مانده و توانایی مهار و کنترل قارچ را همچنان داراست. هاله‌ی عدم رشد ایجادشده در اطراف کاغذهای حاوی تیوفانات متیل، نشان از توانایی قارچ‌کش در پیشگیری از حمله‌ی قارچ به کاغذ دارد.

یکی از فاکتورهای خوب یک ماده‌ی قارچ‌کش در مرمت آثار کاغذی، توانایی حفاظت کاغذ در مدت زمان بیشتری است. قارچ‌کش تیوفانات متیل بعد از اعمال پیرسازی تسریعی بر کاغذهای حاوی تیوفانات متیل، پایدار بوده و تأثیر قارچ‌کشی آن پس از طی شرایط پیرسازی باقی‌مانده است. نکته‌ی مهم در انتخاب یک قارچ‌کش در مرمت و حفاظت آثار کاغذی، قدرت تأثیرگذاری آن ماده در غلظت‌های پایین است. نتایج بیانگر تأثیر تیوفانات متیل در غلظت‌های پایین بر قارچ‌های مخرب کاغذ است. قارچ‌کش تیوفانات متیل در غلظت ۲۰۰ppm توانایی کنترل کامل هر سه قارچ *A. niger*، *A. flavus* و *P. sp* را داشته و در غلظت‌های پایین‌تر از آن نیز مانعی برای رشد قارچ است. VanderKer در سال ۱۹۷۳ به تأثیرگذاری تیوفانات متیل بر قارچ در غلظت‌های پایین اشاره کرده‌است. با توجه به این مورد، این امر تأکیدی بر نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش می‌تواند باشد. بر اساس نتایج مطالعه‌ی قارچ‌کش‌های آزولی در زمینه حفاظت آثار کاغذی در سال ۱۹۹۹ توسط Rakotonirainy و همکاران، دریافتند که قارچ‌کش تیابندازول در قارچ‌زدایی بسیار خوب عمل کرده است و این نتیجه‌ی به‌دست‌آمده بیانگر قدرت قارچ‌کشی مواد آزولی است. از طرفی دیگر در سال ۱۹۹۷ Fabbri و همکاران، مطالعه‌ی مشابهی را انجام داده و تأثیرگذاری قارچ‌کش‌های گروه آزولی را با مواد دیگر بررسی کرده‌اند. نتایج مطالعه‌ی آنان نیز حکایت از قدرت برتری مواد گروه آزولی داشته و مواد mıconazole (میکونازول) و econazole (اکونازول) نیز بیشترین تأثیر بازدارندگی را

داشته‌اند.

موادی که در حفاظت و مرمت آثار تاریخی به‌ویژه در مبحث کاغذهای تاریخی برای قارچ‌زدایی در حال حاضر مورد استفاده هستند، یک سری معایب و آثار سوء از آنها در طی چندین سال مشاهده‌شده است. اکسید اتیلن با اینکه توانایی بهتری در قارچ‌زدایی دارد ولی کار با آن نیازمند مخازن و تجهیزات خاص و کاربران متخصص دارد، به همین دلیل تمامی کتابخانه‌ها و موزه‌ها امکان استفاده از آن را ندارند؛ بنابراین سهولت به‌کارگیری ماده‌ی قارچ‌کش نیز جزو ویژگی‌های مواد ضدعفونی‌کننده در مرمت و حفاظت کاغذ است. با توجه به این مسئله، استفاده از موادی که کاربرد آسانی داشته باشد در اولویت قرار خواهد گرفت. مواد دیگر همانند تیمول و فرمالدئید نیز تأثیرات مخربی در کاغذ داشته‌اند (Sequeira *et al.*, 2012; Hall, 1989) و کاربرد موادی که آثار با ارزش تاریخی را تحت تأثیر قرار دهد به هیچ عنوان جایز نیست. پلی هگزامتیلن گوانیدین که در ضدعفونی کاغذ کاربرد دارد توانایی کنترل برخی قارچ‌ها را در غلظت‌های پایین نداشته و نیاز به غلظت بیشتری از این ماده وجود دارد (Ghahri, 2006). این در حالی است که مواد مناسب در ضدعفونی آثار کاغذی باید در غلظت‌های پایین قدرت تأثیرگذاری داشته باشد. البته تیوفانات متیل بر اساس نتایج، قدرت کنترل قارچ‌های مطالعه شده را در غلظت‌های پایین دارد.

منابع مورد استفاده

-Adelantado, C., Bello, C., Borrell, A., & Calvo, M.A., 2005. Evaluation of the antifungal activity of products used for disinfecting documents on paper in archives. Restaurator, 26(4), 235-238.

-Arai, H., 2000. Foxing caused by fungi: twenty-five years of study. International Biodeterioration & Biodegradation, 46(3), 181-188.

-Ariyafar, A.A., Samanian, K., & Afsharpour, M., 2016. Carboxymethyl cellulose (CMC) optimization against microorganisms agents by using titanium dioxide nanoparticles to enhance the quality of conservation of this polymer in the restoration of paper documents. The Journal of Ganjineh-ye Asnad.No97. 116-140

-Bacilkova, B., 2006. Study on the Effect of Butanol Vapours and other Alcohols on Fungi. Restaurator, 27(3), 186-199.

-Fabbri, A. A., Ricelli, A., Brasini, S., & Fanelli, C., 1997. Effect of different antifungals on the control of paper biodeterioration caused by fungi. *International biodeterioration & biodegradation*, *39*(1), 61-65.

-Gallo, F., 1992. The role of biological factors in the erosion of paper . Translated by: Abbas Ali Abedi Ostad. Mashhad. Astan Ghods Razavi.

-Garg, K. L., 1995. Use of homoeopathic drugs as antifungal agent for the protection of books and paper materials. In Biodeterioration of cultural property 3: proceedings of the 3rd international conference on biodeterioration of cultural property, July 4-7, 1995, Bangkok, Thailand (pp. 104-115). Office of Archaeology and National Museums. Conservation Science Division.

-Ghahri, M., 2006, A review of fungal elements decaying paper, its pathology and prevention, restoration and research,Vol. 1, No. 1, 29-31.

-Ghahri, M., 2006, A review of fungal elements decaying paper, its pathology and prevention, restoration and research,Vol. 1, No. 1, 29-31

-Gisi, U., Kuck, K. H., Russell, P. E., & Lyr, H., 2005. Modern fungicides and antifungal compounds IV. Alton, Hampshire: BCPC.

-Gutarowska, B., Skora, J., Zduniak, K., & Rembisz, D., 2012. Analysis of the sensitivity of microorganisms contaminating museums and archives to silver nanoparticles. International Biodeterioration & Biodegradation, 68, 7-17.

-Hadadi, M., Afsharpour, M., & Abed Esfahani, A., 2012. Titanium Dioxide Nanoparticles: Study of Protective Effects on the Display and Storage Boxes. The Journal of maremate asar & bafthaye tarikhi-farhangi, Vol 2, No 3, 38-29

-Hirschfeld, T., Ellner, F., Buschhaus, H., Goßmann, M., & Büttner, C., 2010. Investigations in the mode of action of thiophanate-methyl in Fusarium spp. Vom Lebensmittel zum Genussmittel–was essen wir morgen, 262-264.

-Holik, H. (Ed)., 2006. Handbook of paper and board. John Wiley & Sons.

-Imani, S., Afsharpour, M., & Abed Esfahani, A. (2010). Application of nano zinc oxide structures to conservation of paper artwork. M.A.Thesis, Art University of Isfahan, Faculty of conservation and restoration, Department of conservation and restoration of historic and cultural.

-ISIRI 18443, 2014. Pesticides- Fungicides- Thiophanate-Methyl- Specifications, Institute of Standards and Industrial Research of Iran.

-ISIRI 3194, 2006. Food microbiology –Heat resistant molds -Detection method of spore, Institute of

-Nittérus, M., 2000. Fungi in archives and libraries. Restaurator, 21(1), 25-40.
-Rakotonirainy, M. S., Fohrer, F., & Flieder, F., 1999. Research on fungicides for aerial disinfection by thermal fogging in libraries and archives. International biodeterioration & biodegradation, 44(2), 133-139.
-Reis-Menezes, A.A., Gambale, W., Giudice, M.C., & Shirakawa, M.A., 2011. Accelerated testing of mold growth on traditional and recycled book paper. International Biodeterioration & Biodegradation, 65(3), 423-428.
-Roman, C., Diaconescu, R., Scripcariu, L., & Grigoriu, A., 2013. Biocides used in preservation, restoration and conservation of the paper. European Journal of Science and Theology, 9(4), 263-271.
-Sequeira, S., Cabrita, E.J., & Macedo, M.F., 2012. Antifungals on paper conservation: An overview. International Biodeterioration & Biodegradation, 74, 67-86.
-Van der Kerk, G.J.M., 1973. Chemical and biochemical aspects of systemic fungicides. EPPO Bulletin, 2(10), 5-21.
-Velikova, T., Trepova, E., & Rozen, T., 2011. The use of biocides for the protection of library documents: before and now. Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances A. Méndez-Vilas (Ed.), FORMATEX, 152-159
-Weaver-Meyers, P.L., Stolt, W.A., & Kowaleski, B., 1998. Controlling mold on library materials with chlorine dioxide: an eight-year case study. The Journal of academic librarianship, 24(6), 455-458.
-Zyska, B., 1997. Fungi isolated from library materials: a review of the literature. *International Biodeterioration & Biodegradation*, *40*(1), 43-51.
Standards and Industrial Research of Iran.
-ISIRI 4706, 1377. paper and board - accelerated ageing Part 3: moist heatn treatment at 80°c and 65% relative humidity, Institute of Standards and Industrial Research of Iran.
-ISIRI 9488, 2007. Textile fabrics Evaluation of antibacterial activity by agar diffusion method, Institute of Standards and Industrial Research of Iran.
-ISIRI 9899, 2016. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations, Institute of Standards and Industrial Research of Iran.
-Krieger, R., 2010. Hayes' handbook of pesticide toxicology (Vol. 1). Academic press.
-Manente, S., Micheluz, A., Ganzerla, R., Ravagnan, G., & Gambaro, A., 2012. Chemical and biological characterization of paper: A case study using a proposed methodological approach. International Biodeterioration & Biodegradation, 74, 99-108.
-McCleary, J.M., 1987. Vacuum Freeze-Drying, a Method Used To Salvage Water-Damaged Archival and Library Materials: A RAMP Study with Guidelines. Translated By: Fatemeh Ghodrati, Hamideh Hojati, Records deterioration factors preservation and restoration methods, National Library and Archives of I.R of Iran.
-Mesquita, N., Portugal, A., Videira, S., Rodríguez-Echeverría, S., Bandeira, A. M. L., Santos, M. J. A., & Freitas, H., 2009. Fungal diversity in ancient documents. A case study on the Archive of the University of Coimbra. *International Biodeterioration & Biodegradation*, *63*(5), 626-629.
-Nauha, E., Saxell, H., Nissinen, M., Kolehmainen, E., Schafer, A., & Schlecker, R., 2009. Polymorphism and versatile solvate formation of thiophanate-methyl. CrystEngComm, 11(11), 2536-2547.

The assessment of antifungal effect of thiophanate-methyl on paper deteriorating fungi and its application in conservation paper works

M. Abdolalizadeh[1*], M. Azadi Boyaghchi[2], M. Mohammadi Achachluei[3] and M. Mohammadypour[4]

1*-Corresponding author, M.Sc., Conservation of Historical and Cultural Properties, Faculty of conservation, Art University of Isfahan, Tabriz, Iran, Email: mahboob9067@yahoo.com
2-Assistant Professor, Conservation of Historical and Cultural Properties, Faculty of conservation, Art University of Isfahan, Isfahan, Iran
3-Assistant Professor, Conservation of Historical and Cultural Properties, Faculty of conservation, Art University of Isfahan, Isfahan, Iran
4-Research Faculty Member, Researches of Entomology and Phytopathology, East Azarbaijan Research Center for Agriculture and Natural Resources, Tabriz, Iran

Received: March, 2017 Accepted: Aug., 2017

Abstract

Paper works are severely attacked by biological agents such as fungi, bacteria and insects due to its organic nature and in archives, most of the biological destruction of paper is caused by fungi. The importance of paper works conservation has led to applying different methods to fungus removal. The chemical disinfection is the most common disinfection methods. In this research, the application of Thiophanate methyl in elimination of paper destructive fungi has been studied. Laboratory studies to evaluate the effects of Thiophanate methyl on paper and fungus included accelerated ageing, the evaluation of effectiveness of antifungal Thiophanate methyl on fungi such as Aspergillusniger, Aspergillusflavus and Penicilliurnsp and determination of antifungal stability after accelerated ageing. Examination shows that Thiophanate methyl has successfully prevented spread of fungus upon dosages of 10, 50, 100,200 and 500 ppm. Aspergillus flavus fungus had a slight growth at 10 ppm, but no growth was observed in other dosages. Aspergillusniger fungus had no growth capacity in dosages more than 100 ppm. According to the results, treated papers are still able to control fungus growth after accelerated ageing condition. In general, the results obtained by fungus growth halo and non-growth halo indicate that all fungi are controllable in dosage of 200 ppm.

Keywords: Paper, thiophanate methyl, fungus cultivation, ageing condition, conservation and restoration.