

# Acarianos infestadores de culturas de cogumelos

## Biologia—Classificação—Métodos de combate

por

A. E. Arêa Leão, Milton Thiago de Mello e Vicente Mayor

As referências a acarianos infestando culturas de cogumelos, não são raras na literatura micológica.

MÉGNIN (1), em 1873, estudando os acarianos da família Sarcoptidae que infestavam culturas de cogumelos comestíveis, descreveu nova espécie, o *Tyroglyphus rostro-serratus*, frisando a gravidade de tais infestações pelo fato de poderem os acarianos destruir uma cultura em 48 horas. O mesmo autor em uma série de trabalhos posteriores, tratando do "habitat" dos acarianos, assunto em que era autoridade incontestável, frequentemente citava os cogumelos como alimentação habitual de vários acarianos.

Mais tarde COSTANTIN (2), em 1893, estuda os insetos e acarianos prejudiciais às culturas de cogumelos, fazendo referências especiais a um acariano, o *Gamasus fungorum*. Um ano mais tarde o mesmo autor (3) realça a importância do *Gamasus fungorum* como destruidor de cogumelos cultivados, descrevendo um novo acariano, determinado por MÉGNIN como sendo o *Tyroglyphus mycophagus*, causador também de grandes destruições dos tais cogumelos.

Em 1895, MÉGNIN (4) na sua obra "Les parasites articulés", ao tratar da tribu dos *Sarcoptides détriticoles* aponta os cogumelos como constituindo a alimentação de muitos acarianos, destacando como principais o *Tyroglyphus mycophagus* e o *Serrator amphibie* (= *Tyroglyphus rostro-serratus*).

Em 1897, BERLESE (5) ao estudar a ordem *Cryptostigmata* no seu livro "Acari Myriopoda et Scorpiones hucusque in Italia reperta", referindo-se ao "habitat" dos representantes dessa ordem, cita os seguintes acarianos como vivendo "super fungos, tuberos, (rarius carnes) putrescentes": *Rhizoglyphus echinopus*, *Histiostoma rostroserratum*, *Histiostoma muscarum*, *Tyroglyphus Kramerii*, *Tyroglyphus mycophagus* e *Carpoglyphus passularum*.

BANKS (6), em 1915, salienta a importância econômica dos acarianos da família *Tyroglyphidae*, pois atacam e destroem os cogumelos, principalmente

---

\* Recebido para publicação a 12 de Maio de 1945.

o *Tyroglyphus lintneri* e o *Tyroglyphus longior*, que habitualmente infestam os cogumelos comestíveis, acrescentando ser muito difícil exterminar a praga.

JEWSON E TATTERSFIELD (7), em 1922, em importantíssimo trabalho sobre o assunto, afirmam ter encontrado três espécies de acarídeos infestando culturas de cogumelos: *Aleurobius farinae* DE GEER, *Tyroglyphus longior* GERVAIS e *Glyciphagus cadaverum* SCHRANK. Esses autores chamam a atenção para a importância de tais acarídeos e estudam o modo de combatê-los por meio de fumigações, aconselhando o emprego da piridina para tal fim.

BERLESE (8), em 1925, no seu livro "Gli insetti", volume segundo, diz que os acarídeos do gênero *Rhizoglyphus* são encontrados em grande número de materiais, inclusive cogumelos.

THOM e CHURCH (9), em 1926, frisam a importância dos ácaros como fatores de contaminação de culturas de cogumelos. Eles passam facilmente de placa em placa e de tubo em tubo, levando consigo bactérias e esporos que contaminam outras culturas e, o que é mais grave, são capazes de atravessar rolhas de algodão parafinadas.

PUNTONI (10), em 1931, publica um trabalho sobre infestações de culturas de cogumelos por acarídeos do gênero *Tarsonemus*, provavelmente uma variedade da espécie *Tarsonemus floricolus* e declara que "l'invasion de cultures par des acariens détriticoles a souvent été signalée".

BARNES (11), em 1933, e PAGE e SHAFIK (12), em 1936, também se referem aos acarídeos que infestam culturas de cogumelos e recomendam processos para impedir sua penetração nas mesmas.

PEASE (13) em 1937, depois de realçar a grande importância dos acarídeos como agentes de contaminações de culturas de bactérias e cogumelos, diz em rodapé: "Most of our experimental work has been done on *Tyroglyphus lintneri*, which proved to be most persistent in fungus cultures. *Tyroglyphus* and *Tarsonema* are the two genera which probably do much of the laboratory damage".

NEGRONI (14), em 1938, diz: "Los cultivos de los hongos están expuestos a ser invadidos por ácaros del género *Tyroglyphus* y otros, que penetram fácilmente a través del tapón de algodón".

SMITH (15), em 1938, referindo-se aos acarídeos que infestam culturas de cogumelos, resume de modo preciso a ação desses artrópodos: "The evil the mites do is twofold. In the first place they eat the cultures and, if left

unchecked, may even destroy them entirely. In addition, they crawl from one culture to another, with spores adhering to their hairy bodies, spreading infection "wherever they go". Mais tarde (1942) o mesmo autor (16) responsabiliza os acarianos da família *Tyroglyphidae* como os infestadores habituais de culturas, além de outros, aos quais não faz maiores referências.

HANSEN e SNYDER (17), em 1939, EMMONS (18), em 1940 e CROWELL (19), em 1941, também citam os acarianos, responsabilizando-os como agentes prejudiciais às culturas de cogumelos e aconselham métodos para combatê-los.

Não são os acarianos somente, os únicos responsáveis pelas contaminações de culturas de cogumelos; outros artrópodos são capazes de penetrar em placas, como formigas, baratas, *Psocidae*, larvas de insetos diversos, etc., mesmo que as placas sejam convenientemente mantidas e habitualmente cobertas. Estas infestações, entretanto, são grosseiras, facilmente descobertas. Últimamente, com as obras efetuadas no laboratório, tais infestações foram observadas em abundância, em tubos e placas de culturas e obrigando a interrupção dos trabalhos. Nas condições normais de trabalho, nas salas fechadas e limpas, raramente as observamos.



A micoteca do Instituto Oswaldo Cruz sofre, de vez em quando, infestações de acarianos, exigindo uma vigilância constante para impedir a contaminação e conseqüente perda de amostras. Para isso mantemos a coleção em armários fechados e em temperatura constante de 25.°C., com umidade regulada e ar filtrado. Os tubos de cultura são mantidos verticalmente, em suportes apropriados e fechados com rolhas de algodão bruto.

Como medidas preventivas vínhamos usando vários métodos, muitos deles inconvenientes e mesmo prejudiciais, pois baseados no uso de substâncias tóxicas, destruíam não só o ácaro como o próprio cogumelo. Assim nos fixamos no seguinte método: flitagem repetida dos armários, pois o flite não prejudica o crescimento do cogumelo; flambagem da rolha de algodão, introduzindo-a para o interior do tubo e em seguida colocando algumas gotas de querozene com 5% de óleo de vaselina, entre o tubo e a rolha de algodão. O querozene, como o xilol e o toluol, mata rapidamente o acariano adulto ou os seus ovos e larvas, quando em contacto com os mesmos, sem exercer nenhuma ação prejudicial ao crescimento do cogumelo. A junção de 5% de óleo de vaselina estéril ao querozene tinha por finalidade retardar mais a evaporação do querozene. Com êste processo vínhamos mantendo satis-



fatòriamente a micoteca, mas sempre uma vigilância constante era necessária, para exterminar com rapidez, qualquer foco de infestação que aparecesse.

Recentemente, entretanto, por circunstâncias especiais, agravadas com obras no laboratório, a infestação pelos acarianos assumiu proporções alarmantes, obrigando-nos a estudar com mais detalhes a sua biologia e experimentar métodos mais enérgicos para combatê-los.

Não é fácil tarefa exterminar os acarianos de uma grande micoteca e os meios aconselhados para matá-los, muitas vezes destroem também o próprio cogumelo. O agente ideal seria aquêle que matasse o acariano, seus ovos e larvas em prazo curto, sem prejudicar o crescimento do cogumelo, nem ter ação tóxica sôbre o homem; ser volátil para que o seu emprêgo se torne prático e, se possível, possuir ainda uma ação residual. Estas condições ideais, nem sempre é possível encontrar, daí a dificuldade de se resolver com acerto a exterminação dos acarianos.

### ASPECTO DAS CULTURAS INFESTADAS

As culturas infestadas apresentam aspecto mais ou menos característico que permite suspeitar da presença de acarianos.

O que primeiro chama a atenção, mesmo macroscopicamente, é a contaminação da cultura. Quando se faz a repicagem de uma cultura pura, em boas condições de técnica e a sub-cultura aparece contaminada no fim de um tempo variável, isto já pode orientar a suspeita de infestação.

Quando a sementeira é feita a partir de material contaminado, como escamas de pele, pús, etc., a suspeita de infestação é menor porque as contaminações são frequentes nestes casos.

Se a infestação é grande, o que acontece principalmente quando a presença dos acarianos não é percebida a tempo, o aspecto macroscópico é bastante característico. Além da cultura se apresentar bastante contaminada, nota-se que com o tempo as hifas vão ficando fragmentadas e espalhadas em várias direções, notando-se também o aparecimento de colônias em pontos os mais diversos do tubo ou da placa, mesmo sôbre o vidro. Observando-se com uma lente ou ao microscópio, notam-se conídios dos cogumelos soltos e distribuídos anárquicamente sôbre a superfície do meio. Ao lado disso, se a infestação for produzida pelos acarianos da família *Tyroglyphidae*, que são relativamente grandes, êstes podem ser percebidos a olho nú.

Um outro indício de infestação acariana, também de grande importância, é dado pelo exame, mesmo a olho nú, da superfície do meio de cultura

que ainda não está coberta pelas colônias; vê-se que essa superfície apresenta-se riscada, com linhas paralelas ou não, produzidas pelas patas dos acarianos ao se deslocarem sobre o meio. Com uma boa incidência de luz, tais linhas tornam-se perfeitamente visíveis, mesmo quando produzidas pelos acarianos menores ou pelas larvas dos maiores. Ao microscópio, com pequeno aumento, notam-se essas estrias da superfície do meio, com maior nitidez.

### NATUREZA DA INFESTAÇÃO

A infestação de culturas da micoteca do Instituto Oswaldo Cruz foi produzida por acarianos pertencentes às famílias *Tarsonemidae* e *Tyroglyphidae*.

Para identificação até gênero servimo-nos das indicações e chaves de classificação de BANKS (1915) e EWING (20) (1929). Não pode ser consultada a monografia de ZACHVATKIN (21) sobre os acarianos da família *Tyroglyphidae*.

Lidamos com duas espécies pertencentes aos gêneros *Tyroglyphus* e *Tarsonemus*, provavelmente *Tyroglyphus longior* e *Tarsonemus floricolus*, sendo a seguinte a posição sistemática até gênero :

#### I — Classe *Arachnida*

##### Ordem *Acarina*

##### Sub-ordem *Astigmata*

##### Super-família *Tyroglyphoidea*

##### Família *Tyroglyphidae*

##### Gênero *Tyroglyphus*

#### II — Classe *Arachnida*

##### Ordem *Acarina*

##### Sub-ordem *Heterostigmata*

##### Super-família *Tarsonemoidea*

##### Família *Tarsonemidae*

##### Sub-família *Tarsoneminae*

##### Gênero *Tarsonemus*

## PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS DOS ACARIANOS

Para o estudo morfológico mais ou menos detalhado dos acarianos, tanto na sua forma adulta como nas fases de ovo e formas jovens, fizemos a montagem dos mesmos entre lâmina e lamínula, diretamente em líquido de BERLESE. Os desenhos e as fotografias foram feitos de preparações montadas nessas condições (exceto a fotografia da Est. 1 fig. 2); as dimensões citadas também se referem às apresentadas pelos acarianos em tais preparações.

I — *Tyroglyphus* sp.

*Morfologia* — Os acarianos do gênero *Tyroglyphus* com os quais lidamos são grandes, perfeitamente visíveis quando adultos, apresentando dimorfismo sexual relativamente pequeno, conforme se poderá vêr pela Est. 1 figura 1, dum casal adulto apanhado em cópula. Tanto os machos como as fêmeas têm o corpo mais ou menos ovóide, de coloração branco-amarelada ou aproximadamente côr de pérola quando examinados com luz direta, deslocando-se rapidamente sôbre a superfície do meio e mais lentamente sôbre as hifas.

O corpo é revestido de pêlos, bem como as patas; os pêlos do corpo não são lisos e sim apresentam pequenas saliências como se fôssem espinhos, o que só é possível vêr em exemplares não montados e com grande aumento; os pêlos que saem das patas raramente apresentam êsses espinhos. Os pêlos são longos e distribuídos de modo muito regular no corpo do acariano, sendo que no adulto dão um aspecto bastante característico quando se examina o *Tyroglyphus* vivo, com iluminação direta.

Antes de atingir o estado adulto o acariano passa pelas fases de ovo, larva do primeiro estágio, larva do segundo estágio ou jovem ninfa, ninfa propriamente dita e larva hipopial, sendo que esta última não conseguimos observar durante nossos trabalhos e é justamente uma das mais importantes fases da evolução dos *Tyroglyphus* pela propriedade que tem de se fixar aos insetos, podendo, assim, ser transportada a distância e para vários lugares, tornando ineficazes alguns métodos de profilaxia da infestação.

Os ovos são eliminados pelas fêmeas já em mórula mas o embrião propriamente dito começa a se formar 24 horas depois. São elíticos, côr de pérola (nacarados), com dupla membrana, apresentando na sua superfície desenhos irregulares que dão a impressão de um pontilhado, quando vistos com pequeno aumento. Examinados com iluminação direta os desenhos da casca tornam-se muito visíveis e nota-se que os ovos têm côr nacarada. Cada



ovo mede aproximadamente 115 micra de comprimento por 73 micra de largura. No fim de 48 horas à temperatura ambiente nota-se o embrião no interior do ovo, perfeitamente formado e poucas horas depois, no máximo 72 horas, a larva sai do ovo; êste se fende longitudinalmente em duas valvas; às vezes a abertura não é perfeitamente regular mas o maior comprimento da fenda é sempre longitudinal.

A *larva* recém nascida é hexápoda, com abertura anal na extremidade posterior do corpo; os pêlos são muitos mais curtos, tendo alongados sòmente dois, na extremidade posterior do corpo. Apresenta de importante, na morfologia, um órgão em forma de bastão, entre a base do primeiro e segundo pares de patas, na face ventral e orientado para baixo; quando a larva já está prestes a sair do ovo, êste órgão fica em posição tal, dirigido para os lados do corpo do acariano, que sugere ser a sua função a de abrir o ovo no momento da eclosão. Essa primeira larva mede, ao nascer, em média 170 micra de comprimento por 75 micra de largura; depois do segundo dia de vida a larva fica um pouco mais robusta e desenvolvida. (Est. 1, fig. 2, A.).

A *jovem* ninfa é octópoda, bem maior que a larva, porém sem as aberturas genitais desenvolvidas. De um modo geral sua morfologia é idêntica à do adulto, diferenciando-se pelo não desenvolvimento dos órgãos sexuais e pelo tamanho, que é bem menor. (Est. 1, fig. 2, B.).

A *ninfa* propriamente dita é praticamente do mesmo tamanho do macho adulto e com a mesma conformação. Os órgãos genitais estão completamente esboçados e apresentam pêlos bem desenvolvidos. (Est. 1, fig. 2, C.).

Não conseguimos observar a forma hipopial, citada e descrita por diversos autores que se têm ocupado com o estudo dos representantes da família *Tyroglyphidae*.

As *fêmeas adultas* medem em média 480 micra de comprimento mas, quando grávidas, ficam bem maiores, medindo então aproximadamente 585 micra de comprimento, além de ficarem muito mais alargadas, de acôrdo com o número de ovos contidos no seu interior. A maior largura do corpo é, em média, de 234 micra, sendo que nas fêmeas grávidas esta dimensão varia de acôrdo com o número de ovos contidos no interior do corpo, os quais podem até causar modificações na conformação do abdome, formando então bosseladuras e saliências, correspondentes à posição ocupada pelo ôvo, o que é melhor observado no animal vivo (Est. 1, fig. 2, D). Em média a maior largura da fêmea grávida é de 310 micra.

A fêmea apresenta duas aberturas genitais: uma destinada à cópula, situada na extremidade posterior do corpo e outra situada na parte mediana do abdome, na face ventral, em situação correspondente mais ou menos à

abertura genital do macho e destinada à eliminação de ovos. A abertura anal é situada também na extremidade posterior do corpo.

Os machos adultos medem em média 388 micra de comprimento (desde a ponta das quelíceras até a extremidade posterior do corpo) e 200 micra de largura, na parte mais larga do corpo, mais ou menos no meio do abdome. A abertura genital fica situada na face ventral, entre a base dos últimos pares de patas. A abertura anal é constituída por uma longa fenda longitudinal situada para traz da base dos últimos pares de patas, sem atingir a extremidade posterior do corpo; de cada lado da extremidade posterior da abertura anal existe uma ventosa que, embora tenha o nome de ventosa anal, parece-nos ter a função de auxiliar a preensão do corpo da fêmea durante a cópula.

O corpo do *Tyroglyphus* adulto é revestido de pêlos, como já vimos. Da parte superior do capítulo (mais ou menos na base das quelíceras) saem dois pêlos bastante alongados e característicos. Mais para traz, quase no ponto em que o tórax se funde com o abdome, existem quatro pêlos também longos, dirigidos para cima e ligeiramente para a frente, cujas inserções formam um arco. Outros pêlos existem, tanto na face dorsal como na face ventral do acariano e ainda no limite entre as duas faces, sendo que neste último caso os pêlos que saem da extremidade posterior do corpo são os maiores de todos. Existem pêlos mais curtos em torno e nas proximidades das aberturas genitais e anal.

Tanto a abertura genital do macho como a abertura genital da fêmea destinada à eliminação dos ovos, apresentam de cada lado duas ventosas com a forma cônica, assemelhando-se a um frasco de Erlenmeyer, com a boca voltada para fóra.

O dimorfismo sexual se evidencia não somente pelo tamanho do corpo dos acarianos e pela presença dos caracteres ligados aos órgãos genitais, como também pela conformação das patas que são mais robustas e mais curtas nos machos do que nas fêmeas.

Em ambos os sexos as patas são divididas em cinco artículos, sendo o último muito maior, tendo o mesmos o comprimento do penúltimo e antepenúltimo juntos. Do penúltimo artículo sai um pêlo bastante alongado que ultrapassa a extremidade livre da pata. O último artículo de tôdas as patas, em ambos os sexos, termina por uma garra bastante robusta, protegida por uma expansão membranosa.

As quelíceras são nitidamente articuladas e dotadas de 3 a 4 dentes em cada ramo da pinça.



*Evolução* — Dado o grande interêsse de saber em que prazo se processa a evolução do acariano em questão, fizemos algumas tentativas para determiná-lo. Inicialmente observamos o modo pelo qual se efetua a cópula.

A cópula se processa da seguinte maneira: os dois acarianos tomam direções opostas e o macho cavalga a fêmea até que sua abertura genital fique na altura da vulva da fêmea; como em geral a fêmea é muito mais alta que o macho, acontece que êste fica suspenso, preso à fêmea pelos dois últimos pares de patas ou mesmo só pelo último; é nesta ocasião que as ventosas anais do macho parecem auxiliar a fixação do macho à fêmea. O casal em cópula pode se deslocar perfeitamente mas isto é feito à custa exclusivamente da fêmea, pois o macho, pela sua posição, não pode efetuar movimentos de locomoção. Durante a cópula a fêmea muitas vêzes come hifas de cogumelos, etc., mas o macho raramente faz isso. A posição de cópula é completamente diferente da descrita e figurada por MÉGNIN (1873) para o *Tyroglyphus rostroerratus*.

Observada a cópula, procuramos verificar em que prazo se processava a evolução do acariano, a partir do ovo. Os vários processos aconselhados pelos autores para a criação de *Tyroglyphus*, tais como culturas em lâminas escavadas, culturas em células, culturas em cápsulas de gelatina, culturas em tubos ou frascos. em cujas paredes se assinalam os ovos recém-eliminados, não deram bons resultados em nossas mãos.

Adotamos a seguinte técnica: em lâminas de vidro, comuns, fizemos com a bôca de tubos de ensaio e mesmo tubos de hemólise, pequenos círculos com lanolina, à semelhança dos círculos de parafina que se fazem habitualmente para as reações sorológicas de aglutinação; êsse círculo tinha uma espessura média de 2 a 3 milímetros. No interior de cada círculo colocávamos um fragmento de cultura de cogumelo, de preferência dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*; êsse fragmento de cultura, ainda com um pouco de meio (Sabouraud glicosado ou Czapek), era espalhado de modo a formar uma camada de espessura tanto quanto possível uniforme. No interior de cada círculo colocávamos um casal de *Tyroglyphus*, apanhado em cópula. A lâmina era em seguida colocada no interior de uma placa de PETRI, sôbre uma tira de papel de filtro ligeiramente umedecido e deixada na temperatura ambiente. Entre 25 e 30°C. a lanolina se mantém suficientemente sólida para não se espalhar sôbre a lâmina e com viscosidade suficiente para prender um acariano que insista em atravessá-la. Os acarianos a princípio tentam atravessar o círculo de lanolina e então ou ficam presos no mesmo ou desistem e voltam para o ponto em que se encontra o cogumelo. Como é muito grande o número de acarianos que fica preso na lanolina, é necessário utili-

zar um grande número de cículos. No fim de 24 horas, retirávamos o casal, deixando somente os ovos. Ao eclodirem estes, púnhamos em outros círculos cada uma das larvas nascidas. A captura dos acarianos era sempre feita delicadamente por meio de pipetas de vidro capilares.

Embora, para que fôsse acompanhada a evolução, tivéssemos que trabalhar com grande número de círculos (fazíamos 8 em cada lâmina), pudemos ver com segurança em que prazo se verifica a eclosão dos ovos, aliás o mais importante para o fito que tínhamos em vista. Com este processo são absolutamente reproduzidas as condições naturais de vida dos acarianos, quanto à temperatura, umidade e aeração, podendo ser observada nos seus mínimos detalhes, no microscópio, qualquer das fases da vida do acariano.

Com o emprêgo dêste processo pudemos observar que em 24 horas a fêmea chega a pôr 10 ovos e estes eclodem entre 48 e 72 horas, dando nascimento a uma larva hexápoda. Esta larva se alimenta normalmente durante 4 a 5 dias, ficando um pouco maior e mais robusta e depois se imobiliza durante cerca de dois dias e somente então se processa a muda para uma jovem ninfa ou larva octópoda. Desta sai a ninfa, poucos dias depois, e finalmente o adulto macho ou fêmea. Como já acentuamos de início, não observamos a fase hipopial do acariano.

EALLES (22), em 1917, trabalhando com *Carpoglyphus anonymus*, *Tyroglyphus siro*, *Tyroglyphus longior* e *Aleurobius farinae*, acha que a evolução dessas quatro espécies é a mesma, consistindo em quatro fases: ovo, larva, ninfa e adulto macho ou fêmea, no período de quatro a cinco semanas do ovo até o estado adulto. Dá o prazo de 10 a 12 dias para a eclosão dos ovos. A técnica utilizada pelo autor consistia em empregar células de vidro, para a cultura dos acarianos.

## II — *Tarsonemus* sp.

*Morfologia:* — Os acarianos do gênero *Tarsonemus* que infestavam culturas de cogumelos são muito pequenos, visíveis a olho nu somente quando em movimento e olhados em fundo escuro. Apresentam grande dimorfismo sexual, sendo as fêmeas muito maiores do que os machos e são justamente elas que se conseguem ver com menores dificuldades a olho nu.

São acarianos de corpo aproximadamente elíptico, de coloração esbranquiçada quando examinados com iluminação direta; deslocam-se rapidamente sobre a superfície do meio e muito lentamente sobre as hifas.

O corpo de tais acarianos é revestido de pelos, porém estes, além de serem muito menos numerosos do que em *Tyroglyphus*, são muito curtos, não dando o mesmo aspecto eriçado que se observa nestes últimos.



Apresentam somente três estádios: ovo, larva e adulto.

Os ovos são elípticos (Est. 3, fig. 1), de casca muito fina, aparentemente com dupla membrana, notando-se na sua superfície fino pontilhado que não chega a formar desenhos. Esses ovos são esbranquiçados e medem em média 78 micra do comprimento por 46 micra de largura. Do ovo sai a larva hexápoda, através de uma fenda longitudinal.

A larva é hexápoda, aproximadamente do mesmo tamanho que o macho, e apresenta o corpo nitidamente dividido em três partes por dois sulcos transversais, um correspondendo à separação entre o tórax e o abdome e outro logo atrás do último par de patas, separando o abdome em duas partes, sendo a posterior mais curta e mais estreita (Est. 2, fig. 1). As patas são mais ou menos iguais, as do primeiro par terminando numa só garra e as dos outros dois pares terminando em duas garras. Os dois primeiros pares estão situados perto da cabeça e o último na metade posterior do corpo. A face ventral do corpo é finamente estriada, com linhas paralelas.

As fêmeas adultas são bem maiores do que os machos e têm conformação sensivelmente elíptica quando examinadas ao natural. Os caracteres que permitem identificar as fêmeas são perfeitamente apreciáveis, mesmo com pequeno aumento. (Est. 2, figs. 5 e 6). Medem em média 160 micra de comprimento por 82 micra de largura, havendo grande variação de tamanho. Possuem uma abertura genital mediana, entre a base de implantação do terceiro par de patas, e abertura anal constituída por uma fenda alongada longitudinalmente, que vai desde próximo à base do quarto par de patas até perto da extremidade posterior do corpo (Est. 2, fig. 6). A abertura genital destinada à cópula fica situada na extremidade posterior do corpo. Têm quatro pares de patas, sendo os três primeiros revestidos de pelos curtos e o último com duas cerdas alongadas. (Est. 4, figs. 2 e 3). O primeiro par de patas é relativamente pouco desenvolvido e terminado por uma só garra. O segundo par é o mais robusto de todos e terminado por duas garras. O terceiro par é um pouco atrofiado, implantando-se na face ventral do abdome. Cada pata (do 3.º par) é constituída por quatro artículos, terminando o último em duas garras (Est. 2, fig. 6). O quarto par é muito rudimentar, constituído por dois artículos quase filiformes; o último artículo apresenta dois pelos relativamente longos, sendo um deles aproximadamente duas vezes maior do que o outro; este par de patas se implanta quase na linha mediana longitudinal do acariano (Est. 3, fig. 5) e não tem função na locomoção, ficando distendido para trás. Em virtude da disposição em que se inserem os dois últimos pares de patas, a fêmea, quando vista ao natural, mesmo com grande aumento, parece ter apenas dois pares de patas (os anteriores), os



outros parecendo pelos. Esse aspecto é bastante característico e permite identificar imediatamente as fêmeas.

Entre o primeiro e o segundo pares de patas, na face dorsal, existe de cada lado um órgão clavado, pedunculado, ao qual é atribuída uma função sensorial, chamado por muitos autores de órgão pseudo-estigmático (Est. 3, figs. 3 e 4).

Os machos adultos são muito menores do que as fêmeas, medindo em média 124 micra de comprimento por 68 micra de largura. Sua abertura genital fica na extremidade posterior do corpo, bem como a abertura anal, sendo esta última uma fenda alongada longitudinalmente, que se termina mais ou menos na altura da implantação dos dois pares de patas posteriores (Est. 2, fig. 4). A extremidade do corpo, posteriormente, é afilada e não arredondada como a da fêmea (Est. 4, fig. 1). Os dois primeiros pares de patas são relativamente robustos, sendo o segundo um pouco mais do que o primeiro; o primeiro termina por uma só garra e o segundo por duas garras. O segundo par apresenta na base do penúltimo artigo um órgão clavado bastante característico. Os dois primeiros pares de patas são implantados na metade anterior do corpo, saindo o primeiro próximo do capítulo. O terceiro par de patas é bastante delgado e terminado por duas garras. O quarto par de patas é completamente diferente dos outros três, apresentando apenas três artigos, sendo o mediano o mais desenvolvido, ocupando quase que totalmente o comprimento da pata; também não tem função na locomoção, ficando dirigido para trás quando o acariano se movimenta e, em virtude de sua conformação especial, tem o aspecto de dois ramos de uma tenaz quando se examina o acariano ao natural. O último artigo desse quarto par de patas termina por uma forte garra e apresenta um longo pelo que também se dirige para trás quando o animal se movimenta (Est. 2, fig. 3).

Tanto no macho como na fêmea o capítulo faz saliência na extremidade anterior do corpo e apresenta na face ventral duas pequenas cerdas dirigidas para a frente. (Est. 3, fig. 2). Também se nota em ambos os sexos um vestígio de separação entre o tórax e o abdome.

As garras dos três primeiros pares de patas, no macho e na fêmea, são protegidas por uma expansão do tegumento.

*Evolução* — Da mesma forma que para o *Tyroglyphus*, seria importante conhecer a evolução do *Tarsonemus*, mas infelizmente tôdas as tentativas que fizemos nesse sentido falharam. Utilizamos não só os processos que citamos para a observação do *Tyroglyphus*, aconselhados por vários autores, como também o dos círculos de lanolina mas de nenhum modo conseguimos observar com segurança nem a cópula nem cada um dos estádios do

acariano. Só conseguimos fazer culturas em tubos comuns de vidro, o que nos permitiu ver que há somente três fases evolutivas: ovo, larva e adulto macho ou fêmea. Utilizando o processo dos círculos com lanolina, nada conseguimos porque todos os acarianos imediatamente ficavam presos na lanolina. A observação dos três estádios somente, está de acordo com a afirmativa de HIRST (23) de que não existem em *Tarsonemus* outras fases evolutivas; está em desacordo, por outro lado, com as observações de HAMBLETON (24), que descreve a pupa do *Tarsonemus latus* BANKS, aliás espécie diferente daquela com a qual lidamos. HAMBLETON descreve da seguinte maneira a técnica por ele utilizada: "Para fins de criação, fêmeas ou "pupas" de fêmeas foram reunidas aos machos e isoladas em microcâmaras feitas de celulóide e feltro e adaptadas sobre folhas de algodoeiros"; dá como períodos médios para a eclosão dos ovos, 1 a 3 dias, na temperatura média de 27°C. Esta técnica é mais aconselhável para o estudo da evolução dos acarianos que parasitam folhas de vegetais, tendo sido descrita e com ótimas fotografias por TOLEDO (25), em 1940.

### HÁBITOS DOS ACARIANOS

Não há, praticamente, diferenças entre as conseqüências das infestações de culturas pelos acarianos; ambas as espécies determinam o aparecimento de contaminações e destroem as culturas. Quanto, porém, ao modo de alcançarem esse objetivo, há variações.

Duas hipóteses principais podemos admitir para a procedência dos acarianos. Esses artrópodos vivem de preferência em cogumelos da natureza e, neste laboratório, freqüentemente são recebidos tais cogumelos para fins de exames e análises, bem como para pesquisas várias. Ora, é bem possível que nesse material recebido estivessem os acarianos, daí se espalhando pelo laboratório. Outra hipótese, talvez a mais provável, é representada pelo fato de que justamente por ocasião de grandes obras que se realizavam no pavilhão em que se encontra situado o laboratório, é que foram constatadas as infestações. Ora, nesse momento entraram nas dependências do laboratório, inclusive na micoteca, vários materiais para construção, principalmente tábuas, sendo bem provável que os acarianos estivessem em tais materiais que freqüentemente apresentam em sua superfície colônias as mais diversas de cogumelos de vida livre.

Os acarianos do gênero *Tarsonemus*, os primeiros encontrados e a princípio os únicos observados na micoteca, têm difusão mais ou menos restrita; de um tubo contaminado, enquanto houver alimento em quantidade suficiente, não passam para outro. No tubo de cultura preferem, para formar suas co-



lônias, as bordas do meio de cultura, principalmente a parte superior, onde o agar se encontra mais sêco, o que já fôra assinalado por PUNTONI (1931). Aí são êles encontrados em maior quantidade, o que não impede que os encontremos por toda a superfície do meio de cultura e nas paredes do tubo. No momento de se alimentarem, param nas proximidades de emaranhados de hifas e, com o auxílio das patas anteriores, puxam as hifas para perto da extremidade do capítulo e começam a comê-las, o que pode ser perfeitamente visto mesmo através do tubo. As fezes eliminadas constituem um fator muito importante de contaminação das culturas em tubos porque, mesmo admitindo-se que o acariano ao passar pelo algodão deixe todos os esporos e bactérias que carrega na superfície do corpo, as fezes, que contêm esporos e bactérias naturalmente não digeridos, servirão de base para grandes contaminações. As fezes são arredondadas, pouco menores do que os ovos e representam um bom sinal para a identificação duma cultura infestada, mesmo que não sejam vistos os acarianos, quando êstes são em pequena quantidade.

Os acarianos preferem as culturas que possuem hifas aéreas. Isto não quer dizer que não penetrem em tubos que contenham culturas moles mas neste caso ou saem para outro tubo, ou, o que é mais freqüente, aí permanecem e como contaminam a cultura com o cogumelo que preferem, não sentem maiores dificuldades. Os acarianos do gênero *Tarsonemus* parecem preferir as culturas de *Aspergillus* e de *Penicillium*, daí a maior parte das infestações de culturas ser seguida de contaminações por tais cogumelos.

Como demonstração do que dissemos de que os acarianos do gênero *Tarsonemus* têm difusão restrita, basta que digamos que nunca foram os mesmos encontrados em placas de PETRI e que, de um suporte com quatro tubos infestados, não passaram para os suportes vizinhos, embora os quatro tubos estivessem com infestações massiças.

Os acarianos do gênero *Tyroglyphus* são de hábitos mais prejudiciais às culturas. A princípio só foram encontrados em placas, fóra da micoteca, constituindo mesmo um sério obstáculo ao isolamento de qualquer amostra de germes ou cogumelos, pelas contaminações que determinavam. Mais tarde começaram a ser encontrados nos depósitos de meios de cultura e finalmente na própria micoteca, felizmente sem causarem maiores danos porque então já estavam sendo postas em prática medidas tendentes a eliminar os acarianos.

A difusão do *Tyroglyphus* é muito grande. Qualquer placa que fique nas proximidades de uma outra em que êles estejam, é imediatamente invadida. A penetração nos tubos é mais difícil, tanto que a princípio pensávamos que não fôssem capazes de penetrar nos mesmos, em virtude das grandes



dimensões dos adultos; fizemos mesmo experiências diversas para tentar observar como se processava a penetração nas tôdas com resultados negativos desde que as rolhas de algodão estivessem bem apertadas, sem falhas. Logo depois essas hipóteses se desfizeram porque começaram a ser encontrados tubos infestados com *Tyroglyphus*; é que suas larvas são muito pequenas, aproximadamente do mesmo tamanho das fêmeas do *Tarsonemus* e, sendo assim, atravessam com facilidade as rôlhas de algodão. Em todo caso a infestação dos tubos pelo *Tyroglyphus* é mais restrita porque as larvas, que podem penetrar através das rôlhas de algodão, têm hábitos mais sedentários do que os adultos e dentro de poucos dias sofrem a muda, tornando-se maiores.

Os adultos do gênero *Tyroglyphus* são muito ativos e mesmo que se encontrem numa cultura com bastante alimento, procuram sair e andar pelas imediações. É assim que são vistos, nos tubos infestados, acumulados em grande quantidade entre a rôlha de algodão e a parede do tubo, tentando sair, o que só conseguem se a rôlha estiver muito frouxa ou com alguma falha. Com iluminação direta e examinando-se ao microscópio com forte aumento, pode-se ver até onde vão os acarídeos adultos e suas larvas, arrastando-se entre as fibras do algodão.

A destruição das culturas, causada pelo *Tyroglyphus*, quando em grande número, é total. A superfície do meio fica completamente recoberta pelas fezes, o que dá um aspecto sujo e úmido à mesma. Se a colônia era primitivamente bem desenvolvida, como as de *Aspergillus*, por exemplo, reduz-se a um amontoado negro constituído pelas fezes e hifas apodrecidas. Pela Estampa 1, fig. 2 poder-se-á ter uma idéia da intensidade da infestação por *Tyroglyphus* em tubo de cultura, vendo-se formas adultas, ninfas e larvas, além de grande quantidade de fezes. O ataque das colônias pelo *Tyroglyphus* é sistemático; os acarídeos acumulam-se na periferia das mesmas e vão comendo as hifas até destruição completa da cultura. Se a cultura fôr antiga e o agar estiver sêco, nem vestígios ficam do cogumelo, vendo-se apenas os acarídeos em grande número, que depois abandonam a placa ou procuram abandonar o tubo.

### ELIMINAÇÃO DOS ACARIANOS

A eliminação dos acarídeos de que estamos tratando, não é um problema fácil; mais complexo ainda é o problema da profilaxia da infestação.

Vários métodos têm sido aconselhados para matar os acarídeos e todos eles devem observar determinadas condições, sem as quais muitos prejuízos advirão às culturas. JEWSON e TATTERSFIELD resumem muito bem o assunto

dizendo: "The *sine qua non* of any method of control is that the treatment should kill 100 per cent of the mites and their eggs and have a minimum detrimental effect upon the fungus cultures. It should not be harmful to the operator and it should be easy to apply. If a chemical method is to be used it is essential that the substance be volatile, not too disagreeable, and that in its toxic action it should be reasonably speedy". A êsses atributos exigidos deve ser acrescentado mais o seguinte: o método deverá permitir uma aplicação repetida a curtos intervalos sem prejuízo para o cogumelo e, se lôr usado um produto químico, êste deverá ter, tanto quanto possível, uma ação residual.

Numa rápida revisão dos métodos aconselhados para a eliminação dos acarianos e dos recursos profiláticos contra os mesmos, pudemos encontrar o seguinte:

COSTANTIN (1894) quanto aos acarianos que infestam culturas de cogumelos comestíveis diz: "L'emploi de *blanc pur et vierge* aurait permis d'éviter l'invasion de l'acarien précédent". Adaptando-se às atuais condições de técnica micológica, isto significaria que um repique de cultura pura evitaria a infestação. Infelizmente isso não é o suficiente porque o acariano pode invadir a subcultura e também porque nem sempre se tem certeza de que a cultura contém ou não acarianos ou seus ovos e o repique poderia levá-los para a nova cultura. A deficiência do processo se faz sentir principalmente quando se lida com grandes quantidades de culturas para repicagem.

BANKS (1915) declara que poucos remédios foram propostos para os acarianos do gênero *Tarsonemus* que atacam os vegetais, acrescentando que para um dêles já havia sido proposto o uso duma mistura de enxofre em pó em água de sabão. Para os *Tyroglyphidae* diz que o problema da destruição é mais difícil porque êles não têm traquéias, sendo necessárias fumigações prolongadas para matar alguns dêles; cita que em algumas ocasiões foram muito empregados o ácido fênico e a flor de enxofre. Os processos acima, com exceção do emprêgo de fumigantes adequados, não podem ser utilizados para a destruição de acarianos que atacam cogumelos porque as substâncias empregadas afetam as culturas; aliás BANKS se refere aos acarianos que constituem verdadeiras pragas para a agricultura e não para a micologia. Citando BUSCK, diz que êste fêz algumas experiências para destruir os acarianos que infestavam culturas de cogumelos comestíveis, utilizando o calor (vapor aquecido) e só assim conseguia a destruição dos ovos de *Tyroglyphidae*, que se encontravam nos tabuleiros ou canteiros de culturas; tal pro-



cesso serve apenas para ser utilizado com o meio de cultura, o que já é feito durante a esterilização; não impede, porém, novas infestações.

EALES (1917) trabalhando com quatro espécies de acarianos que atacam o queijo, algumas das quais já têm sido assinaladas infestando culturas de cogumelos, chama a atenção para a dificuldade de exterminá-los, por não possuírem os mesmos órgãos respiratórios e mostra a inutilidade do emprego de soluções de formol, pois foram observados acarianos vivos depois de uma semana de imersão em uma solução de formol a 5%. A seu ver duas substâncias podem ser aconselhadas para eliminar tais acarianos: o ácido fênico e o bi-sulfureto de carbono. Tais substâncias não se prestam, porém, ao emprego na técnica micológica.

JEWSON e TATTERSFIELD (1922) em trabalho experimental feito especialmente para a eliminação dos acarianos que infestam culturas de cogumelos, depois de utilizarem várias substâncias, aconselham a exposição das culturas infestadas aos vapores de piridina, em recipiente fechado, na dose de 1 c.c. por 1000 c.c. de volume; a droga é colocada numa placa e coberta com gaze; as culturas a fumigar são colocadas juntamente com a placa que contem a droga, no interior duma campânula, onde permanecem durante 16 horas; nos casos de grandes infestações ou quando a temperatura fôr muito baixa, aconselham expor as culturas durante 48 horas, em vez de 16 ou efetuar duas fumigações de 16 horas cada uma, separadas por um intervalo de 14 a 16 dias.

Os mesmos autores aconselham o emprego da amônia para eliminar os acarianos que não estejam em contato com os cogumelos, visto como tal produto é nocivo para os fungos, sendo extremamente tóxico para os acarianos.

O emprego da piridina apresenta algumas desvantagens. Em primeiro lugar ela tem cheiro muito desagradável, o que exige que os trabalhos sejam feitos em ambiente distante do local em que geralmente se manuseiam as culturas. Além disso a piridina é tóxica para o homem e, em maiores doses do que as aconselhadas por JEWSON e TATTERSFIELD, também é tóxica para os cogumelos. Ainda outra restrição a ser feita ao processo é que as experiências feitas pelos dois autores foram realizadas com poucas amostras de cogumelos de modo que não se pode ter a certeza se a piridina é ou não tóxica, mesmo em pequenas doses, para um grande número de espécies.

Quanto ao emprego da amônia, desde que esta não tenha contato com as culturas, pode ser adotado, por exemplo, para a destruição de acarianos em armários, suportes, etc.



Os processos utilizados por JEWSON e TATTERSFIELD servem apenas para a destruição dos acarídeos mas não impedem novas penetrações nas culturas.

THOM (26), em 1930, cita a fórmula duma solução para com ela serem embebidas as rolhas dos tubos de culturas, a fim de matar os acarídeos que tentem penetrar. A fórmula é a seguinte: 95 partes de solução de álcool a 95%, meia parte de bicloreto de mercúrio e 5 partes de glicerina; corar com um corante qualquer a fim de assegurar a destruição das rôlhas de algodão quando não mais estiverem em uso. Êste processo de THOM foi por nós utilizado na coleção do Instituto; êle se mostrou prejudicial às culturas, impedindo o crescimento, quando não matava o cogumelo. E' um processo que apresenta vários inconvenientes. O bicloreto de mercúrio é altamente tóxico não só para o homem como para os cogumelos, exigindo grandes precauções no seu manejo; os tubos que tenham tido rôlhas assim tratadas, dificilmente perdem a droga e ao ser colocado novo meio de cultura, êste se tornará impróprio para o crescimento dos cogumelos. NEGRONI (1938) cita que KELLERMAN propôs impregnar as rôlhas de algodão com uma solução de bicloreto de mercúrio em glicerina; acrescenta que ensaiou êsse processo com resultados desastrosos, tendo mesmo perdido algumas amostras de sua coleção. Mesmo no caso de ser utilizado o bicloreto de mercúrio, o processo é aplicavel sòmente aos tubos, não servindo para as placas.

PUNTONI (1931), depois de experimentar o clorofórmio, o éter, a benzina e o xilol, pingando 10 a 20 gôtas de cada uma dessas drogas na parte interna da rôlha de algodão, verificou que a melhor delas era a benzina retificada que matava os acarídeos sem prejudicar os cogumelos; o referido autor trabalhou com 70 amostras diferentes de cogumelos. Para evitar novas invasões, aconselha embeber em petróleo o algodão que vai servir para a confecção das rôlhas, deixar secar e finalmente embuchar os tubos.

O método aconselhado para a destruição de acarídeos, quando se trata de grande quantidade de culturas, é pouco prático; em compensação o emprego de rôlhas de algodão previamente tratado com petróleo é bastante útil, tendo o inconveniente apenas de engordurar um pouco os tubos e as mãos do operador; além disso as rôlhas de algodão, ao serem queimadas, no momento da introdução no tubo, desprendem vapôres bastante desagradáveis.

BARNES (1933) propôs o uso de pequenos tripés de metal com as extremidades mergulhadas em água; sôbre êsses tripés seriam colocadas as placas. Se bem que o método possa ser utilizado para as placas, não evita, como diz SMITH (1942), que os acarídeos penetrem nas culturas por intermédio das mãos do operador e por meio de insetos alados, principalmente môscas,

nos quais adere a fase hipopial de alguns *Tyroglyphidae*. Além disso o método não se presta para o trabalho em grande escala.

PAGE e SHAFIK (1936) experimentaram várias substâncias, recomendando o emprêgo do tetracloreto de carbono e do salicilato de metila, sendo o primeiro na dose de 0,25 c.c. por litro de ar, numa exposição de pelo menos quatro horas a 25°C. Ambas as substâncias usadas devem ser manejadas com cautela, pois em concentrações maiores e em exposições demoradas são tóxicas para os cogumelos. Não evitam, igualmente, novas infestações.

PEASE (1937) faz uma revisão dos processos empregados para prevenir a invasão dos acarianos e insetos no laboratório e para destruí-los. Diz ter tido resultados desastrosos com o emprêgo de rôlhas de algodão envenenadas e aconselha três processos para a campanha contra os acarianos e insetos no laboratório:

1.º — Emprêgo de bandejas metálicas com pés, sendo êstes mergulhados numa solução de lisol; a própria bandeja é esfregada com uma mistura de terebintina e óleo de linhaça em partes iguais. Cita que E. F. SMITH (1920) mergulhava a bandeja numa solução de cloreto de mercúrio que, depois de evaporada, deixava os cristais da droga, julgados eficientes para matar os artrópodos. PEASE, porém, diz que isto não é suficiente para exterminar as baratas, que podem transportar acarianos. Sôbre as bandejas são colocados os tubos e as placas.

2.º — Só colocar o material retirado das bandejas, sôbre superfícies que tenham sido tratadas recentemente com uma solução a 50% de ácido acético; antes de voltar para as bandejas deve ser o material esfregado com a mesma solução. As mãos do operador também devem ser perfeitamente lavadas antes de tocarem no material das bandejas.

3.º — Fumigações com para-diclorobenzeno, das culturas infestadas ou suspeitas. Colocar os tubos ou placas num recipiente coberto que contenha uma placa aberta, com a droga; afrouxar as rôlhas dos tubos e deixar as placas durante duas horas e os tubos durante quatro horas, sob a ação dos vapôres. O processo deverá ser repetido de 48 em 48 horas durante 12 dias. Nos armários suspeitos de estarem infestados, também devem ser deixadas placas abertas, com para-diclorobenzeno, durante duas horas, repetindo-se o tratamento nos mesmos intervalos e durante o mesmo tempo.

Os dois primeiros processos aconselhados por PEASE só podem ser utilizados quando se lida com pequenas quantidades de culturas. O terceiro pro-



cesso é realmente bastante eficaz e nêle se basearam principalmente nossas pesquisas.

NEGRONI (1938) diz ter empregado com bons resultados "la naftalina en escamas o fundida y desparramada en los estantes de los armarios donde se guardan los soportes de la colección y en el fondo de los recipientes que contienen los medios de cultivo estériles sin sembrar". Ainda recentemente, quando em visita a êste laboratório, confirmou os bons resultados obtidos com tal procedimento.

SMITH (1938) aconselha a fumigação com tetracloreto de carbono ou com piridina achando que nenhuma das duas drogas prejudica os cogumelos mas que devem ser feitas repicagens logo depois do tratamento. Cita ainda um processo para evitar a penetração dos acarianos nos tubos, nos seguintes têrmos: "In some laboratories it is the custom to paint bands of paraffin and rubber tap-grease round the rims of the culture tubes, but such tubes are messy to handle and the treatment is of doubtful efficacy as a method of prevention, for mites have actually been observed to crawl through such a grease band, very slowly, it is true, but with a sure sense of direction."

HANSEN e SNYDER (1939) salientam a importância do fato de freqüentemente entrarem no laboratório plantas e materiais infestados com acarianos, tornando necessárias aplicações freqüentes de fumigações, que acham ser mais ou menos prejudiciais aos cogumelos. Aconselham, para evitar a penetração de acarianos nos tubos de cultura, tirar a rôlha de algodão e substituí-la por um papel de cigarros especial (L.L.F.) embebido em solução a 2% de sulfato de cobre em mistura de gelatina a 10% em água. O processo é bastante engenhoso mas só se presta para tubos, além de pouco prático quando se lida com muitas culturas. Outro grande inconveniente do processo é, segundo SMITH (1942) o fato de que somente uma qualidade de papel de cigarros foi encontrada que evita a penetração dos acarianos e permite a livre passagem do ar para as culturas de cogumelos, o que restringe muito a generalização do método.

EMMONS (1940) depois de citar os trabalhos de THOM, PEASE, PUNTONI e JEWSON e TATTERSFIELD, diz ter empregado numa só cultura infestada por acarianos o seguinte processo: afrouxar parcialmente a rôlha do tubo e com uma pipeta derramar algumas gôtas de benzina na parte inferior da rôlha de algodão. Diz ter efetuado experiências no sentido de verificar a ação dos vapôres de benzina sôbre vários cogumelos, achando que nas culturas em que experimentou, não houve prejuízos para os cogumelos. Acrescenta que, embora só fôssem encontrados acarianos uma única vez, foi ado-



tado como rotina o emprêgo de rólhas de algodão embebidas na solução de bicloreto de mercúrio referida por THOM (1930).

CROWELL (1941) resume suas experiências no assunto, em pequeno trabalho no qual aconselha o uso do "Dichloricide", nome comercial do para-diclorobenzeno. As provas foram realizadas com cêrca de 200 espécies de cogumelos. A experiência principal foi feita colocando cestas de tubos contaminados, no interior duma campânula onde já se achava num vidro de relógio  $\frac{1}{4}$  de onça de cristais de "Dichloricide". Em outras experiências colocou cristais entre a rólha de algodão e a parede do tubo e mesmo no próprio meio de cultura no momento da repicagem. Todos os cogumelos cresceram aparentemente normais.

SMITH (1942) faz uma revisão dos principais métodos de combate aos acarianos, salientando as vantagens de três substâncias empregadas como fumigativos: o tetracloreto de carbono, a piridina e o para-dicloro-benzeno, que devem ser colocados juntamente com as culturas infestadas ou suspeitas, em recipiente completamente fechado, em doses adequadas, durante 24 horas (como medida de precaução), repetindo a operação no fim de 7 dias. Para a piridina e o tetracloreto de carbono as doses aconselhadas são respectivamente de 0,05 c.c. por litro e 0,25 c.c. por litro, a 25.°C. durante quatro horas no mínimo. Ao mesmo tempo aconselha que seja empregada a amônea para a destruição dos acarianos porventura existentes em armários, suportes, etc., com a precaução de evitar o contato dos vapôres de amônea com as culturas de cogumelos. Para evitar novas infestações, passa em revista vários processos, inclusive a conservação das culturas a baixa temperatura (8 a 10°C.). Este último processo dá bons resultados e nós o utilizamos, vários anos para manter a micoteca. Ele permite boa conservação das culturas, evitando repicagens freqüentes. Em geral os cogumelos suportam bem a temperatura baixa, uma ou outra amostra mais sensível pode ser prejudicada.

Neste laboratório, durante algum tempo, antes das atuais verificações de presença de acarianos, foi empregado em larga escala o querosene para evitar as infestações pelos acarianos. O querosene puro era passado sôbre todas as superfícies que fôssem entrar em contato com os tubos e placas de culturas, principalmente prateleiras de armários, suportes para tubos, mesas de trabalho com as culturas, etc. Sôbre a rólha de algodão, depois de queimada e introduzida no tubo, eram colocadas algumas gôtas de querosene com 5% de óleo de vaselina, com a precaução de não impedir a penetração do ar. Este processo, como já referimos atrás, deu-nos durante vários anos, resultados apreciáveis; ele visava principalmente uma ação profilática, impedin-

do a penetração do acariano no tubo de cultura. O querosene se evapora lentamente e acrescido de 5% de óleo de vaselina, pode permanecer na rôlha até nova repicagem, dando assim um efeito residual; por outro lado sua ação sobre o cogumelo é nula, desde que se permita uma ventilação franca através do algodão.

### EXPERIÊNCIAS REALIZADAS COM VÁRIAS DROGAS

Verificada neste laboratório a presença de acarianos infestando culturas, foram iniciadas experiências com o fim de ser escolhido um método de destruição e profilaxia que reunisse as seguintes qualidades:

- 1 — Realmente eficaz contra os acarianos, matando-os em tôdas as suas fases de vida.
- 2 — Ação rápida sobre tôdas as fases de evolução dos acarianos.
- 3 — Ação tóxica nula para os cogumelos em qualquer de suas fases de desenvolvimento.
- 4 — Aplicação prática, visto como só a micoteca do Instituto tem alguns milhares de amostras de cogumelos, sem contar com o grande número de culturas que são manejadas diàriamente.
- 5 — Sem ação prejudicial ao operador.
- 6 — Atividade tanto quanto possível demorada, isto é, residual.
- 7 — Baixo custo.
- 8 — Permitir aplicação tanto quanto possível, indistintamente sobre as culturas em vários recipientes (placas, tubos, lâminas, cristalizadores, frascos, etc.) e, nos ambientes, evitando grandes deslocamentos das culturas para locais diversos, em que as condições de temperatura, aeração e umidade sejam muito diferentes das habituais.
- 9 — Aplicação indistinta sobre quaisquer cogumelos, evitando a adoção de processos especiais para determinadas amostras.
- 10 — Não constituir fator de possíveis contaminações.

A maior parte dos processos que passamos em revista foi afastada de cogitações porque, embora exercendo ação eficiente sobre os acarianos, também tinha ação nociva sobre os cogumelos. Assim não foram ensaiados os processos baseados em pulverizações, tendo como princípio ativo o enxofre ou o ácido fênico (BANKS, 1915), alta temperatura (COSTANTIN, 1894 e NEWSTEAD e DUVALL, 1918), envenenamentos das rôlhas de algodão com soluções de bicloreto de mercúrio (THOM, 1930), clorofórmio, salicilato de metila, tetracloreto de carbono, piridina, etc.



Inicialmente selecionamos algumas drogas e com elas fizemos experiências; estas substâncias foram as seguintes: produtos derivados do timbó, D.D.T., xilol, flite e para-diclorobenzeno. Mais tarde ampliamos as experiências fazendo várias provas com naftalina e querosene.

De cada droga experimentada será dado um breve resumo de suas principais características, motivos que nos levaram a experimentá-la, marcha dos trabalhos e resultados. Para a descrição das características baseamo-nos quase que inteiramente nos excelentes resumos contidos em "The Condensed Chemical Dictionary" editado pelo "Chemical Engineering Catalog" (27).

As culturas com as quais trabalhamos, na fase experimental do combate aos acarianos, foram as que citamos a seguir, às quais passaremos a nos referir, no decorrer deste trabalho, apenas pelos números, que são os do catálogo de micoteca do Instituto Oswaldo Cruz.

- 16 — *Pestalozzia scirrhofaciens*. Det. por Miss Nelly Brown. Prov. B. Plant Industry U.S.D. Agriculture.
- 19 — *Colletotrichum gloeosporoide* Penz. Det. por Miss Nelly Brown. Prov. B. Plant Industry U.S.D. Agriculture.
- 25 — *Aspergillus flavus* Link, 1791. Det. por O. da Fonseca. Prov. Johns Hopkins Hospital. Baltimore.
- 29 — *Choetomium globosum* Kunze. Det. por O. da Fonseca. Prov. Johns Hopkins Hospital. Baltimore.
- 58 — *Oospora guignardi* Sauvageau et Radais, 1892. Det. por Langeron. Prov. de Schmitter.
- 63 — *Aspergillus fumigatus* Fresenius, 1841. Det. por Thom. Prov. Thom.
- 65 — *Absidia coerulea* Bainier, 1889. Det. por Harper. Prov. Schmitter.
- 68 — *Lichteimia corymbifera* Cohn, 1884. Det. por Langeron. Prov. Schmitter.
- 71 — *Trichoderma* sp. Prov. Schmitter.
- 76 — *Aspergillus nidulans* Eidam, 1883. Det. por Langeron. Prov. Schmitter.
- 90 — *Trichophytum fumatum* Sabouraud, 1909. Det. por Sabouraud. Prov. Col. Sabouraud.
- 97 — *Mycoderma pulmoneum* Balzer-Gougerot, 1912. Det. por Sabouraud. Prov. Schmitter.
- 100 — *Aspergillus niger*. Det. por Leão.
- 102 — *Monascus purpureus*. Prov. Floriano de Almeida.
- 105 — *Lutziomyces histosporocellularis*.
- 107 — *Microsporum felineum*. Det. por Leão.

- 108 — *Trichophytum gypseum*. Det. por Leão.  
111 — *Trichosporon* sp.  
112 — *Aspergillus versicolor* Mirsky-Vuillemin, 1903 — Det. por Thom.  
113 — *Aspergillus sydowi* Bainier et Sart., 1903. Det. por Thom.  
118 — *Syncephalastrum* sp. Prov. Micoteca Inst. Osw. Cruz.  
120 — *Rhizomucor septatus* Bezold, 1889. Det. por Pinoy.  
122 — *Cunninghamella* sp. Prov. Lab. Thom.  
124 — Levedo Fleischmann.  
126 — *Epidermophytum rubrum*. Det. por Leão.  
146 — *Aspergillus orizae* Cohn, 1883. Det. por Thom.  
172 — *Aspergillus versicolor* Mirsky-Vuillemin 1903. Det. por Thom.  
179 — *Aspergillus tamari* Kita, 1913. Det. por Thom.  
219 — *Aspergillus candidus* (Link, 1824). Det. por Thom.  
222 — *Aspergillus ochraceus* Wilhelm, 1877. Det. por Thom.  
252 — Levedo.  
254 — *Rhodotorula*.  
266 — *Penicillium roqueforti* Det. por Thom.  
269 — *Penicillium commune* Det. por Thom.  
293 — *Penicillium expansum* Link. Det. por Thom.  
295 — *Monilia?* Prov. Lab. Thom.  
305 — *Haplographium* sp. Prov. Lab. Thom.  
308 — *Papulospora aspergilliforme*. Det. por Thom.  
318 — *Chaetomium olivaceum*. Det. por Thom.  
319 — *Cephalothecium roseum* Corda. Det. por Thom.  
321 — *Cunninghamella echinulata* Thaxter. Det. por Thom.  
331 — *Oospora verticilloides* Saccardo. Det. por Norton e Chen.  
335 — *Mucor rouxii* Wehmer. Det. por Thom.  
338 — *Heliocostylum elegans?* Corda. Det. por Thom.  
339 — *Mucor circinelloides*. Det. por Thom.  
341 — *Rhizopus nigricans* Ehrenberg. Det. por Thom.  
382 — *Actinomyces* sp. Prov. Micoteca Inst. Osw. Cruz.  
386 — *Allescheria boydii* Shear, 1922. Det. por Shear.  
418 — *Circinella spinosa* Van Thiegen et Le Monnier. Det. por Van-Thiegen et Le Monnier.  
433 — *Mucor fuscus* Bainier. Det. por Bainier.  
457 — *Penicillium virescens* Bainier, 1907. Det. por Bainier.  
465 — *Scopulariopsis communis* Bainier, 1907. Det. por Bainier.



- 472 — *Sterigmatocystis cyanea*. Det. por Bainier.  
484 — *Aspergillus niger*. Det. por Bainier.  
487 — *Sterigmatocystis rubescens*. Det. por Bainier.  
499 — *Absidia vulgaris* Bainier. Det. por Bainier.  
518 — *Trichophytum tonsurans* Malmsten, 1845. Det. por Olimpio da Fonseca.  
530 — *Trichophytum violaceum* Bodin, 1902. Det. por Olimpio da Fonseca.  
546 — *Actinomyces bovis* Harz, 1877. Prov. Micoteca Inst. Osw. Cruz.  
600 — *Achorion gypseum* Bodin, 1907. Det. por Porcelli.  
634 — *Stemphylium paxianum* V. Szabo. Det. por Marchal.  
635 — *Volutella ciliata* Alb. et Schw. Det. por Marchal.  
656 — *Zygosaccharomyces nadsonii* Guilliermond, 1918. Det. por Guilliermond.  
660 — *Saccharomyces chevalieri* Guilliermond, 1914. Det. por Guilliermond.  
677 — *Debaryomyces*. Prov. Lab. Guilliermond. Paris.  
694 — *Epidermophytum rubrum* Castellani, 1909. Det. por Westerdijk.  
698 — *Trichophytum equinum* Godoelst, 1902. Det. por Westerdijk.  
712 — *Acremonium potronii* Vuillemin. Det. por Westerdijk.  
723 — *Willia saturnus* Kloker, 1903. Det. por Westerdijk.  
730 — *Acrotheca pedrosoi*. Prov. Micoteca Inst. Osw. Cruz.  
735 — *Absidia glauca* (-) Prov. Micoteca Inst. Osw. Cruz.  
742 — *Schizosaccharomyces octesporus*. Det. por Negroni.  
789 — *Scopulariopsis brevicalis* (Saccardo) Bainier, 1907. Det. por Olimpio da Fonseca.  
798 — *Achorion schoenleini* Lebert, 1845. Prov. Micoteca Inst. Osw. Cruz.  
861 — *Fonsecaea pedrosoi* (Brumpt, 1921). Det. por Negroni.  
862 — *Hormodendrum negronii* O. Pereira, 1938. Det. por Oscar Pereira.  
865 — *Rhinocladium gougeroti*. Det. por Leão.  
867 — *Phialophora verrucosa* Medlar, 1915. Det. por Thaxter.  
870 — *Hemispora stellata*. Det. por Otilio Machado.  
898 — *Microsporum felineum* Fox e Blaxall, 1896. Det. por Aroeira Neves.  
941 — *Phialoconidiophora guggenheimia*. Det. por Moore e Almeida.  
946 — *Lutziomyces histosporocellularis*. Prov. Micoteca Inst. Osw. Cruz.  
948 — *Histoplasma capsulatum*. Prov. Micoteca Inst. Osw. Cruz.  
949 — *Paracoccidioides cerebriformis*, Moore e Almeida.

- 953 — *Phialophora verrucosa*. Prov. Micoteca Inst. Osw Cruz.  
954 — *Histoplasma capsulatum* Det. por De Monbreun.  
962 — *Fonsecaea pedrosoi*. Prov. Micoteca Inst. Osw. Cruz.  
971 — *Saccharomyces cerevisiae* Hansen. Det. por Olimpio da Fonseca.  
1035 — *Torula* sp. Prov. Micoteca Inst. Osw. Cruz.  
1056 — *Geotrichoides* sp. Prov. Micoteca Inst. Osw. Cruz.  
1061 — *Endodermophytum roquettei* Fonseca. Det. por Olimpio da Fonseca.  
1062 — *Actinomyces bovis*. Det. por Leão.  
1113 — *Sporotrichum beurmanni*. Det. por Olimpio da Fonseca.  
1176 — *Endodermophytum concentricum*. Det. por Miyabara.  
1182 — *Madurella americana*. Det. por Masao Ota.  
1294 — *Coccidioides immitis*. Det. por Weidmann.  
1300 — *Gilchristia dermatitidis*. Det. por Weidmann.  
1330 — *Schizosaccharomyces mellacei*. Prov. Micoteca Inst. Osw. Cruz.  
1356 — *Nematospora phaseoli*. Prov. Micoteca Inst. Osw. Cruz.  
1471 — *Saccharomyces cerevisiae*. Prov. Micoteca Inst. Osw. Cruz.  
1488 — *Glenosporella loboii*. Det. por Olimpio da Fonseca e Leão.  
1492 — *Hormodendrum langeroni*. Det. por Olimpio da Fonseca.  
1501 — *Levedo*. Prov. Micoteca Inst. Osw. Cruz.  
1520 — *Candida* sp. Prov. Micoteca Inst. Osw. Cruz.  
1523 — *Cladosporium werneckii*. Det. por Cassio de Miranda.  
1535 — *Neogeotrichum pulmoneum* (Magalhães, 1914). Det. por Magalhães.  
1600 — *Cephalosporium acremonium* Corda. Det. por Pollacci.  
1654 — *Trichophytum rosaceum*. Det. por Leão.  
1671 — *Achorion gallinae*. Det. por Leão.  
1679 — *Glomerula repens* Bainier. Det. por Thom.  
1728 — *Endomyces chodati*. Det. por Guilliermond.  
1757 — *Cryptococcus ludwigi*. Det. por Sabouraud.  
1762 — *Miросporum lanosum*. Det. por Leão.  
1768 — *Geotrichum* sp. Prov. Micoteca Inst. Osw. Cruz.  
1774 — *Actinomyces asteroides*. Prov. Micoteca Inst. Osw. Cruz.  
1797 — *Actinomyces tenuis* Castellani. Det. por Huang.  
1816 — *Cephalosporium* sp. Prov. Micoteca Inst. Osw. Cruz.  
1819 — *Fusarium* sp. Prov. Micoteca Inst. Osw. Cruz.  
1854 — *Sporotrichum* sp. Prov. Micoteca Inst. Osw. Cruz.



- 1864 — *Gilchristia dermatitidis*. Det. por Norman Conant.  
1875 — *Aspergillus amstelodami*. Det. por Vicente Mayor.  
1876 — *Penicillium notatum*. Det. por Vicente Mayor.  
1886 — *Cladosporium wernecki*. Det. por Amadeu Cury.

---

*Produtos derivados do timbó*

Com o nome de timbó são conhecidas algumas espécies vegetais pertencentes ao gênero *Derris*, cujas raízes têm notável ação inseticida, muito aproveitada para vários fins, ação esta que corre por conta do princípio ativo aí encontrado — a *rotenona*.

Fizemos algumas experiências com rotenona e “Timbopó” (nome comercial dado às raízes de timbó finamente pulverizadas).

A rotenona, princípio ativo do timbó, apresenta-se sob a forma de cristais brancos inodoros, solúveis no éter, álcool, acetona, tetracloreto de carbono, clorofórmio e outros solventes orgânicos; insolúvel na água. É um poderoso inseticida, inócuo para mamíferos e aves mas altamente tóxico para peixes, sendo por isso mesmo o timbó muito usado em certas regiões do país, para pescarias.

Fomos levados a experimentar o timbó e seu princípio ativo, a rotenona, não somente pelas conhecidas qualidades inseticidas mas também pelo fato de não termos encontrado referências à sua ação sobre os acarianos que infestam culturas. Quanto à ação sobre outros acarianos, são bem conhecidos os efeitos que exercem sobre acarianos produtores de dermatoses.

Num tubo infestado com *Tarsonemus*, foi colocada uma grande quantidade de rotenona, o bastante para formar uma película relativamente espessa sobre toda a superfície interna do tubo. O tubo foi em seguida fechado com rólha de cortiça e depois parafinado, a fim de que não pudesse haver possibilidade de reinfestação. Os acarianos não mostraram a menor alteração, quer em seus movimentos, quer em sua reprodução; o tubo foi observado várias vezes ao dia durante 15 dias, sem que os acarianos sentissem a influência da droga, embora forçados a comer cogumelos envolvidos em rotenona. Terminados os 15 dias, o tubo continuou em observações intermitentes por mais de um mês e não foi observada qualquer influência sobre os acarianos, então em muito maior número.

Numa placa contendo meio de cultura, foram colocados numerosos *Tyroglyphus*, sendo a superfície do meio recoberta depois com “Timbopó”. A

placa foi fechada com esparadrapo e as menores fendas parafinadas. Os acarídeos não sentiram o menor efeito do produto, sendo prolongada a observação, com os mesmos resultados, durante 20 dias, findos os quais não só tinham aumentado de número, como também era enorme a quantidade de ovos sobre o meio de cultura.

Embora só tivéssemos feito estas duas experiências, seus resultados foram tão nítidos que podemos concluir que o timbó e seus produtos derivados, reputados excelentes inseticidas, não têm ação eficiente no combate aos acarídeos que infestam culturas.

#### *Dicloro-difenil-tricloroetano*

O dicloro-difenil-tricloroetano, mais conhecido pela sua abreviatura de DDT é o inseticida da atualidade.

Foi preparado pela primeira vez por ZEIDLER em 1874 condensando o monocloro-benzeno com cloral em presença de ácido sulfúrico concentrado. Segundo WASICKY e UNTI (28) o DDT em solução no álcool etílico cristaliza sob forma de agulhas finas e incolores, funde-se a 103-105°C, não se volatiliza na temperatura ambiente e resiste a diversos agentes físicos e químicos. Foi verificada a sua solubilidade nos seguintes solventes orgânicos: álcool metílico, álcool etílico, álcool isopropílico, éter de petróleo, querosene, éter etílico, paraldeído, acetona, acetato de etila, clorofórmio, tetraclorcarbono, benzeno, eucaliptol, óleo etéreo de laranja, óleo etéreo de sassafrás, óleo etéreo de gerânio, óleo etéreo de terebintina, óleo de amendoim, óleo de algodão e óleo de rícino; a maior solubilidade foi obtida com o benzeno, seguindo-se a acetona e o óleo etéreo de sassafrás.

A experimentação do DDT no combate aos acarídeos tornava-se necessária porque, além de ser um poderoso inseticida, possui uma das qualidades que julgamos básicas para a eliminação da praga: ação residual.

Utilizamos o DDT puro e nas seguintes soluções: a 1% e 2% em álcool absoluto, 1%, 2% e 3% em querosene, 2% em éter etílico e 2% em flite e

Para ver a possível ação tóxica do DDT sobre cogumelos, selecionamos 39 amostras de culturas de vários gêneros, fizemos repiques dessas culturas em meios apropriados e sobre o repique despejamos pequena quantidade (cerca de 0,5 grama) de DDT puro; foram feitos testemunhos de todos os tubos. As amostras de culturas de cogumelos que utilizamos nesta experiência foram as seguintes; ns. 19, 76, 90, 107, 108, 120, 172, 252, 254, 295, 318, 319, 321, 331, 338, 339, 382, 386, 465, 487, 600, 634; 635; 660; 665; 730; 735; 870, 941, 946, 948, 949, 962, 1757, 1768, 1854, 1876 e 1886. O crescimento



se processou igualmente tanto nas culturas em prova como nos testemunhos; apenas nas primeiras surgiram contaminações nas culturas de ns. 339, 465, 946, 949 e 962, produzidas por bactérias e cogumelos diversos.

Foram feitas várias experiências para verificar a ação do DDT sobre os acarianos, dentre as quais destacamos as seguintes.

Num tubo de cultura infestado por *Tarsonemus* foi colocado no fundo, 0,1 de c.c. duma solução a 2% de DDT em querosene (0,002 de droga). O tubo foi observado e verificou-se a morte dos acarianos no fim de 10 minutos. Esta experiência ficou destituída de valor, bem como as outras feitas com soluções de DDT em querosene, porque é sabido que o solvente utilizado é bastante eficiente contra os acarianos.

Num tubo de cultura infestado por *Tarsonemus* foi colocado no fundo, 0,1 de c.c. duma solução a 2% de DDT em éter etílico. O tubo foi observado e verificou-se a morte aparente de acarianos em 5 minutos.

A solução etérea tendo sido eficaz contra *Tarsonemus*, experimentamos sua ação contra *Tyroglyphus* e os resultados foram bem diferentes. Numa placa foi colocado um acariano adulto e na sua direção de marcha foi pingada uma gota da solução a 2% de DDT em éter. Logo que o acariano tocou na gota, imobilizou-se instantaneamente, ficando aparentemente morto, porém observado com grande aumento, conservava ainda movimentos internos; dois minutos depois começou a agitar as patas dianteiras, depois as posteriores e no fim de mais três minutos retomava os movimentos normalmente; foi observado durante 24 horas sem nada apresentar de anormal. Em vista destes resultados, fizemos prova ainda mais decisiva, com o fim de verificar a ação residual da substância sobre os acarianos.

Numa placa muito infestada por *Tyroglyphus*, despejamos certa quantidade da solução etérea de DDT a 2%, o suficiente para recobrir metade da superfície do meio; em seguida fechamos a placa e passamos esparadrapo em torno da mesma. Imediatamente depois, todos os acarianos tinham se imobilizado, notando-se perfeitamente os cristais do DDT formados sobre a superfície atingida pela solução. Vinte quatro horas depois não foram encontrados acarianos locomovendo-se mas quarenta e oito horas depois do início da experiência foram vistas formas jovens locomovendo-se perfeitamente a vontade; a observação prolongou-se por mais 5 dias, sendo notados muitos acarianos vivos, não somente sobre a superfície do meio atingida pela solução, como também fora dela; depois desse prazo o desenvolvimento dos cogumelos da placa começou a prejudicar a observação detalhada e, tendo ficado constatada a pouca ou nenhuma ação residual do DDT sobre os aca-

rianos, a placa deixou de ser observada durante 15 dias. Findo êste prazo, foi novamente observada e notaram-se acarianos em tôdas as fâses de desenvolvimento; a placa foi aberta e a superfície do meio totalmente recoberta com a solução etérea, voltando a ser fechada completamente com esparadrapo e parafina, para evitar qualquer possibilidade de penetração de acarianos; mesmo assim foram observados acarianos adultos vivos, 48 horas depois.

Destas experiências feitas com a solução etérea, pudemos concluir que a morte dos acarianos poderia ser devida mais a uma ação anestésiante provocada pelo éter, levada até a morte, do que mesmo devida à ação do DDT.

Num tubo de cultura infestado com *Tarsonemus*, foi colocado no fundo, 0,1 de c.c. duma solução a 2% de DDT em álcool absoluto; observado o tubo, verificou-se a morte dos acarianos em prazos que variaram entre 10 a 30 minutos. Pudemos apreciar um acariano sob a ação da droga. Nos primeiros 5 minutos o acariano começa a inquietar-se, movendo muito o capítulo; em seguida sua inquietação se manifesta pela marcha rápida, muitas vêzes circular; no fim de 15 minutos a marcha se torna mais incerta e por ocasiões fica prêso à parede do tubo pelas patas posteriores; depois a marcha fica mais incerta e finalmente coloca-se de lado, mexendo ainda com as patas, para finalmente se imobilizar totalmente passados 25 minutos.

Neste caso é bem possível que a ação tenha sido exercida pelo DDT porque fizemos experiências pingando uma gôta de solvente puro sôbre acarianos do gênero *Tarsonemus* e verificamos que êstes apenas se imobilizavam, assim mesmo mexendo com as patas, enquanto molhados com álcool; desde que estivessem secos, passavam a andar naturalmente, sendo observados durante 24 horas sem alteração.

Num tubo de cultura infestado por *Tarsonemus*, foram colocadas cinco gôtas duma solução a 2% de DDT em flite (produto comercial); ao se evaporar o flite, os acarianos se imobilizaram e aparentemente morreram no fim de 25 minutos. Experiência semelhante foi feita depositando uma gôta da solução sôbre dois *Tarsonemus*, numa lâmina, e a imobilidade total foi conseguida no fim de 25 minutos. A mesma solução, depositada sôbre acarianos do gênero *Tyroglyphus*, só se mostrou eficaz quando o acariano mergulhava no líquido, verificando-se a imobilidade total no fim de 3 a 4 horas.

Embora tenha sido verificada uma certa ação da solução sôbre os acarianos, acreditamos que o efeito deve ser atribuído ao solvente empregado que é um produto comercial contendo piretrina, querosene, etc., reconhecidos como tendo ação, por si sós, sôbre tais acarianos.



Não foram feitas experiências de fumigações com DDT porque não sendo este volátil à temperatura ambiente, seria necessário o emprego duma substância que o dissolvesse e que fôsse capaz de o dispersar em partículas tão finas a ponto de poderem passar através de rólhas de algodão. Mesmo em dissolução no freon e depois dispersado sob pressão (aerosol), cremos que tal penetração não se processa, sendo, no entretanto, interessante verificar este ponto.

Não foram também experimentadas soluções com outros solventes orgânicos porque a maior parte destes tem por si só uma ação acaricida, acrescido do fato de muitos serem tóxicos para os cogumelos.

As experiências que fizemos quanto à ação do DDT sobre os acarianos, não foram de molde a podermos confiar na ação de tal droga para destruí-los. Acresce ainda o fato de que, embora seja proclamada a inocuidade do DDT para o homem, experiências recentes têm demonstrado suas propriedades tóxicas para animais de laboratório quando administrado por várias vias, principalmente pela via digestiva, em doses pequenas e continuadas, determinando alterações para o lado do sistema nervoso e fígado; tais experiências foram feitas principalmente por NELSON e colaboradores (29) em 1944 e confirmadas por WASICKY e UNTI (28), no mesmo ano. Estes últimos autores chegam mesmo a dizer: "Pode-se esperar com toda a probabilidade acentuados efeitos acumulativos da droga. As administrações diárias de doses pequenas, e por longo tempo, a animais dar-nos-ão informações sobre este ponto. Entrementes, deve-se ter o máximo cuidado com aqueles que trabalharem muito tempo com a substância, em vista de existir a possibilidade de pequenas doses entrarem continuamente no organismo. O eventual emprêgo terapeutico deverá dedicar atenção especial sobre este ponto. Devido à elevada solubilidade lipídica do DDT, estarão ameaçados antes de tudo, os tecidos nervosos, o fígado e os rins."

#### *Xilol e toluol*

O xilol ou xileno tem a fórmula  $C_6H_4(CH_3)_2$  e é um líquido claro, incolor, tóxico, de odor característico e muito inflamável; é solúvel no álcool e no éter, sendo insolúvel nágua.

O toluol ou tolueno tem a fórmula  $CH_3C_6H_5$  e é um líquido incolor, inflamável e com cheiro de benzina. É solúvel no benzeno, álcool e éter, sendo insolúvel nágua.

Tanto o xilol (dimetil-benzeno) como o toluol (metil-benzeno) têm nítida ação sobre os acarianos, pois basta um simples contato do líquido para que os artrópodos morram. A ação se faz indistintamente sobre todas as

fases de evolução dos acarídeos. Os vapores de qualquer destas drogas quando estas são pingadas nas rólhas, são o bastante para matar os acarídeos contidos num tubo infestado.

Fizemos experiências isoladas para verificar a ação dessas duas drogas sobre os acarídeos e verificamos que ambas têm ação instantânea sobre os mesmos, sem prejudicar os cogumelos.

O emprêgo delas, porém, não é aconselhável por alguns motivos: são irritantes para a pele do operador, são muito inflamáveis e, principalmente, são muito caras.

### *Benzina*

A benzina ou éter de petróleo é uma mistura de vários dos constituintes mais leves do petróleo, sendo solúvel no álcool, éter, clorofórmio, benzeno e óleo fixos e voláteis. É também bastante inflamável.

Sua ação sobre os acarídeos que infestam culturas é quase idêntica à do xilol e do toluol e seu emprêgo não pode ser aconselhado quando se trabalha com grande número de culturas pelos mesmos inconvenientes que apontamos para as drogas precedentes.

### *Flite*

O flite (Flit) é um produto comercial reconhecido como bom inseticida, contendo querosene, formol, piretrina, etc.

Sua ação sobre os acarídeos é bastante eficiente conforme pudemos verificar pingando algumas gôtas no interior dum tubo infestado. É um produto que pode ser empregado no combate aos acarídeos apenas com o inconveniente de ter cheiro irritante e ser muito inflamável. É aconselhável, principalmente em vaporizações, para grandes ambiente, tais como salas, armários, etc.

### *Para-dicloro-benzeno*

As provas feitas com para-dicloro-benzeno foram de resultados muito rápidos e por isso fizemos experiências mais detalhadas, cujos resultados exporemos adiante.

O para-dicloro-benzeno tem por fórmula bruta  $C_6H_4Cl_2$ . apresenta-se sob a forma de cristais brancos, é volátil e de odor penetrante. Tem a densidade de 1.2675, funde a  $53^\circ C$ . e ferve a  $173.7^\circ C$ . É solúvel em álcool, benzeno, éter, clorofórmio, bi-sulfureto de carbono e ligroina; é praticamente insolúvel nágua. Deriva-se da cloração do mono-cloro-benzeno.



O para-dicloro-benzeno é considerado excelente inseticida e sua ação acaricida já foi demonstrada por vários autores. Foram feitas muitas experiências com o fim de apreciar devidamente sua ação sobre os acarianos e sobre os cogumelos. Também fomos levados a experimentá-lo, pelo seu notável poder de penetração, difundindo-se seus vapores em torno do local em que é colocado, por menores que sejam as fendas existentes. Em agricultura é mesmo usado para combater certas pragas que atacam as raízes de vegetais, tendo sido feitas experiências por LEPAGE e PIZA (30) que demonstram que o seu cheiro ativo pode ser facilmente percebido a 70 centímetros de profundidade do solo, depois de colocada uma certa quantidade (50 gr.) num pequeno sulco em torno do tronco dum vegetal.

1 — Num tubo bastante infestado com acarianos do gênero *Tarsonemus*, colocamos no fundo um cristal pequeno de para-dicloro-benzeno. Os acarianos, observados cinco minutos depois, conservavam seus movimentos. No fim de 25 minutos todos estavam completamente imóveis, aparentemente mortos e assim se conservando durante todo o tempo que durou a observação; examinando mais detidamente, constatamos que estavam todos mortos.

2 — Um casal de *Tyroglyphus*, apanhado em cópula, foi colocado numa placa e em torno do mesmo foram espalhados pequenos cristais de para-dicloro-benzeno; a droga teve ação imediata sobre os acarianos que pararam de se locomover, apenas mexendo com as patas; no fim de 8 minutos estavam completamente mortos.

3 — Num cristalizador com capacidade média de 5.300 c.c. foram colocadas 5 gramas de para-dicloro-benzeno num vidro de relógio. No mesmo cristalizador foram colocados três tubos infestados com *Tarsonemus* e duas placas infestadas com *Tyroglyphus*; o cristalizador foi fechado naturalmente, sem ficar completamente vedado, e deixado na temperatura ambiente (aproximadamente 28°C.) As placas e os tubos haviam sido previamente examinados, encontrando-se acarianos em tôdas as fases de desenvolvimento; os tubos tinham as rôlhas de algodão queimadas e introduzidas, como habitualmente, e as placas estavam embrulhadas em papel manilha. Seis horas depois, todos os acarianos das placas foram encontrados imóveis, a maior parte morta e os adultos, principalmente as fêmeas grávidas, ainda agitavam levemente as patas; foram encontrados casais em cópula, porém sem nenhum sinal de vida: nem agitação das patas, nem movimentos internos. A ação da droga parece ser paralisante, sem excitação inicial, porque do contrário haveria separação dos casais, o que nem sempre era verificado. Uma das placas foi retirado do cristalizador para ver se os acarianos recobravam os movimentos ou se havia eclosão de ovos; os acarianos aparentavam estar mortos,



não readquiriram mais os movimentos e 48 horas depois foram encontradas larvas recém-nascidas, o que prova que a concentração e o tempo de exposição (6 horas), não tiveram ação sobre os ovos. Os tubos, examinados no mesmo prazo, apresentavam acarianos vivos, na sua totalidade, embora sem saírem do lugar em que se encontravam. Vinte e quatro horas depois do início da experiência, todos os acarianos dos tubos e placas estavam mortos.

4 — Para determinar a quantidade mínima de para-dicloro-benzeno necessária para matar os acarianos durante 16 horas (uma noite), num determinado volume de recipiente e à temperatura média do laboratório (25 a 28°C.), colocamos numa série de cristalizadores com a capacidade de 5.300 c.c., quantidades crescentes de para-dicloro-benzeno e em cada um, tubos e placas infestados com acarianos. Os resultados podem ser resumidos no seguinte quadro:

#### QUADRO I

*Determinação da quantidade mínima de para-dicloro-benzeno necessária para causar a morte de acarianos, em 16 horas, e a 25-28°C.*

<i>Cristalizador</i>	<i>Quantidade de droga</i>	<i>Concentração aproximada</i>	<i>Resultados</i>
1	0,052 gr.	0,001 %	<i>Tarsonemus</i> dos tubos vivos. <i>Tyroglyphus</i> dos tubos vivos mas imóveis. <i>Tyroglyphus</i> das placas: maior parte anestesiada.
2	0,260 gr.	0,005 %	Todos os acarianos mortos.
3	0,530 gr.	0,010 %	Idem.
4	0,800 gr.	0,015 %	Idem.
5	1,060 gr.	0,020 %	Idem.
6	1,330 gr.	0,025 %	Idem.
7	2,650 gr.	0,050 %	Idem.
8	3,980 gr.	0,075 %	Idem.

5 — Verificada a ação letal dos vapores de para-dicloro-benzeno sobre os acarianos, aliás confirmando as experiências de PEASE e CROWELL, resolvemos fazer experiências com o fim de verificar a possível ação tóxica da droga sobre grande número de cogumelos, já que os citados autores, que mais detalhadamente se ocuparam do assunto não se referiram às amostras de cogumelos com as quais trabalharam; PEASE não diz com que quantidade nem

com que amostras trabalhou e CROWELL limita-se a declarar que trabalhou aproximadamente com 200 amostras de cogumelos de várias espécies.

Os resultados das experiências que fizemos com o fim de determinar até que ponto chegava a inocuidade do para-dicloro-benzeno para os cogumelos são resumidos no quadro II, do qual passaremos a dar uma explicação para que possam ser interpretados os resultados a que chegamos. Cada coluna do referido quadro contém um número entre parêntesis, correspondendo ao número da experiência.

Nas experiências de números 1 a 12 inclusive foram utilizados cristalizadores de vidro, de capacidade média de 5.300 c.c., dentro dos quais foi colocado o para-dicloro-benzeno em quantidades adequadas para cada prova, num vidro de relógio ou na tampa duma placa de Petri. A seguir foram colocados os tubos com repiques feitos na ocasião, de culturas pertencentes à micoteca, perfeitamente desenvolvidas e viáveis, o que foi controlado por meio de testemunhas; as rólhas de algodão foram queimadas e introduzidas nos tubos. Os cristalizadores foram tampados por meio de papel impermeável, sólidamente amarrado nos bordos dos recipientes.

Para as experiências de números 1 a 7 inclusive, os vapores da droga agiram sobre as culturas durante 1, 3, 6, 11, 18, 23 e 55 dias respectivamente, tendo se processado a evaporação completa da droga no fim desses dias. Os resultados das experiências de 1 a 7 inclusive estão representados sob a forma de frações ordinárias, nas quais o numerador é sempre "+" ou "0", indicando o primeiro sinal que houve desenvolvimento e o segundo, que não houve desenvolvimento; o denominador indica o número de dias necessários para que se iniciasse o desenvolvimento da cultura, depois de cessada a ação dos vapores de para-dicloro-benzeno. Assim, por exemplo, na experiência número 1 com a cultura n.º 735 lemos: +/2d.; isto significa que houve desenvolvimento da cultura dois dias depois de cessada a ação dos vapores da droga. Na experiência n.º 2 com a mesma cultura lemos: +/0d.; isto significa que houve desenvolvimento da cultura antes mesmo da droga ter se evaporado completamente. Na experiência n.º 7 com a cultura n.º 730 lemos: 0/16d., significando que não houve desenvolvimento do cogumelo depois de cessada a ação dos vapores da droga, numa observação de 16 dias.

Para as experiências 8, 9 e 10 os vapores de para-dicloro-benzeno atuaram durante 5 dias sobre as culturas; no fim deste prazo as culturas foram retiradas dos cristalizadores e colocadas no meio ambiente, livre da ação da droga. O resultado é expresso do mesmo modo que para as experiências de números 1 a 7, sendo o denominador da fração representado pelo número de dias em que se iniciou o desenvolvimento, a partir da retirada das culturas dos cristalizadores.



Para a experiência n.º 11 os vapores de para-dicloro-benzeno atuaram sobre as culturas durante 70 dias e como no fim desse prazo a droga não se evaporasse totalmente, as culturas foram retiradas do cristizador e deixadas na temperatura ambiente. A leitura dos resultados pode ser feita semelhantemente à das experiências precedentes.

Para a experiência n.º 12 a quantidade de para-dicloro-benzeno utilizada foi muito grande, produzindo uma fortíssima saturação no interior do cristizador; as culturas permaneceram sob a ação da droga durante seis dias e findo este prazo foram retiradas e deixadas no meio ambiente. A leitura dos resultados pode ser feita de modo idêntico às das experiências precedentes.

Nas experiências de números 12 e 13 utilizamos como recipiente uma lata com a capacidade média de 16.000 c.c. no interior da qual foi colocada uma placa contendo 40 gramas de para-dicloro-benzeno; uma outra placa foi colocada, contendo algodão umedecido. As culturas perfeitamente desenvolvidas foram então colocadas no interior da lata e esta fechada completamente, vedada com esparadrapo. Note-se que foram colocadas culturas já desenvolvidas. As culturas assim permaneceram a 24°C. durante 14 dias (a maior parte) ou 21 dias. Findos esses prazos as latas foram abertas e feitos repiques de todas as culturas para meios apropriados. Os resultados foram também representados sob a forma de frações ordinárias; o numerador indica se houve ou não desenvolvimento das subculturas (+ ou O); o denominador indica o número de dias em que se iniciou o desenvolvimento das subculturas.

Na experiência de n.º 15 o para-dicloro-benzeno foi colocado sobre repiques recém-feitos, na quantidade média de 1 grama por tubo; a observação se prolongou durante 30 dias. Os resultados foram apenas expressos pelos sinais + ou O; em alguns casos os resultados foram expressos sob a forma de frações ordinárias nas quais o denominador indicava ter havido contaminações.

Pelo exame atento dos resultados das 15 experiências feitas pode-se perfeitamente perceber que na maior parte dos casos os cogumelos não se desenvolvem enquanto estão submetidos à ação do para-dicloro-benzeno; em alguns casos, quando a concentração da droga foi muito grande ou a exposição das culturas muito demorada, não houve desenvolvimento. De todas as experiências feitas pudemos concluir que o para-dicloro-benzeno, na dose e exposição necessárias para matar os acarídeos, não é prejudicial aos cogumelos, apenas retardando o desenvolvimento dos mesmos. Algumas culturas não se desenvolveram, sendo difícil explicar o motivo, visto como em concentrações maiores houve desenvolvimento. Os dermatófitos foram os cogu-

melos que se mostraram mais sensíveis à ação da droga em altas concentrações.

A conclusão final a tirar das experiências que fizemos, é de que o para-dicloro-benzeno pode ser perfeitamente utilizado no combate aos acarianos, preenchendo a maior parte dos requisitos exigidos. Mesmo a sua ação tóxica para os mamíferos, citada por alguns autores, não deve ser levada em conta porque a concentração necessária para que se verifique esta ação é inferior àquela com a qual se trabalha; é assim que CAMERON, THOMAS, et al. (31) verificaram que as doses e concentrações de orto-dicloro-benzeno, em inalações, necessárias para causar a morte de animais de laboratório é inferior àquelas com as quais trabalhamos; mais adiante declaram que a toxicidez do para-dicloro-benzeno é muito menor do que a do orto-dicloro-benzeno.

O quadro a seguir resume os resultados das principais experiências feitas com para-dicloro-benzeno.



RESUMO DA AÇÃO DO PARA-DICLOROBENZENO SÔBRE COGUMELOS, EM VÁRIAS CONCENTRAÇÕES E EM TEMPO VARIÁVEL.

CONCENTRAÇÃO E RESULTADOS DAS EXPERIÊNCIAS

NÚMEROS DAS CULTURAS	0,01 em 1000 c. c. 1 dia (1)	0,05 em 1000 c. c. 3 dias (2)	0,10 em 1000 c. c. 6 dias (3)	0,15 em 1000 c. c. 11 dias (4)	0,20 em 1000 c. c. 18 dias (5)	0,25 em 1000 c. c. 23 dias (6)	0,50 em 1000 c. c. 55 dias (7)	0,75 em 1000 c. c. 5 dias (8)	1,00 em 1000 c. c. 5 dias (9)	1,25 em 1000 c. c. 5 dias (10)	1,50 em 1000 c. c. 70 dias (11)	SATURAÇÃO 6 dias (12)	SATURAÇÃO 14 dias (13)	SATURAÇÃO 21 dias (14)	INCORPORADO AO MEIO 30 dias (15)
16	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+2d.	—	—
19	+2d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+2d.	+2d.	+cont.
25	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+2d.	—	—
29	—	+1d.	+3d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0/40d.	—
58	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+2d.	—
63	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+2d.	—	—
65	+2d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+1c.	—	—
68	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+1d.	—
71	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+8d.	—
76	+2d.	+1d.	+1d.	+1d.	+1d.	+2d.	+2d.	+1d.	+1d.	+2d.	0/15d.	+1d.	+1d.	+1d.	+
90	+5d.	+3d.	+4d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0/47d.	—	+
97	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+1d.	—
100	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+2d.	—	—
102	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+5d.	—	—
107	+3d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+2d.	—	+
108	+4d.	+2d.	+3d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0/47d.	—	+cont.
111	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+2d.	—	—
112	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+2d.	—	—
113	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+2d.	—	—
118	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+1d.	—	—
120	+2d.	+2d.	+2d.	+4d.	0/40d.	+3d.	0/15d.	+3d.	+2d.	+2d.	0/15d.	+2d.	+1d.	+1d.	0
122	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+1d.	—
124	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+2d.	—	—
126	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+4d.	—	—
146	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+2d.	—	—
172	+2d.	+1d.	+1d.	+1d.	+1d.	+1d.	+1d.	+2d.	+2d.	+1d.	0/15d.	+1d.	+2d.	—	+
179	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+2d.	—	—
219	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+1d.	—	—
222	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+2d.	—	—
252	+2d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+1d.	—	+cont.
254	+3d.	+0d.	+2d.	+2d.	+2d.	+2d.	+2d.	+2d.	+2d.	+1d.	0/15d.	+2d.	+2d.	—	+
266	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+2d.	—	—
269	+3d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
293	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+2d.	—	—
295	+2d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+2d.	—	+
305	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+2d.	—	—
308	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+2d.	—	—
319	+4d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+4d.	—	+cont.
321	+2d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+1d.	—	0
331	+2d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+2d.	—	+
335	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+1d.	—

CONCENTRAÇÃO E RESULTADOS DAS EXPERIÊNCIAS

NÚMEROS DAS CULTURAS	0,01 em	0,05 em	0,10 em	0,15 em	0,20 em	0,25 em	0,50 em	0,75 em	1,00 em	1,25 em	1,50 em	SATU-	SATU-	SATU-	INCORPO-
	1000 c. c.	1000 c. c.	1000 c. c.	1000 c. c.	1000 c. c.	1000 c. c.	1000 c. c.	1000 c. c.	1000 c. c.	1000 c. c.	1000 c. c.	RAÇÃO	RAÇÃO	RAÇÃO	RADO AO
	1 dia	3 dias	6 dias	11 dias	18 dias	23 dias	55 dias	5 dias	5 dias	5 dias	70 dias	6 dias	14 dias	21 dias	30 dias
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)	(12)	(13)	(14)	(15)
338	+2d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+1d.	—	+cont.
339	+2d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+1d.	—	+
341	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+1d.	—	+
382	+2d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+1d.	—	+
386	+2d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+1d.	—	+
418	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+1d.	—	—
433	+2d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
457	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+2d.	—	—
465	+2d.	+2d.	+2d.	+2d.	+2d.	+2d.	+2d.	+2d.	+2d.	+2d.	+4d.	+2d.	+2d.	—	+
472	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+1d.	—	—
484	+2d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
487	+2d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+1d.	—	+
499	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+1d.	—	—
518	—	+1d.	+2d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0/47d.	—	—
546	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+2d.	—	—
600	+4d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+5d.	C/40d.	+cont.
634	+4d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+2d.	—	+
635	+2d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+1d.	—	+
656	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+2d.	—	—
660	+2d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+1d.	—	+cont.
677	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+2d.	—	—
694	—	+2d.	+2d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0/47d.	—	—
698	—	+2d.	+3d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0/47d.	—	—
712	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+2d.	—	—
723	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+2d.	—	—
730	+3d.	+3d.	+3d.	+3d.	+3d.	+2d.	0/16d.	+3d.	+7d.	+3d.	0/15d.	+3d.	+7d.	—	0
735	+2d.	+0d.	+1d.	+2d.	+2d.	+2d.	+2d.	+1d.	+1d.	+1d.	C/15d.	+2d.	+1d.	—	+
742	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+2d.	—
789	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+2d.	—
798	—	+7d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0/47d.	—	—
861	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+3d.	—
862	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+3d.	—
865	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+4d.	—	—
867	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+2d.	—	—
870	0/35d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+5d.	—	+
898	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+6d.	—	—
941	+2d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+2d.	—	+
946	+3d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+5d.	—	+cont.
949	+4d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+7d.	—	+cont.
953	+4d.	—	+2d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
962	+2d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+2d.	—	+
971	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+1d.	—	—
1035	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+2d.	—
1056	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+2d.	—	—
1061	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+7d.	—	—

Leão, Mello e Mayor: Acarianos infestadores de culturas de cogumelos 597



## CONCENTRAÇÃO E RESULTADOS DAS EXPERIÊNCIAS

NÚMEROS DAS CULTURAS	0,01 em 1000 c. c.	0,05 em 1000 c. c.	0,10 em 1000 c. c.	0,15 em 1000 c. c.	0,20 em 1000 c. c.	0,25 em 1000 c. c.	0,50 em 1000 c. c.	0,75 em 1000 c. c.	1,00 em 1000 c. c.	1,25 em 1000 c. c.	1,50 em 1000 c. c.	SATU- RAÇÃO	SATU- RAÇÃO	SATU- RAÇÃO	INCORPO- RADO AO MEIO 30 dias
	1 dia (1)	3 dias (2)	6 dias (3)	11 dias (4)	18 dias (5)	23 dias (6)	55 dias (7)	5 dias (8)	5 dias (9)	5 dias (10)	70 dias (11)	6 dias (12)	14 dias (13)	21 dias (14)	30 dias (15)
1062	+/3d.	+/1d.	+/3d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1113	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+/2d.	—	—
1176	—	+/5d.	+/5d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0/47d.	—	—
1182	—	+/5d.	+/8d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0/40d.	—
1294	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+/3d.	—
1300	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+/2d.	—	—
1330	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+/2d.	—
1356	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+/1d.	—
1471	+/2d.	+/0d.	+/0d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1488	0/35d.	+/3d.	+/5d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1492	+/3d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1501	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+/1d.	—	—
1520	+/2d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+/1d.	—	—
1523	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+/3d.	—
1535	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+/1d.	—
1600	+/2d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1654	—	+/4d.	+/5d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0/47d.	—	—
1671	—	+/2d.	+/2d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0/47d.	—	—
1679	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+/1d.	—	—
1728	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+/2d.	—
1757	+/3d.	+/1d.	+/1d.	+/1d.	+/1d.	+/1d.	0/16d.	+/4d.	+/4d.	+/5d.	0/15d.	+/1d.	+/1d.	—	+
1762	—	+/5d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0/47d.	—	+
1768	+/2d.	+/0d.	+/0d.	+/0d.	+/0d.	+/0d.	+/0d.	+/0d.	+/0d.	+/0d.	+/0d.	+/0d.	+/1d.	—	+
1774	+/2d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
1797	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+/7d.	—	+
1816	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+/1d.	—	+
1819	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+/2d.	+
1854	+/4d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+/2d.	—	+
1864	+/4d.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+/4d.	—	+
1875	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+/2d.	—	+
1876	+/2d.	+/1d.	+/1d.	+/1d.	+/1d.	+/2d.	0/16d.	+/2d.	+/2d.	+/2d.	0/15d.	+/1d.	+/2d.	—	+
1886	+/3d.	+/3d.	+/3d.	+/2d.	+/2d.	+/2d.	+/2d.	—	—	—	+/5d.	+/3d.	+/4d.	—	+

Feitas as experiências constantes do quadro precedente, resolvemos utilizar o para-dicloro-benzeno em larga escala para a destruição dos acarianos. Foi feita uma nova revisão mais rigorosa na micoteca e os tubos infestados eliminados. Os armários foram saturados com vapores de para-dicloro-benzeno acondicionado em pequenas "bonecas" de gaze; a concentração média foi de 0,225 grs. de droga para 1.000 c.c. de capacidade dos armários (0.0225%). Infelizmente não foi possível eliminar os acarianos de sobre as mesas e teto da micoteca e, dada a falta de ação residual do para-dicloro-benzeno, novas infestações se verificaram, a despeito de todos os cuidados tomados, mas em escala bastante reduzida.

### Querosene

O querosene é um produto obtido da destilação do petróleo, sendo constituído duma mistura de hidrocarburetos.

Desde o início das pesquisas que realizamos, constatamos que as drogas experimentadas, quando dissolvidas em querosene, tinham uma nítida ação nociva sobre os acarianos; atribuímos mesmo a ação de muitas soluções mais ao solvente do que à droga. Isto acrescido ao fato de que sempre fora utilizado o querosene neste Laboratório, para o combate aos acarianos, levou-nos a pesquisar se a ação do querosene era realmente eficaz.

Num tubo intensamente infestado por *Tyroglyphus*, pingamos no interior algumas gotas de querosene puro. A morte dos acarianos se processou no fim de alguns minutos.

Na parte superior duma rôlha de algodão introduzida num tubo intensamente infestado por *Tyroglyphus*, foram pingadas cinco gotas de querosene puro. Os acarianos observados mostraram inicialmente grande agitação, immobilizando-se no fim de poucos minutos, para morrerem cerca de vinte a trinta minutos depois de pingadas as gotas.

A mesma experiência foi repetida num tubo infestado por *Tarsonemus*, com resultados idênticos.

Um disco de papel de filtro foi impregnado de querosene e sobre êle colocadas duas placas semeadas com cogumelos. Ao lado do disco, fora da ação do querosene, foram colocadas duas placas, semeadas nas mesmas condições. As placas colocadas sobre o disco de papel de filtro apresentaram desenvolvimento normal dos cogumelos, sem acarianos. As placas colocadas fora do papel de fitro apresentaram contaminações grosseiras e infestações pelos acarianos.

Quanto à ação do querosene sobre os cogumelos, ela é completamente nula, pois tôdas as culturas contidas em tubos cujas rôlhas foram préviam-

mente tratadas com querosene, desenvolveram-se perfeitamente. Para melhor apreciação do possível efeito inibidor do querosene sobre os cogumelos repicamos as culturas de números 90 — 108 — 518 — 694 — 698 — 953 — 1062 — 1176 — 1471 — 1488 — 1654 e 1671 e imediatamente depois pingamos sobre a rólha de algodão cinco gôtas de querosene puro: tôdas as culturas se desenvolveram normalmente. É interessante assinalar que sempre que foi empregado o querosene da maneira acima descrita, nunca foi registrado nenhum insucesso quanto ao desenvolvimento dos cogumelos.

É preciso que se note que a quantidade de querosene colocada na rólha não deve ser muito pequena, principalmente se a rólha fôr muito grande e apertada, pois do contrário não se dá a morte dos acarianos. Para verificarmos isto tomamos tubos de culturas bastante infestados com *Tyroglyphus* e *Tarsonemus* e em cada um deles colocamos pequenas gôtas de querosene, deixadas cair da ponta duma pipeta estirada. Verificamos, assim, que até 10 gôtas de querosene não eram suficientes para matar os acarianos em 24 horas mas bastavam cinco gôtas pingadas com um vidro conta-gôtas para que fôsse verificada a morte.

Tendo sido constantes os resultados das experiências que fizemos com o querosene: inocuidade para os cogumelos e ação tóxica acentuada sobre os acarianos, voltamos a utilizar tal produto no combate aos acarianos, pingando sistematicamente algumas gôtas sobre a rólha de algodão de todos os tubos de cultura da micoteca e em todos os novos repiques. Todos os armários, mesas e suportes foram umedecidos com querosene, sendo as placas colocadas sobre papel de filtro umedecido em querosene.

### *Naftalina*

A naftalina ou naftaleno tem a fórmula bruta  $C_{10}H_8$  e se apresenta sob a forma de lâminas brancas, cristalinas e voláteis. Sua densidade é de 1.145, funde a  $80,05^{\circ}C.$  e ferve a  $217,96^{\circ}C.$ ; é solúvel em benzeno, álcool absoluto e éter, sendo insolúvel nágua. Pode ser apresentada no comércio sob a forma de lâminas, blocos, cubos, grânulos, pó, tabletes, etc.

Em virtude de seu odor muito forte e de suas propriedades inseticidas, a naftalina é muito usada como inseticida doméstico; nas coleções entomológicas é muito usada para evitar o ataque de insetos e acarianos. Resolvemos experimentá-la não somente por êsses motivos como também pelo fato de haver NEGRONI se utilizado dela no combate aos acarianos que infestam culturas, sem prejuízos para os cogumelos.

Em vários tubos e placas infestados por *Tyroglyphus*, foram colocados no interior, sobre o meio de cultura, pequenos fragmentos de naftalina co-



mercial em bolas. Em 5 minutos houve imobilidade dos acarianos e morte no fim de mais 5 a 10 minutos. Idênticos resultados foram obtidos em culturas infestadas por *Tarsonemus*.

Em quatro tubos infestados por *Tyroglyphus* foram colocados sobre a rôlha de algodão, pequenos fragmentos de naftalina comercial, na quantidade média de 1gr. por tubo. Os tubos foram deixados na temperatura ambiente de um dia para outro (16 horas). Todos os acarianos morreram.

Num cristalizador foi colocada grande quantidade de naftalina (30 grs). e tubos com culturas perfeitamente desenvolvidas das seguintes amostras de cogumelos: 29 — 90 — 105 — 108 — 318 — 518 — 694 — 698 — 798 — 953 — 1062 — 1176 — 1471 — 1488 — 1654 — 1671 e 1762. Estas culturas foram as escolhidas por terem sido das que se mostraram mais sensíveis à ação de para-dicloro-benzeno em altas concentrações. O cristalizador foi hermeticamente fechado e deixado à temperatura de 24°C durante 7 dias. As culturas foram então repicadas em meios apropriados e deixadas livres da influência da naftalina. Tôdas as culturas se desenvolveram, com exceção das de número 105 — 798 — 1671 e 1762. (A cultura de n.º 105 estava morta por essa ocasião, conforme verificamos por meio duma testemunha). A possibilidade de ser a naftalina impediente, quando em altas doses, levou-nos a fazer outras experiências.

Foram feitos repiques das culturas de números 90 — 108 — 518 — 694 — 698 — 953 — 1062 — 1176 — 1471 — 1488 — 1654 e 1671. Sobre a rôlha de algodão foram depositados fragmentos de naftalina (0,5 gr.). Foi feita a observação das culturas durante 10 dias consecutivos; nasceram as culturas de números 518 — 1062 — 1471 e 1671; as outras não nasceram dentro desse prazo.

Com as mesmas culturas da prova anterior, empregamos uma mistura de naftalina, éter e querosene (2:5:10), pingando cinco gôtas desta sobre as rôlhas de algodão. A observação prolongou-se durante 10 dias. Nasceram as culturas de números 108 — 518 — 694 — 698 — 953 — 1062 — 1176 — 1471 e 1671; as outras não nasceram. Verificamos que à proporção que se dava a evaporação da mistura, os cogumelos começavam a crescer, mas sempre, em período de tempo maior do que o das testemunhas.

Das experiências feitas concluímos que a naftalina também é impediente para alguns cogumelos, mesmo em pequenas doses. Espalhada nos armários, entretanto, não chega a impedir o desenvolvimento dos cogumelos, mas tem uma poderosa ação afugentadora dos acarianos e até mesmo mortal.

Empregamos então a naftalina pura ou na mistura acima, espalhada nos armários e suportes, sendo então o efeito sobre os acarianos muito maior pela associação do querosene e da naftalina.

Em virtude dos resultados obtidos, passamos a empregar a naftalina sistematicamente no combate aos acarianos, associada ao querosene. Todos os suportes passaram a receber no fundo, naftalina pulverizada; quando isto não era possível, pela conformação do suporte, eram estes embebidos na mistura acima citada; sobre as prateleiras dos armários foi espalhada naftalina. Nas rólhas de algodão dos tubos passaram a ser pingadas sistematicamente algumas gotas de querosene puro, com um vidro conta-gotas. As placas de isolamento passaram a ser colocadas sobre papel de filtro molhado com a mistura de naftalina, éter e querosene (2:5:10), sendo a presença do éter apenas necessária para facilitar a dissolução da naftalina no querosene.

Os resultados obtidos foram excelentes, diminuindo progressivamente a quantidade de acarianos no laboratório, até que não passaram mais a constituir um problema.

### CONCLUSÕES

A infestação da micoteca do Instituto Oswaldo Cruz foi produzida por acarianos dos gêneros *Tyroglyphus* e *Tarsonemus*, provavelmente o *Tyroglyphus longior* e o *Tarsonemus floricolus*.

Para a eliminação dos acarianos foram afastados de início todos os processos que, embora eficazes contra os acarianos, eram nocivos aos cogumelos e ao próprio operador, como enxofre, ácido fênico, clorofórmio, salicilato de metila, tetracloreto de carbono, piridina.

Foram experimentados o timbó e seu princípio ativo — a retenona, o dicloro-difenil-tricloroetano (DDT), o xilol, o toluol, a benzina, o "Flit", o para-dicloro-benzeno, a naftalina e o querosene.

O timbó e a rotenona não matam os acarianos.

O DDT puro também não os destrói. Uma solução de DDT em éter, "Flit" ou querosene, mata os acarianos mas a ação é do solvente. Por sua vez o DDT parece não ser de todo inócuo para o homem.

O xilol, o toluol, a benzina e o "Flit" matam instantaneamente o acariano e não prejudicam o crescimento do cogumelo, mas o seu emprego em grande escala é caro e, sendo substâncias muito inflamáveis, tornam-se perigosas quando aplicadas em vaporizações.



O para-dicloro-benzeno também mata rapidamente os acarianos mas, em doses fortes, com saturação do ambiente, impede o crescimento das culturas, podendo provocar o pleomorfismo desta e dificultar a esporulação. Experimentado em larga escala e na dose útil de 0gr., 225 por litro de capacidade, destruiu os acarianos. Embora não tenha ação residual para impedir novas infestações, o para-dicloro-benzeno pode ser aconselhado no combate aos acarianos, preenchendo quase todos os requisitos exigidos. A dose útil empregada está muito aquém da dose tóxica.

A naftalina em ambiente saturado impede o crescimento dos cogumelos e mata rapidamente os acarianos. Não é aconselhável sua aplicação nas rólhas dos tubos de cultura, quer pura quer dissolvida em éter. Nos armários e suportes sua aplicação é útil, pois mata os acarianos que estão na superfície dos mesmos, mantendo uma ação residual até completa evaporação.

O querosene mata rapidamente os acarianos não só por contato direto como pelos seus vapores. Basta colocar algumas gotas (4-5) externamente nas rólhas para matar todos os acarianos que infestam as tubos. Em 10 a 15 minutos todos os adultos ficam paralisados e morrem; os ovos, larvas e ninfas não mais evoluem. A sua aplicação nas mesas, suportes e armários mata com rapidez todos os acarianos. As placas de culturas podem ser mantidas indemnes de qualquer infestação desde que sejam colocadas sobre papel de filtro embebido de querosene. O querosene não tem nenhuma ação prejudicial ao crescimento do cogumelo e não altera sua morfologia.

Concluimos ser o querosene o melhor agente para exterminar os acarianos infestadores de culturas de cogumelos: é de baixo custo; não tem ação tóxica quer para o cogumelo quer para o homem; tem certa ação residual pois a sua evaporação é lenta; tem ação rápida sobre os acarianos, pois os seus vapores os matam em curto prazo; tem ação idêntica sobre todas as fases de evolução dos acarianos; finalmente é de aplicação fácil pois bastam algumas gotas externamente nas rólhas para matar todos os acarianos existentes no interior dos tubos e impedir novas infestações.

## SUMÁRIO

São resumidas as referências encontradas na literatura sobre infestações de acarianos em culturas de cogumelos e as dificuldades encontradas para exterminá-los. Descrevem-se com detalhes as características das culturas infestadas que permitem a suspeita e mesmo certeza de infestação pela simples observação da cultura. É feito um estudo sobre a morfologia, evolução e hábitos dos acarianos que infestaram a micoteca do Instituto Oswaldo Cruz,



provavelmente *Tyroglyphus longior* e *Tarsonemus floricolus*. São descritas as experiências feitas com várias drogas no sentido de combater os acarídeos. Finalmente os autores aconselham o uso do querosene em larga escala não só para matar os acarídeos como também para evitar novas infestações. O querosene deverá ser pingado externamente nas rôlhas de algodão dos tubos de cultura e aplicado largamente sobre suportes, mesas, armários, etc.; as placas de Petri deverão ser colocadas sobre papel de filtro embebido em querosene.

### CONCLUSIONS

The infestation of the fungi culture collections of the Instituto Oswaldo Cruz was caused by mites belonging to the genera *Tyroglyphus* and *Tarsonemus*, probably *Tyroglyphus longior* and *Tarsonemus floricolus*. All the methods, efficient against the mites but harmful to the fungi and to the operator, e.g., sulfur, phenol, chloroform, methyl salicylate, carbon tetrachloride and pyridine, were put aside.

"Timbó" and its active principle rotenone, dichloro-diphenyltrichloroethane (DDT), xylene, toluene, benzene, "Flit", para-dichlorobenzene, naphthalene and kerosene were experimented.

"Timbó" and rotenone do not kill the mites, the same occurring with pure DDT. A solution of DDT in ether, "Flit" or kerosene kills the mites but the solvents are responsible for that. Furthermore DDT do not seem to be entirely harmless to man.

Xylene, toluene, benzene and "Flit" kill the mites instantaneously and do not inhibit the growth of the fungi, but its use in large scale becomes expensive and as they are very inflammable substances, are dangerous when vaporized.

Para-dichlorobenzene also kills rapidly the mites, but in large doses and in saturated atmosphere, it is inhibitory to the fungi. Furthermore p-dichlorobenzene in such concentration may determine pleomorphism and difficult sporulation of the cultures. The drug has been experimented thoroughly in this laboratory and in optimum doses of 0.225 g. per 1000 destroyed the mites. Though without residual action to prevent new infestations it may be indicated in combating the mites as it possesses almost all the required conditions. The optimum dose is far from the toxic dose.

Naphthalene in saturated atmosphere kills rapidly the mites but inhibits the growth of fungi. It is not advisable to apply it on the culture tube plugs, either pure or dissolved in ether. In culture cupboards and supports it is

useful for it kills the mites on the surfaces and maintains a residual action until complete evaporation.

Kerosene kills rapidly the mites, either by direct contact or by its vapours effects. It suffices to drop a few drops (4-5) externally on the culture tubes cotton plugs to kill all mites which infest the cultures. In 10 to 15 minutes all the adults become paralyzed and die; the development of eggs, larvae and nymphs is also paralyzed. Its use on tables, supports and cupboards kills rapidly all mites on the surface. Culture plates may be maintained free of any infestation since they are placed on filter paper soaked in kerosene. The drug does not have any harmful action on the fungi growth and does not change its morphology.

We conclude that kerosene is the best agent to exterminate the mites which infest the cultures of fungi. It is cheap; without toxic action either on fungi or to the operator; it possesses a residual action by its slow evaporation; its action against the mites is rapid, its vapours killing the mites in a short time; its action is identical on all phases of the mite development; finally it can be used very easily; a few drops put on the plugs are sufficient to kill all the mites inside the tubes and to prevent new infestations.

### SUMMARY

The references found in the literature on mite infested cultures of fungi and the difficulties found to eliminate such infestation are summarized.

The characteristics of the mite infested cultures, which permit the suspicion of infestation and even to have the certainty of this by the simple observation of the culture tube are described in detail.

The authors study the morphology, evolution and habits of the mites which infested the fungi collection of the Instituto Oswaldo Cruz. Such mites were probably *Tyroglyphus longior* and *Tarsonemus floricolus*. The experiments made with some drugs against the mites are described. The AA. recommend the use of kerosene either to kill the mites or to prevent new infestations. Kerosene should be dropped on the culture tubes cotton plugs (4-5 drops) and abundantly applied on supports, tables, cupboards, etc; Petri dishes should be placed on paper filter soaked in kerosene.

### BIBLIOGRAFIA

1 — MÉGNIN, P.

1873. Mémoire anatomique et zoologique sur un nouvel acarien de la famille des Sarcoptides -- Journal de l'Anatomie et de la Physiologie. T. IX, pag. 369.

- 2 — COSTANTIN, M. J.  
1893. Le Suisse (*Aphodius fimetarius*) et quelques autres insectes et acariens nuisibles au champignon de couche — Bulletin de la Société Mycologique de France — T. IX, pág. 84.
- 3 — COSTANTIN, M. J.  
1894. Le Tyroglyphus mycophagus, acarien nuisible au Champignon de Couche — Bulletin de la Société Mycologique de France — T. X., pág. 101.
- 4 — MÉGNIN, P.  
1895. Les parasites articulés.
- 5 — BERLESE, ANTONIO  
1897. Acari Myriopoda et Scorpiones hucusque in Italia reperta. Ordo Cryptostigmata.
- 6 — BANKS, NATHAM  
1915. The Acarina or mites — Report 108 — U. S. Department of Agriculture.
- 7 — JEWSON, SIBYL T. e TATTERSFIELD, F.  
1922. The infestation of fungus cultures by mites — The Annals of Applied Biology — Vol. IX, pág. 213.
- 8 — BERLESE, ANTONIO  
1925. Gli insetti — Vol. secondo.
- 9 — THOM, CHARLES e CHURCH, MARGARET B.  
1926. The Aspergilli.
- 10 — PUNTONI, V.  
1931. Infestation des cultures de champignons par des acariens du genre *Tarsonemus* — Préservation de ces cultures — Annales de Parasitologie humaine et comparée — T. IX, pág. 359.
11. — BARNES, B.  
1933. Laboratory devices. II — To protect cultures from mites — Trans. Brit. Mycol. Soc. Vol. 18, pág. 172. Citado por G. Smith, 1942.
- 12 — PAGE, A. B. P. e SHAFIK, M.  
1936. Control of mites on insect-stocks and on fungus cultures by means of fumigations. Bull. Soc. Roy. Entom. d'Égypte. Citado por G. Smith, 1942.
- 13 — PEASE, DOROTHY  
1937. The insect menace in the bacteriology laboratory — Journal of Bacteriology Vol. 33, pág. 619.
- 14 — NEGRONI, PABLO  
1938. Morfologia y biología de los hongos. Técnica micológica.
- 15 — SMITH, GEORGE  
1938. An introduction to industrial mycology — 1st. Ed.



- 16 — SMITH, GEORGE  
1942. An introduction to industrial mycology — 2d. Ed.
- 17 — HANSEN, H. N. e SNYDER, WILLIAM C.  
1939. Effective control of culture mites by mechanical exclusion — Science, volume 89, n.º 2311, pág. 350.
- 18 — EMMONS, C. W.  
1940. Fumigation of mite infested cultures of Fungi — Mycopathologia. Vol. II, fasc. 4, pág. 320.
- 19 — CROWELL, IVAN H.  
1941. Use of dichloricide in the control of scavenger mites in test tube cultures — Mycologia. Vol. XXXIII, n.º 1, pág. 137.
- 20 — EWING, HENRY ELLSWORTH  
1929. A Manual of External Parasites.
- 21 — ZACHWATKIN, A. A.  
1941. Arachnoidea, Acariens, Tyroglyphoides. Faune de l'U.R.S.S. 6, 1, 1941. Inst. Zool. Acad. Sci. Moscou. N.S. n.º 28-1941-XII + 475 pág. 705 fig.
- 22 — EALES, NELLIE B.  
1918. The life history and economy of the cheese mites — The Annals of Applied Biology — Vol. IV, 1917-1918, pág. 28.
- 23 — HIRST, STANLEY  
1922. Mites injurious to domestic animals.
- 24 — HAMBLETON, E. J.  
1938. A ocorrência do ácaro tropical "Tarsonemus latus Banks", etc. — Arquivos do Instituto Biológico — Vol. 9.
- 25 — TOLEDO, A.A.  
1940. Notas sobre a biologia do "Chrysomphalus aonidum (L., 1758) (Homoptera) no Estado de São Paulo-Brasil. Arquivos do Instituto Biológico — Vol. 11.
- 26 — THOM, CHARLES  
1930. The Penicillia.
- 27 — CHEMICAL ENGINEERING CATALOG  
1942. The Condensed Chemical Dictionary — 3d. ed.
- 28 — WASICKY, RICHARD e UNTI, OVIDIO  
1944. Dicloro-difenil-tricloroetano (DDT) — Revista Brasileira de Química — Vol. XVIII — N.º 108, Dezembro de 1944.

- 29 — NELSON, ARTHUR A.; DRAIZE, JOHN H.; WOODARD, GEOFFREY; FITZHUGH, O. GARTH; SMITH JR., R. BLACKWELL e CALVERY, HERBERT O.  
1944. Histopathological changes following administration of DDT to several species of animals — Public Health Reports, vol. 59, n.º 31, August 4.
- 30 — LEPAGE, H. S. e PIZA, M. T.  
1941. Redescricao do "Neolecanium Silveirai (Hempel)" Séria praga da videira, e seu controle — Arquivos do Instituto Biológico. Vol. 12.
- 31 — CAMERON, G. R. e THOMAS, J. C. et al.  
1937. The toxicity of certain chlorine derivatives of benzene, with special reference to o-dichlorobenzene. — The Journal of Pathology and Bacteriology. Vol. XLIV, n.º 2

---

#### ESTAMPA 1

Est. 1 — Fig. 1 — Casal de *Tyroglyphus*, notando-se os ovos no interior da fêmea. 120X.

Fig. 2 — Aspecto de um tubo de cultura intensamente infestado por *Tyroglyphus*. Fotografia do natural. 30 X.

Fotos J. Pinto



ESTAMPA 1

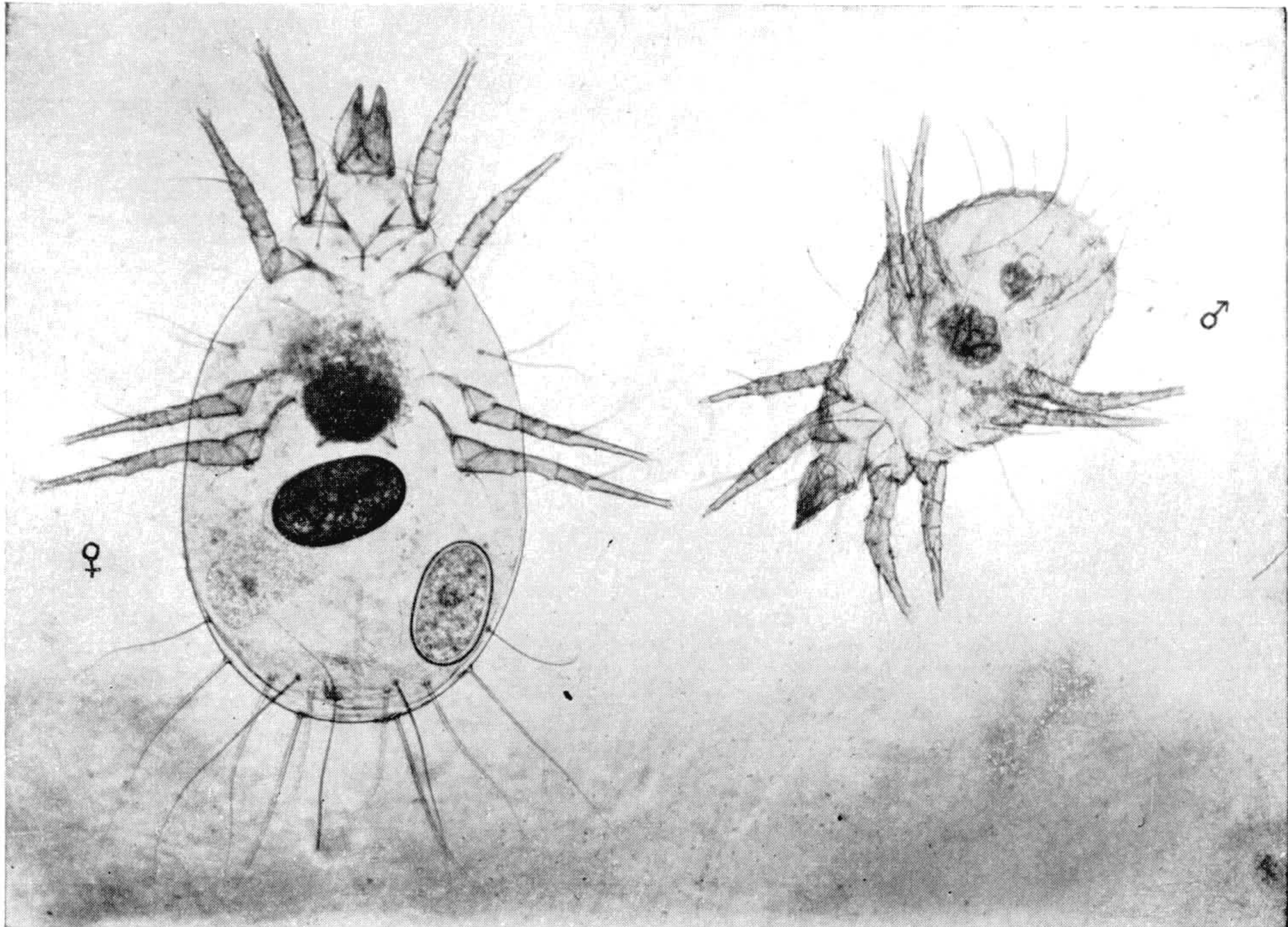


Fig. 1

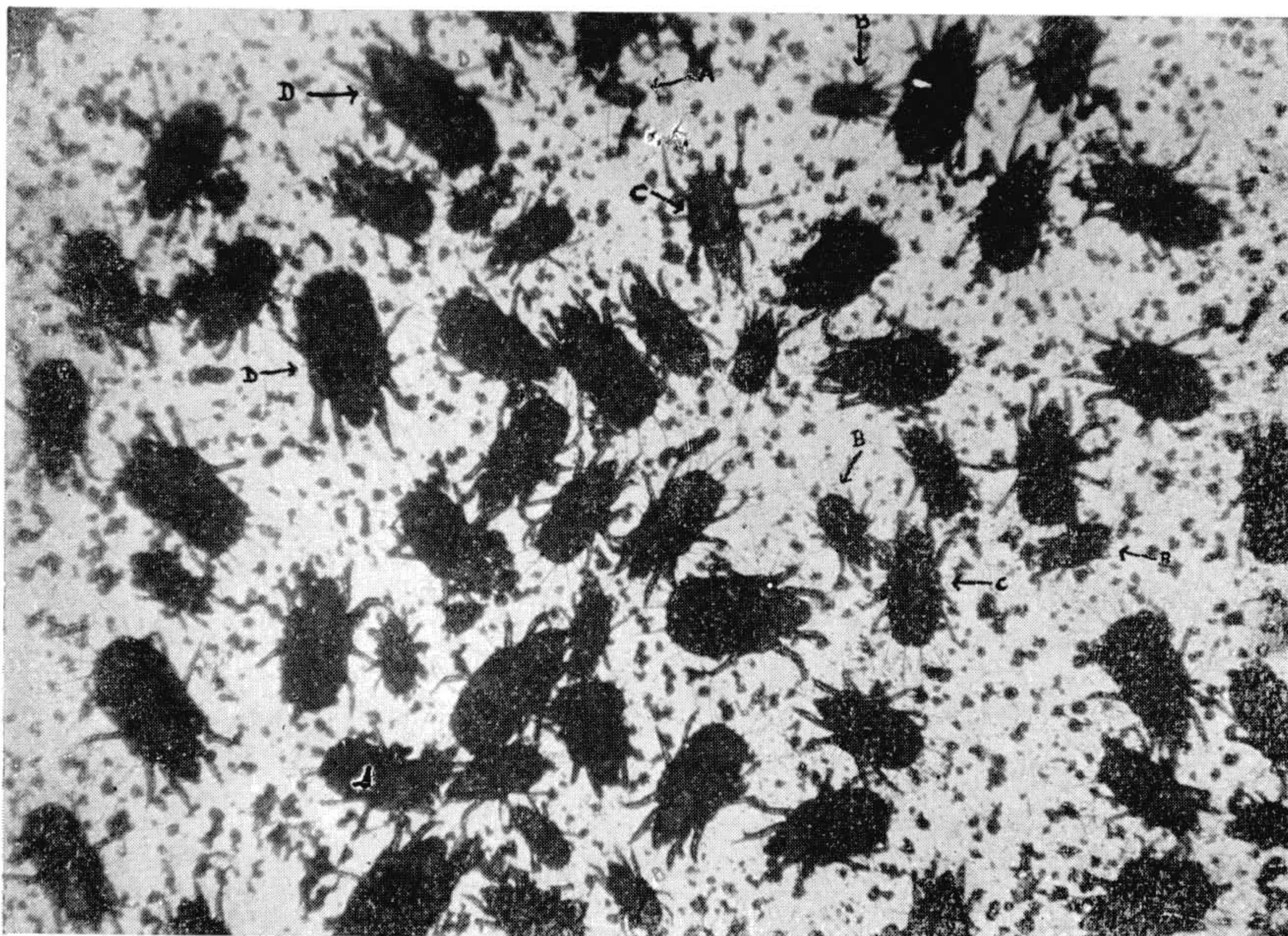


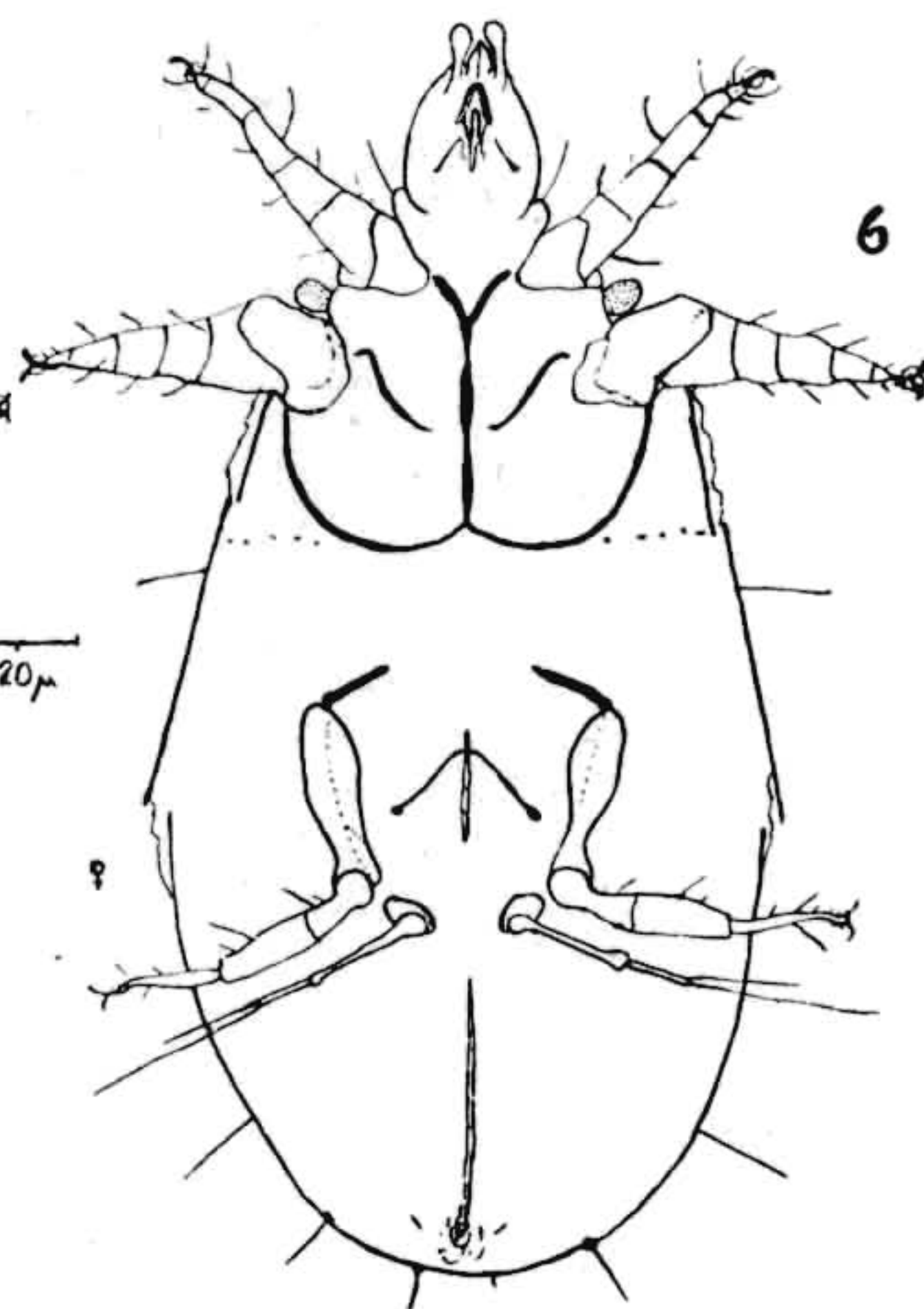
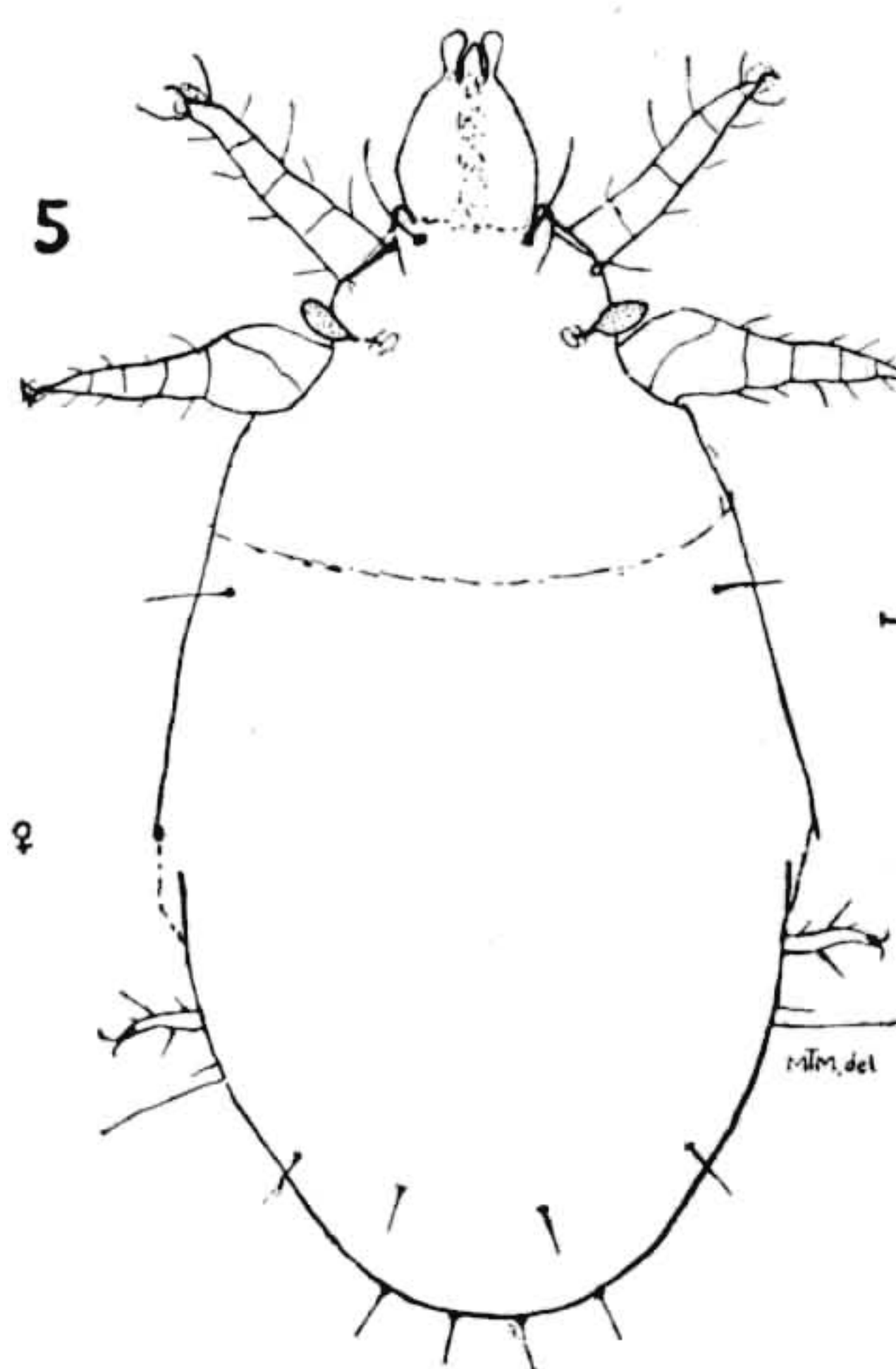
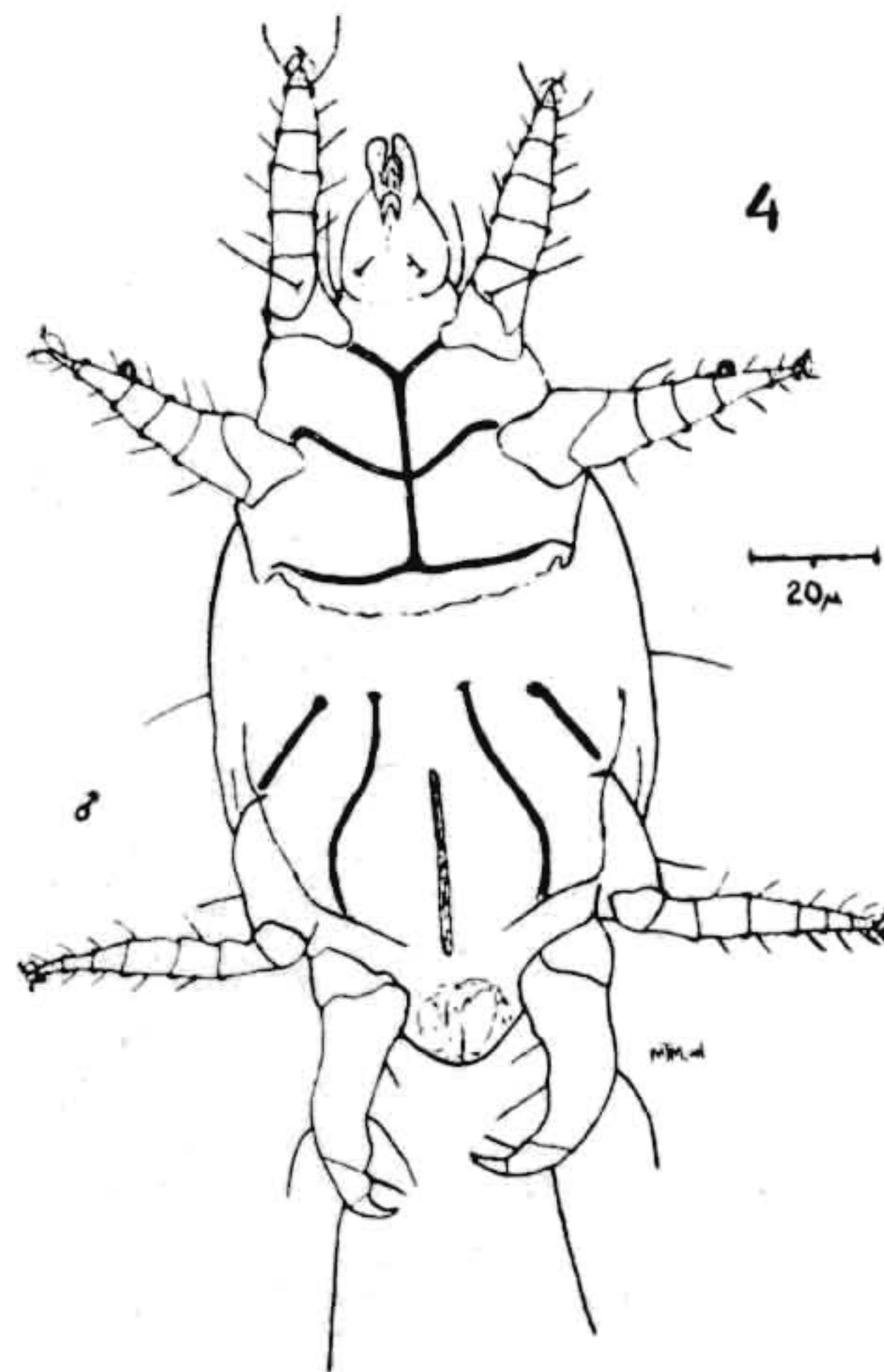
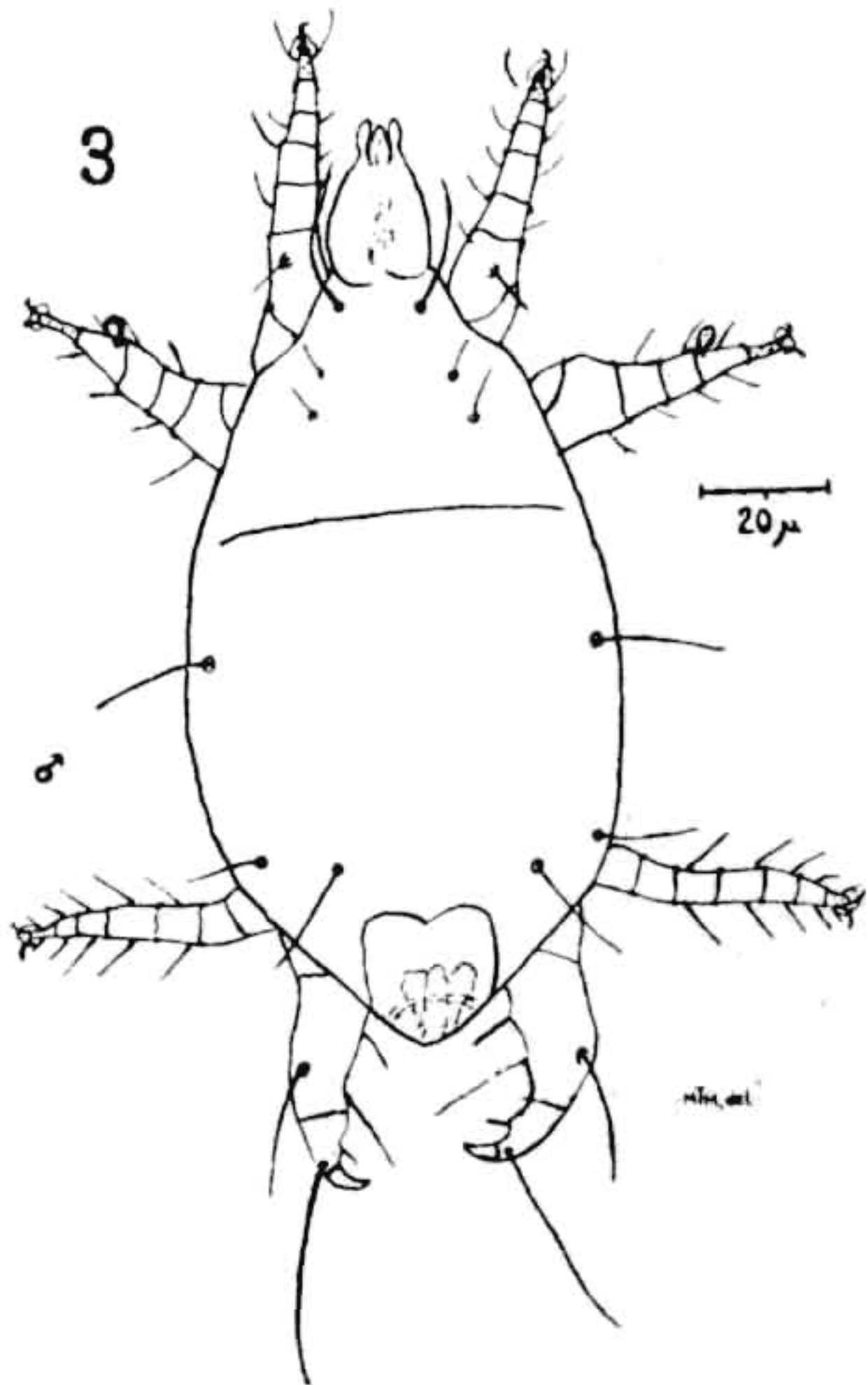
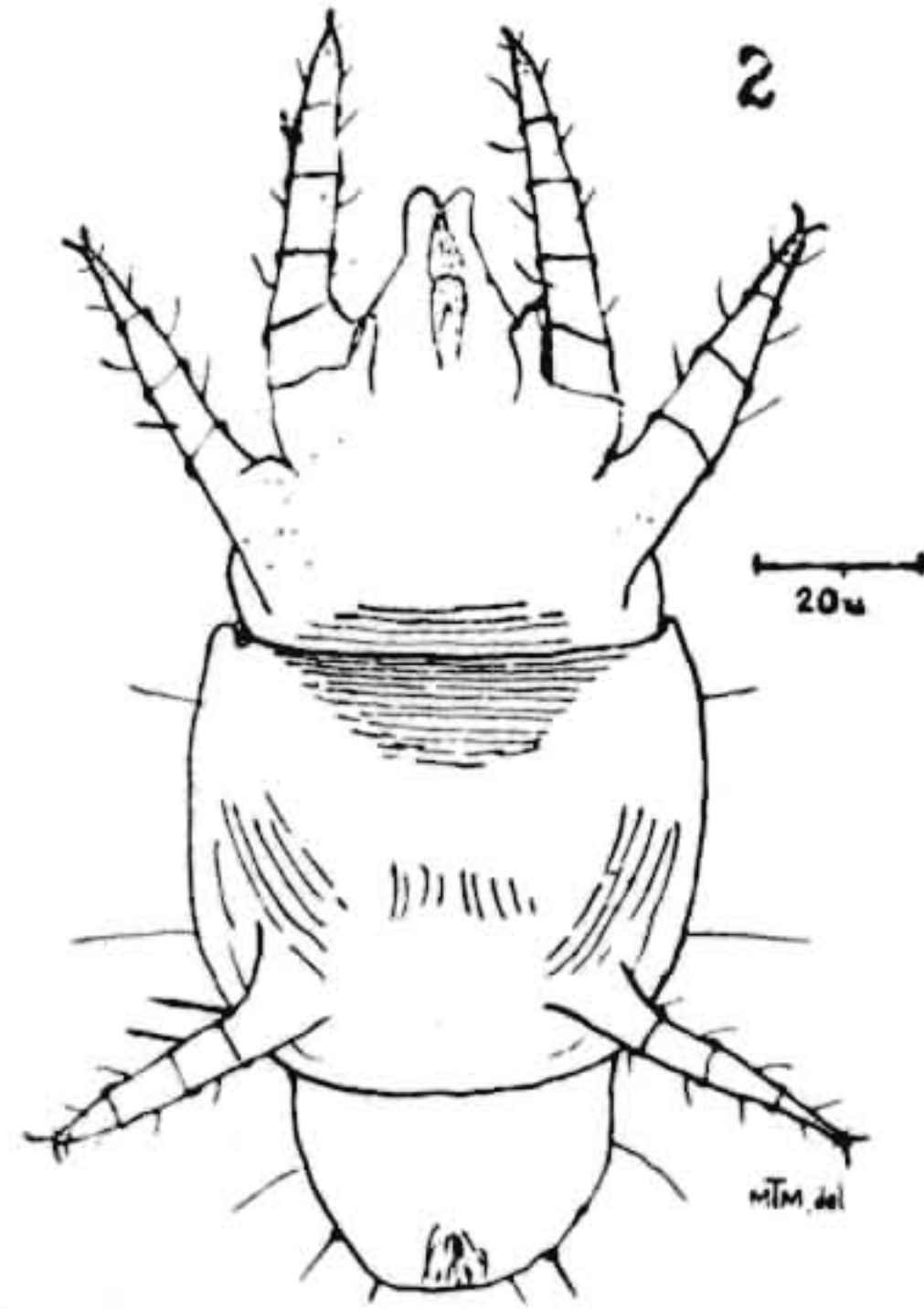
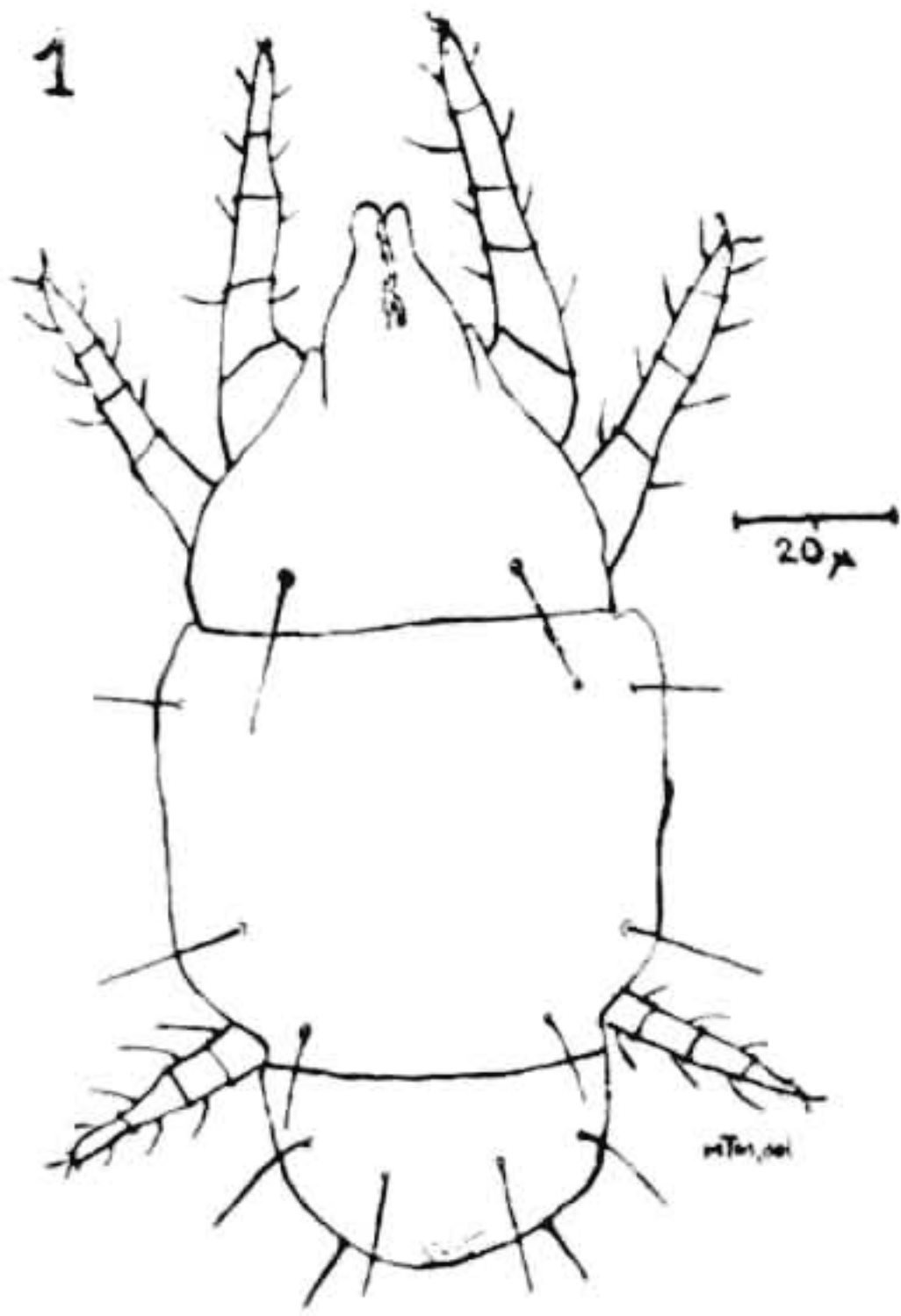
Fig. 2



## ESTAMPA 2

- Est. 2 — Fig. 1 — Face dorsal da larva de *Tarsonemus*.  
Fig. 2 — Face ventral da larva de *Tarsonemus*.  
Fig. 3 — Face dorsal do macho de *Tarsonemus*.  
Fig. 4 — Face ventral do macho de *Tarsonemus*.  
Fig. 5 — Face dorsal da fêmea de *Tarsonemus*.  
Fig. 6 — Face ventral da fêmea de *Tarsonemus*.

ESTAMPA 2





### ESTAMPA 3

Est. 3 — Fig. 1 — Ovo de *Tarsonemus*.

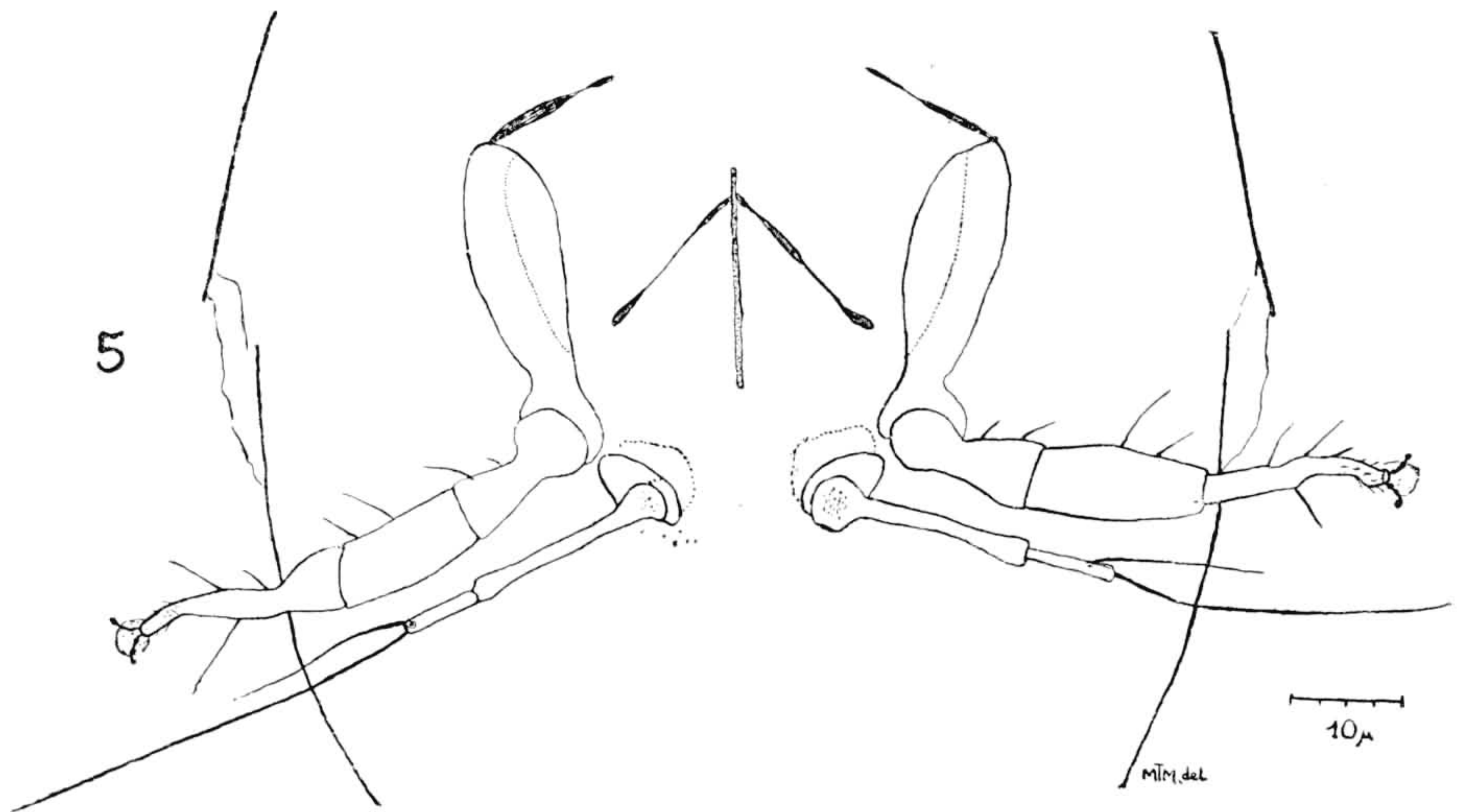
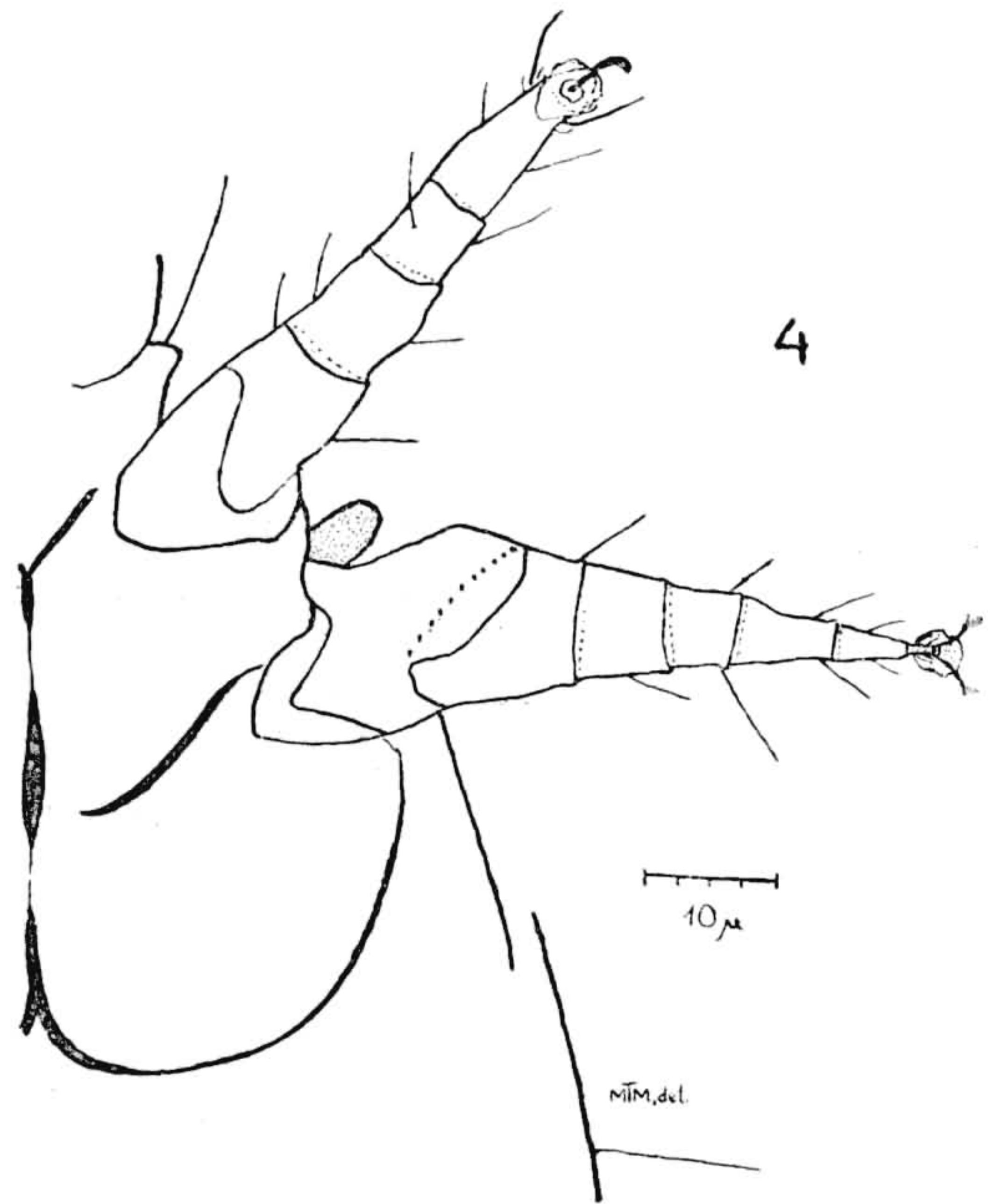
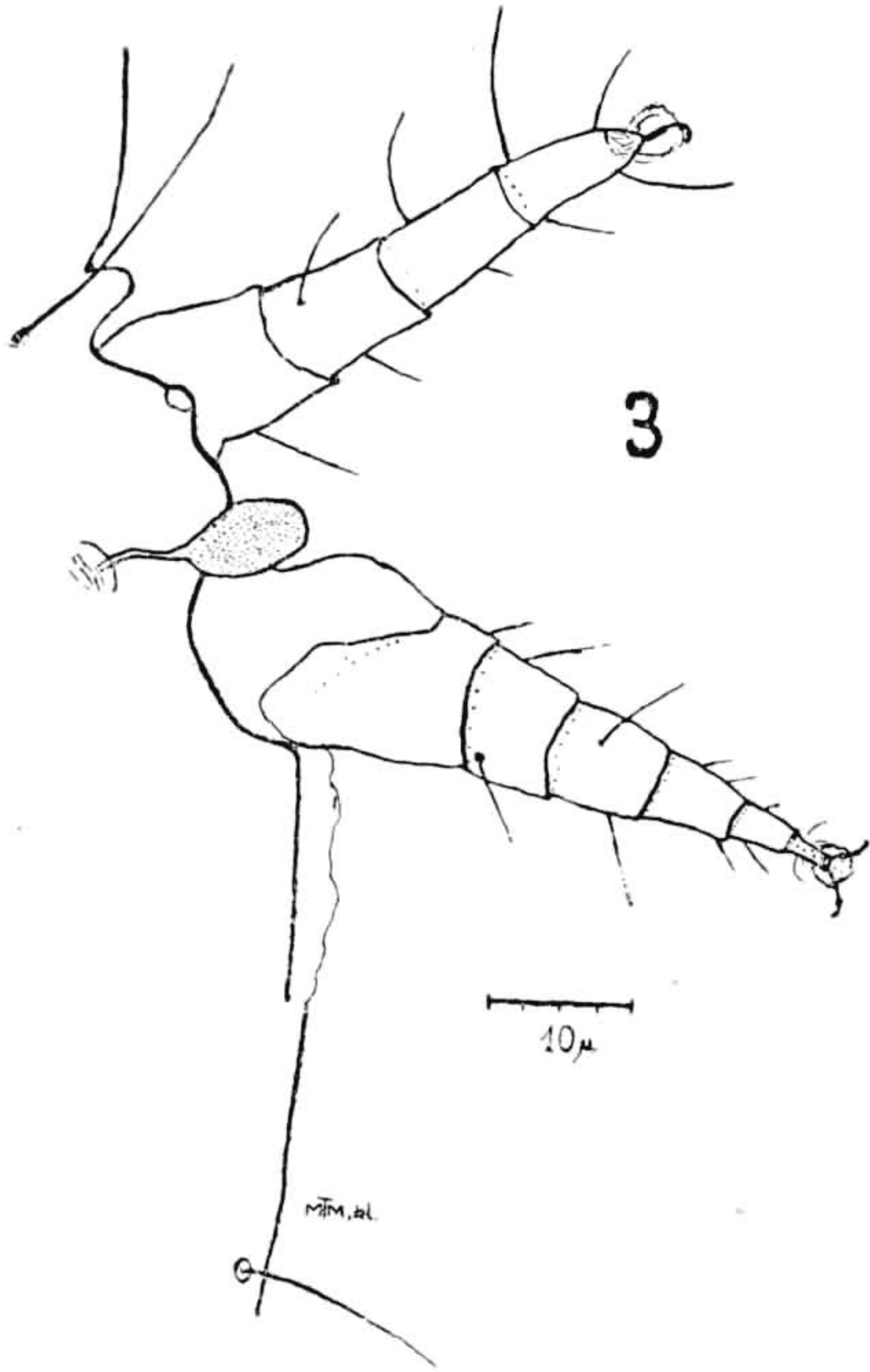
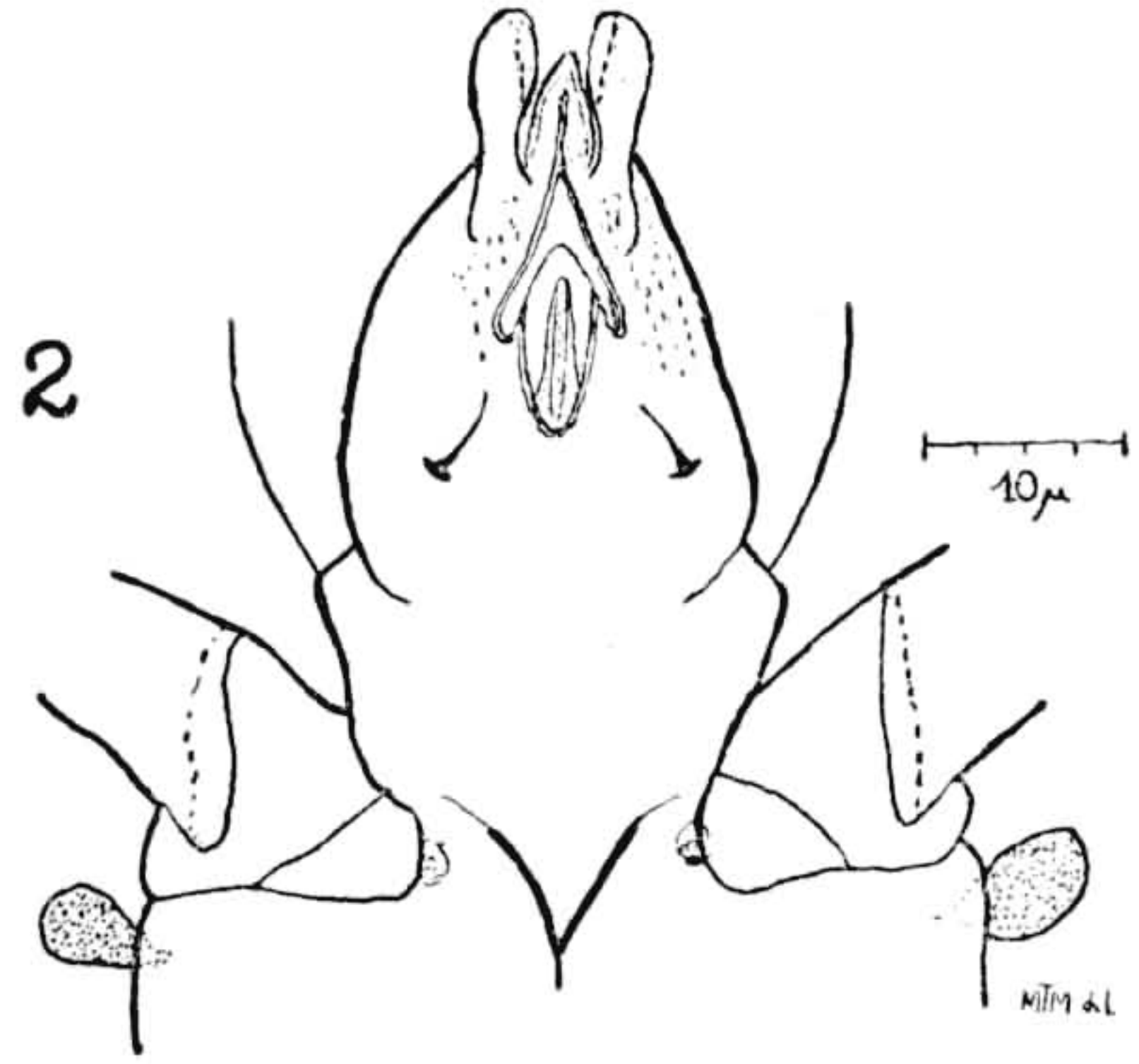
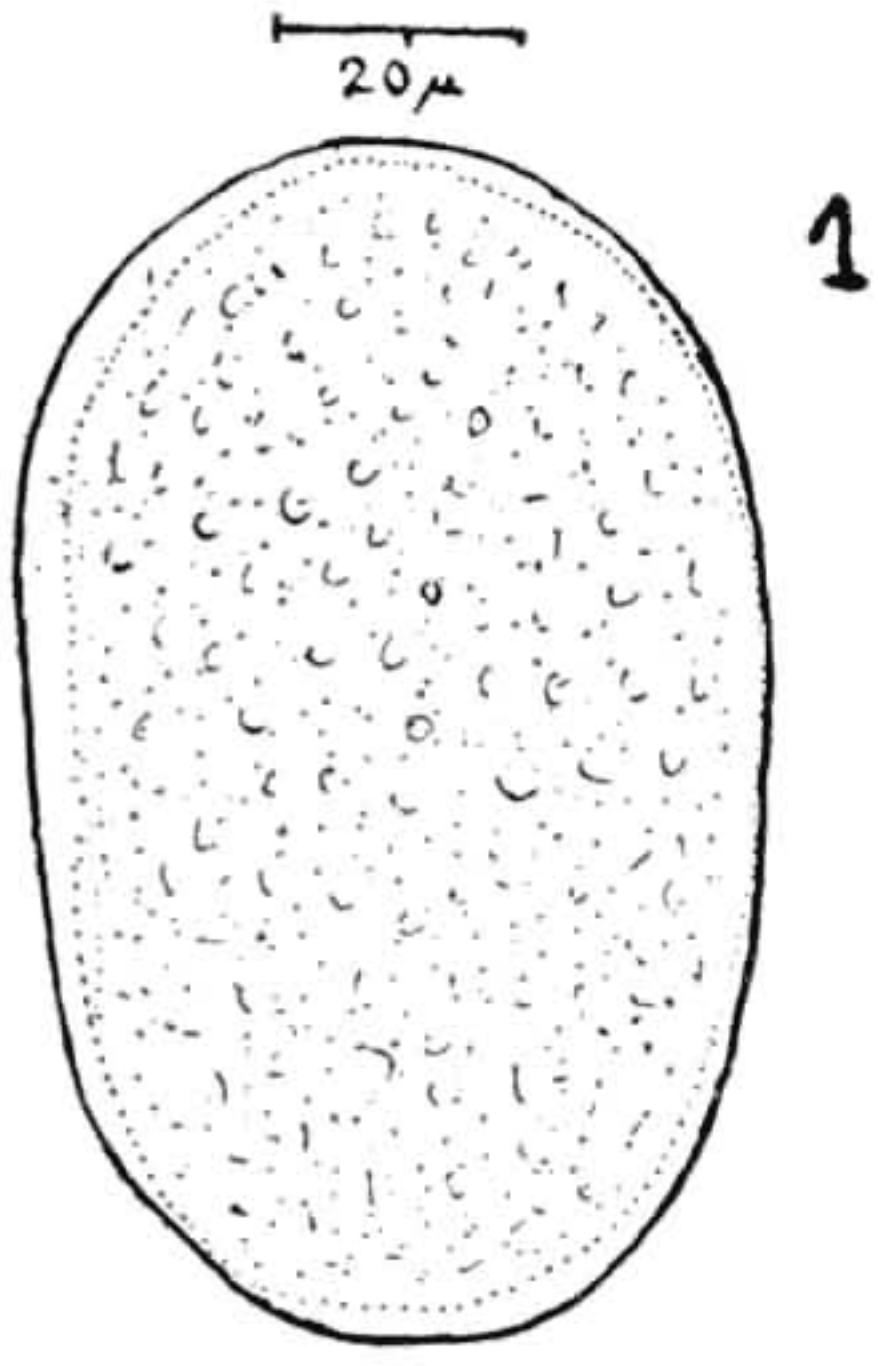
Fig. 2 — Detalhe da extremidade anterior do corpo de *Tarsonemus*; face ventral.

Fig. 3 — Órgão pseudo-estigmático e I e II pares de patas da fêmea de *Tarsonemus*; face dorsal.

Fig. 4 — Órgão pseudo-estigmático e I e II pares de patas da fêmea de *Tarsonemus*; face ventral.

Fig. 5 — Detalhe dos III e IV pares de patas da fêmea de *Tarsonemus*; face ventral.

ESTAMPA 3





#### ESTAMPA 4

Est. 4 — Fig. 1 — Microfotografia do macho de *Tarsonemus*. 360 X.

Fig. 2 — Microfotografia da fêmea de *Tarsonemus*. 360 X.

Fig. 3 — Microfotografia da fêmea de *Tarsonemus*, notando-se nitidamente os órgãos pseudo-estigmáticos. 360 X.

Fotos J. Pinto



ESTAMPA 4

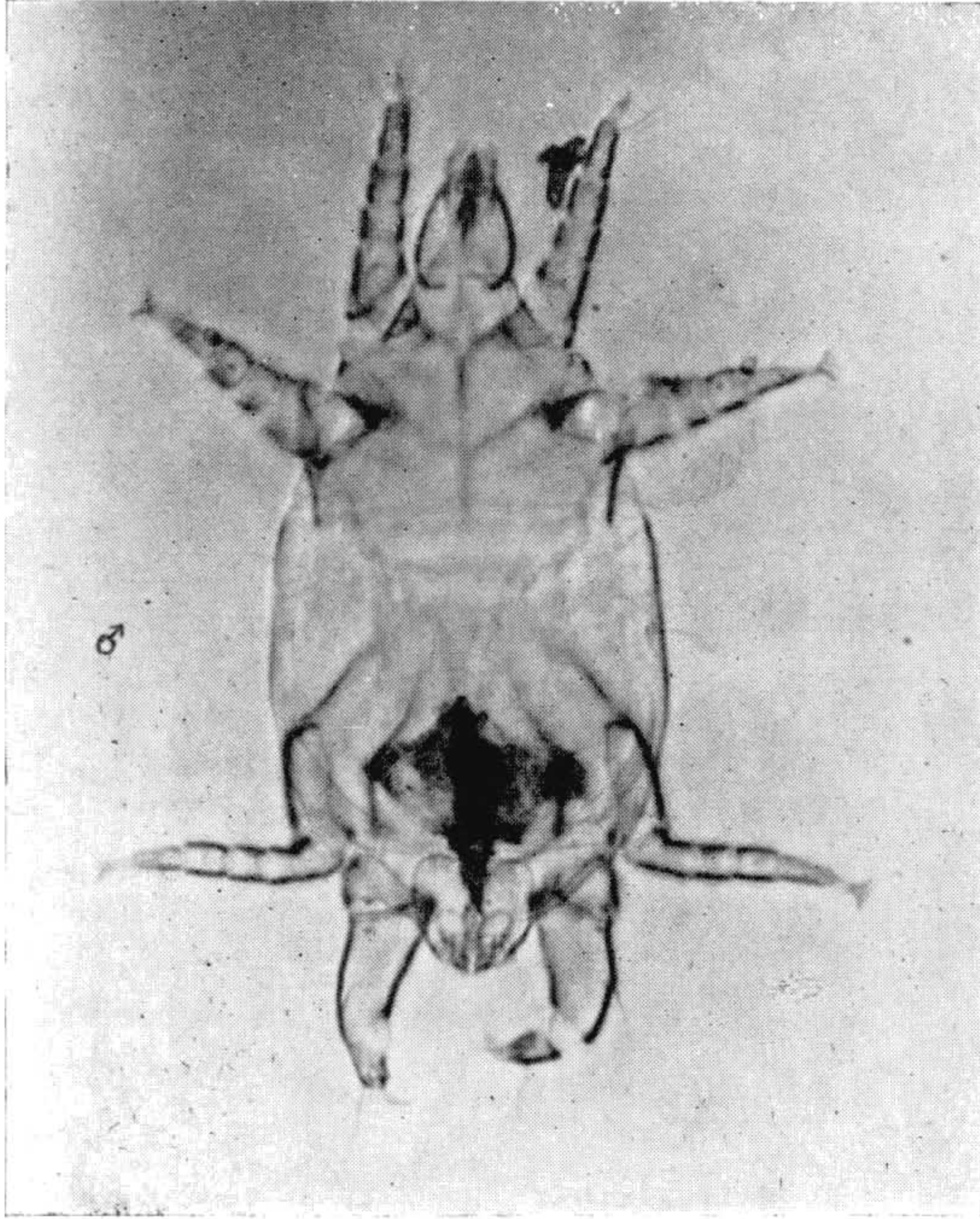


Fig. 1

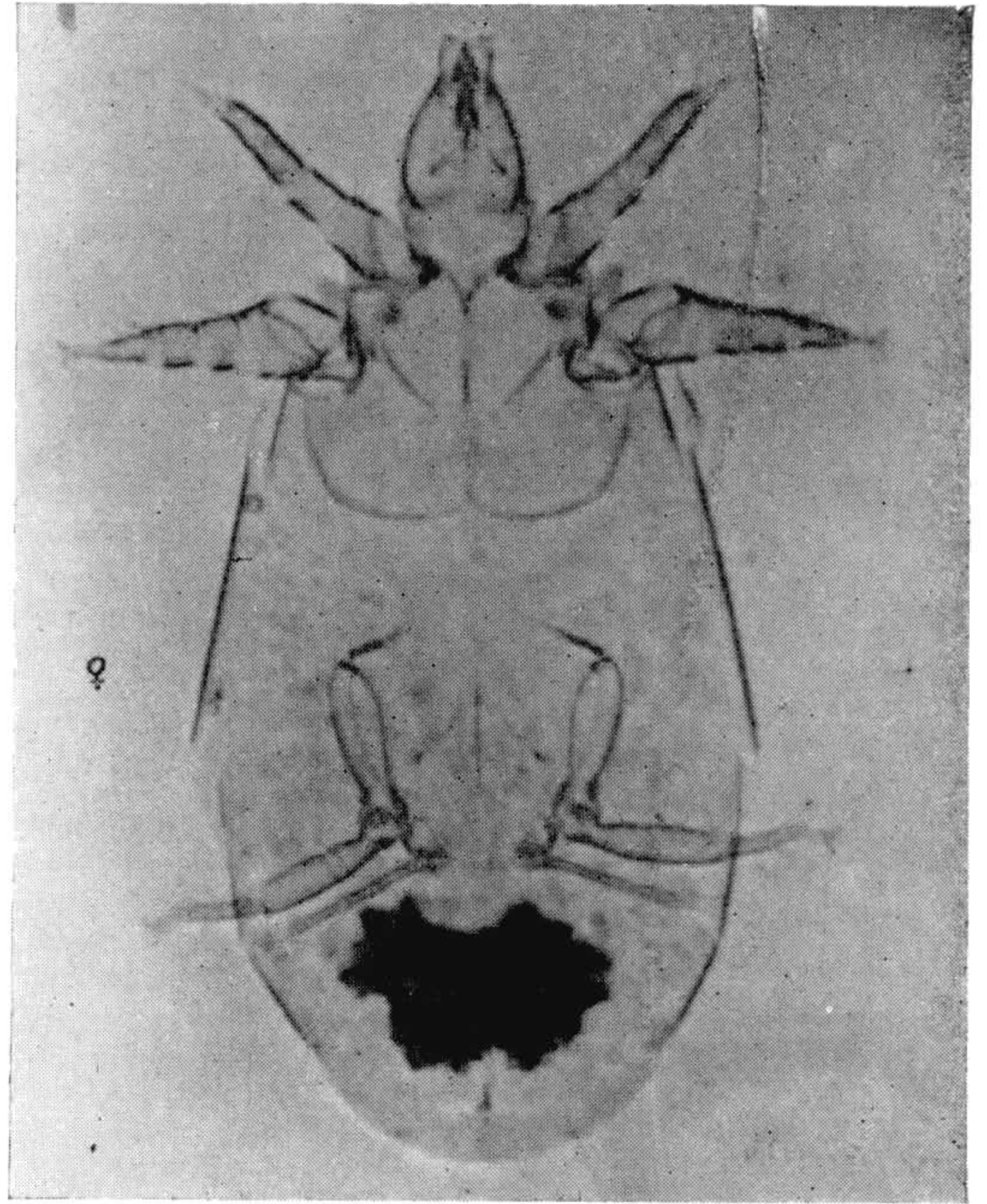


Fig. 2

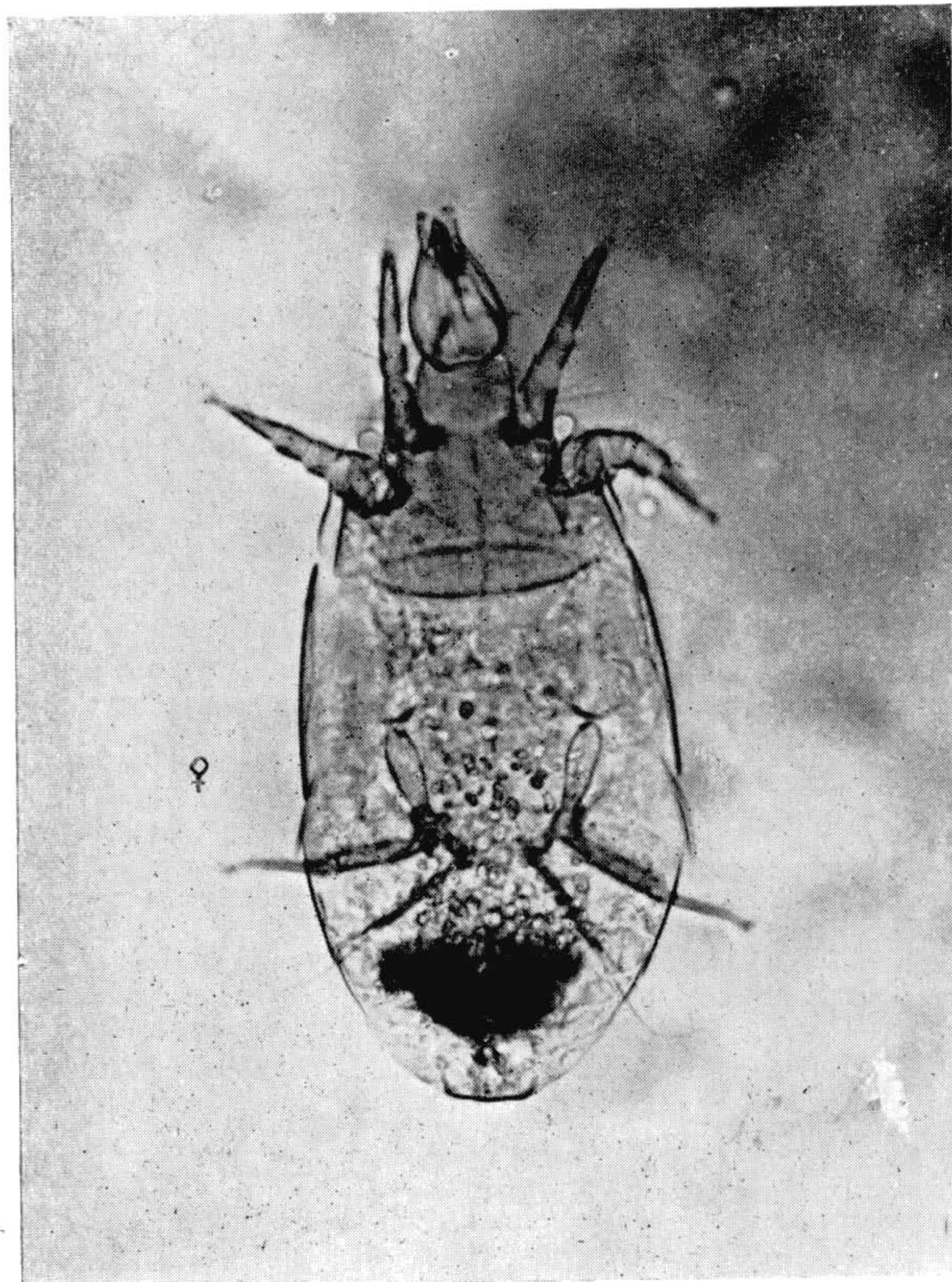


Fig. 3