

**RAE - CEA - 03P15**

**RELATÓRIO DE ANÁLISE ESTATÍSTICA SOBRE  
O PROJETO: “Variações intraespecíficas e  
interespecíficas dos venenos de aranhas  
*Loxoceles*. Isolamento e caracterização  
bioquímica e biológica dos componentes  
tóxicos”.**

**Júlia Maria Pavan Soler**

**Milena de Souza Reis**

**CENTRO DE ESTATÍSTICA APLICADA**  
**RELATÓRIO DE ANÁLISE ESTATÍSTICA - 03P15**

**TÍTULO:** Relatório de análise estatística sobre o projeto: “Variações intraespecíficas e interespecíficas dos venenos de aranhas *Loxocles*. Isolamento e caracterização bioquímica e biológica dos componentes tóxicos”.

**PESQUISADORA:** Kátia Cristina de Oliveira Lima

**ORIENTADORA:** Denise Vilarinho Tambourgi

**INSTITUIÇÃO:** Instituto de Ciências Biomédicas - USP

**FINALIDADE:** Tese de Doutorado

**RESPONSÁVEIS PELA ANÁLISE:** Júlia Maria Pavan Soler  
Milena de Souza Reis

**REFERÊNCIA DESTE TRABALHO:** SOLER, J. M. P. e REIS, M. S. **Relatório de análise estatística sobre o projeto: “ Variações intraespecíficas e interespecíficas dos venenos de aranhas *Loxocles*. Isolamento e caracterização bioquímica e biológica dos componentes tóxicos”.** São Paulo, IME - USP, 2003. (RAE - CEA - 03P15)

## FICHA TÉCNICA

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- BUSSAB, W. O. e MORETTIN, P. A. (2002). **Estatística Básica**. 5. ed. São Paulo: Atual. 321p.
- FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (1998). **Manual de Diagnóstico e Tratamento de Acidentes por Animais Peçonhentos**. Ministério da Saúde, Brasília 49-61.
- FUTRELL, J. M. (1992). **Loxocelism**. Am J Med Sciences 304: 261-267.
- KING, L. E. AND REE, R. S. (1986). **Treatment of brown recluse spider bites**. Am Acad Dermatol 14: 691-692.
- NETER, J., KUTNER, M. H., NACHTSHEIN C. J. and WASSERMAN, W. (1996). **Applied Linear Statistical Models**. 4. Ed. Chicago: Irwin. 1408p.
- TAMBOURGI, D. V.; MAGNOLI, F. C.; VON EICKSTEDT, V. R. D., BENEDETTI, Z. C.; PETRICEVICH, V. L. AND DIAS DA SILVA, W. (1995). **Incorporation of a 35 kDa purified protein from *Loxoceles intermedia* spider venom transforms human erythrocytes into activators of autologous complement alternative pathway**. J. Immunol 155: 4459-4466.
- TAMBOURGI, D. V.; MAGNOLI, F. C.; VAN DEN BERG, C. W.; MORGAN, B. P.; ARAUJO, P. S.; ALVES, E. W. AND DIAS DA SILVA, W. (1998). **Sphingomyelinases in the venom of the spider *Loxoceles intermedia* are responsible for both dermonecrosis and Complement-dependent hemolysis**. Bioch Res Comm 251: 336-373.

**PROGRAMAS COMPUTACIONAIS UTILIZADOS:**

Excel for Windows (versão 1997);  
Minitab for Windows (versão 11.0);  
Word for Windows (versão 1997);  
SPSS for Windows (versão 10.0);  
S-Plus for Windows (versão 4.5).  
SAS for Windows (versão 4.1)

**TÉCNICAS ESTATÍSTICAS UTILIZADAS:**

Análise Descritiva Unidimensional (03:010)  
Análise Descritiva Multidimensional (03:020)  
Análise de Variância com Efeitos Fixos (08:010)

**ÁREA DE APLICAÇÃO:**

Bioestatística – 14:030

## ÍNDICE

Resumo.....	7
1. Introdução .....	8
2. Descrição do Estudo .....	9
2.1. Experimentos com Coelhos .....	9
2.2. Experimentos com Camundongos.....	10
2.3. Experimentos com Sangue Humano.. ..	11
2.4. Experimentos para a Análise do Veneno.....	11
3. Descrição das Variáveis.....	12
3.1. Experimentos com Coelhos .....	12
3.2. Experimentos com Camundongos.....	12
3.3. Experimentos com Sangue Humano.. ..	12
3.4. Experimentos para a Análise do Veneno.....	12
4. Análise Descritiva.....	13
4.1. Experimentos com Coelhos .....	13
4.2. Experimentos com Camundongos.....	14
4.3. Experimentos com Sangue Humano.. ..	15
4.4. Experimentos para a Análise do Veneno.....	17

5. Análise Inferencial .....	18
5.1. Experimentos com Coelhos .....	18
5.2. Experimentos com Camundongos.....	19
5.3. Experimentos com Sangue Humano.. ..	20
5.4. Experimentos para a Análise do Veneno .....	24
6. Conclusões .....	27
Apêndice A - Experimentos com Coelhos .....	29
Apêndice B - Experimentos com Camundongos.....	40
Apêndice C - Experimentos com Sangue Humano .....	45
Apêndice D - Experimentos para a Análise do Veneno .....	74
Apêndice E - Tabelas com Resultados Inferenciais .....	79

## Resumo

O envenenamento por aranhas do gênero *Loxocelles*, conhecidas como aranhas marrons, tem se tornado um problema de saúde pública no Brasil, principalmente nas regiões Sul e Sudeste, sendo que as principais espécies com importância médica são: *L. gaucho*, *L. intermedia* e *L. laeta*.

Em 16% dos casos, os efeitos colaterais da picada podem evoluir de uma extensa lesão necrosante local para uma reação sistêmica com hemólise intravascular, podendo levar até à morte. Entretanto, ainda não foi estabelecida uma terapia definitiva para o tratamento do loxocelismo (denominação do quadro clínico causado pelo envenenamento por aranhas do gênero *Loxocelles*).

O objetivo principal deste estudo é comparar os venenos de aranhas macho e fêmea das três espécies citadas acima, com relação aos efeitos causados em coelhos, camundongos e humanos, além de avaliar a atividade biológica do veneno total e dos componentes tóxicos.

Os resultados indicam que para a maioria das variáveis (exceto nos experimentos com camundongos), foram encontradas diferenças significativas entre os comportamentos dos venenos de macho e fêmea, para as espécies estudadas, sendo que para a maior parte das análises, foi verificado que o veneno da aranha fêmea é mais agressivo.

Além disso, também foi observado que as frações de veneno da fêmea quando comparadas entre si possuem comportamentos distintos, sendo que o mesmo foi verificado para as frações de veneno do macho. Quando as frações foram analisadas separadamente, para a maioria delas, foram encontradas diferenças significativas entre os comportamentos dos venenos de macho e fêmea.

## 1. Introdução

Loxocelismo é a denominação do quadro clínico causado pelo envenenamento por aranhas do gênero *Loxoceles*. Essas aranhas são vulgarmente conhecidas como aranhas marrons e possuem hábitos noturnos. No Brasil, as principais espécies com importância médica são: *L. gaucho*, *L. laeta* e *L. intermedia* e são encontradas principalmente nas regiões Sul e Sudeste do país.

Picadas de aranhas do gênero *Loxoceles* têm se tornado um problema de saúde pública no Brasil. Informações de 1998 do Ministério da Saúde indicam que picadas deste tipo de aranha representam mais de 36% dos casos de acidentes com aranhas no país.

A picada dessas aranhas é quase indolor e muitas vezes passa despercebida. Os sinais e sintomas das reações cutâneas aparecem 2 a 8 horas após o acidente e podem evoluir de uma lesão na pele para uma extensa lesão necrosante local. Além disso, cerca de 16% dos casos evolui para uma reação sistêmica com hemólise intravascular, podendo ocorrer falência renal e até a morte (Futrell, 1992).

Uma terapia definitiva para o tratamento do loxocelismo ainda não foi estabelecida. Em alguns países, o tratamento é realizado à base de corticóides, analgésicos e antibióticos, e nos casos sistêmicos com heparina e esteróides (King & Ree, 1986; Futrell, 1992). No Brasil, é usado como terapia o soro anti-aracnídico ou anti-loxocélico juntamente com a administração de corticóides (Fundação Nacional de Saúde, 1998).

O objetivo do presente projeto é investigar as possíveis variações intraespecíficas e interespecíficas dos venenos de aranhas do gênero *Loxoceles*. Há interesse em comparar os venenos de aranhas de ambos os sexos e de cada uma das três espécies mencionadas acima, com relação aos efeitos colaterais causados em coelhos, camundongos e humanos. Além disso, há interesse na análise da atividade biológica do veneno total e dos componentes tóxicos.



## 2. Descrição do Estudo

O veneno total, assim como algumas frações deste, foi utilizado em ensaios sangüíneos com material de humanos (*in vitro*) e também em ensaios *in vivo*, com coelhos e camundongos.

O veneno total foi purificado e uma fração denominada F35 foi repurificada e foram separadas subfrações, F1, F2, F4, P1, P1' e P2, as quais estão incluídas neste estudo (Tambourgi et al., 1998). A fração F35 foi caracterizada como responsável pelos efeitos locais e sistêmicos por Tambourgi et al., 1995.

Nos experimentos para a análise do veneno total, foram utilizados os venenos (*pool*) de aranhas macho e fêmea das espécies *L. gauchoi*, *L. intermedia* e *L. laeta*. Já para os experimentos que visam a análise das frações do veneno, foram utilizadas apenas frações do veneno (*pool*) de aranhas macho e fêmea da espécie *L. intermedia*.

Na composição do veneno, existe uma enzima chamada esfingomielinase responsável pela clivagem da proteína esfingomielina presente na superfície das hemácias. Além disso, o veneno também é responsável pela clivagem de outras proteínas de membrana denominadas glicoforinas. Estas mudanças na superfície celular tornam as hemácias mais susceptíveis à hemólise.

Assim, os experimentos realizados neste projeto visam observar a atividade de componentes tóxicos do veneno, em relação à hemólise e à lesão dérmica. Também foi determinada a eficiência dos soros anti-veneno específicos na neutralização dos venenos.

### 2.1. Experimentos com Coelhos

Nos estudos *in vivo*, com coelhos, foi quantificada a área de dermonecrose produzida pelo veneno, além de ter sido verificada a eficiência dos soros anti-veneno específicos. Para a quantificação da dermonecrose, o veneno total da aranha fêmea foi injetado de um lado do dorso do coelho e do outro lado foi injetado o veneno total da aranha macho. Em seguida, foi medida a área de dermonecrose após 0, 24, 48, 72, 96

e 120 horas. Foram utilizados oito coelhos, dois para a espécie *L. gaucho* e três para cada uma das espécies restantes. O mesmo experimento para a quantificação da área de dermonecrose também foi realizado utilizando-se a fração F35 do veneno em dois coelhos. Além disso, para verificar a área de edema e de lesão provocadas por frações do veneno, foram utilizados três animais para a coleta de dados, um animal para cada fração.

Com o objetivo de medir a porcentagem de soroneutralização, foram utilizados soros de coelhos, contendo anticorpos específicos para determinado veneno. Este soro anti-veneno específico foi encubado com diversos venenos (*L. intermedia* macho e fêmea e *L. laeta* macho e fêmea), ocorrendo o processo de soroneutralização. Após esta reação, o conteúdo não neutralizado foi injetado em outros coelhos, sendo então medida a área de dermonecrose. Deste modo, se o soro anti-veneno for um bom neutralizador, produzirá uma pequena área de lesão. Neste experimento, cada soro anti-veneno específico foi testado em quatro coelhos.

## **2.2. Experimentos com Camundongos**

No estudo utilizando camundongos, foi verificado o número de determinadas células imunes presentes no sangue destes animais, duas e seis horas após a injeção do veneno de *L. intermedia* macho e fêmea. Os animais analisados seis horas após a injeção do veneno são distintos dos animais que foram analisados após duas horas, logo, as amostras são independentes. Entretanto, para cada período de tempo analisado (duas e seis horas), o mesmo camundongo foi utilizado para a quantificação de todas as variáveis. Alguns camundongos foram injetados com solução salina, definindo-se assim um grupo controle. Utilizando a técnica de microscopia intravital, foi determinado o número de leucócitos ativados, e através do leucograma foi verificado o número total de leucócitos, além do número de células PMN, linfócitos e monócitos (Contagem Diferencial). Este experimento apresenta para cada variável, de três a oito camundongos submetidos aos diferentes venenos, gerando amostras desbalanceadas.

### **2.3. Experimentos com Sangue Humano**

Nos experimentos *in vitro*, foi utilizado sangue humano. Na determinação da porcentagem de hemólise, as hemácias obtidas de amostras de sangue de um indivíduo foram incubadas com o veneno total ou então com uma determinada fração do veneno (em diferentes concentrações) e foi medida a porcentagem de hemácias que se romperam (lise). Foram realizados três ensaios sangüíneos para cada fração ou veneno total. Da mesma forma, foi medida a porcentagem de remoção de diferentes tipos de glicoforinas e também a quantidade restante de glicoforinas na superfície das hemácias, após incubação com o veneno total ou com uma fração. Neste caso, foram realizados dois ensaios para cada veneno e três ensaios para cada fração observada.

### **2.4. Experimentos para a Análise do Veneno**

Na análise do veneno total, foram realizados experimentos em duplicatas, isto é, realizados duas vezes, de maneira independente, com o objetivo de observar a atividade esfingomielinásica e a concentração de esfingomielinase presente no veneno. A atividade esfingomielinásica foi quantificada através da incubação de esfingomielina comercial em diferentes concentrações do veneno e foi medida a quantidade de esfingomielinas clivadas.

Neste projeto, é importante observar que existe uma forte restrição no tamanho das amostras obtidas devido à difícil obtenção do veneno das aranhas e às normas de ética experimental que devem ser seguidas, limitando o número de animais expostos ao veneno.

### **3. Descrição das Variáveis**

#### **3.1. Experimentos com Coelhos (*in vivo*)**

- Dermonecrose (área - cm<sup>2</sup>).
- Edema (área - cm<sup>2</sup>).
- Lesão (área - cm<sup>2</sup>).
- Soroneutralização (%).

#### **3.2. Experimentos com Camundongos (*in vivo*)**

- Leucócitos ativados (número de células/5 minutos).
- Leucograma (número de células/cm<sup>3</sup>).
- Contagem Diferencial - PMN, Linfócitos e Monócitos (número de células).

#### **3.3. Experimentos com Sangue Humano (*in vitro*)**

- Quantidade restante de GPA-GPB (mediana de fluorescência).
- Quantidade restante de GPC (mediana de fluorescência).
- Remoção de GPA-GPB (%).
- Remoção de GPA (%).
- Hemólise (%).

#### **3.4. Experimentos para a Análise do Veneno**

- Atividade esfingomielinásica (nmol/mg).
- Concentração de esfingomielinase (nmol/mg).

## 4. Análise Descritiva

Para a análise descritiva foram calculados média, desvio padrão, mínimo e máximo das variáveis sob estudo, bem como gráficos de perfis individuais e médios de resposta para representar a variação das respostas para diferentes concentrações de veneno ao longo do tempo. Além disso, gráficos “dot plot” e gráficos de médias foram também utilizados. Maiores detalhes podem ser encontrados em Bussab e Morettin, 2002. Nos gráficos que apresentam barras de erro, foi utilizado o erro padrão, e as medidas descritivas referentes à mediana e aos diferentes quartis não serão apresentadas devido ao reduzido tamanho amostral. A análise descritiva e os apêndices foram divididos em quatro subseções, de acordo com os experimentos realizados.

### 4.1. Experimentos com Coelhos

Com relação à análise descritiva da variável dermonecrose, os gráficos de perfis individuais para as espécies *L. gaucho* e *L. laeta* (Gráficos A.1 e A.3 do Apêndice A) apresentam comportamentos distintos para os venenos de aranhas machos e fêmeas, indicando que a área de dermonecrose produzida pelo veneno da aranha fêmea parece ser maior. Entretanto, para a espécie *L. intermedia* (Gráfico A.2), não é possível diferenciar o comportamento do veneno de machos e fêmeas, que se assemelham ao longo dos períodos de tempo analisados. Avaliando as Tabelas A.1, A.2 e A.3, verificamos que os desvios padrão são pequenos, principalmente para a espécie *L. intermedia*, indicando pequena variação do comportamento do veneno dessa espécie.

Explorando a estrutura de dependência entre as respostas neste caso, foi levada em conta a medida de diferença da área de dermonecrose do veneno de aranhas fêmea e macho. O Gráfico A.4 apresenta o perfil médio para a média das diferenças da área de dermonecrose entre fêmeas e machos para as três espécies. Nota-se claramente que o veneno da aranha fêmea parece produzir uma maior área de lesão. Além disso, é possível perceber que o comportamento do veneno de *L. intermedia* parece mais

estável para os diferentes períodos de tempo analisados. Já para as demais espécies, o gráfico apresenta picos para a medida da diferença de dermonecrose.

Para o experimento com a fração F35 do veneno, é possível observar no Gráfico A.5 que o veneno da fêmea é responsável por produzir uma maior lesão em relação ao macho na maioria dos períodos estudados. Após 96 horas da injeção do veneno, parece que o comportamento dos venenos de macho e fêmea são semelhantes. Para as variáveis edema e lesão (Gráficos A.6 e A.7), pode-se afirmar que as frações de veneno da aranha fêmea causam maiores danos aos coelhos. Além disso, para a variável lesão, a fração P1 parece ser a mais agressiva após 120 horas.

A Tabela A.8 apresenta os dados coletados no experimento da soroneutralização. Os gráficos “dot plot” (Gráfico A.8) indicam, em geral, que os soros anti-veneno de aranhas fêmeas são mais eficientes, pois estes neutralizam tanto o próprio veneno como também o veneno do macho da mesma espécie. Comparando as duas espécies estudadas, percebemos que o soro anti-veneno de *L. laeta* fêmea parece ser o melhor neutralizador, pois é capaz de promover uma maior porcentagem de soroneutralização quando comparado com os demais soros anti-veneno.

#### **4.2. Experimentos com Camundongos**

A análise descritiva para os experimentos realizados com camundongos apresenta gráficos de média para permitir a comparação entre o número de células presentes no sangue desses animais após duas e seis horas da injeção do veneno de *L. intermedia*. O gráfico relativo ao número de leucócitos ativados (Gráfico B.1) sugere que o número médio de células verificado após injeção da solução salina e do veneno de macho comportam-se de maneira semelhante após duas e seis horas. Para o veneno da fêmea, o número médio de células acentua-se após seis horas.

Para a variável leucograma, o Gráfico B.2 não revela diferenças entre os números médios de células nos tempos analisados, nem mesmo quando comparados ao controle. É importante observar os elevados valores dos desvios padrão.

Através da contagem diferencial foi possível quantificar as células PMN, linfócitos e monócitos presentes no sangue dos camundongos. Os resultados da análise descritiva (Gráficos e Tabelas B.3, B.4 e B.5) não sugerem diferenças entre o número médio de células após duas e seis horas, da injeção dos venenos de macho e de fêmea e também para o controle. É possível notar, apenas para a variável monócitos (Gráfico B.5), uma acentuada diminuição do número médio de células após seis horas da injeção do veneno de macho.

#### 4.3. Experimentos com Sangue Humano

A análise descritiva para os experimentos sangüíneos visa caracterizar o comportamento do veneno total e das frações de veneno de aranhas macho e fêmea, além de comparar a atividade do veneno total com as diferentes frações estudadas.

Os Gráficos C.1 e C.2 apresentam os comportamentos das espécies *L. intermedia* e *L. laeta* de acordo com a quantidade removida de GPA-GPB. Apesar do pequeno tamanho amostral, os perfis individuais indicam uma pequena variação entre os comportamentos das curvas referentes ao mesmo sexo, porém, é possível notar uma diferença pronunciada entre o comportamento de machos e fêmeas para a espécie *L. intermedia* (Gráfico C.1) para todas as concentrações de veneno. Portanto, o veneno da aranha fêmea parece ter um maior poder de remoção de glicoforinas. Já para a espécie *L. laeta* (Gráfico C.2) o comportamento das curvas referentes aos venenos das aranhas macho e fêmea parecem semelhantes para as diferentes concentrações de veneno. Comparando as espécies, podemos notar que o veneno de *L. intermedia* macho possui o menor poder de remoção dessas glicoforinas.

Da mesma forma, foi verificada a quantidade restante de GPC na membrana das hemácias. Os Gráficos C.3 e C.4 apresentam os perfis individuais para as espécies *L. laeta* e *L. intermedia*. A partir desses gráficos, notamos que as espécies se comportam de maneira semelhante e que menores concentrações de veneno da fêmea, são capazes de remover maiores quantidades de glicoforina C, em ambas as espécies.

Também analisamos a porcentagem de remoção de glicoforinas A e B das hemácias. Os Gráficos e Tabelas C.5, C.6 e C.7 apresentam os resultados obtidos. Para a espécie *L. gaucho*, nota-se uma diferença marcante entre o comportamento de aranhas macho e fêmea. Para as demais espécies, é possível verificar essa diferença apenas para altas concentrações de veneno. Entretanto, os resultados sugerem que o veneno da aranha fêmea, em todas as espécies, parece ser mais agressivo quanto à remoção dessas glicoforinas.

As frações dos venenos também foram analisadas separadamente para verificar o poder destas na remoção de glicoforinas A. A partir dos Gráficos C.8 a C.14, é possível notar que cada fração possui um comportamento distinto. Entretanto, o veneno da fêmea apresenta, para todas as frações, maior capacidade de remoção de glicoforina A. O comportamento das frações F4 e P1' do veneno da fêmea assemelha-se ao do macho.

Para uma análise conjunta da atividade das frações, são apresentados os Gráficos C.15 e C.16. Analisando esses gráficos, percebe-se que a fração F2 do veneno da fêmea parece ser mais agressiva. Para o veneno do macho, é possível notar que as frações P1' e F2 apresentam as maiores porcentagens de remoção de GPA para todas as concentrações de veneno. Além disso, na concentração de 1000 ng/ml, nota-se que a fração F35 apresenta maior poder de remoção de glicoforinas A.

Nos experimentos utilizando ensaios sangüíneos também foi analisada a porcentagem de hemólise das hemácias, quando estas foram tratadas com o veneno total ou com diferentes frações de veneno das espécies *L. gaucho*, *L. intermedia* e *L. laeta*.

Os Gráficos C.17 a C.22 apresentam os perfis individuais e médios da porcentagem de hemólise para as três espécies. Para a espécie *L. gaucho*, percebemos que há variação da porcentagem de hemólise quando comparados os venenos de macho e de fêmea, em baixas concentrações de veneno. A partir de determinada concentração, os valores de hemólise provocados pelo veneno de machos e fêmeas se igualam. Analisando o perfil individual e o perfil médio para a espécie *L. intermedia*, observamos que o comportamento do veneno de aranhas macho e fêmea são semelhantes para todas as concentrações de veneno analisadas, sugerindo não existir diferenças entre os



valores de hemólise para machos e fêmeas. Para os venenos de aranhas da espécie *L. laeta*, a análise descritiva também sugere que não há diferenças entre as curvas relativas à porcentagem de hemólise para o veneno de ambos os sexos.

Também foi analisada a porcentagem de hemólise provocada pelas diferentes frações do veneno. Os Gráficos C.23 a C.29 apresentam os perfis médios das frações F35, F1, F2, F4, P1, P1' e P2, respectivamente. Os gráficos mostram que, para a maioria das frações, o veneno da fêmea parece ser mais hemolítico. As frações F35, P1, P2, e F4, assemelham-se quanto ao comportamento de suas curvas, pois tanto o veneno do macho quanto o da fêmea possuem atividade hemolítica, e esta aumenta com o aumento da concentração de veneno. Já nas frações F1, F2 e P1', o veneno de aranhas macho não apresenta atividade hemolítica e o veneno da fêmea só apresenta altas porcentagens de hemólise em altas concentrações de veneno, quando comparado com as frações anteriores.

Quando foram comparadas todas as frações do veneno de fêmeas (Gráfico C.30), percebemos que em baixas concentrações de veneno, as frações com maior atividade hemolítica são as frações F35 e P1. Para as frações do veneno de machos (Gráfico C.31), a fração F35 parece produzir uma maior porcentagem de hemólise em baixas concentrações de veneno. Porém, tanto para as frações do veneno de machos quanto para o de fêmeas, a porcentagem de hemólise é alta quando são consideradas altas concentrações de veneno, exceto para as frações F1, F2 e P1' do veneno de machos que não apresentam atividade hemolítica. Além disso, a análise descritiva sugere que o veneno de fêmeas provoca 100% de hemólise em concentrações inferiores quando comparado ao veneno de machos.

#### **4.4. Experimentos para a Análise do Veneno**

No estudo do veneno total foram analisadas a atividade e a concentração da enzima esfingomielinase. Os Gráficos D.1, D.2 e D.3, no Apêndice D, apresentam os perfis individuais da atividade esfingomielinásica de sete concentrações dos venenos de ambos os sexos, das três espécies de aranhas. Analisando cada espécie

separadamente, não é possível diferenciar o comportamento do veneno de machos e fêmeas para a maioria das concentrações. Esse comportamento parece diferir entre o sexo apenas em elevadas concentrações do veneno. Além disso, as três espécies apresentam, em geral, comportamentos semelhantes. Para a análise da concentração de esfingomielinase, é apresentado o gráfico “dot plot” (Gráfico D.4), que mostra claramente que o veneno de aranhas fêmeas das três espécies possui maior quantidade de esfingomielinase.

## **5. Análise Inferencial**

Esta seção apresenta a análise inferencial para o estudo de diferenças estatisticamente significantes entre as espécies e entre os grupos (quanto ao sexo das aranhas) estudados, assim como entre as frações de veneno. Para os experimentos com coelhos, as variáveis edema, lesão e soroneutralização serão analisadas apenas descritivamente devido ao reduzido tamanho amostral.

### **5.1. Experimentos com Coelhos**

A análise inferencial da variável dermonecrose foi realizada através da média das diferenças da área de dermonecrose (fêmea - macho), para cada espécie, nos diferentes períodos de tempo analisados. Assim, foi possível observar o comportamento do veneno de aranhas macho e fêmea das diferentes espécies.

O modelo de perfil de médias não foi utilizado devido ao reduzido tamanho amostral. Assim, para comparar o comportamento das três espécies estudadas, foi realizada uma Análise de Variância (ver Neter et al, 1996) com um efeito fixo (fator: espécie) para cada período de tempo estudado, sendo que o nível de significância considerado foi de 0,05. As suposições de homocedasticidade, normalidade e independência dos erros foram satisfeitas. A Tabela E.1 apresenta os resultados obtidos.

Comparando as três espécies, verificamos que há diferenças significativas entre os comportamentos dos venenos das espécies para todos os períodos de tempo, exceto para 0 e 120 horas após a injeção do veneno. As espécies *L. gaucho* e *L. laeta* possuem as mesmas médias das diferenças da área de dermonecrose para 0, 24, 48 e 120 horas, sendo que após 72 e 96 horas, a *L. gaucho* é a que causa uma maior área de dermonecrose.

Além disso, realizamos testes “ t ” pareados, com nível de significância de 0,05, para analisar o comportamento de cada espécie separadamente nos diferentes períodos de tempo, e também foram construídos intervalos de confiança a 95% para a diferença entre a média da resposta quanto ao sexo para todas as concentrações. Assim, caso o zero pertença ao intervalo, concluímos que não há diferenças quanto ao sexo. Os resultados estão apresentados na Tabela E.2 e os intervalos de confiança nos Gráficos E.1, E.2 e E.3.

Quando cada espécie foi estudada separadamente, foi verificado que a *L. gaucho* e a *L. intermedia* possuem um comportamento constante para 24, 48, 72 e 96 horas após a injeção do veneno. Para a *L. laeta*, também foram observadas diferenças significativas para os períodos de tempo estudados. Todas as diferenças verificadas podem ser conferidas na Tabela E.2.

A análise dos intervalos de confiança mostra que para a espécie *L. gaucho* não há diferenças significativas quanto ao sexo para as concentrações de 0, 72 e 120  $\mu\text{g/ml}$ . Para a espécie *L. intermedia* diferenças significativas foram encontradas para todas as concentrações, exceto para 0 e 120  $\mu\text{g/ml}$ ; e para a *L. laeta*, os intervalos de confiança não mostram diferenças quanto ao sexo para as concentrações de 0, 72, 96 e 120  $\mu\text{g/ml}$  de veneno.

## 5.2. Experimentos com Camundongos

As variáveis leucócitos ativados, leucograma, PMN, linfócitos e monócitos foram analisadas através de uma Análise de Variância (ver Neter et al,1996) com dois efeitos fixos (fatores: grupo e tempo) com nível de significância de 0,05. As suposições de

homocedasticidade, normalidade e independência dos erros foram diagnosticadas, sendo que para todas as variáveis tais premissas foram apropriadas. Cada variável foi estudada com o intuito de verificar se existiam diferenças significativas entre os grupos (controle, macho e fêmea) e os períodos de tempo estudados (2 e 6 horas após a injeção do veneno de *L. intermedia*). O efeito de interação entre grupo e tempo foi também avaliado para verificar se as diferenças entre os grupos dependem do tempo.

Para as variáveis leucograma, PMN, linfócitos e monócitos, não foram encontradas diferenças significativas. É importante observar nas Tabelas B.2, B.3, B.4 e B.5 os elevados valores dos desvios padrão, possivelmente contribuindo para que os resultados da análise inferencial não mostrem diferenças significativas entre o número médio de células após duas e seis horas da injeção dos venenos de macho e fêmea e também para o controle. As Tabelas E.3 a E.6 apresentam as tabelas de análise de variância para os modelos ajustados aos dados. Para todas as situações, todos os efeitos foram eliminados e foi ajustado o modelo apenas com a média. Assim, foi calculada uma média geral para cada variável e o respectivo erro padrão. A Tabela E.7 apresenta as estimativas da média e o erro padrão de cada variável estudada.

A variável leucócitos ativados apresentou, através dos resultados da Tabela E.8, efeito de interação significativo ( $p$  - valor = 0,008), isto é, o número médio de leucócitos ativados quando avaliado em 2 e 6 horas depende do grupo estudado. Para o estudo do efeito de interação (vide Gráfico B.1), as diferenças entre tempo e grupo foram analisadas através de Comparações Múltiplas de Tukey e verificou-se que apenas o veneno da fêmea, após 6 horas, é capaz de ativar um maior número de leucócitos.

### **5.3. Experimentos com Sangue Humano**

As variáveis dos experimentos com sangue humano foram analisadas através de Análises de Variância (ver Neter et al, 1996) com dois efeitos fixos (fatores: sexo e concentração ou fração e concentração). Foi possível comparar os efeitos das diferentes espécies estudadas e também os efeitos causados pelos venenos de aranhas macho e fêmea para as variáveis estudadas. Durante a análise foi verificado

que as suposições de homocedasticidade, normalidade e independência dos erros estavam satisfeitas.

A análise inferencial da variável quantidade restante de GPA-GPB é apresentada nas Tabelas E.9 a E.12. Após a verificação das tabelas de análise de variância (Tabelas E.9 e E.11), as quais mostraram a existência do efeito de interação entre os fatores sexo e concentração para as duas espécies estudadas, foram realizados testes de contrastes (fêmea - macho) entre médias para a família de contrastes de interesse para verificar as diferenças entre as médias de GPA-GPB dos venenos de macho e fêmea ao longo das concentrações. Como está sendo estimado um número grande de contrastes, a análise do p-valor será realizada através de um nível de significância corrigido por Bonferroni ( $\alpha/g$ ), (ver Neter et al, 1996), onde  $\alpha$  é o nível de significância adotado para a família de contrastes ( $\alpha = 0,05$ ) e  $g$  é o número de contrastes que serão estimados. Esse nível de significância individual será denotado por  $\alpha^*$ . Assim, para a variável quantidade restante de GPA-GPB temos que  $\alpha^* = 0,0083$ .

Analizando as Tabelas E.10 e E.12 é possível perceber que para as espécies *L. intermedia* e *L. laeta*, o comportamento do veneno da fêmea difere do macho em todas as concentrações, exceto para a concentração de 0  $\mu\text{g/ml}$ , sendo que a fêmea é mais agressiva (exceto para a concentração de 10  $\mu\text{g/ml}$  da espécie *L. laeta*). A comparação entre as espécies foi feita qualitativamente, assim foi possível perceber que em menores concentrações de veneno, o veneno da fêmea e do macho da espécie *L. laeta* é capaz de remover maiores quantidades de GPA-GPB.

A variável quantidade restante de GPC foi analisada de forma semelhante à variável acima. Foi realizada uma análise de variância para cada espécie para verificar os efeitos dos fatores sexo e concentração. Os resultados apresentados nas Tabelas E.13 e E.15 mostram a existência do efeito de interação. Assim, foram estimados contrastes para o estudo das diferenças significativas entre as médias de GPC dos venenos de macho e fêmea. O nível de significância individual de cada contraste é de  $\alpha^* = 0,0071$ .

Para a espécie *L. intermedia* notamos que as diferenças entre as médias de GPC dos venenos de macho e fêmea aparecem a partir da concentração de 1  $\mu\text{g/ml}$  (exceto para 10  $\mu\text{g/ml}$ ), enquanto isso, para a *L. laeta*, essa diferença já pode ser verificada a partir da concentração de 0,5  $\mu\text{g/ml}$ . É importante observar que para a *L. laeta* existem

diferenças entre os venenos de macho e fêmea apenas para as concentrações de 0,5 e 1 µg/ml. A comparação entre as espécies foi qualitativa. É possível observar que a atividade de remoção de GPC dos venenos da espécie *L. laeta* iniciam-se em menores concentrações. Logo, conclui-se que essa espécie é a mais agressiva, pois em menores concentrações, os venenos já possuem poder de remoção de glicoforinas.

Da mesma forma, também foi estudada a porcentagem de remoção de GPA-GPB para as diferentes espécies (*L. gaucho*, *L. intermedia* e *L. laeta*). Foram analisadas tabelas de análise de variância, uma para cada espécie (Tabelas E.17, E.19 e E.21), para estudar os fatores de interesse (sexo e concentração de veneno). A partir das tabelas notamos a existência do efeito de interação, e portanto, foram estimados contrastes para verificar as diferenças entre as médias de GPA-GPB dos venenos de macho e fêmea de cada espécie, sendo que o nível de significância individual adotado é de  $\alpha^* = 0,0125$ .

As Tabelas E.18, E.20 e E.22 apresentam os resultados para as comparações entre os venenos de macho e fêmea das três espécies analisadas. Observando as tabelas, é possível notar que para a *L. gaucho*, existem diferenças significativas entre os comportamentos dos venenos de macho e fêmea para todas as concentrações de veneno, exceto para 0 µg/ml. Já para as espécies *L. intermedia* e *L. laeta*, verificamos que o comportamento dos venenos de macho e fêmea são diferentes apenas para as concentrações de 0,5 e 1 µg/ml de veneno.

No estudo das frações, a variável GPA foi analisada com o objetivo de encontrar diferenças significativas entre os venenos de macho e fêmea, para cada fração estudada. Para atingir esse objetivo, foi realizada uma análise de variância para cada fração para o estudo dos fatores (sexo e concentração de veneno) e em seguida foram estimados contrastes para analisar as diferenças encontradas entre as médias de GPA para os venenos de macho e fêmea. O nível de significância individual de cada contraste é de  $\alpha^* = 0,0125$ . As Tabelas E.24 a E.36 apresentam os resultados.

Foram verificadas diferenças significativas entre o sexo para a maioria das frações, sendo que a fêmea sempre apresenta maior capacidade de remoção de glicoforinas A. A fração F4 é a única que apresenta um comportamento semelhante para os venenos de macho e fêmea, exceto para a concentração 100 ng/ml. É necessário analisar todas

as tabelas cuidadosamente para que se possa concluir sobre o comportamento das sete frações, em todas as concentrações de veneno.

Todas as frações foram analisadas conjuntamente através de uma análise qualitativa. Para a comparação das sete frações, o interesse é verificar qual ou quais frações são capazes de remover maior quantidade de GPA na menor concentração de veneno. Logo, considerando a concentração de 1ng/ml de veneno, notamos que as frações F2 e P1' do veneno da aranha macho são responsáveis por remover uma maior quantidade de glicoforinas A. Para o veneno da fêmea, notamos que a fração F2 é capaz de remover uma maior quantidade de GPA, para essa mesma concentração.

O comportamento dos venenos de macho e fêmea também foi analisado para a variável hemólise. Assim, para cada espécie, foi realizada uma análise de variância para estudar os fatores de interesse (sexo e concentração de veneno), os resultados indicam que para todas as espécies foi encontrado efeito de interação entre os fatores. Foram estimados contrastes para verificar as diferenças significativas entre as médias de hemólise dos venenos de macho e fêmea para as diferentes concentrações. O nível de significância corrigido de Bonferroni é de  $\alpha^* = 0,01$ . As Tabelas E.37 a E.42 apresentam os resultados obtidos.

Notamos que para a espécie *L. gauchoi*, existe diferença significativa entre os venenos de macho e fêmea apenas para a concentração de 0,001  $\mu\text{g/ml}$ . Entretanto, para as demais espécies, a diferença entre os venenos encontra-se para a concentração de 0,01  $\mu\text{g/ml}$ . Sendo que para as demais concentrações, o veneno da aranha macho é igual ao da aranha fêmea.

As três espécies estudadas foram comparadas entre si através de uma análise qualitativa. Notamos que para o veneno de fêmeas, existe diferença significativa entre as espécies apenas para a concentração de 0,001  $\mu\text{g/ml}$ . Já para os venenos de macho, essa diferença encontra-se na concentração de 0,01  $\mu\text{g/ml}$  de veneno. Sendo que em ambos os casos, o veneno de *L. gauchoi* possui maior poder hemolítico.

Para a variável hemólise, também foi avaliada a atividade hemolítica das frações de veneno. Assim como na análise anterior, foi construída uma tabela de análise de variância para cada fração e foi analisado o efeito dos fatores (sexo e concentração de veneno). Foi verificada a existência do efeito de interação significativo (exceto para F4),

logo, contrastes (fêmea - macho) foram construídos para verificar as diferenças entre as médias de hemólise dos venenos de macho e fêmea ao longo das concentrações, sendo que o nível de significância individual segundo o método de Bonferroni é de  $\alpha^* = 0,0056$ . As Tabelas E.43 a E.56 apresentam os resultados obtidos.

A maioria das frações apresentou diferenças significativas entre os comportamentos dos venenos estudados, sendo que a fração do veneno da fêmea mostrou-se sempre mais hemolítica, exceto para a fração F4. O estudo da fração F4 mostrou que os venenos de macho e fêmea não diferem para as concentrações verificadas, isto é, ambos possuem o mesmo comportamento.

As frações da variável hemólise também foram comparadas entre si através de uma análise qualitativa. Para as frações de veneno do macho, notou-se que, para a concentração de 0,015 µg/ml, todas as frações possuem os mesmos valores para a porcentagem de hemólise (zero), exceto a fração F35 que difere das demais e portanto é a mais hemolítica dentre as frações estudadas. Para as frações de veneno da fêmea, também foi verificado que a fração F35 é a mais hemolítica em baixas concentrações de veneno.

#### **5.4. Experimentos para a Análise do Veneno**

No estudo do veneno total foram analisadas a atividade e a concentração da enzima esfingomielinase. A variável atividade esfingomielinásica, foi analisada através de uma Análise de Variância (ver Neter et al,1996) com dois efeitos fixos (fatores: sexo e concentração), para cada espécie, para observar o comportamento da enzima nos venenos de macho e fêmea. A Análise de Variância com efeitos fixos também foi utilizada para comparar o comportamento das três espécies estudadas. O nível de significância considerado para todas as análises foi de 0,05. As suposições de homocedasticidade, normalidade e independência dos erros foram satisfeitas.

Para a variável atividade esfingomielinásica, as Tabelas E.57, E.59 e E.62 apresentam as tabelas de análise de variância de cada espécie estudada (*L. gaucho*, *L.*



*intermedia* e *L. laeta*), assim, é possível observar a presença de diferentes efeitos dos fatores (sexo, concentração ou interação).

Foi verificado que a espécie *L. gauch* apresenta apenas efeito significativo de concentração (p - valor <0,001). O efeito de interação entre sexo e concentração e efeito principal de sexo não foi significativo. Logo, conclui-se que os venenos de macho e fêmea comportam-se de forma semelhante. O efeito de concentração foi estudado através de Comparações Múltiplas de Tukey. Foram determinados 3 grupos com comportamentos distintos e suas médias e erros padrão foram estimados através do ajuste do modelo linear reduzido. A Tabela E.58 apresenta os resultados obtidos.

O efeito de interação entre sexo e concentração foi não significativo para a espécie *L. intermedia*, sendo que os efeitos marginais de sexo (p - valor <0,001) e de concentração (p - valor <0,001) foram significativos, o que pode ser verificado na tabela de análise de variância (Tabela E.59). As Tabelas E.60 e E.61 mostram que apenas as concentrações 0µg/ml e 20µg/ml diferem das demais, e em relação ao sexo, foi verificado que o veneno da fêmea possui uma maior atividade esfingomielinásica. As médias e correspondentes erros padrão da resposta de cada grupo foram estimadas através do ajuste do modelo linear reduzido.

O efeito de interação (p - valor = 0,003) encontrado para a espécie *L. laeta* foi significativo (Tabela E.62). Assim, ao longo das concentrações, o padrão da quantidade de esfingomielinas clivadas quanto ao sexo é diferente. Foram calculadas estimativas de contrastes, e utilizando a correção de Bonferroni, foi verificado que os venenos de macho e fêmea se comportam de forma semelhante até a concentração de 5 µg/ml de veneno e em 20µg/ml de veneno. Apenas na concentração de 10 µg/ml, o veneno da fêmea é capaz de clivar um maior número de esfingomielinas que o veneno do macho. A Tabela E.63 apresenta as estimativas para os contrastes (diferença entre fêmea e macho) ao longo das concentrações e os respectivos p - valores.

Como citado anteriormente, foram comparados os venenos de fêmea das três espécies e também os de macho. Como não há interesse em comparar os venenos de fêmea e macho das diferentes espécies, optamos por realizar duas Análises de Variância com efeitos fixos (ver Neter et al, 1996), uma para cada sexo, para a

verificação dos efeitos presentes (espécie, concentração ou interação). As Tabelas E.64 e E.66 apresentam as tabelas de análise de variância para cada sexo estudado.

Para a comparação dos venenos de fêmeas (Tabela E.64), a análise revelou diferenças significativas apenas entre as concentrações ( $p$  - valor  $<0,001$ ), indicando que para estes venenos, não há diferença entre as espécies. A Tabela E.65 apresenta as estimativas da média e correspondente erro padrão da atividade esfingomielinásica para os grupos de concentrações encontrados.

Na comparação entre os comportamentos dos venenos de aranhas macho (Tabela E.66), também foi encontrado apenas efeito de concentração ( $p$  - valor  $<0,001$ ), logo, as três espécies possuem o mesmo comportamento. A Tabela E.67 apresenta as estimativas da média e do erro padrão da resposta para os diferentes grupos de concentração encontrados.

Para a variável concentração de esfingomielinase, os efeitos de sexo e espécie também foram estudados através de uma Análise de Variância com efeitos fixos (ver Neter et al, 1996) com nível de significância de 0,05. Através da tabela de análise de variância (Tabela E.68), verificou-se que existe efeito de interação entre os fatores ( $p$  - valor = 0,047). Logo, o padrão de diferenças quanto ao sexo é diferente para as espécies estudadas. Entretanto, apesar do efeito de interação, vale notar que o efeito principal de sexo é muito maior que o efeito de espécie. Através do teste “t”, foi possível observar, que quando os venenos de fêmea das três espécies foram comparados entre si, não foram encontradas diferenças significativas; o mesmo ocorreu quando comparados os venenos de macho das três espécies. Assim, não há diferença entre o comportamento dos venenos de machos ou fêmeas entre as três espécies. Entretanto, quando foram comparados os comportamentos dentro de cada espécie, isto é, de machos e fêmeas entre si, foram encontradas diferenças importantes, assim, foram estimados contrastes, com nível de significância de 0,05 para verificar essas diferenças (Tabela E.69). Para a espécie *L. gaucho*, verificou-se que não há diferença entre os venenos de aranhas macho e fêmea; já para as espécies *L. intermedia* e *L. laeta* os resultados mostraram que o veneno da fêmea possui uma maior concentração de esfingomielinase do que o do macho. Logo, para a variável concentração de

esfingomielinase, as diferenças encontram-se dentro das espécies e não entre espécies.

## 6. Conclusões

Considerando a variável dermonecrose, a análise inferencial confirma que para a comparação entre as espécies, o veneno de *L. gaucha* é responsável por produzir uma maior lesão necrosante após 72 e 96 horas da injeção do veneno. Para o estudo individual das espécies, foram verificadas diferenças significativas para as três espécies, nos diferentes períodos de tempo, sendo que a *L. gaucha* e a *L. intermedia* possuem um comportamento constante para 24, 48, 72 e 96 horas após a injeção do veneno.

De acordo com a análise descritiva, para as variáveis edema e lesão, o veneno da fêmea, sempre mostrou-se mais agressivo quanto às lesões dérmicas. No estudo descritivo da soroneutralização, foi possível perceber que o soro anti-veneno de *L. laeta* fêmea apresentou-se como o mais eficiente.

A análise inferencial para os experimentos com camundongos não revelou diferenças significativas entre o número médio de células presentes no sangue dos animais entre os grupos (macho, fêmea e controle) e para os tempos estudados (2 e 6 horas) para as variáveis leucograma, PMN, linfócitos e monócitos. Apenas a variável leucócitos ativados apresentou efeito de interação, assim, foi verificado que o veneno da fêmea é capaz de ativar um maior número de leucócitos após 6 horas da injeção deste.

Considerando o poder de remoção de glicoforinas, o veneno da fêmea sempre mostrou-se mais agressivo que o do macho nas três espécies estudadas. Quando as espécies foram comparadas entre si, foi verificado que para as variáveis quantidade restante de GPA-GPB e quantidade restante de GPC, o veneno de *L. laeta* foi capaz de remover maiores quantidades de glicoforinas.

No estudo das frações, também foi verificado que as frações de veneno da fêmea têm maior poder de remoção de glicoforinas A, para a maioria das concentrações de veneno. Exceto a fração F4, que não apresenta diferenças significativas entre os comportamentos dos venenos de macho e fêmea. Além disso, quando as frações foram comparadas entre si, notamos que as frações F2 e P1' do veneno do macho e a fração F2 do veneno da fêmea são as mais agressivas.

Na atividade hemolítica, observamos que há diferenças entre os comportamentos dos venenos de macho e fêmea para as três espécies, em pelo menos um nível de concentração de veneno. Quando as espécies foram comparadas conjuntamente, foi verificado que existe diferença significativa entre os venenos de fêmeas das três espécies para a concentração de 0,001 µg/ml, sendo que o mesmo foi observado para os venenos de macho na concentração de 0,01 µg/ml.

A análise da atividade esfingomielinásica apresentou diferenças marcantes para os comportamentos de cada uma das três espécies estudadas, podendo ser encontrado diferentes efeitos dos fatores. Além disso, foi verificado que o veneno da fêmea possui uma maior quantidade da enzima esfingomielinase, exceto para o veneno da fêmea da espécie *L. gaucha*, que se iguala ao do macho. Entretanto, quando são comparados os venenos de macho das três espécies ou então os de fêmea, nenhuma diferença significativa entre as espécies foi encontrada.

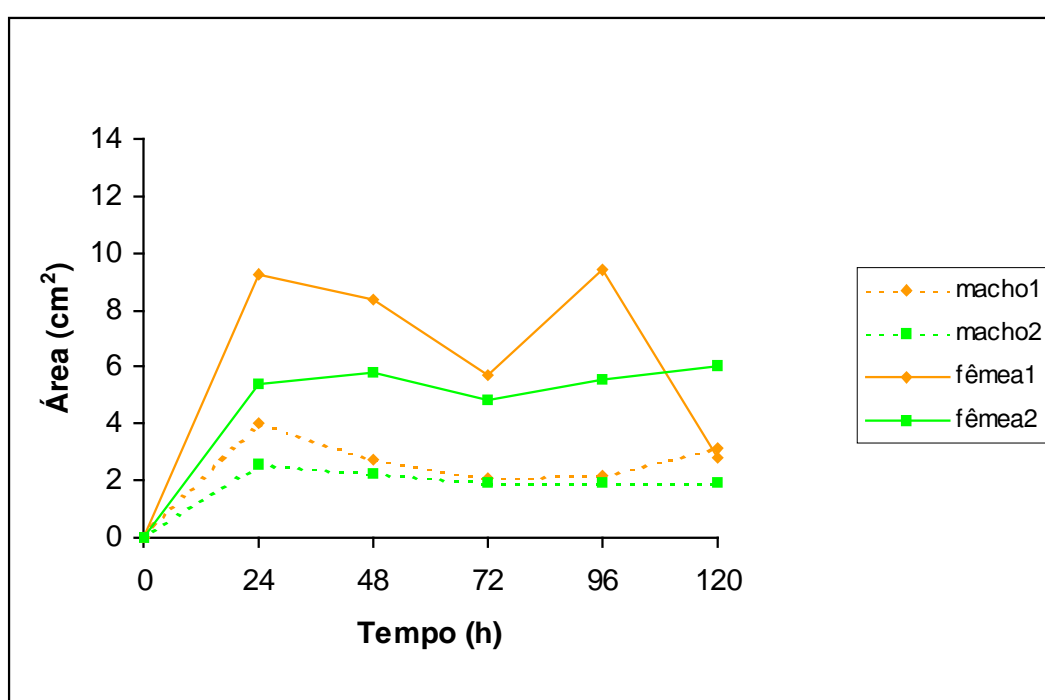
## **Apêndice A**

### **Experimentos com Coelhos**

**Tabela A.1** - Medidas descritivas para área de dermonecrose (cm<sup>2</sup>) - *L. gaucho* - veneno total.

Tempo	N	Sexo	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
0	2	Fêmea	0,00	0,00	0,00	0,00
		Macho	0,00	0,00	0,00	0,00
24	2	Fêmea	7,31	2,74	5,37	9,25
		Macho	3,28	1,02	2,56	4,00
48	2	Fêmea	7,10	1,82	5,81	8,38
		Macho	2,50	0,35	2,25	2,75
72	2	Fêmea	5,28	0,66	4,81	5,75
		Macho	2,00	0,08	1,94	2,06
96	2	Fêmea	7,47	2,70	5,56	9,38
		Macho	2,07	0,18	1,94	2,20
120	2	Fêmea	4,41	2,25	2,81	6,00
		Macho	2,54	0,84	1,94	3,13

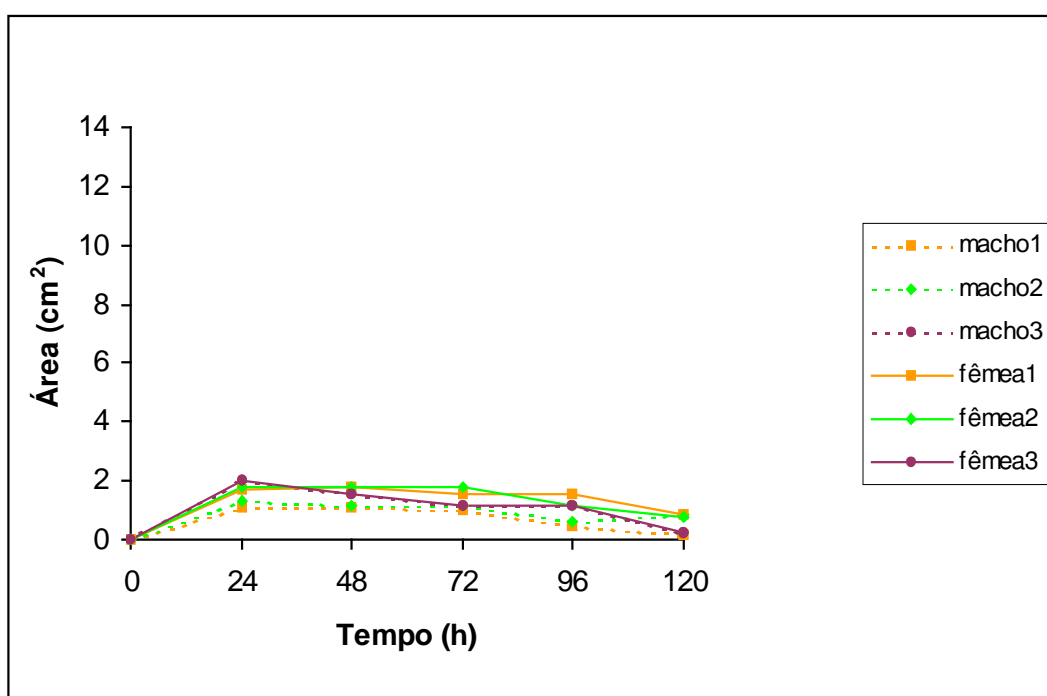
**Gráfico A.1** - Perfis individuais para área de dermonecrose (cm<sup>2</sup>) - *L. gaucho* - veneno total.



**Tabela A.2** - Medidas descritivas para área de dermonecrose (cm<sup>2</sup>) - *L. intermedia* - veneno total.

Tempo	N	Sexo	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
0	3	Fêmea	0,00	0,00	0,00	0,00
		Macho	0,00	0,00	0,00	0,00
24	3	Fêmea	1,83	0,16	1,69	2,00
		Macho	1,11	0,22	0,91	1,35
48	3	Fêmea	1,70	0,14	1,54	1,81
		Macho	0,97	0,22	0,72	1,13
72	3	Fêmea	1,50	0,29	1,19	1,75
		Macho	0,89	0,31	0,54	1,13
96	3	Fêmea	1,31	0,22	1,19	1,56
		Macho	0,43	0,21	0,21	0,63
120	3	Fêmea	0,62	0,34	0,24	0,88
		Macho	0,34	0,42	0,01	0,81

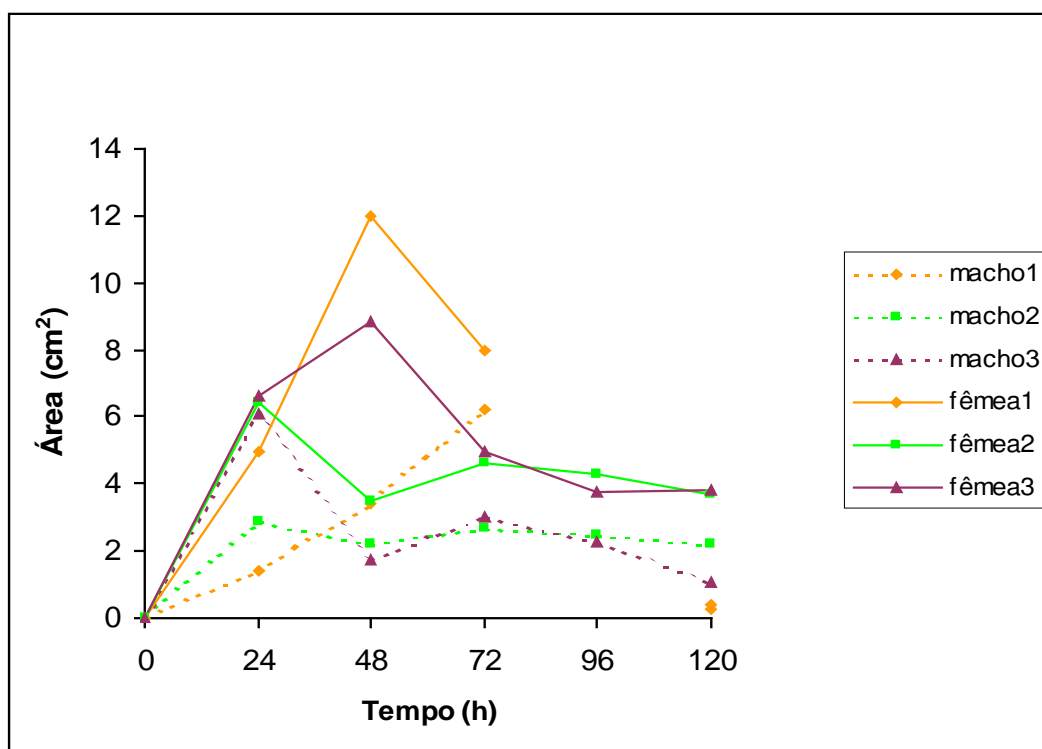
**Gráfico A.2** - Perfis individuais para área de dermonecrose (cm<sup>2</sup>) - *L. intermedia* - veneno total.



**Tabela A.3** - Medidas descritivas para área de dermonecrose (cm<sup>2</sup>) - *L. laeta* - veneno total.

Tempo	N	Sexo	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
0	3	Fêmea	0,00	0,00	0,00	0,00
		Macho	0,00	0,00	0,00	0,00
24	3	Fêmea	6,01	0,91	4,96	6,63
		Macho	3,47	2,42	1,40	6,13
48	3	Fêmea	8,10	4,29	3,50	12,00
		Macho	2,44	0,86	1,75	3,40
72	3	Fêmea	5,86	1,86	4,63	8,00
		Macho	3,98	1,97	2,69	6,25
96	3	Fêmea	4,03	0,40	3,75	4,31
		Macho	2,38	0,18	2,25	2,50
120	3	Fêmea	2,59	2,01	0,28	3,81
		Macho	1,22	0,89	0,42	2,19

**Gráfico A.3** - Perfis individuais para área de dermonecrose (cm<sup>2</sup>) - *L. laeta* - veneno total.

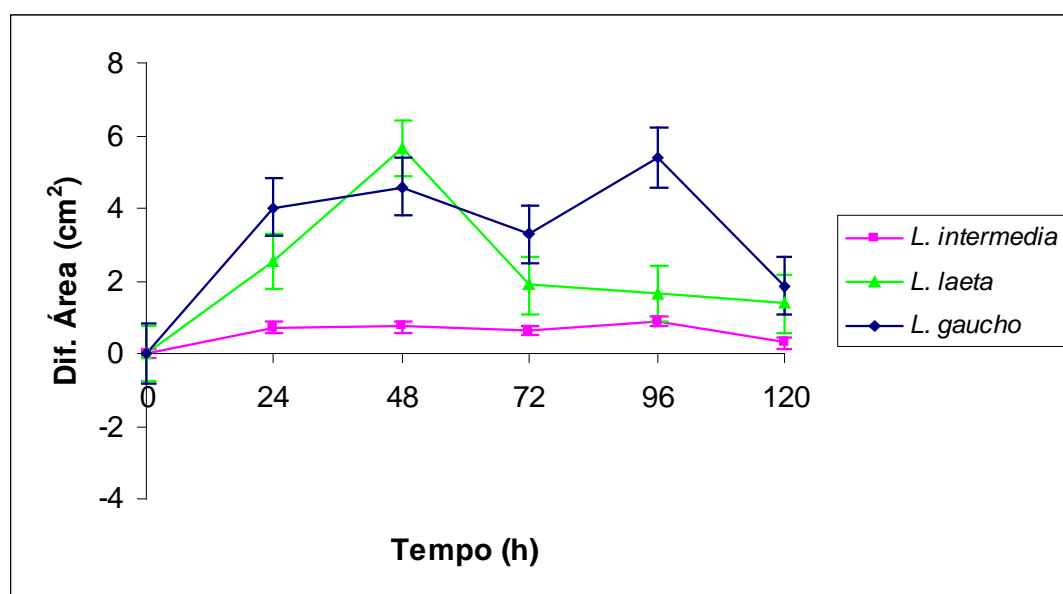




**Tabela A.4** - Medidas descritivas para a diferença da área de dermonecrose (cm<sup>2</sup>) entre o sexo (fêmea - macho) - veneno total.

Espécie	Tempo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
<i>L. gaucho</i>	0	2	0,00	0,00	0,00	0,00
	24	2	4,03	1,73	2,81	5,25
	48	2	4,60	1,46	3,56	5,63
	72	2	3,28	0,58	2,87	3,69
	96	2	5,40	2,52	3,62	7,18
	120	2	1,87	3,10	-0,32	4,06
<i>L. intermedia</i>	0	3	0,00	0,00	0,00	0,00
	24	3	0,73	0,33	0,46	1,09
	48	3	0,73	0,10	0,63	0,82
	72	3	0,61	0,05	0,56	0,65
	96	3	0,89	0,29	0,57	1,12
	120	3	0,29	0,38	-0,06	0,69
<i>L. laeta</i>	0	3	0,00	0,00	0,00	0,00
	24	3	2,55	1,76	0,51	3,57
	48	3	5,66	3,84	1,32	8,60
	72	3	1,88	0,11	1,75	1,94
	96	2	1,10	0,97	0,00	1,81
	120	3	1,37	1,45	-0,14	2,75

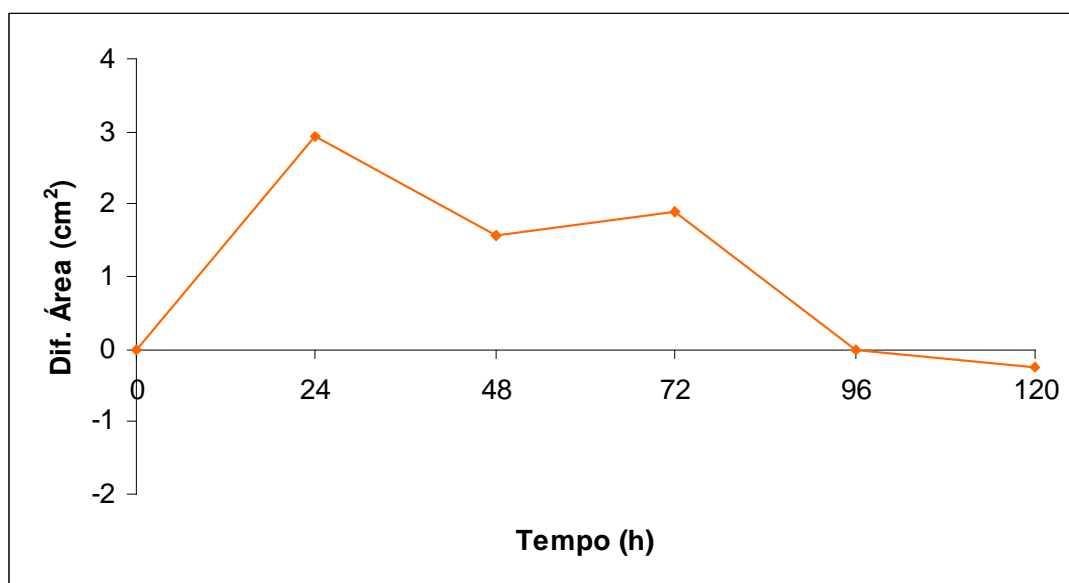
**Gráfico A.4** - Perfil médio para a diferença da área de dermonecrose (cm<sup>2</sup>) - veneno total.



**Tabela A.5** - Medidas descritivas para área de dermonecrose provocada pela fração F35 (cm<sup>2</sup>).

Tempo	Sexo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
0	Fêmea	2	0,00	0,00	0,00	0,00
	Macho	2	0,00	0,00	0,00	0,00
24	Fêmea	2	5,26	2,65	3,38	7,13
	Macho	2	2,32	0,18	2,19	2,44
48	Fêmea	2	2,76	2,65	0,88	4,63
	Macho	2	1,19	0,98	0,5	1,88
72	Fêmea	2	3,44	3,89	0,69	6,19
	Macho	2	1,54	1,55	0,44	2,63
96	Fêmea	1	0,50	-	-	-
	Macho	1	0,50	-	-	-
120	Fêmea	2	0,38	0,26	0,19	0,56
	Macho	2	0,63	0,09	0,56	0,69

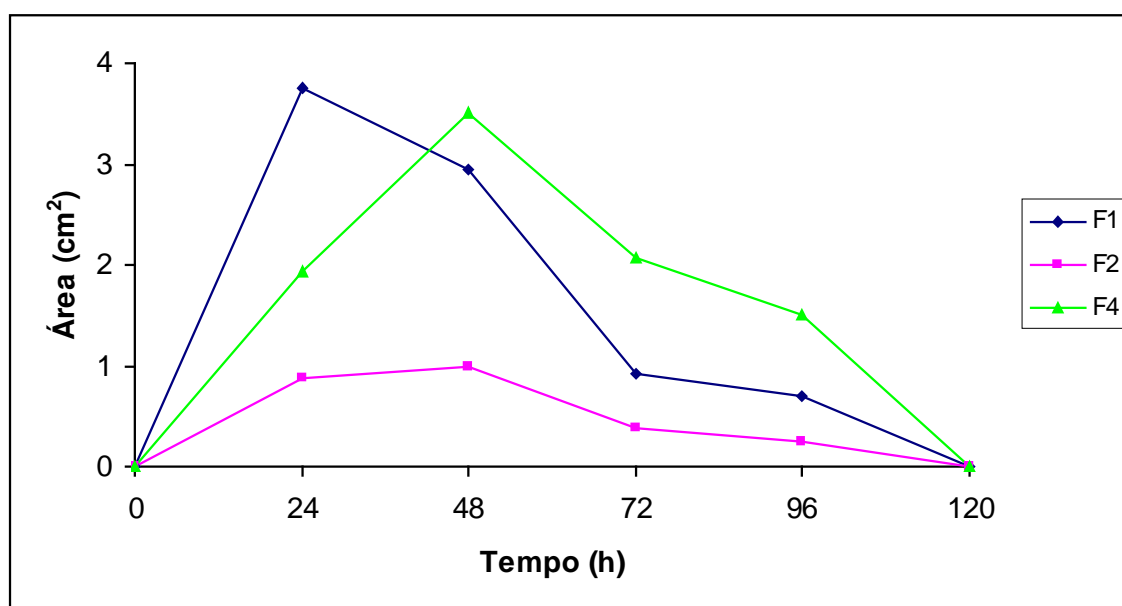
**Gráfico A.5** - Perfil médio da diferença da área de dermonecrose (cm<sup>2</sup>) entre o sexo (fêmea – macho) - fração F35.



**Tabela A.6** - Medidas da variável edema ( $\text{cm}^2$ ) - frações F1, F2 e F4.

(n = 1)

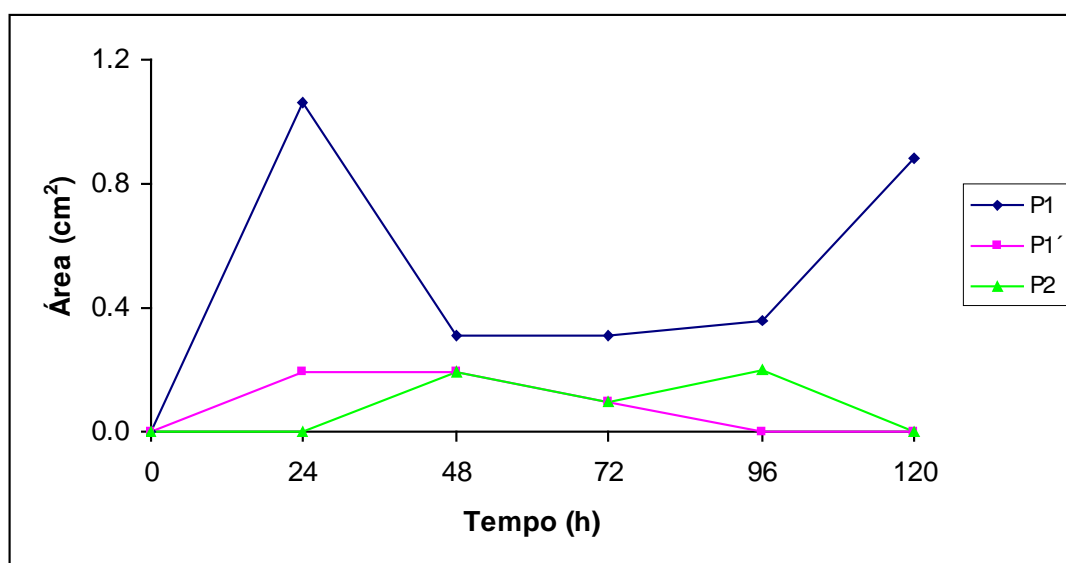
Fração	Sexo	Tempo					
		0	24	48	72	96	120
F1	Fêmea	0,00	4,31	2,94	0,93	0,69	0,00
	Macho	0,00	0,56	0,00	0,00	0,00	0,00
F2	Fêmea	0,00	0,88	1,00	0,38	0,25	0,00
	Macho	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
F4	Fêmea	0,00	4,00	5,00	3,44	2,19	0,00
	Macho	0,00	2,06	1,50	1,38	0,69	0,00

**Gráfico A.6** - Perfil da diferença da área de edema ( $\text{cm}^2$ ) entre o sexo (fêmea-macho) - frações F1, F2 e F4. (para n = 1)

**Tabela A.7** - Medidas da variável lesão (cm<sup>2</sup>) - frações P1, P1' e P2.

(n = 1)

Fração	Sexo	Tempo					
		0	24	48	72	96	120
P1	Fêmea	0,00	1,44	1,25	1,25	1,30	0,88
	Macho	0,00	0,38	0,94	0,94	0,94	0,00
P1'	Fêmea	0,00	0,19	0,19	0,10	0,00	0,00
	Macho	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
P2	Fêmea	0,00	0,25	0,38	0,50	0,50	0,00
	Macho	0,00	0,25	0,19	0,40	0,30	0,00

**Gráfico A.7** - Perfil da diferença da área de lesão (cm<sup>2</sup>) entre o sexo (fêmea - macho) - frações P1, P1' e P2. (para n = 1)

**Tabela A.8** - Medidas da variável soroneutralização (%) - veneno total.Soro anti-veneno de *L. intermedia* macho

<b>Espécie</b>	<b>Fêmea</b>	<b>Macho</b>
<i>L. intermedia</i>	13,9	100
	45,78	65,99
<i>L. laeta</i>	49,6	38,0
	0	0

Soro anti-veneno de *L. intermedia* fêmea

<b>Espécie</b>	<b>Fêmea</b>	<b>Macho</b>
<i>L. intermedia</i>	91,29	100
	95,48	100
<i>L. laeta</i>	49,6	38
	82,57	79,4

Soro anti-veneno de *L. laeta* macho

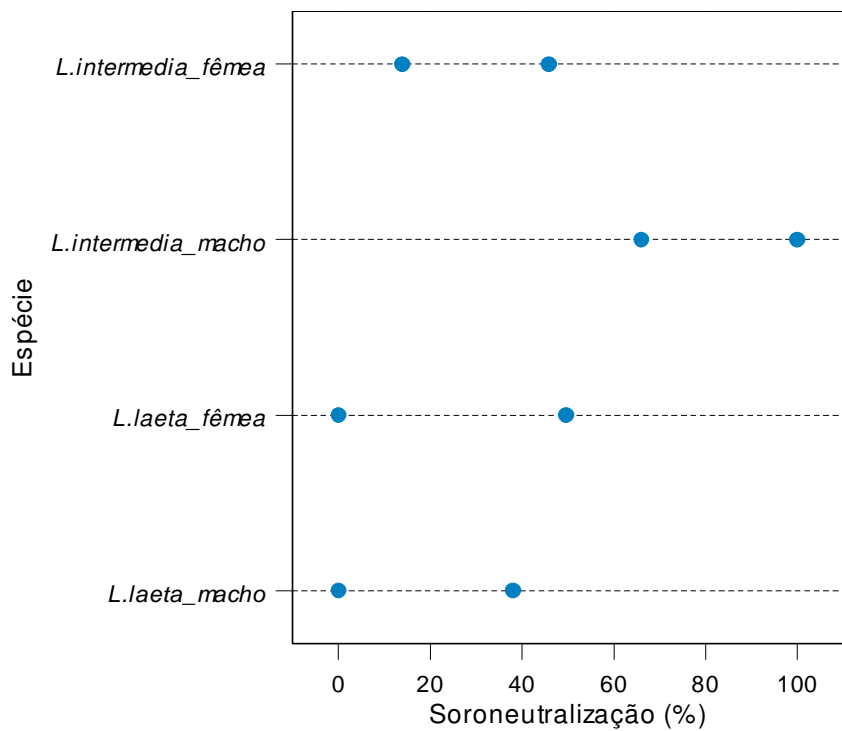
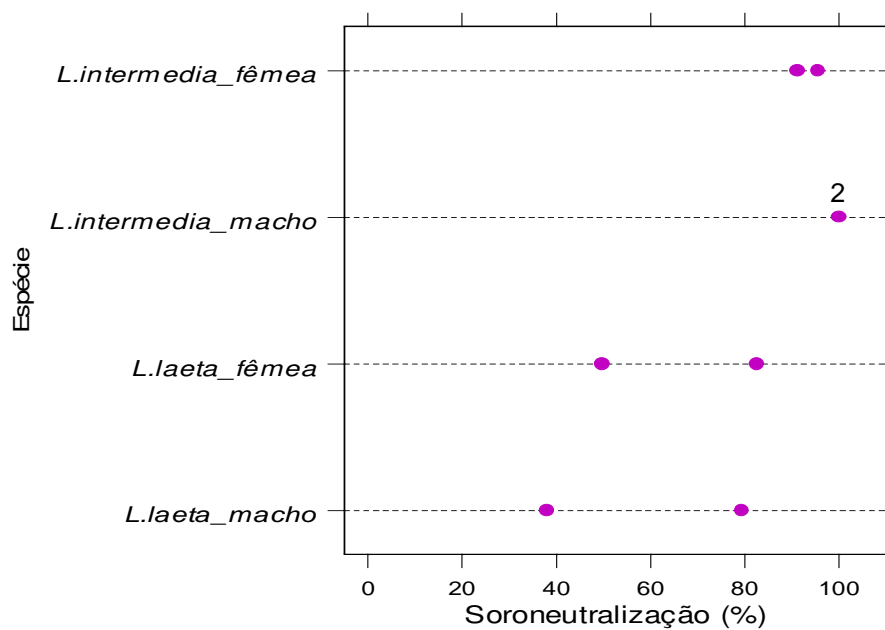
<b>Espécie</b>	<b>Fêmea</b>	<b>Macho</b>
<i>L. intermedia</i>	38,6	0
	23,2	1,8
<i>L. laeta</i>	100	59,67
	52,92	100

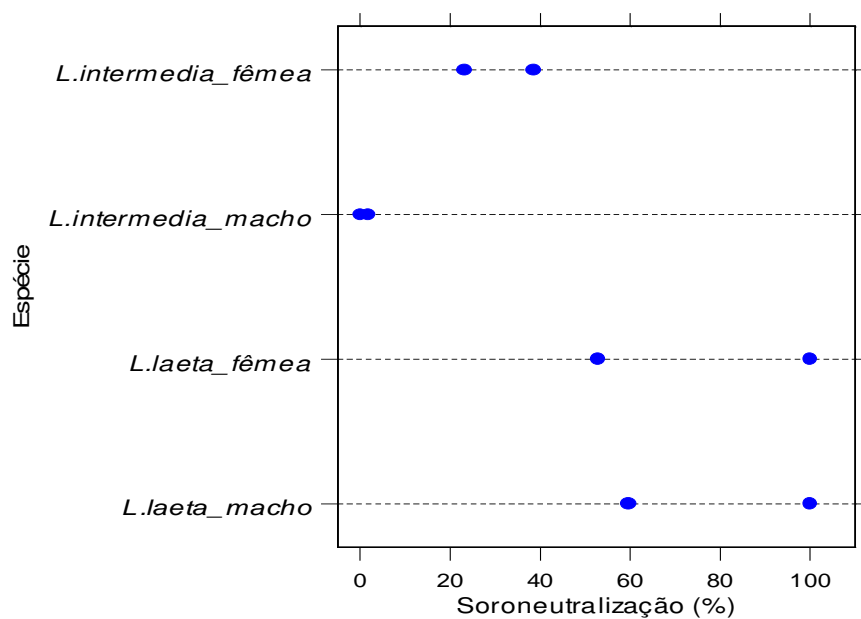
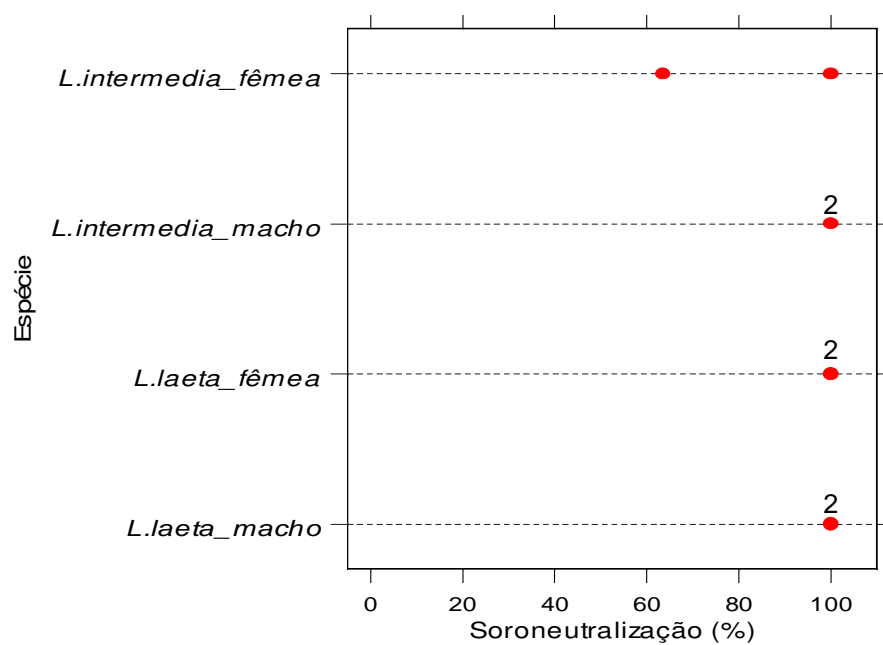
Soro anti-veneno de *L. laeta* fêmea

<b>Espécie</b>	<b>Fêmea</b>	<b>Macho</b>
<i>L. intermedia</i>	100	100
	63,6	100
<i>L. laeta</i>	100	100
	100	100

Soro anti-aracnídico

<b>Espécie</b>	<b>Fêmea</b>	<b>Macho</b>
<i>L. intermedia</i>	100	100
	100	100
<i>L. laeta</i>	100	100
	100	100

**Gráfico A.8** - “Dot plots” para soroneutralização (%) - veneno total.Soro anti-veneno de *L. intermedia* machoSoro anti-veneno de *L. intermedia* fêmea

**Gráfico A.8** - “Dot plots” para soroneutralização (%) - (continuação).Soro anti-veneno de *L. laeta* machoSoro anti-veneno de *L. laeta* fêmea

## **Apêndice B**

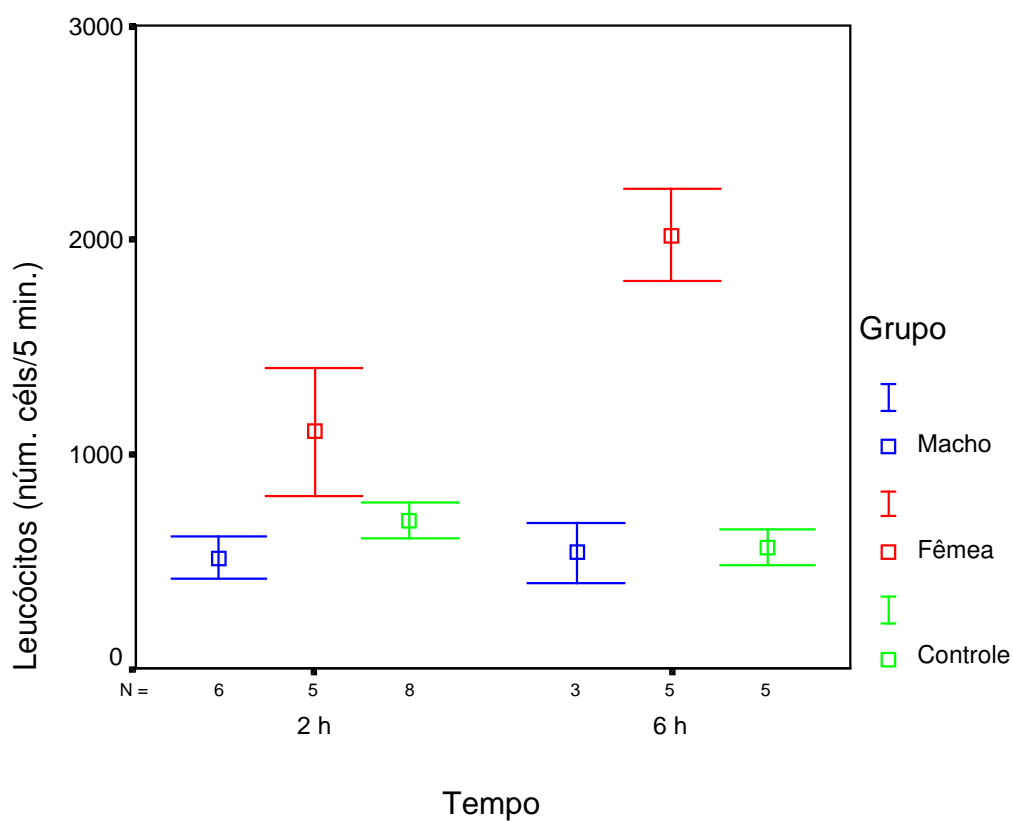
### **Experimentos com Camundongos**



**Tabela B.1** - Medidas descritivas para leucócitos ativados (número de células/5 min.) de acordo com o tempo e o grupo - *L. intermedia* - veneno total.

Tempo	Grupo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
2 horas	Controle	8	69,35	23,72	34,30	112,50
	Macho	6	51,50	23,82	25,50	92,00
	Fêmea	5	110,40	66,40	35,00	217,00
6 horas	Controle	5	56,40	19,74	30,00	81,50
	Macho	3	53,80	24,50	35,00	81,50
	Fêmea	5	202,20	47,90	145,50	254,30

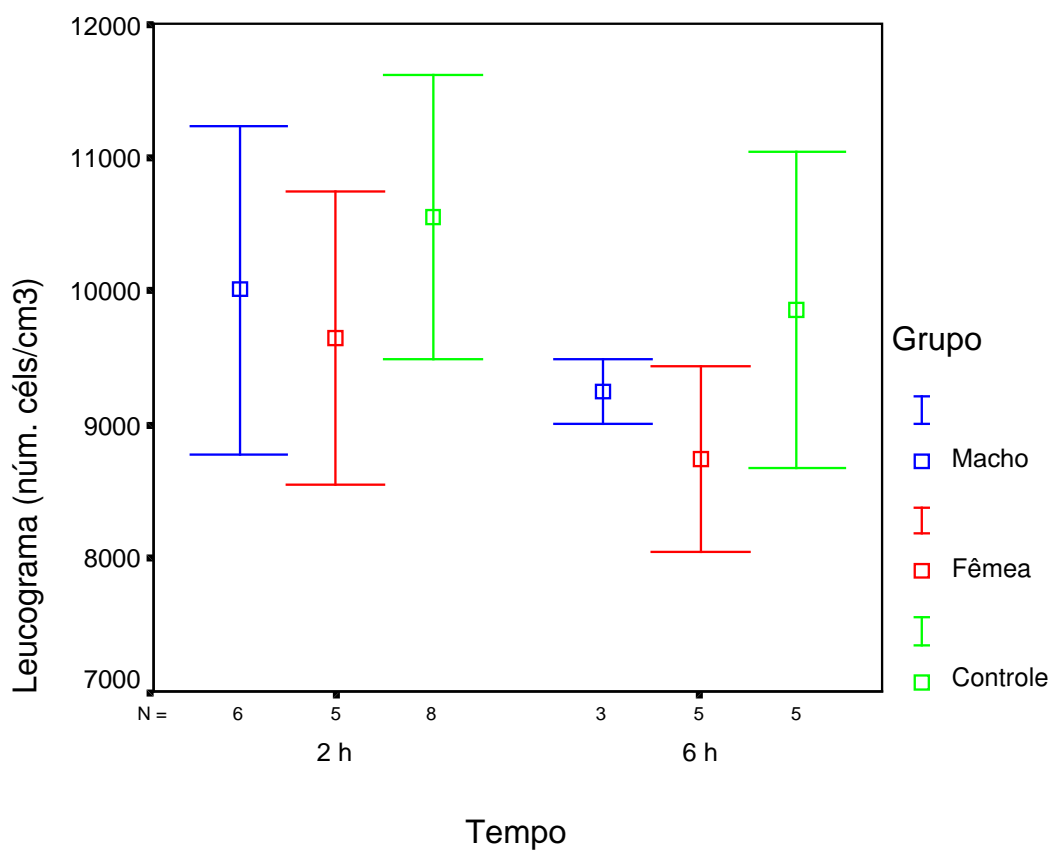
**Gráfico B.1** - Gráfico de médias para leucócitos ativados (número de células/5 min.) de acordo com o tempo e o grupo - *L. intermedia* - veneno total..



**Tabela B.2** - Medidas descritivas para leucograma (número de células/cm<sup>3</sup>) de acordo com o tempo e o grupo - *L. intermedia* - veneno total..

Tempo	Grupo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
2 horas	Controle	8	10556	3008	5900	14350
	Macho	6	10008	3013	5450	13400
	Fêmea	5	9650	2467	7450	13800
6 horas	Controle	5	9860	2643	7550	14150
	Macho	3	9250	433	9000	9750
	Fêmea	5	8750	1557	6600	10850

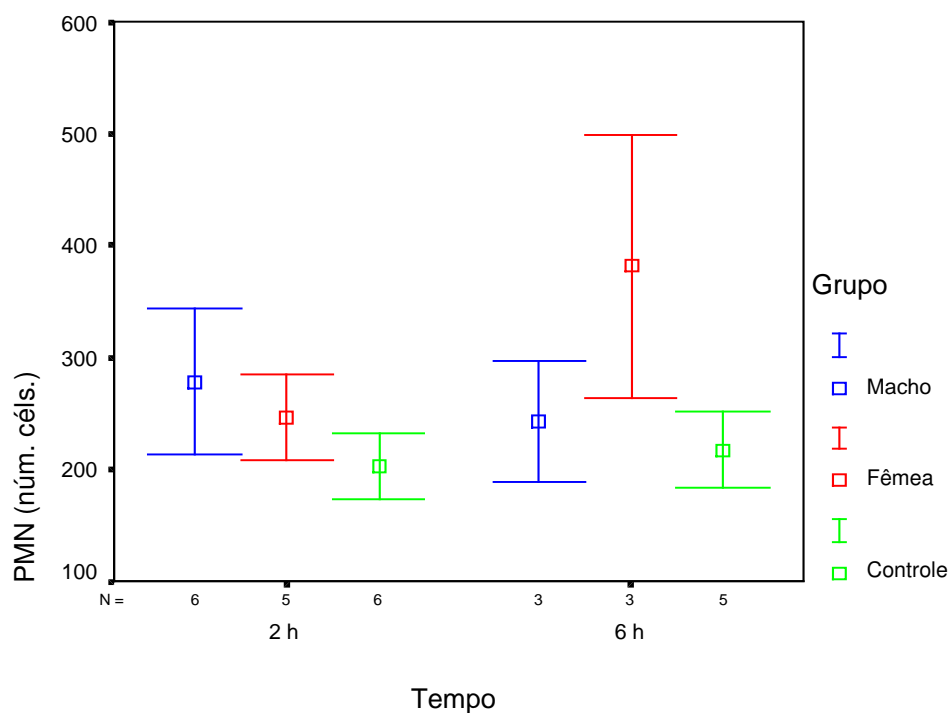
**Gráfico B.2** - Gráfico de médias para leucograma (número de células/cm<sup>3</sup>) de acordo com o tempo e o grupo - *L. intermedia* - veneno total..



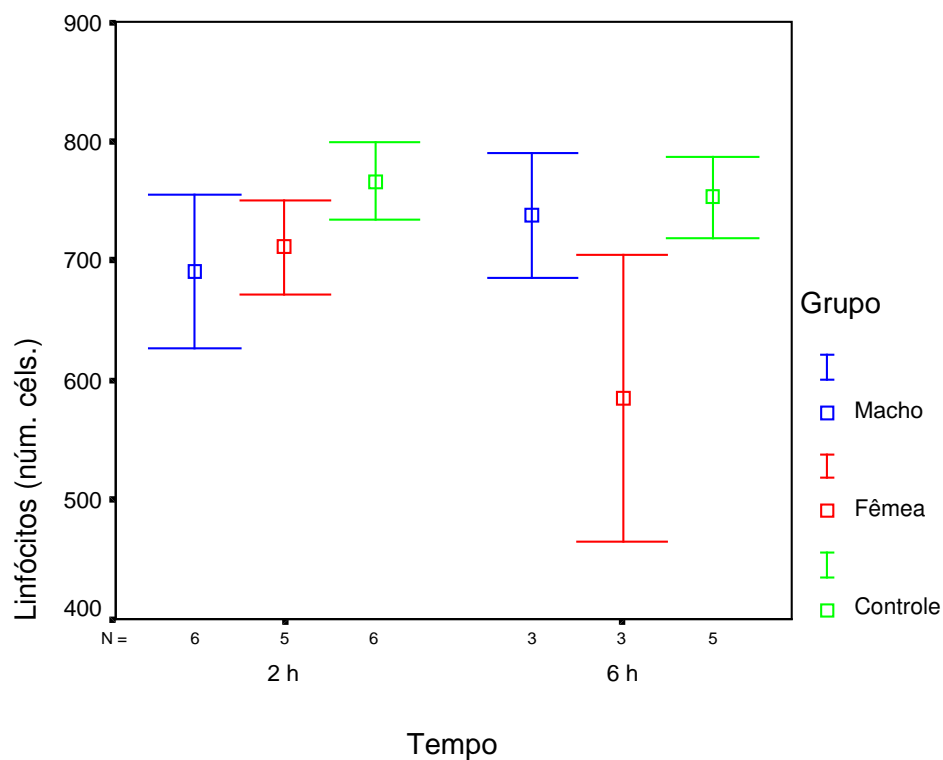
**Tabela B.3** - Medidas descritivas para contagem diferencial: PMN, Linfócitos e Monócitos (número de células) de acordo com o tempo e o grupo - *L. intermedia* - veneno total.

Célula	Tempo	Grupo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
PMN	2	Controle	6	20,25	7,37	14,00	34,50
		Fêmea	5	24,60	8,62	17,00	39,00
		Macho	6	27,83	15,88	17,00	59,00
	6	Controle	5	21,70	7,56	9,50	30,00
		Fêmea	3	38,17	20,32	15,00	53,00
		Macho	3	24,33	9,29	14,00	32,00
Linfócitos	2	Controle	6	76,67	7,88	62,00	84,00
		Fêmea	5	71,10	8,63	57,50	81,00
		Macho	6	69,08	15,70	38,00	80,00
	6	Controle	5	75,30	7,73	66,00	87,50
		Fêmea	3	58,50	20,88	44,50	82,50
		Macho	3	73,83	9,09	66,50	84,00
Monócitos	2	Controle	6	3,17	1,03	2,00	5,00
		Fêmea	5	4,30	1,57	2,00	6,00
		Macho	6	3,00	1,76	0,00	5,00
	6	Controle	5	3,00	1,06	1,50	4,00
		Fêmea	3	3,33	1,44	2,50	5,00
		Macho	3	1,67	0,29	1,50	2,00

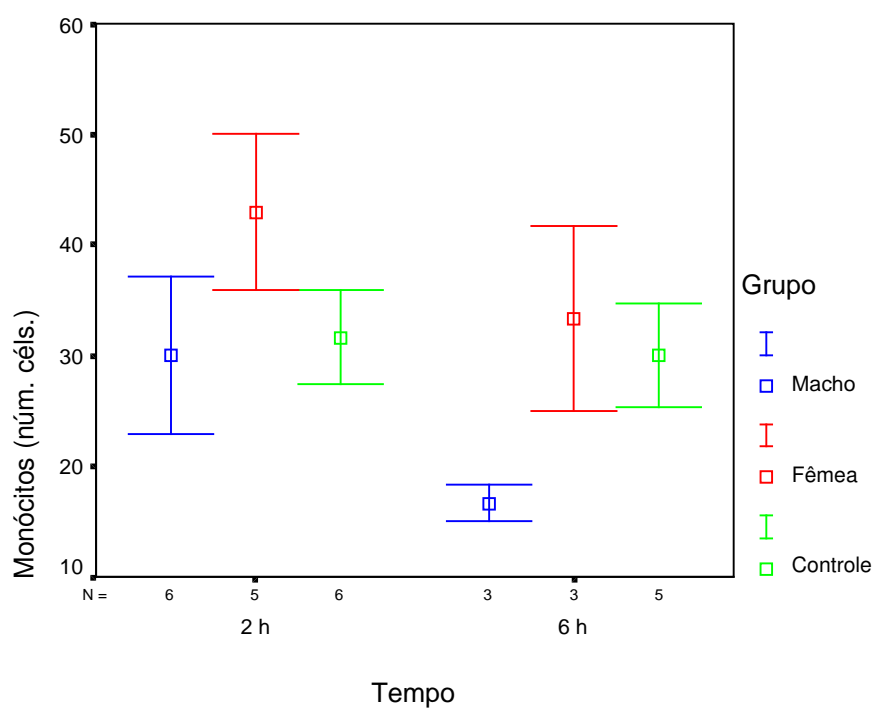
**Gráfico B.3** - Gráfico de médias para PMN (número de células) de acordo com o tempo e o grupo - *L. intermedia* - veneno total.



**Gráfico B.4** - Gráfico de médias para linfócitos (número de células) de acordo com o tempo e o grupo - *L. intermedia* - veneno total..



**Gráfico B.5** - Gráfico de médias para monócitos (número de células) de acordo com o tempo e o grupo - *L. intermedia* - veneno total.



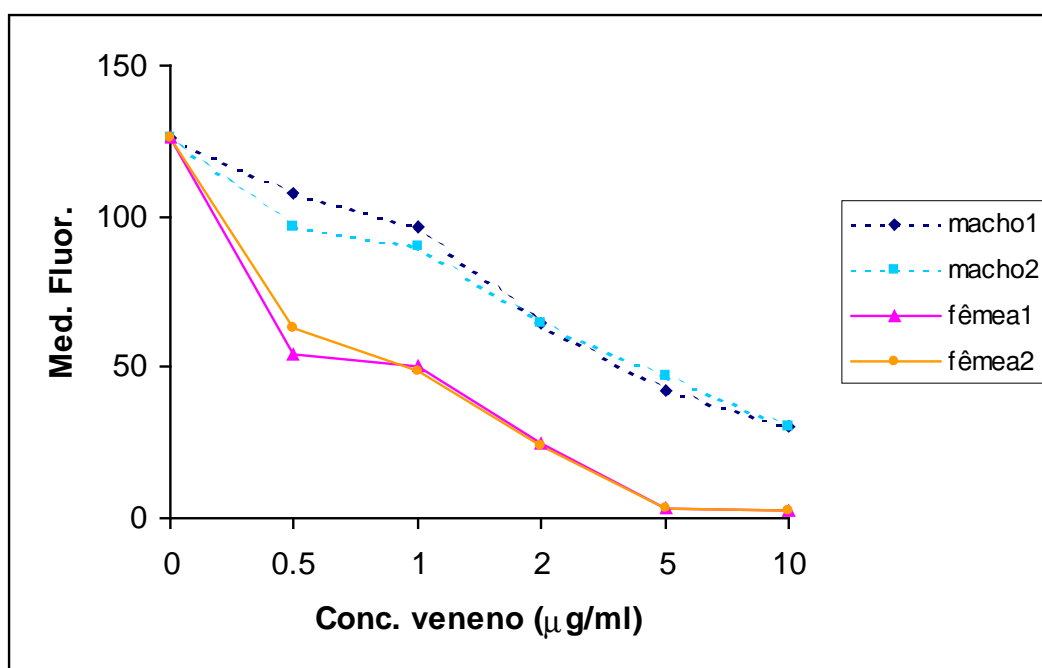
## **Apêndice C**

### **Experimentos com Sangue Humano**

**Tabela C.1** - Medidas descritivas para GPA-GPB (mediana de fluorescência) - *L. intermedia* - veneno total.

Concentração	Sexo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
0	Fêmea	2	126,00	0,00	126,00	126,00
	Macho	2	126,00	0,00	126,00	126,00
0,5	Fêmea	2	58,45	5,93	54,25	62,64
	Macho	2	101,97	7,77	96,47	107,46
1	Fêmea	2	49,59	1,26	48,70	50,48
	Macho	2	93,12	4,74	89,77	96,47
2	Fêmea	2	24,15	0,62	23,71	24,58
	Macho	2	64,94	0,00	64,94	64,94
5	Fêmea	2	3,46	0,08	3,40	3,52
	Macho	2	44,58	3,40	42,17	46,98
10	Fêmea	2	2,65	0,07	2,60	2,70
	Macho	2	30,50	0,00	30,50	30,50

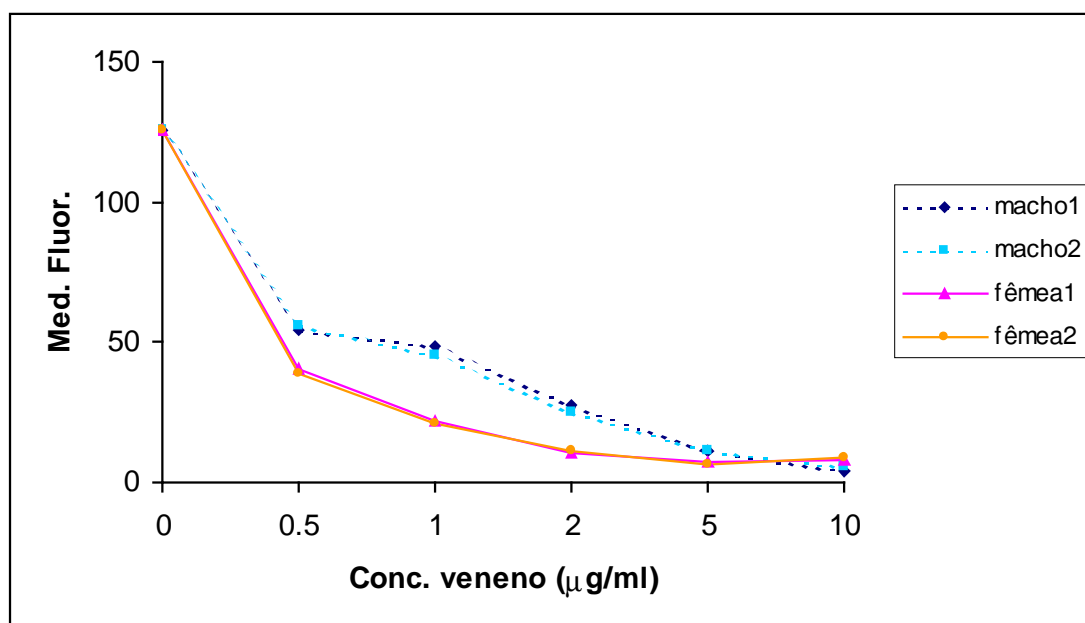
**Gráfico C.1** - Perfis individuais para GPA-GPB (mediana de fluorescência) - *L. intermedia* - veneno total.



**Tabela C.2** - Medidas descritivas para GPA-GPB (mediana de fluorescência) - *L. laeta* - veneno total.

Concentração	Sexo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
0	Fêmea	2	126,00	0,00	126,00	126,00
	Macho	2	126,00	0,00	126,00	126,00
0,5	Fêmea	2	39,96	1,02	39,24	40,68
	Macho	2	55,24	1,40	54,25	56,23
1	Fêmea	2	21,68	0,55	21,29	22,07
	Macho	2	47,01	2,39	45,32	48,70
2	Fêmea	2	10,95	0,28	10,75	11,14
	Macho	2	26,43	1,34	25,48	27,38
5	Fêmea	2	6,75	0,69	6,26	7,23
	Macho	2	11,14	0,00	11,14	11,14
10	Fêmea	2	8,40	0,42	8,10	8,70
	Macho	2	4,85	1,34	3,90	5,80

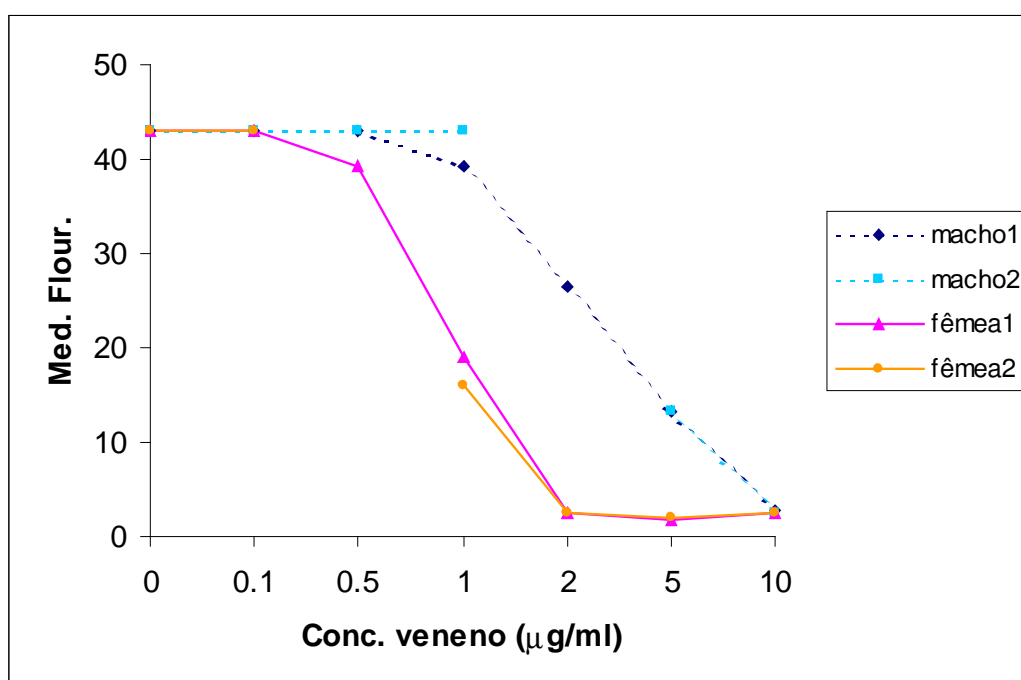
**Gráfico C.2** - Perfis individuais para GPA-GPB (mediana de fluorescência) - *L. laeta* - veneno total.



**Tabela C.3** - Medidas descritivas para GPC (mediana de fluorescência) - *L. intermedia* - veneno total.

Concentração	Sexo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
0	Fêmea	2	43,00	0,00	43,00	43,00
	Macho	2	43,00	0,00	43,00	43,00
0,1	Fêmea	2	43,00	0,00	43,00	43,00
	Macho	2	43,00	0,00	43,00	43,00
0,5	Fêmea	1	39,20	-	-	-
	Macho	2	43,00	0,00	43,00	43,00
1	Fêmea	2	17,55	2,19	16,00	19,10
	Macho	2	41,10	2,69	39,20	43,00
2	Fêmea	2	2,55	0,07	2,50	2,60
	Macho	1	26,40	-	-	-
5	Fêmea	2	1,85	0,07	1,80	1,90
	Macho	2	13,30	0,00	13,30	13,30
10	Fêmea	2	2,45	0,07	2,40	2,50
	Macho	2	2,55	0,21	2,40	2,70

**Gráfico C.3** - Perfis individuais para GPC (mediana de fluorescência) - *L. intermedia* - veneno total.

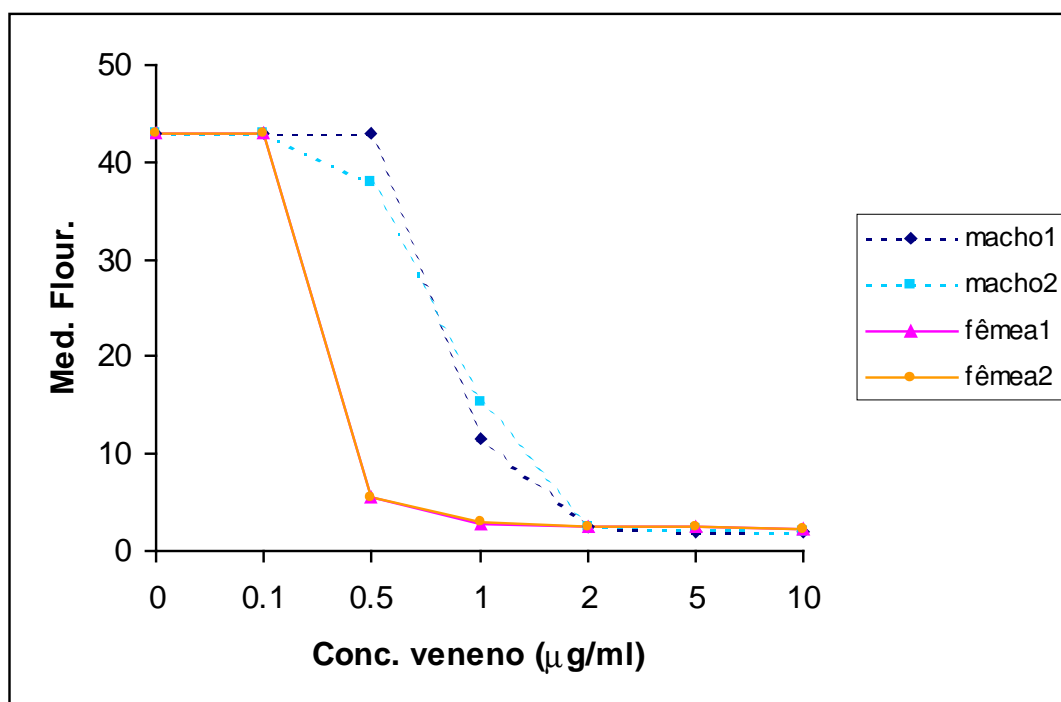




**Tabela C.4** - Medidas descritivas para GPC (mediana de fluorescência) - *L. laeta* - veneno total.

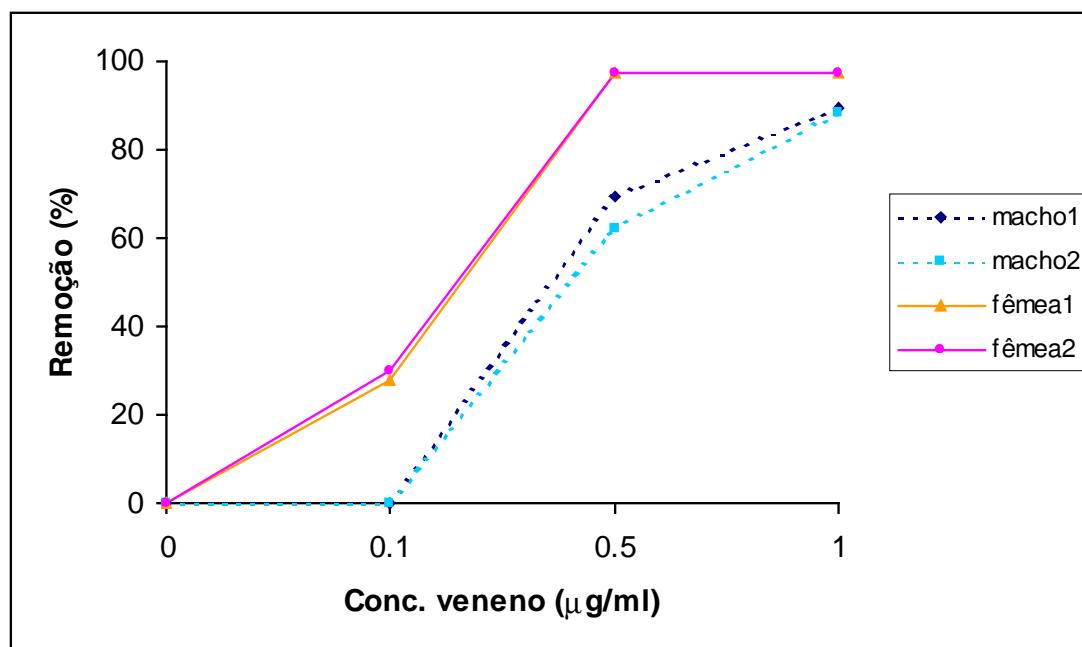
Concentração	Sexo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
0	Fêmea	2	43,00	0,00	43,00	43,00
	Macho	2	43,00	0,00	43,00	43,00
0,1	Fêmea	2	43,00	0,00	43,00	43,00
	Macho	2	43,00	0,00	43,00	43,00
0,5	Fêmea	2	5,60	0,00	5,60	5,60
	Macho	2	40,45	3,61	37,90	43,00
1	Fêmea	2	2,85	0,21	2,70	3,00
	Macho	2	13,50	2,69	11,60	15,40
2	Fêmea	2	2,45	0,07	2,40	2,50
	Macho	2	2,55	0,07	2,50	2,60
5	Fêmea	2	2,40	0,00	2,40	2,40
	Macho	2	2,10	0,14	2,00	2,20
10	Fêmea	2	2,30	0,00	2,30	2,30
	Macho	2	2,00	0,00	2,00	2,00

**Gráfico C.4** - Perfis individuais para GPC (mediana de fluorescência) - *L. laeta* - veneno total.



**Tabela C.5** - Medidas descritivas para GPA-GPB (%) - *L. gaucho* - veneno total.

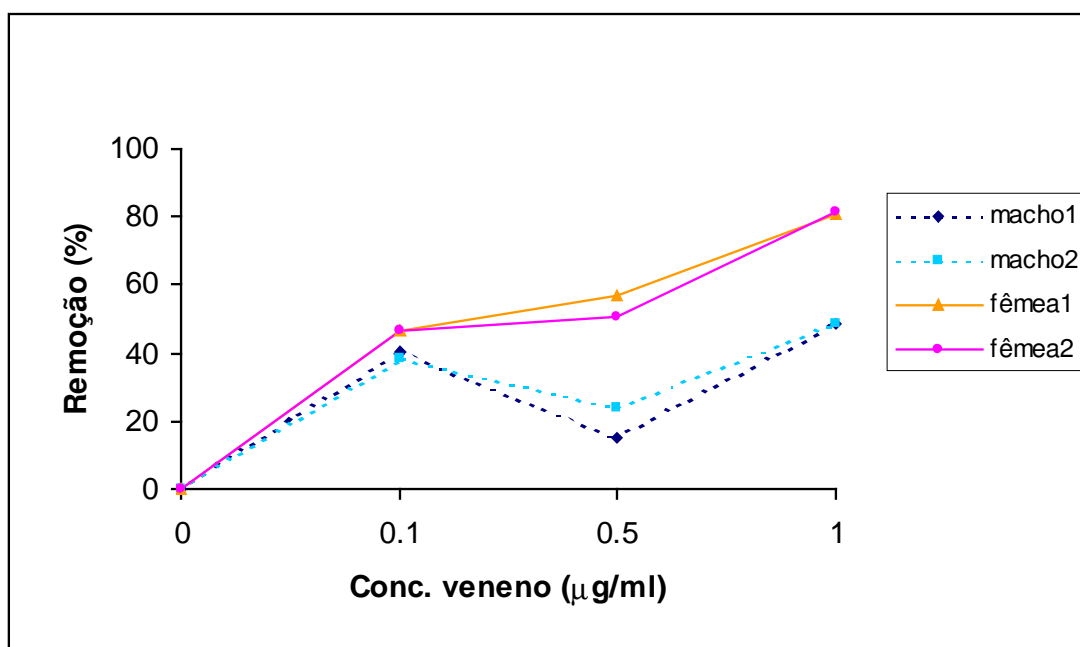
Concentração	Sexo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
0	Fêmea	2	0,00	0,00	0,00	0,00
	Macho	2	0,00	0,00	0,00	0,00
0,1	Fêmea	2	28,94	1,81	27,66	30,22
	Macho	2	0,00	0,00	0,00	0,00
0,5	Fêmea	2	97,54	0,13	97,45	97,63
	Macho	2	65,82	5,20	62,14	69,49
1	Fêmea	2	97,54	0,13	97,45	97,63
	Macho	2	88,85	0,57	88,45	89,25

**Gráfico C.5** - Perfis individuais para GPA-GPB (%) - *L. gaucho* - veneno total.

**Tabela C.6** - Medidas descritivas para GPA-GPB (%) - *L. intermedia* - veneno total.

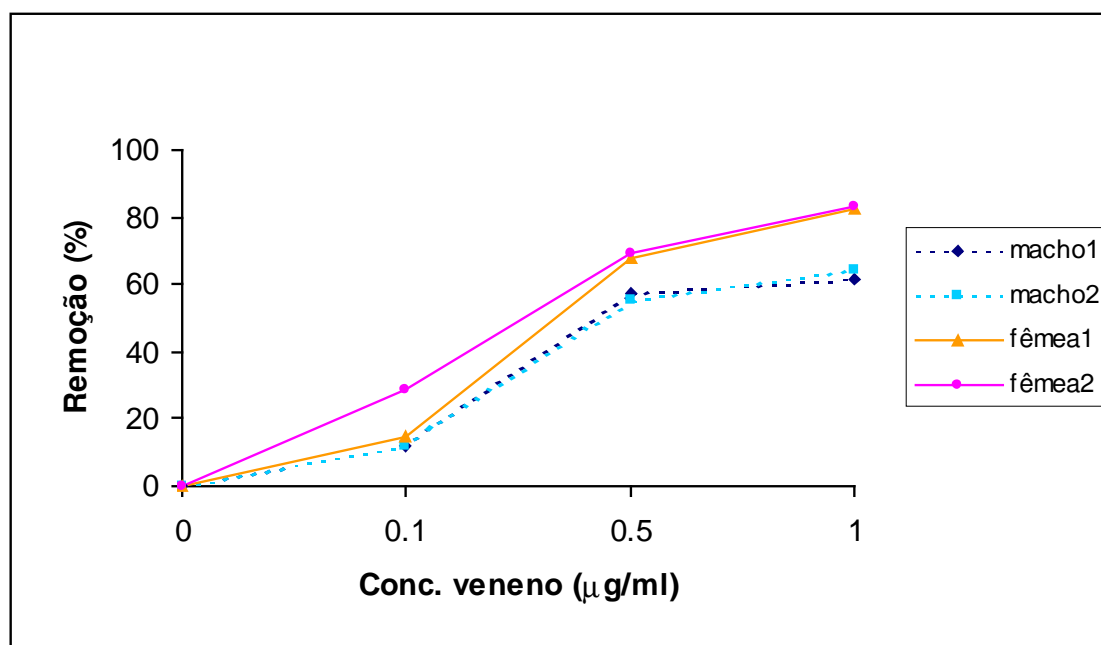
Concentração	Sexo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
0	Fêmea	2	0,00	0,00	0,00	0,00
	Macho	2	0,00	0,00	0,00	0,00
0,1	Fêmea	2	46,72	0,02	46,70	46,73
	Macho	2	39,57	1,54	38,48	40,66
0,5	Fêmea	2	53,75	4,70	50,43	57,07
	Macho	2	19,31	6,15	14,96	23,66
1	Fêmea	2	80,90	0,49	80,55	81,24
	Macho	2	48,61	0,00	48,61	48,61

**Gráfico C.6** - Perfis individuais para GPA-GPB (%) - *L. intermedia* - veneno total.



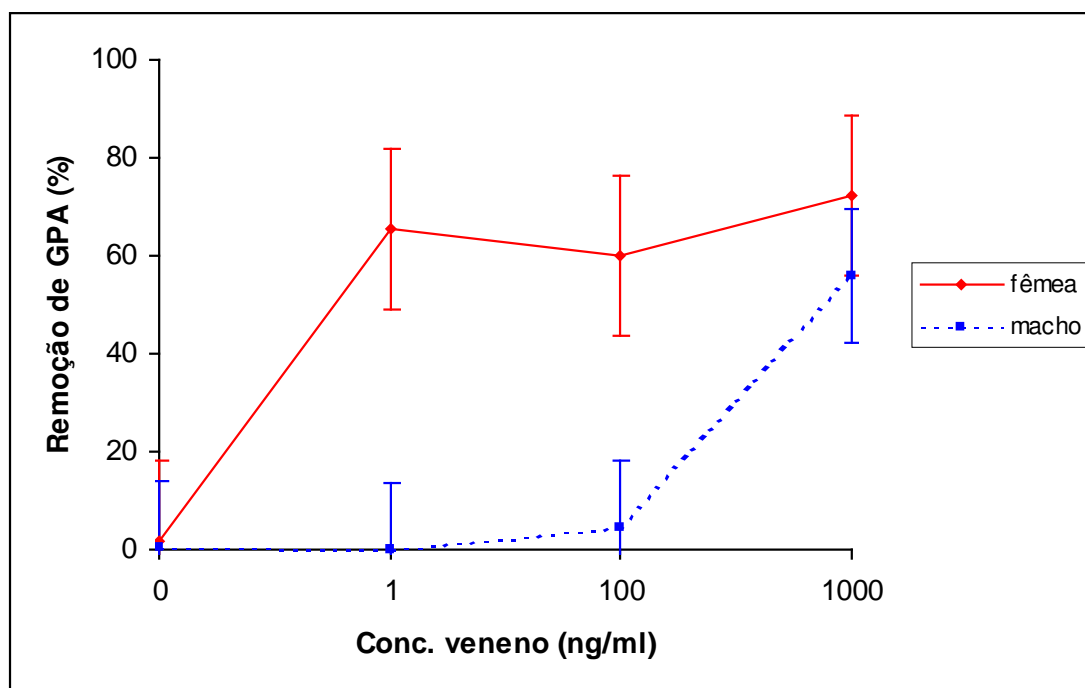
**Tabela C.7** - Medidas descritivas para GPA-GPB (%) - *L. laeta* - veneno total.

Concentração	Sexo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
0	Fêmea	2	0,00	0,00	0,00	0,00
	Macho	2	0,00	0,00	0,00	0,00
0,1	Fêmea	2	21,96	9,90	14,96	28,96
	Macho	2	11,82	0,03	11,80	11,84
0,5	Fêmea	2	68,38	0,81	67,81	68,95
	Macho	2	56,29	1,01	55,57	57,00
1	Fêmea	2	82,84	0,44	82,53	83,15
	Macho	2	62,80	1,90	61,46	64,14

**Gráfico C.7** - Perfis individuais para GPA-GPB (%) - *L. laeta* - veneno total.

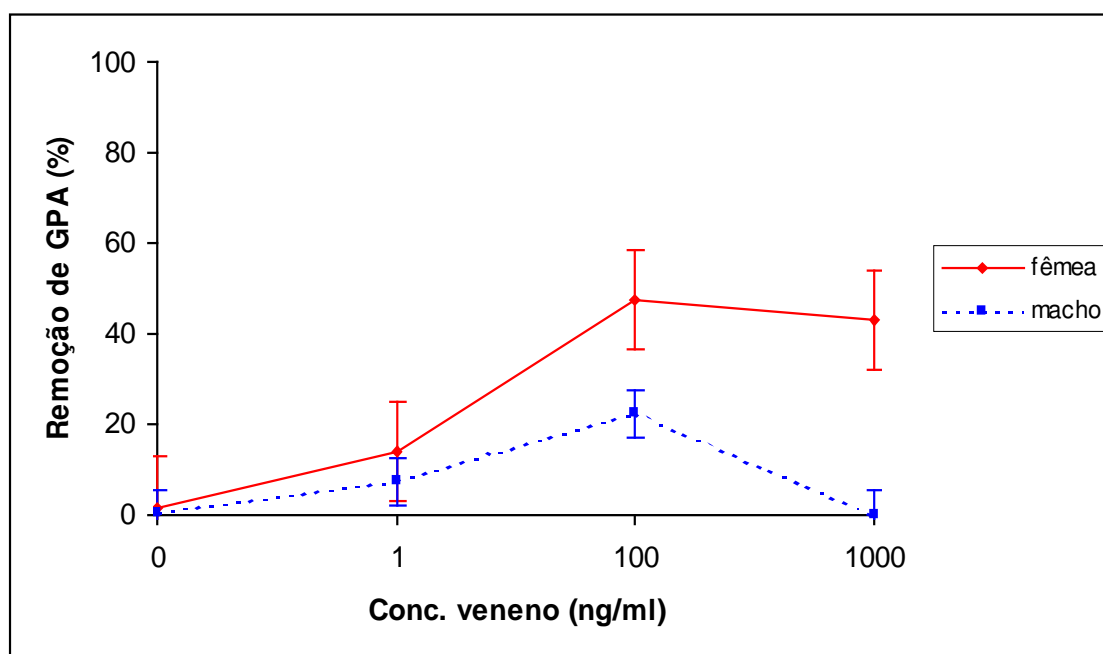
**Tabela C.8** - Medidas descritivas para GPA (%), para a fração F35 - *L. intermedia*.

Concentração	Sexo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
0	Fêmea	3	1,70	0,00	1,70	1,70
	Macho	3	0,30	0,00	0,30	0,30
1	Fêmea	3	65,56	3,35	61,76	68,05
	Macho	3	0,18	0,31	0,00	0,53
100	Fêmea	3	60,08	5,73	54,22	65,67
	Macho	3	4,62	8,00	0,00	13,86
1000	Fêmea	3	72,31	10,46	61,76	82,67
	Macho	3	55,80	49,78	0,00	95,65

**Gráfico C.8** - Perfil médio para GPA (%), para a fração F35 - *L. intermedia*.

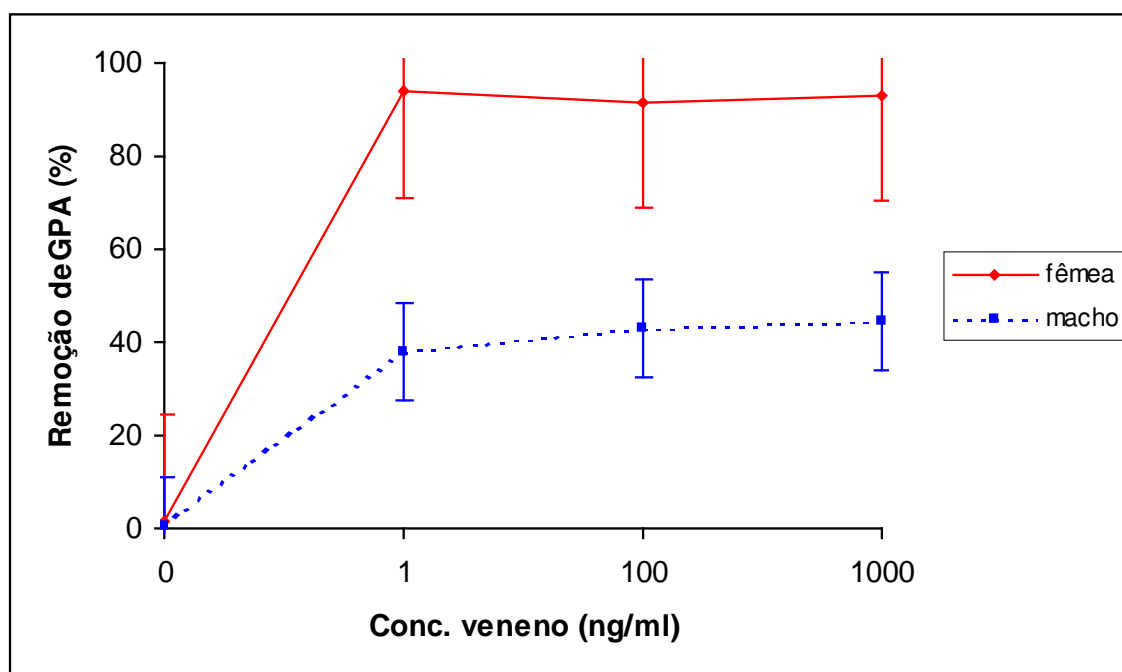
**Tabela C.9** - Medidas descritivas para GPA (%), para a fração F1 - *L. intermedia*.

Concentração	Sexo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
0	Fêmea	3	1,70	0,00	1,70	1,70
	Macho	3	0,30	0,00	0,30	0,30
1	Fêmea	3	14,04	1,55	12,51	15,60
	Macho	3	7,39	3,33	4,04	10,70
100	Fêmea	3	47,44	6,57	41,11	54,22
	Macho	3	22,48	5,57	16,89	28,04
1000	Fêmea	3	43,02	17,79	24,24	59,63
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00

**Gráfico C.9** - Perfil médio para GPA (%), para a fração F1 - *L. intermedia*.

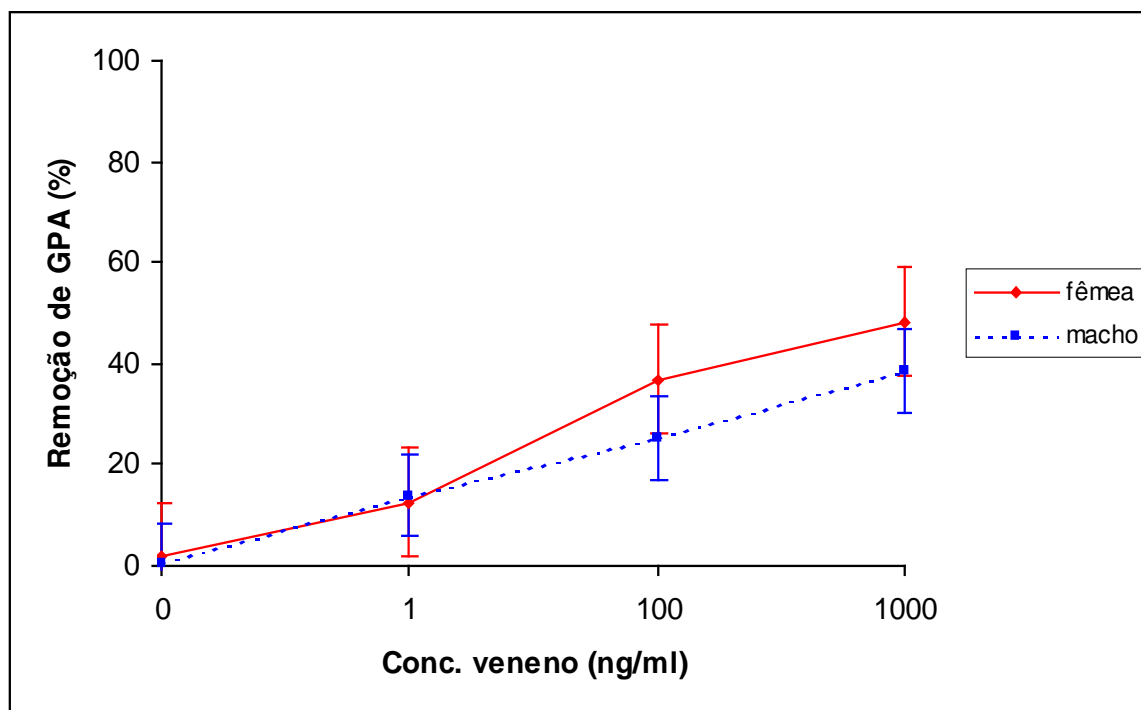
**Tabela C.10** - Medidas descritivas para GPA (%), para a fração F2 - *L. intermedia*.

Concentração	Sexo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
0	Fêmea	3	1,70	0,00	1,70	1,70
	Macho	3	0,30	0,00	0,30	0,30
1	Fêmea	3	93,90	2,05	91,56	95,42
	Macho	3	37,80	2,08	35,73	39,88
100	Fêmea	3	91,75	1,60	90,25	93,44
	Macho	3	43,16	6,13	37,68	49,78
1000	Fêmea	3	93,21	3,59	89,90	97,03
	Macho	3	44,53	16,46	28,04	60,96

**Gráfico C.10** - Perfil médio para GPA (%), para a fração F2 - *L. intermedia*.

**Tabela C.11** - Medidas descritivas para GPA (%), para a fração F4 - *L. intermedia*.

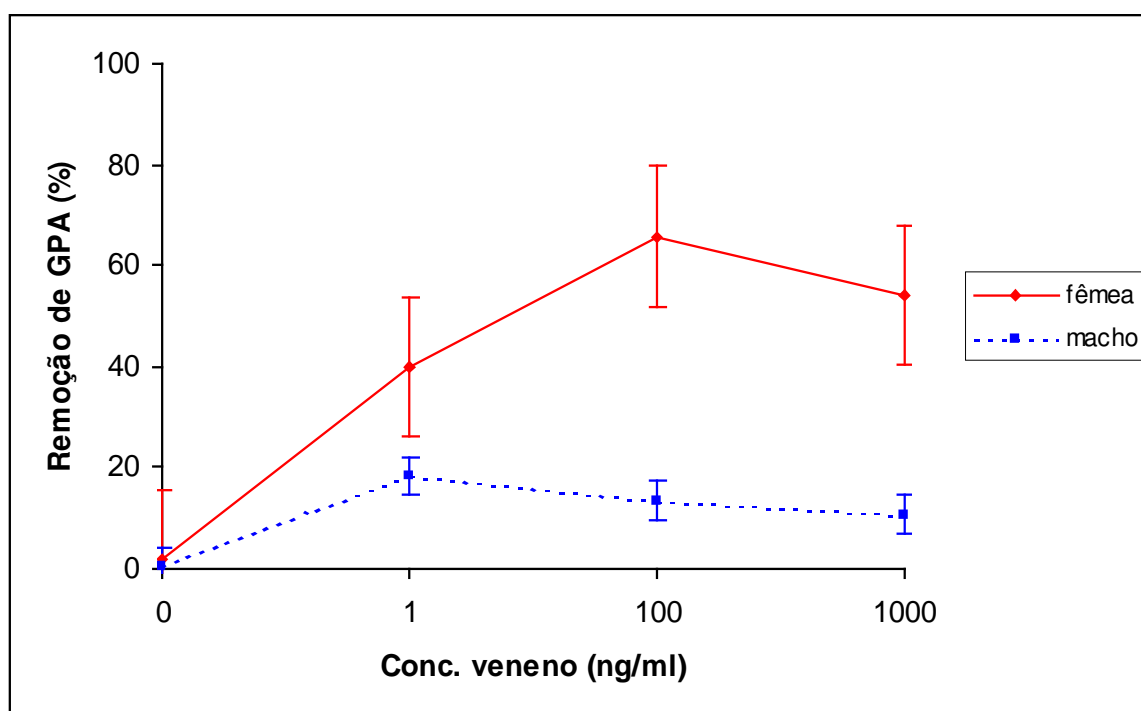
Concentração	Sexo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
0	Fêmea	3	1,70	0,00	1,70	1,70
	Macho	3	0,30	0,00	0,30	0,30
1	Fêmea	3	12,50	0,10	12,40	12,60
	Macho	3	13,92	0,26	13,70	14,20
100	Fêmea	3	36,83	10,61	29,50	49,00
	Macho	3	25,25	2,56	22,66	27,78
1000	Fêmea	3	48,33	2,86	45,19	50,80
	Macho	3	38,57	5,51	33,04	44,06

**Gráfico C.11** - Perfil médio para GPA (%), para a fração F4 - *L. intermedia*.



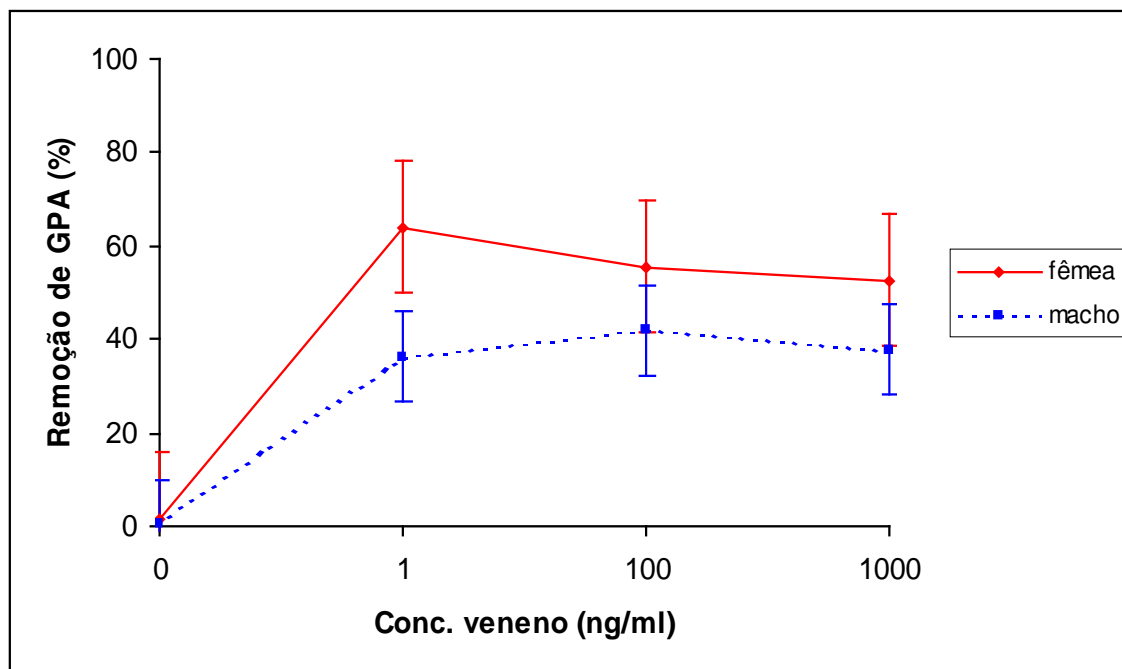
**Tabela C.12** - Medidas descritivas para GPA (%), para a fração P1 - *L. intermedia*.

Concentração	Sexo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
0	Fêmea	3	1,70	0,00	1,70	1,70
	Macho	3	0,30	0,00	0,30	0,30
1	Fêmea	3	39,88	17,73	29,50	60,35
	Macho	3	18,30	31,70	0,00	54,91
100	Fêmea	3	65,81	16,20	47,13	76,04
	Macho	3	13,52	9,31	4,04	22,66
1000	Fêmea	3	54,17	8,96	45,19	63,11
	Macho	3	10,67	0,06	10,60	10,70

**Gráfico C.12** - Perfil médio para GPA (%), para a fração P1 - *L. intermedia*.

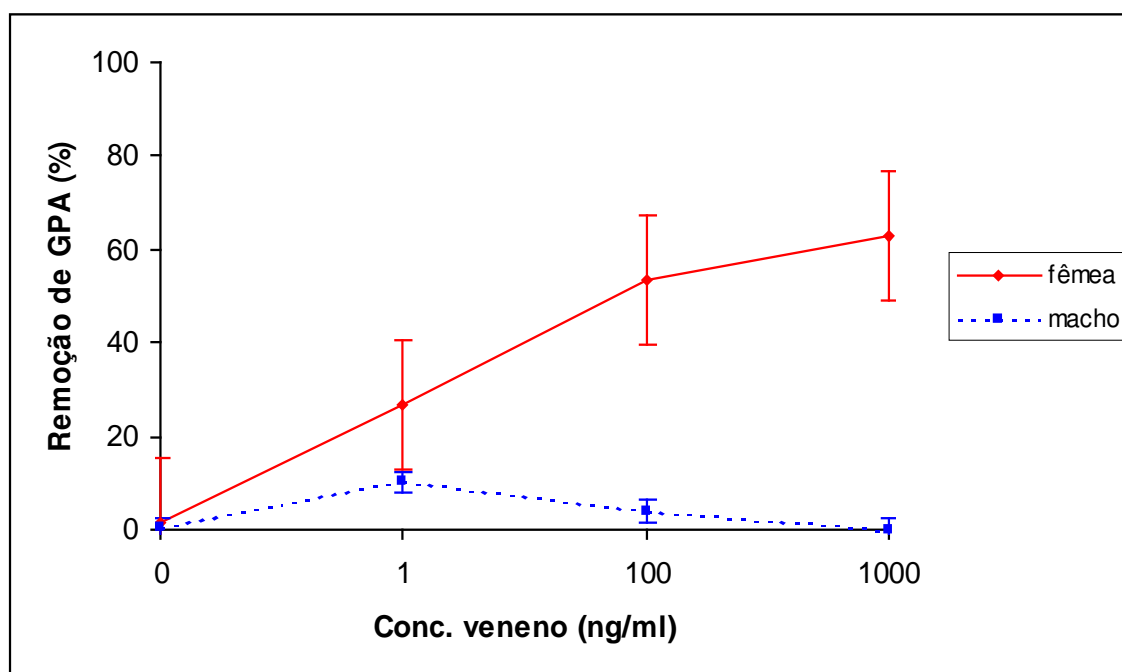
**Tabela C.13** - Medidas descritivas para GPA (%), para a fração P1' - *L. intermedia*.

Concentração	Sexo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
0	Fêmea	3	1,70	0,00	1,70	1,70
	Macho	3	0,30	0,00	0,30	0,30
1	Fêmea	3	63,98	7,35	56,62	71,32
	Macho	3	36,20	5,72	30,58	42,01
100	Fêmea	3	55,68	4,78	50,80	60,35
	Macho	3	42,00	0,10	41,90	42,10
1000	Fêmea	3	52,51	1,71	50,80	54,22
	Macho	3	37,76	0,21	37,60	38,00

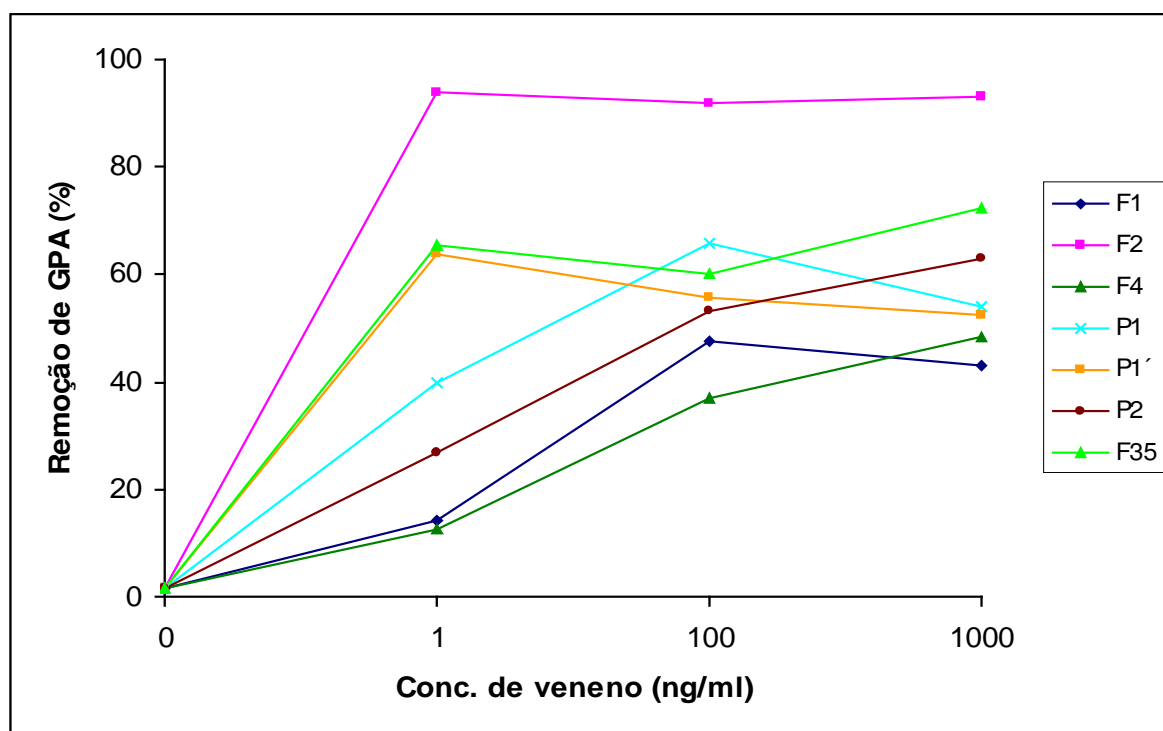
**Gráfico C.13** - Perfil médio para GPA (%), para a fração P1' - *L. intermedia*.

**Tabela C.14** - Medidas descritivas para GPA (%), para a fração P2 - *L. intermedia*.

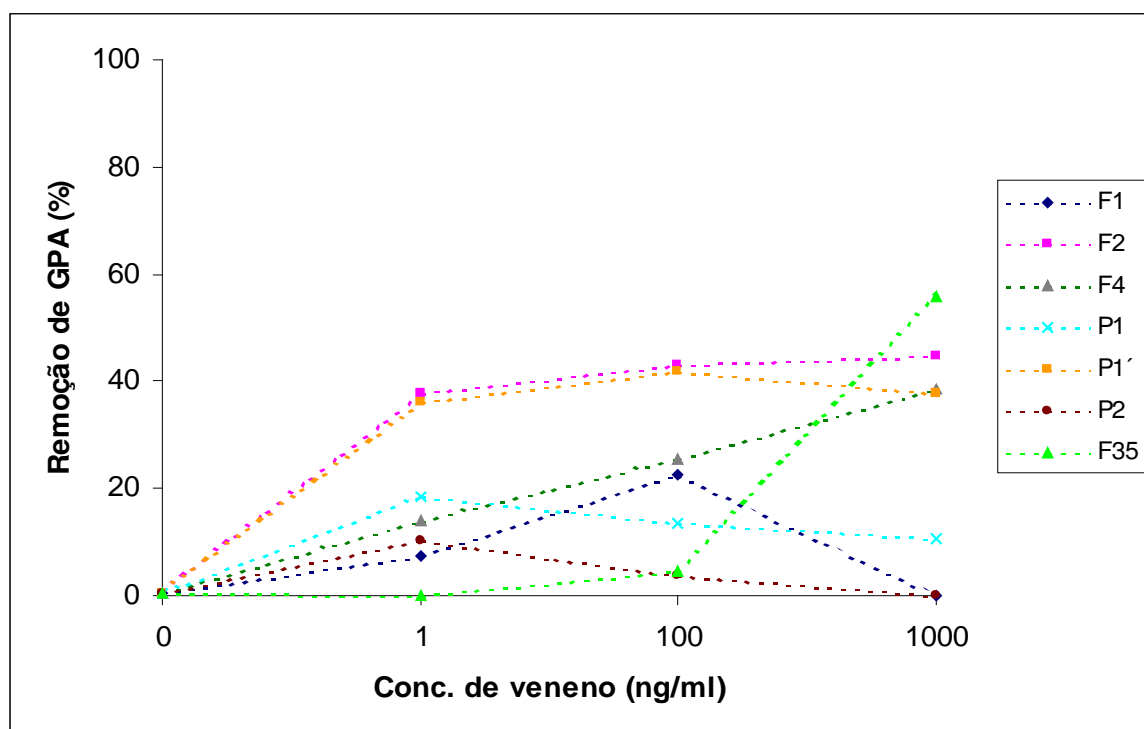
Concentração	Sexo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
0	Fêmea	3	1,70	0,00	1,70	1,70
	Macho	3	0,30	0,00	0,30	0,30
1	Fêmea	3	26,91	2,63	24,24	29,50
	Macho	3	10,19	17,66	0,00	30,58
100	Fêmea	3	53,42	0,84	52,54	54,22
	Macho	3	3,82	3,71	0,00	7,42
1000	Fêmea	3	63,04	0,12	62,90	63,11
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00

**Gráfico C.14** - Perfil médio para GPA (%), para a fração P2 - *L. intermedia*.

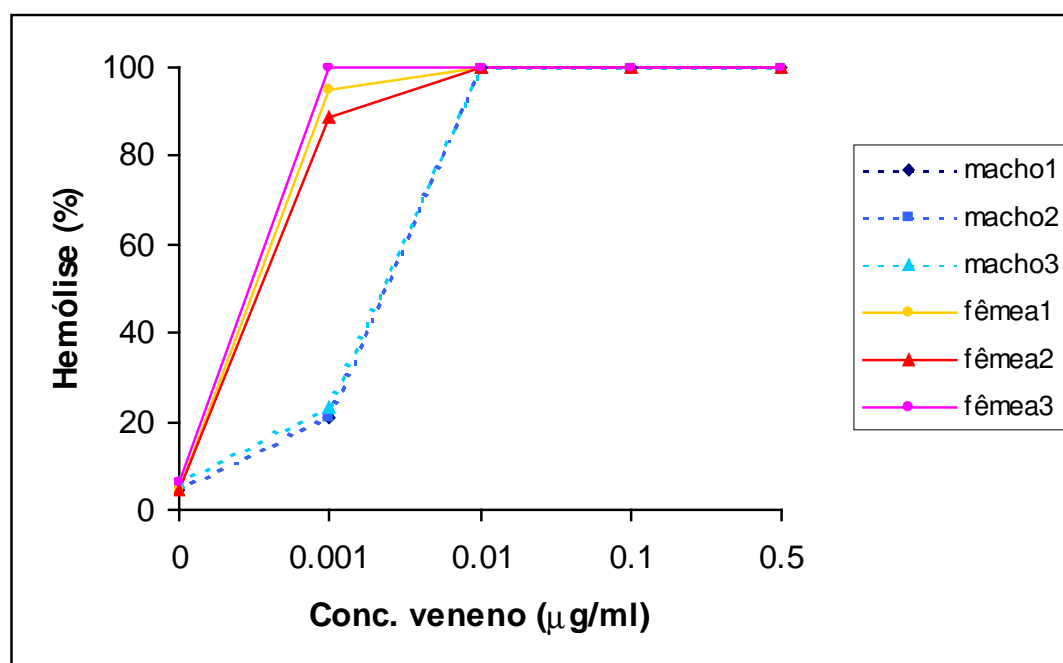
**Gráfico C.15** - Perfil médio de GPA (%), considerando o veneno da fêmea - *L. intermedia*.

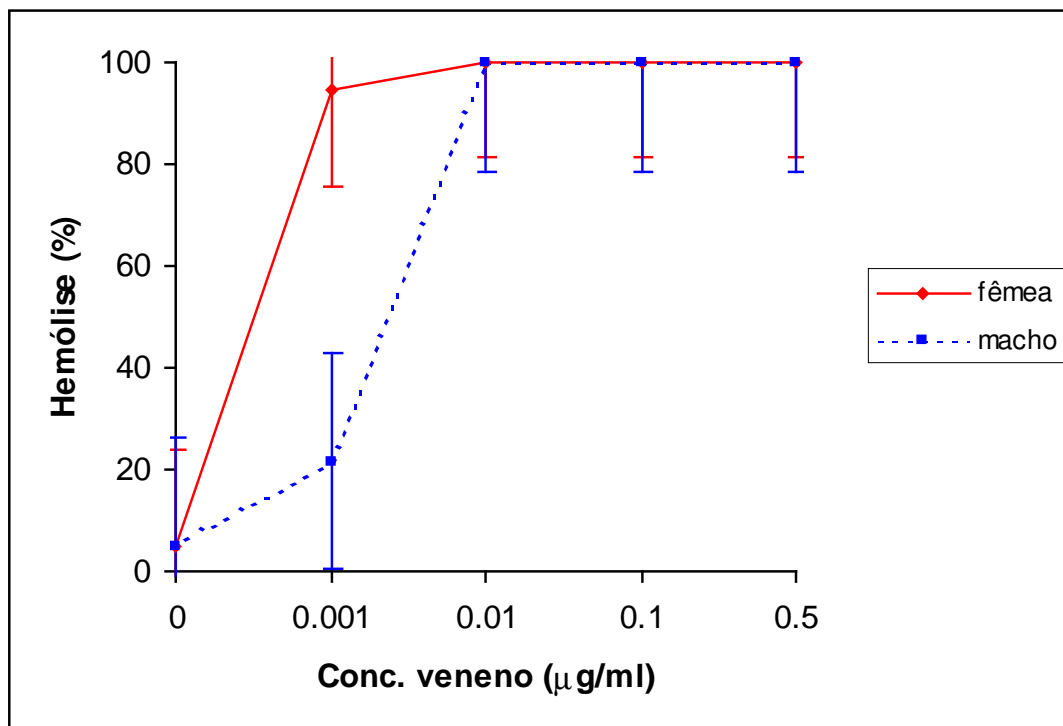


**Gráfico C.16** - Perfil médio de GPA (%) , considerando o veneno do macho - *L. intermedia*.



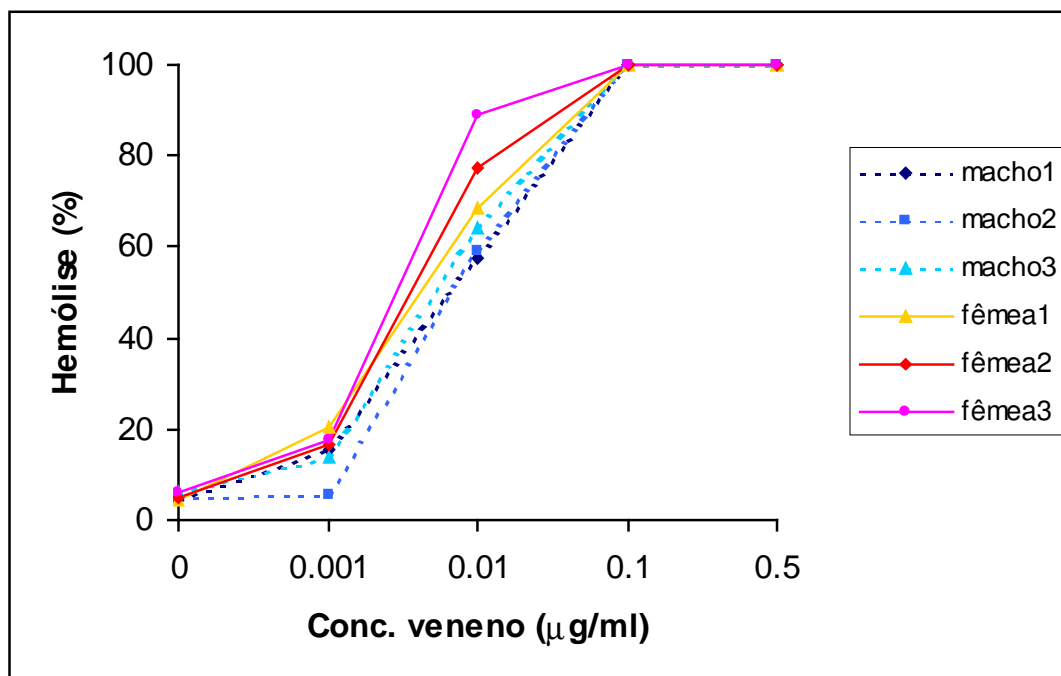
**Gráfico C.17 - Perfis individuais para hemólise (%) - *L. gauch*o - veneno total.**



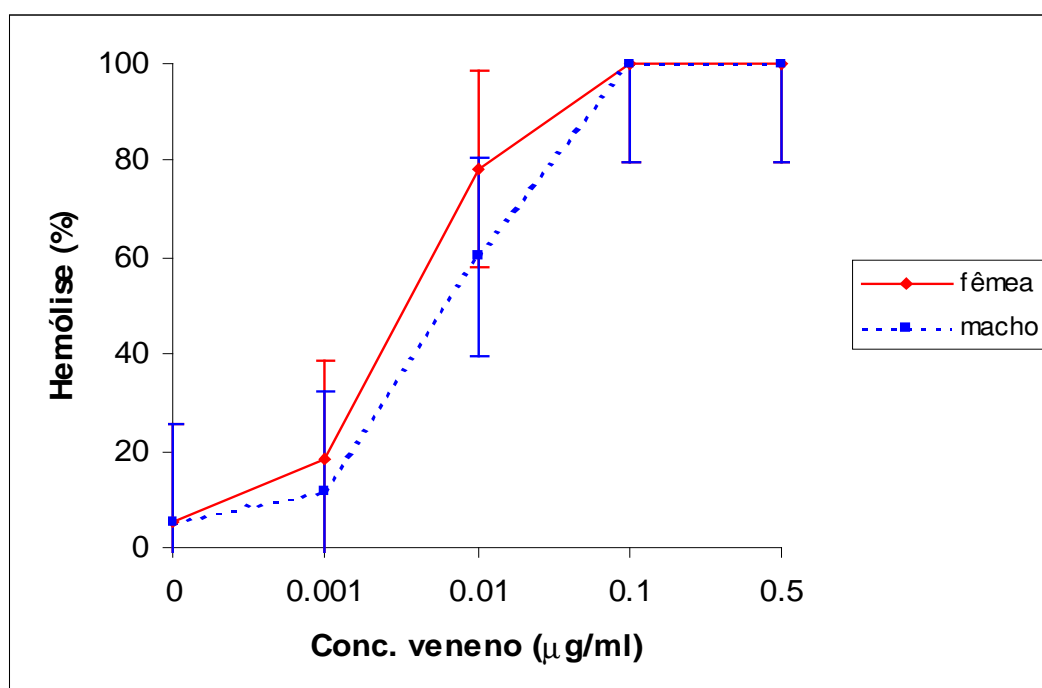
**Gráfico C.18** - Perfil médio para hemólise (%) - *L. gaucho* - veneno total.**Tabela C.16** - Medidas descritivas para hemólise (%) - *L. intermedia* - veneno total.

Concentração	Sexo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
0	Fêmea	3	5,10	0,89	4,40	6,10
	Macho	3	5,10	0,89	4,40	6,10
0,001	Fêmea	3	18,40	2,04	16,80	20,70
	Macho	3	11,83	5,29	5,80	15,70
0,01	Fêmea	3	78,20	10,14	68,60	88,80
	Macho	3	60,20	3,41	57,40	64,00
0,1	Fêmea	3	100,00	0,00	100,00	100,00
	Macho	3	100,00	0,00	100,00	100,00
0,5	Fêmea	3	100,00	0,00	100,00	100,00
	Macho	3	100,00	0,00	100,00	100,00

**Gráfico C.19** - Perfis individuais para hemólise (%) - *L. intermedia* - veneno total.

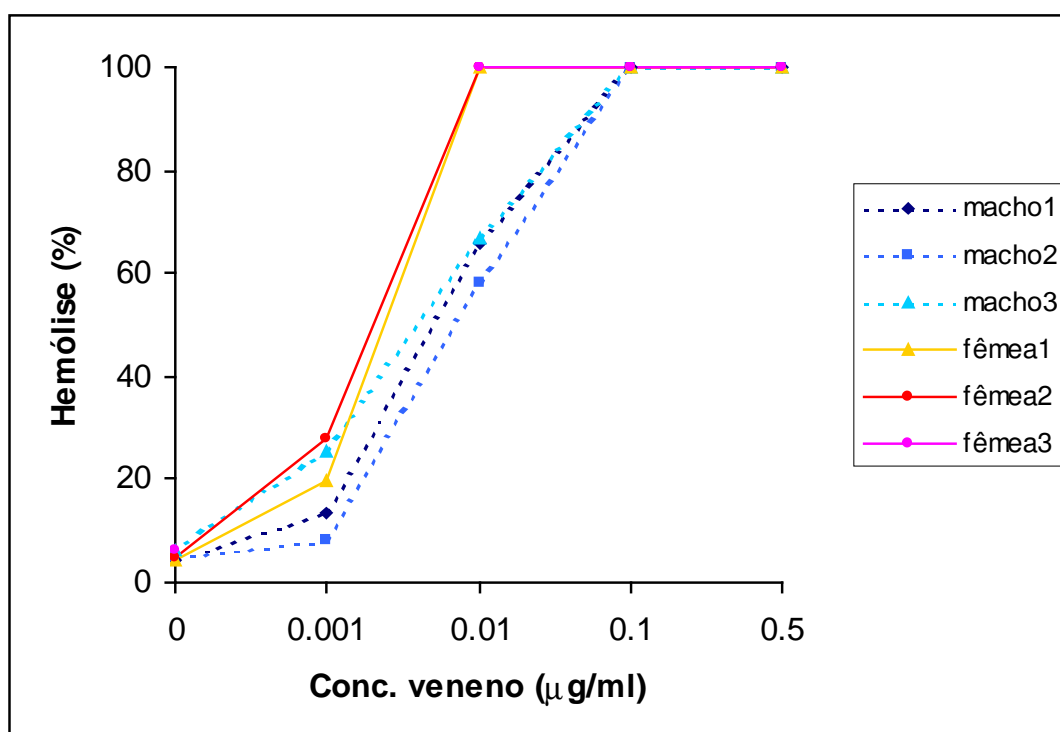


**Gráfico C.20** - Perfil médio para hemólise (%) - *L. intermedia* - veneno total.

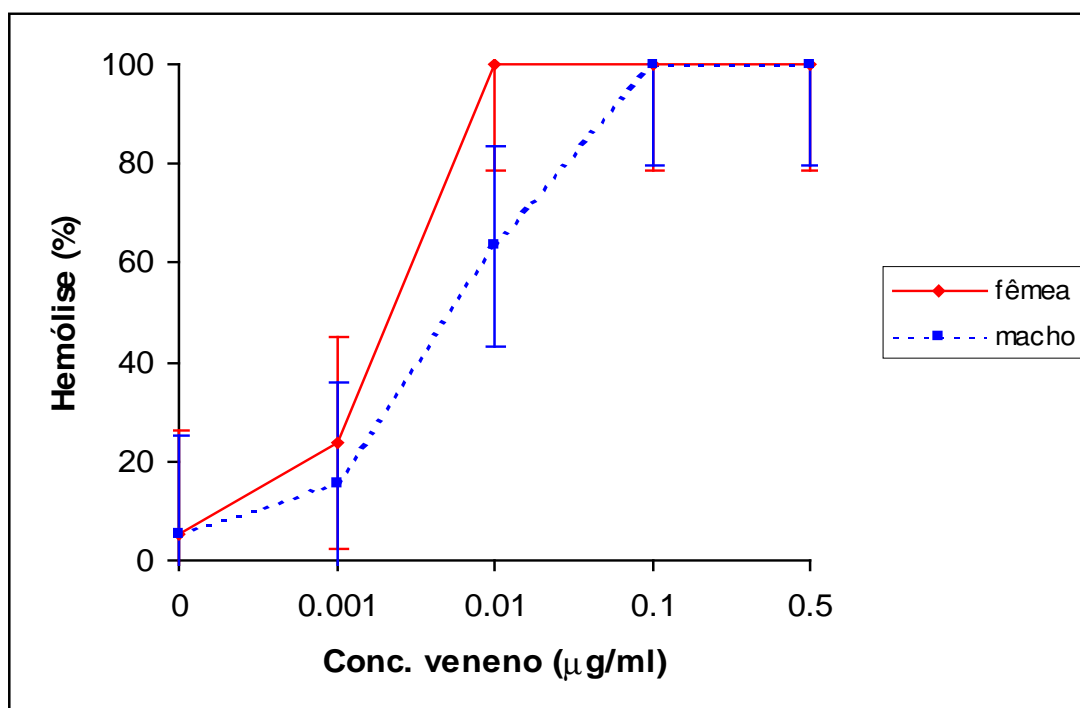


**Tabela C.17** - Medidas descritivas para hemólise (%) - *L. laeta* - veneno total.

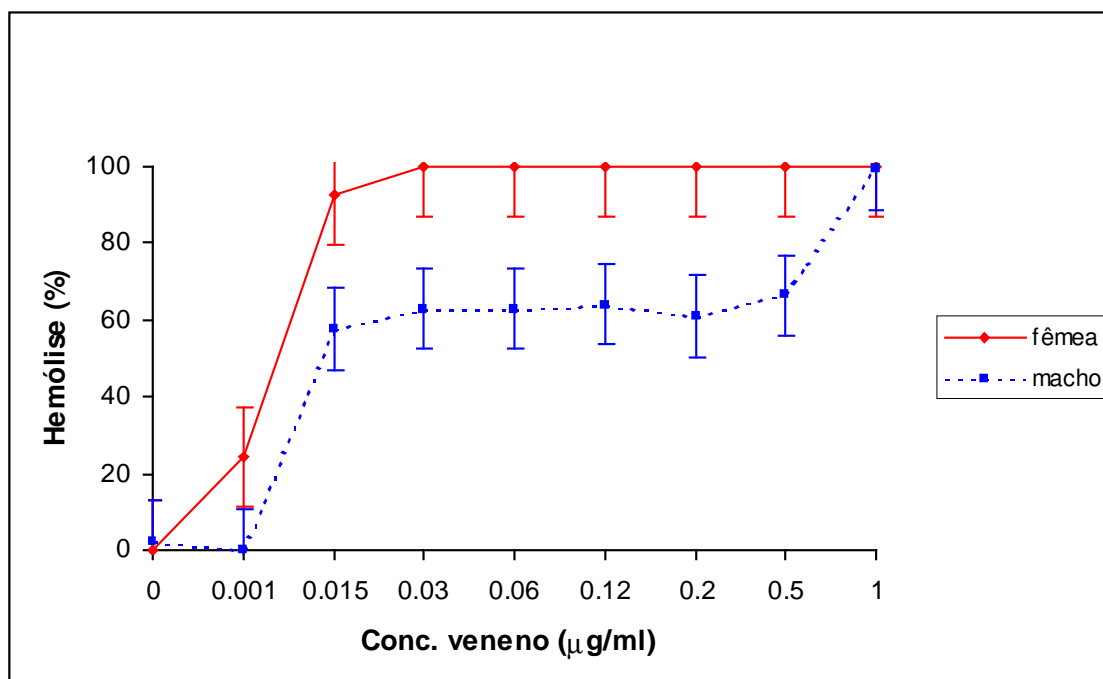
Concentração	Sexo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
0	Fêmea	3	5,10	0,89	4,40	6,10
	Macho	3	5,10	0,89	4,40	6,10
0,001	Fêmea	2	23,75	5,73	19,70	27,80
	Macho	3	15,63	8,86	8,10	25,40
0,01	Fêmea	3	100,00	0,00	100,00	100,00
	Macho	3	63,50	4,61	58,20	66,60
0,1	Fêmea	3	100,00	0,00	100,00	100,00
	Macho	3	100,00	0,00	100,00	100,00
0,5	Fêmea	3	100,00	0,00	100,00	100,00
	Macho	3	100,00	0,00	100,00	100,00

**Gráfico C.21** - Perfis individuais para hemólise (%) - *L. laeta* - veneno total.

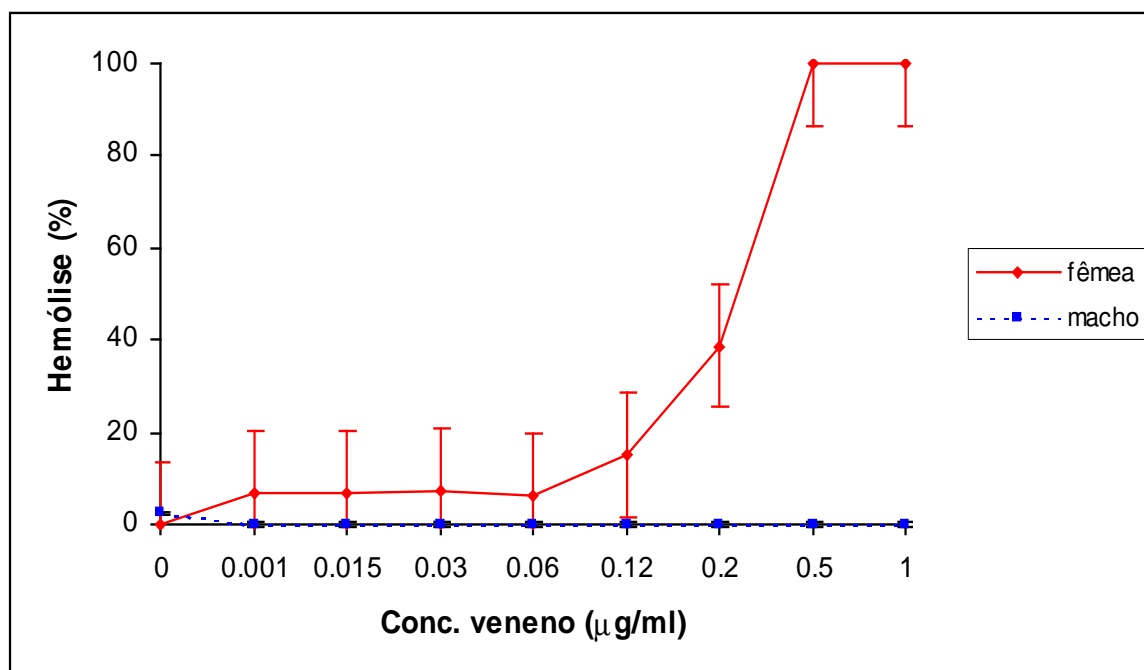


**Gráfico C.22** - Perfil médio para hemólise (%) - *L. laeta* - veneno total.**Tabela C.18** - Medidas descritivas para hemólise (%), para a fração F35 - *L. intermedia*.

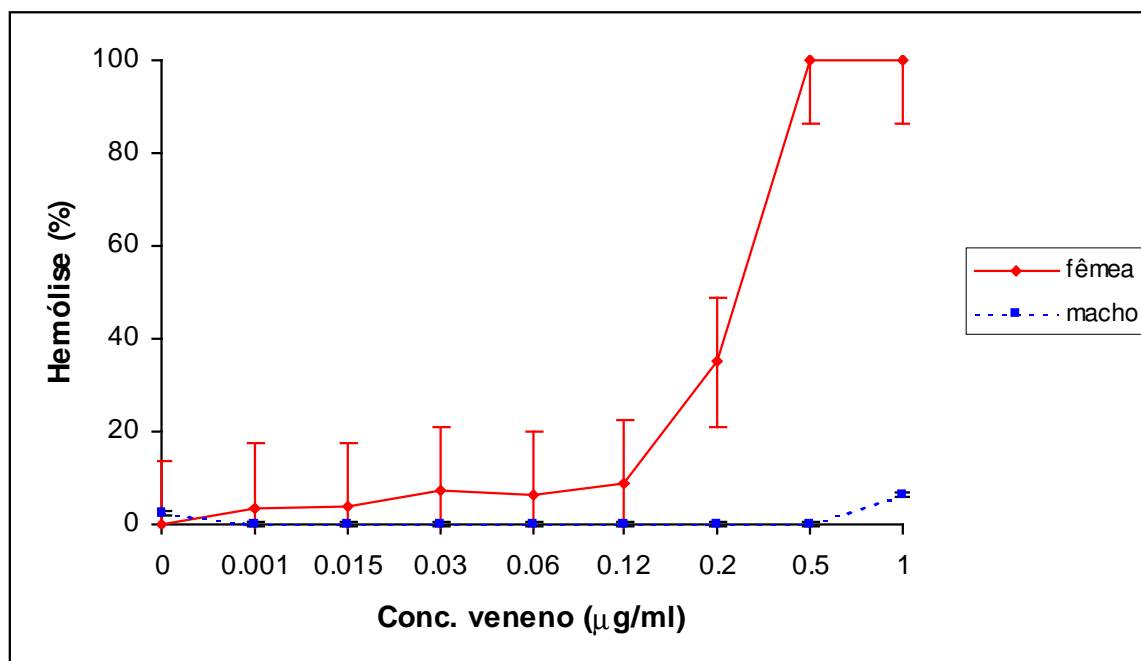
Concentração	Sexo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
0	Fêmea	3	0,13	0,20	0,00	0,36
	Macho	3	2,43	2,48	0,00	4,95
0,001	Fêmea	3	24,40	1,35	23,44	25,94
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00
0,015	Fêmea	3	92,69	12,66	78,07	100,00
	Macho	3	57,51	6,34	52,56	64,66
0,03	Fêmea	3	100,00	0,00	100,00	100,00
	Macho	3	62,89	1,32	61,44	64,02
0,06	Fêmea	3	100,00	0,00	100,00	100,00
	Macho	3	62,98	1,32	61,52	64,11
0,12	Fêmea	3	100,00	0,00	100,00	100,00
	Macho	3	64,06	5,21	60,37	67,74
0,2	Fêmea	3	100,00	0,00	100,00	100,00
	Macho	3	61,03	2,00	58,86	62,80
0,5	Fêmea	3	100,00	0,00	100,00	100,00
	Macho	3	66,50	2,36	63,86	68,40
1	Fêmea	3	100,00	100,00	100,00	100,00
	Macho	3	99,41	1,02	98,24	100,00

**Gráfico C.23** - Perfil médio para hemólise (%), para a fração F35 - *L. intermedia*.**Tabela C.19** - Medidas descritivas para hemólise (%), para a fração F1 - *L. intermedia*.

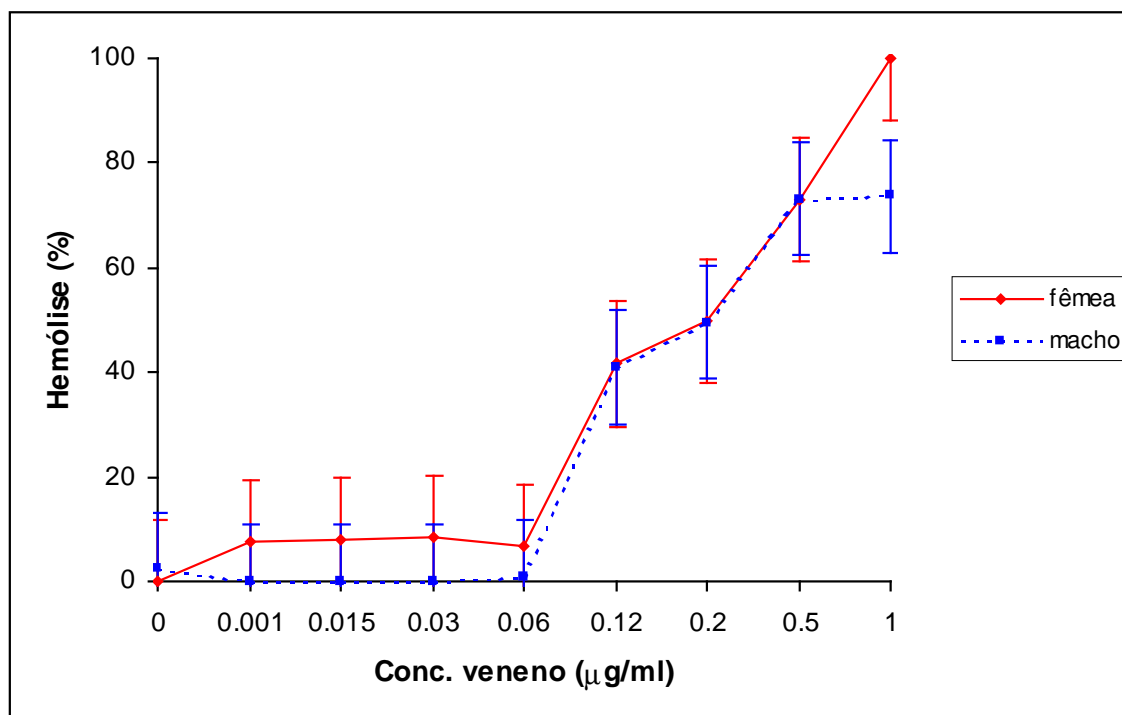
Concentração	Sexo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
0	Fêmea	3	0,13	0,20	0,00	0,36
	Macho	3	2,43	2,48	0,00	4,95
0,001	Fêmea	3	7,02	1,32	6,18	8,54
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00
0,015	Fêmea	3	6,89	1,72	5,10	8,54
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00
0,03	Fêmea	3	7,34	0,94	6,80	8,42
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00
0,06	Fêmea	3	6,34	0,95	5,64	7,42
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00
0,12	Fêmea	3	15,23	1,78	13,20	16,55
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00
0,2	Fêmea	3	38,79	0,71	38,30	39,60
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00
0,5	Fêmea	3	100,00	0,00	100,00	100,00
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00
1	Fêmea	3	100,00	0,00	100,00	100,00
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00

**Gráfico C.24** - Perfil médio para hemólise (%), para a fração F1 - *L. intermedia*.**Tabela C.20** - Medidas descritivas para hemólise (%), para a fração F2.

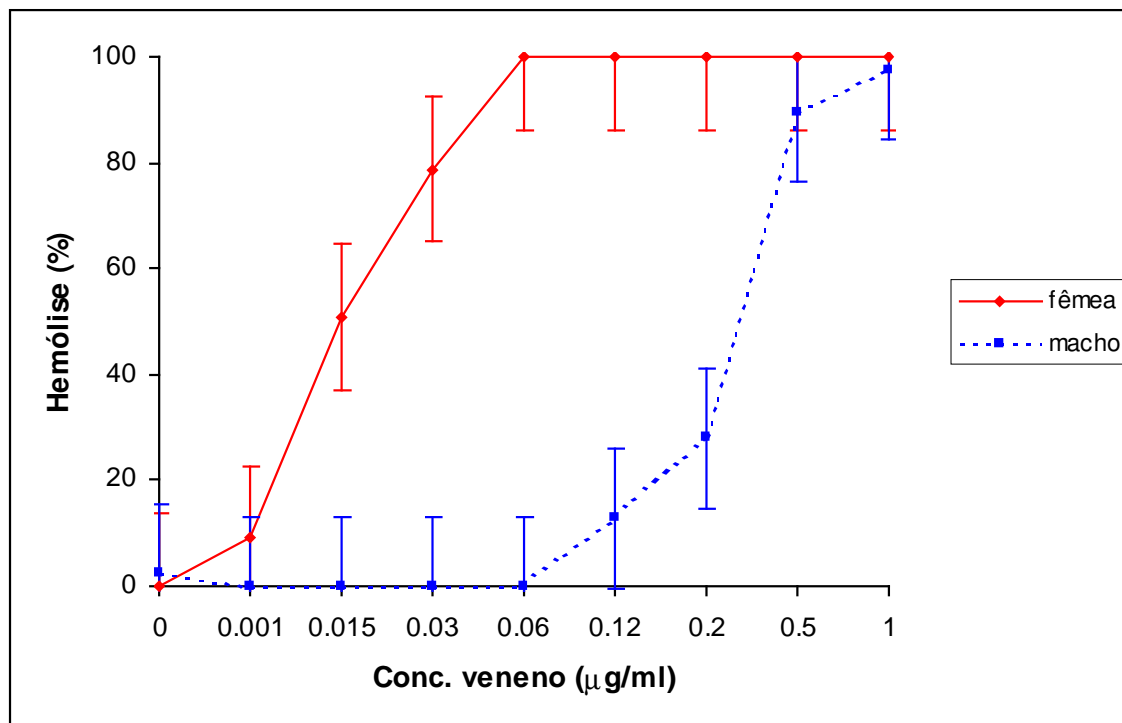
Concentração	Sexo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
0	Fêmea	3	0,13	0,20	0,00	0,36
	Macho	3	2,43	2,48	0,00	4,95
0,001	Fêmea	3	3,63	0,31	3,32	3,93
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00
0,015	Fêmea	3	4,00	4,55	0,00	8,95
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00
0,03	Fêmea	3	7,38	0,68	6,62	7,93
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00
0,06	Fêmea	3	6,48	0,89	5,81	7,49
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00
0,12	Fêmea	3	8,91	1,42	7,28	9,88
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00
0,2	Fêmea	3	34,95	3,50	31,11	37,96
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00
0,5	Fêmea	3	100,00	0,00	100,00	100,00
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00
1	Fêmea	3	100,00	0,00	100,00	100,00
	Macho	3	6,34	4,39	1,46	9,96

**Gráfico C.25** - Perfil médio para hemólise (%), para a fração F2 - *L. intermedia*.**Tabela C.21** - Medidas descritivas para hemólise (%), para a fração F4 - *L. intermedia*.

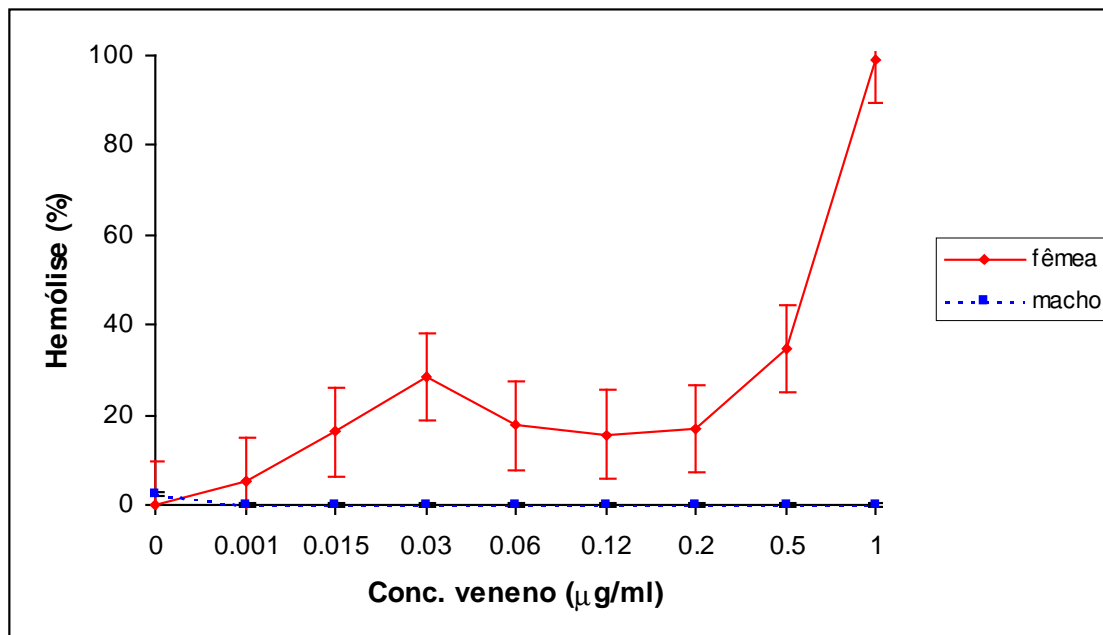
Concentração	Sexo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
0	Fêmea	3	0,13	0,20	0,00	0,36
	Macho	3	2,43	2,48	0,00	4,95
0,001	Fêmea	3	7,58	1,03	6,66	8,69
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00
0,015	Fêmea	3	7,82	0,45	7,41	8,30
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00
0,03	Fêmea	3	8,27	0,52	7,82	8,84
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00
0,06	Fêmea	3	6,64	0,23	6,38	6,84
	Macho	3	0,82	1,42	0,00	2,46
0,12	Fêmea	3	41,58	36,22	0,00	66,27
	Macho	3	40,92	35,65	0,00	65,27
0,2	Fêmea	3	49,84	43,26	0,00	77,62
	Macho	3	49,51	43,01	0,00	77,62
0,5	Fêmea	3	73,16	0,66	72,69	73,92
	Macho	3	73,16	0,66	72,69	73,92
1	Fêmea	3	100,00	0,00	100,00	100,00
	Macho	3	73,68	0,27	73,44	73,97

**Gráfico C.26** - Perfil médio para hemólise (%), para a fração F4 - *L. intermedia*.**Tabela C.22** - Medidas descritivas para hemólise (%), para a fração P1 - *L. intermedia*.

Concentração	Sexo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
0	Fêmea	3	0,13	0,20	0,00	0,36
	Macho	3	2,43	2,48	0,00	4,95
0,001	Fêmea	3	9,07	2,98	5,64	11,01
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00
0,015	Fêmea	3	50,87	2,89	47,85	53,60
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00
0,03	Fêmea	3	78,72	7,09	70,54	83,10
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00
0,06	Fêmea	3	100,00	0,00	100,00	100,00
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00
0,12	Fêmea	3	100,00	0,00	100,00	100,00
	Macho	3	12,96	2,98	9,52	14,68
0,2	Fêmea	3	100,00	0,00	100,00	100,00
	Macho	3	28,10	5,00	24,52	33,81
0,5	Fêmea	3	100,00	0,00	100,00	100,00
	Macho	3	89,58	9,98	79,63	99,59
1	Fêmea	3	100,00	0,00	100,00	100,00
	Macho	3	97,62	5,94	91,62	103,50

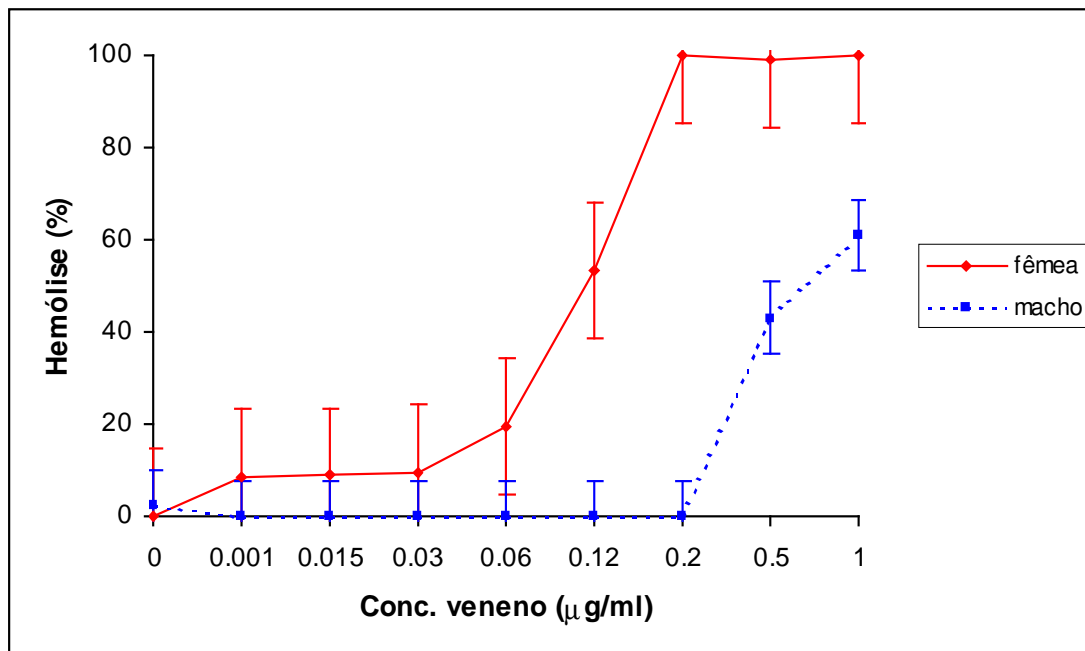
**Gráfico C.27** - Perfil médio para hemólise (%), para a fração P1 - *L. intermedia*.**Tabela C.23** - Medidas descritivas para hemólise (%), para a fração P1' - *L. intermedia*.

Concentração	Sexo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
0	Fêmea	3	0,13	0,20	0,00	0,36
	Macho	3	2,43	2,48	0,00	4,95
0,001	Fêmea	3	5,29	1,56	3,55	6,56
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00
0,015	Fêmea	3	16,21	4,73	10,95	20,10
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00
0,03	Fêmea	3	28,49	7,10	23,86	36,66
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00
0,06	Fêmea	3	17,70	1,24	16,90	19,13
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00
0,12	Fêmea	3	15,67	7,74	7,76	23,23
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00
0,2	Fêmea	3	16,87	1,00	15,90	17,90
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00
0,5	Fêmea	3	34,90	0,26	34,70	35,20
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00
1	Fêmea	3	98,89	1,05	97,71	99,74
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00

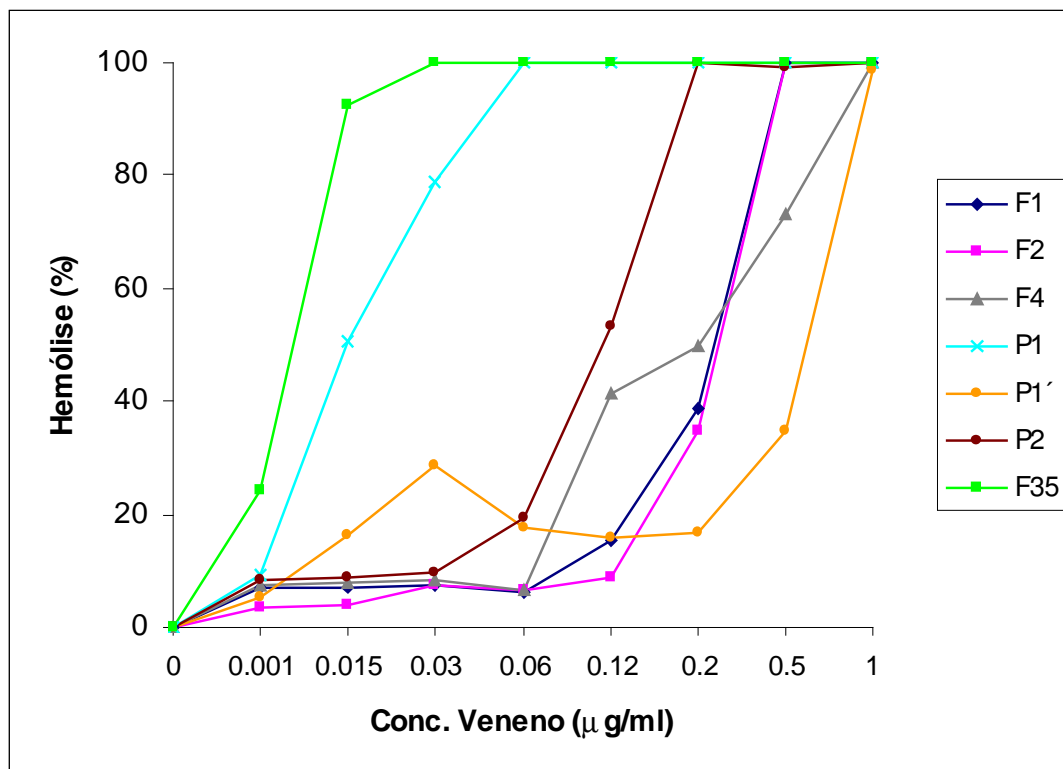
**Gráfico C.28** - Perfil médio para hemólise (%), para a fração P1' - *L. intermedia*.**Tabela C.24** - Medidas descritivas para hemólise (%), para a fração P2 - *L. intermedia*.

Concentração	Sexo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
0	Fêmea	3	0,13	0,20	0,00	0,36
	Macho	3	2,43	2,48	0,00	4,95
0,001	Fêmea	3	8,38	3,25	5,19	11,68
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00
0,015	Fêmea	3	8,85	0,96	7,80	9,68
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00
0,03	Fêmea	3	9,66	0,35	9,25	9,86
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00
0,06	Fêmea	3	19,50	0,92	18,48	20,26
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00
0,12	Fêmea	3	53,38	1,39	52,22	54,92
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00
0,2	Fêmea	3	99,90	0,18	99,69	100,00
	Macho	3	0,00	0,00	0,00	0,00
0,5	Fêmea	3	99,10	1,56	97,29	100,00
	Macho	3	42,99	2,13	40,84	45,09
1	Fêmea	3	100,00	0,00	100,00	100,00
	Macho	3	60,89	0,84	60,06	61,73

**Gráfico C.29** - Perfil médio para hemólise (%), para a fração P2 - *L. intermedia*.

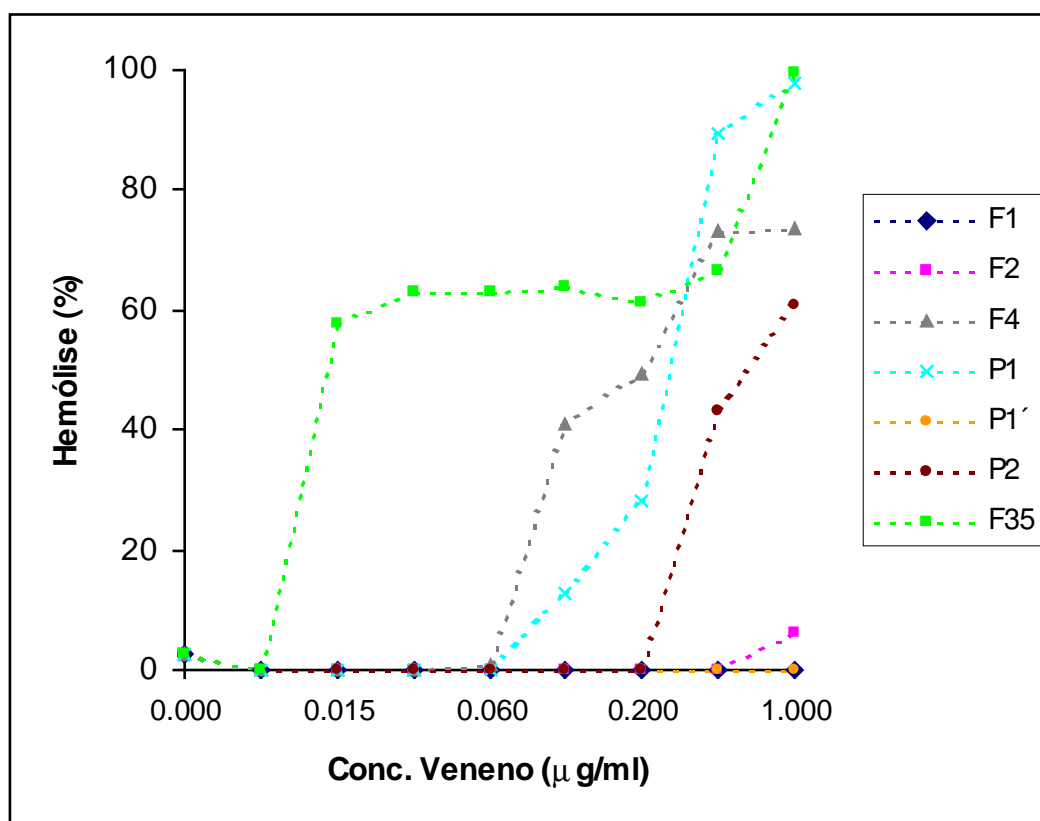


**Gráfico C.30** - Perfil médio para hemólise (%), considerando o veneno da fêmea - *L. intermedia*.





**Gráfico C.31** - Perfil médio para hemólise (%), considerando o veneno do macho - *L. intermedia*.



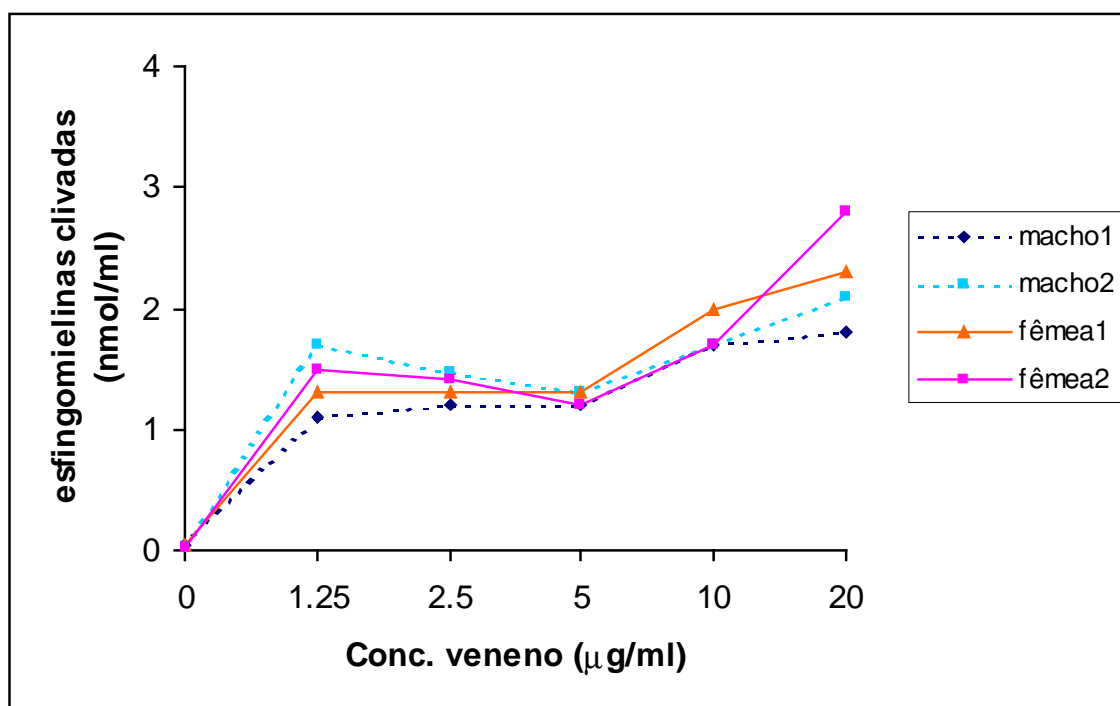
## **Apêndice D**

### **Experimentos para a Análise do Veneno**

**Tabela D.1** - Medidas descritivas para atividade esfingomielinásica (nmol/ml) - *L. gaucho* - veneno total.

Concentração	Sexo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
0	Fêmea	2	0,03	0,02	0,02	0,04
	Macho	2	0,03	0,02	0,02	0,04
1,25	Fêmea	2	1,40	0,14	1,30	1,50
	Macho	2	1,40	0,42	1,10	1,70
2,5	Fêmea	2	1,35	0,07	1,30	1,40
	Macho	2	1,34	0,19	1,20	1,47
5	Fêmea	2	1,25	0,07	1,20	1,30
	Macho	2	1,25	0,07	1,20	1,30
10	Fêmea	2	1,85	0,21	1,70	2,00
	Macho	2	1,70	0,00	1,70	1,70
20	Fêmea	2	2,55	0,35	2,30	2,80
	Macho	2	1,95	0,21	1,80	2,10

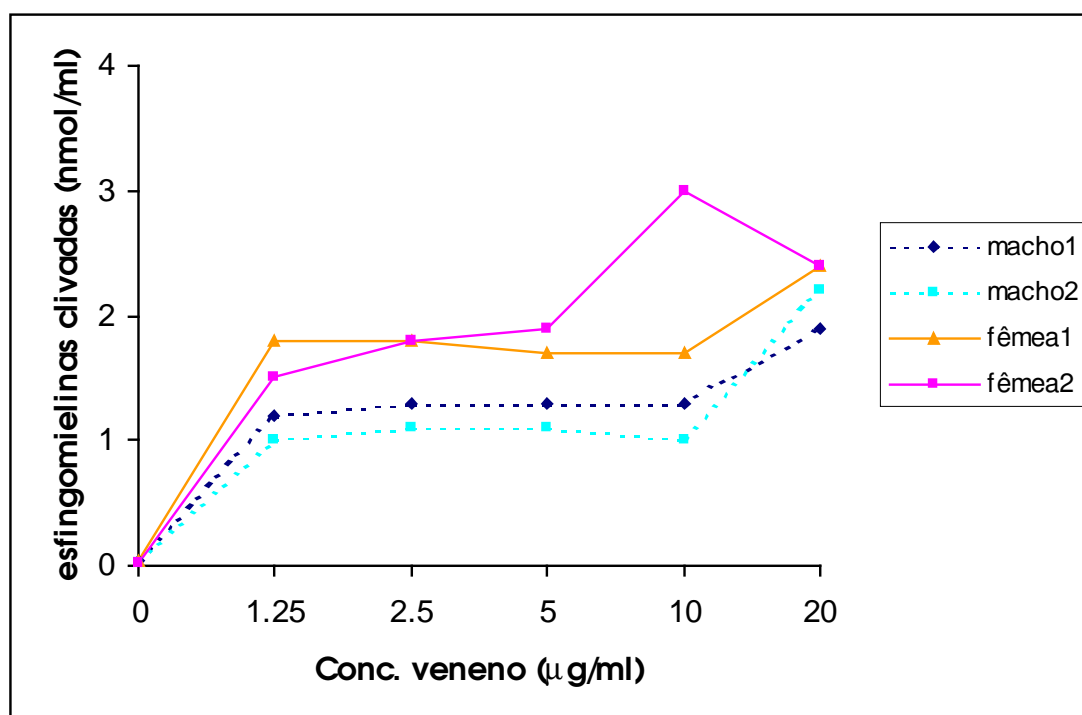
**Gráfico D.1** - Perfis individuais para atividade esfingomielinásica (nmol/ml) - *L. gaucho* - veneno total.



**Tabela D.2** - Medidas descritivas para atividade esfingomielinásica (nmol/ml) - *L. intermedia* - veneno total.

Concentração	Sexo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
0	Fêmea	2	0,03	0,02	0,02	0,04
	Macho	2	0,03	0,02	0,02	0,04
1,25	Fêmea	2	1,65	0,21	1,50	1,80
	Macho	2	1,10	0,14	1,00	1,20
2,5	Fêmea	2	1,80	0,00	1,80	1,80
	Macho	2	1,20	0,14	1,10	1,30
5	Fêmea	2	1,80	0,14	1,70	1,90
	Macho	2	1,20	0,14	1,10	1,30
10	Fêmea	2	2,35	0,92	1,70	3,00
	Macho	2	1,15	0,21	1,00	1,30
20	Fêmea	2	2,40	0,00	2,40	2,40
	Macho	2	2,05	0,21	1,90	2,20

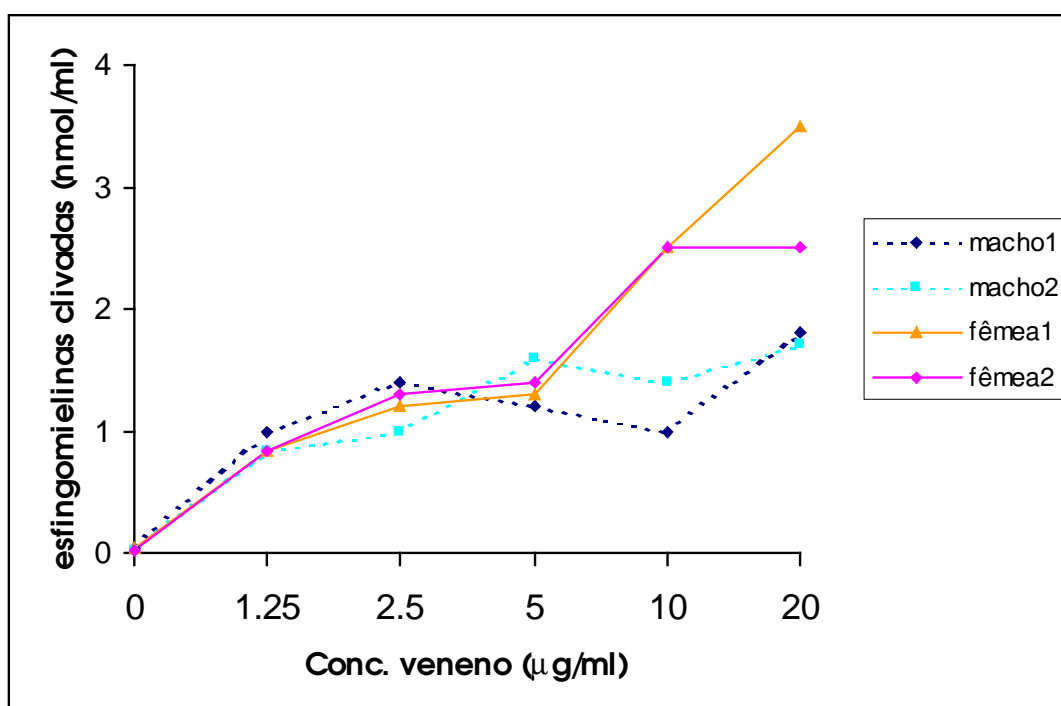
**Gráfico D.2** - Perfis individuais para atividade esfingomielinásica (nmol/ml) – *L. intermedia* - veneno total.



**Tabela D.3** - Medidas descritivas para atividade esfingomielinásica (nmol/ml) - *L. laeta* - veneno total.

Concentração	Sexo	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
0	Fêmea	2	0,03	0,02	0,02	0,04
	Macho	2	0,03	0,02	0,02	0,04
1,25	Fêmea	2	0,84	0,00	0,84	0,84
	Macho	2	0,92	0,11	0,84	1,00
2,5	Fêmea	2	1,25	0,07	1,20	1,30
	Macho	2	1,20	0,28	1,00	1,40
5	Fêmea	2	1,35	0,07	1,30	1,40
	Macho	2	1,40	0,28	1,20	1,60
10	Fêmea	2	2,50	0,00	2,50	2,50
	Macho	2	1,20	0,28	1,00	1,40
20	Fêmea	2	3,00	0,71	2,50	3,50
	Macho	2	1,75	0,07	1,70	1,80

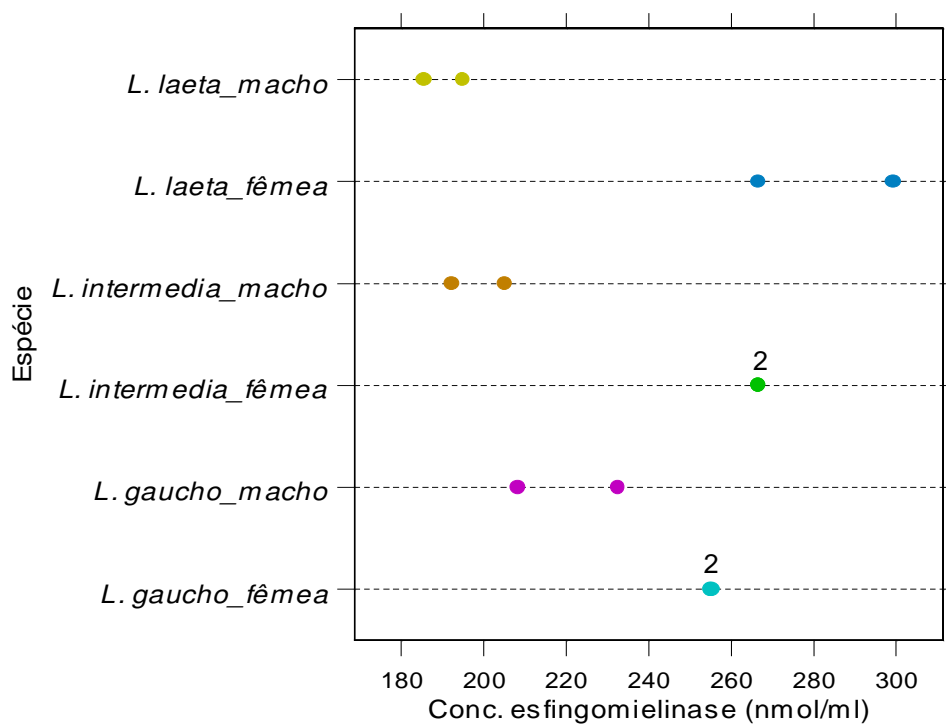
**Gráfico D.3** - Perfis individuais para atividade esfingomielinásica (nmol/ml) – *L. laeta* - veneno total.



**Tabela D.4** - Medidas descritivas para a concentração de esfingomielinase no veneno (nmol/ml) - veneno total.

<b>Especie</b>	<b>Sexo</b>	<b>N</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio Padrão</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>
<i>L. gaucho</i>	Fêmea	2	255,20	0,28	208,30	232,50
	Macho	2	220,40	17,11	255,00	255,40
<i>L. intermedia</i>	Fêmea	2	266,67	0,00	192,30	205,00
	Macho	2	198,65	8,98	266,67	266,67
<i>L. laeta</i>	Fêmea	2	283,04	23,14	185,52	194,93
	Macho	2	190,23	6,65	266,67	299,40

**Gráfico D.4** - Dot plot para a concentração de esfingomielinase no veneno (nmol/ml) - veneno total.



## **Apêndice E**

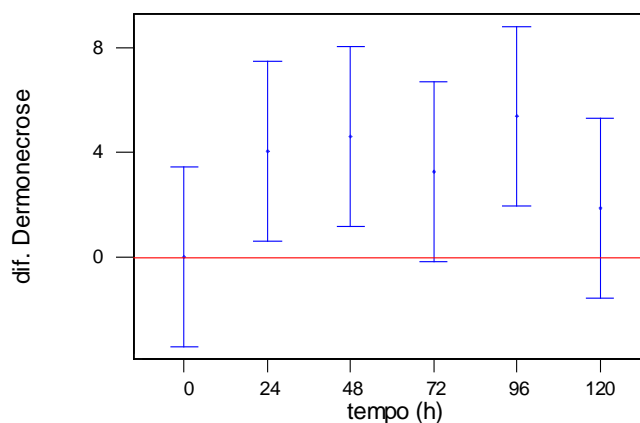
### **Tabelas com Resultados Inferenciais**

**Tabela E.1** - Contrastes para a diferença de dermonecrose.

Tempo	Contraste	p - valor
0	$D_{\text{gaucho}} = D_{\text{laeta}} = D_{\text{intermedia}}$	-
24	$(D_{\text{gaucho}} = D_{\text{laeta}}) > D_{\text{intermedia}}$	0,019
48	$(D_{\text{gaucho}} = D_{\text{laeta}}) > D_{\text{intermedia}}$	0,002
72	$D_{\text{gaucho}} > D_{\text{laeta}} > D_{\text{intermedia}}$	0,000
96	$D_{\text{gaucho}} > (D_{\text{laeta}} = D_{\text{intermedia}})$	0,024
120	$D_{\text{gaucho}} = D_{\text{laeta}} = D_{\text{intermedia}}$	0,583

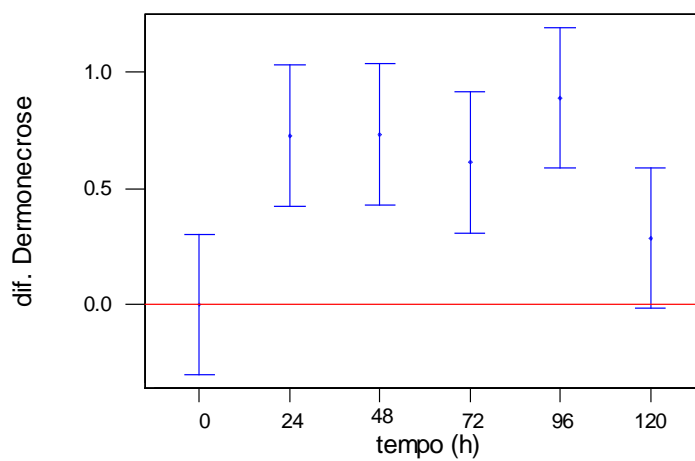
**Tabela E.2** - Contrastes obtidos dos teste “t” pareados - diferença de dermonecrose.

Espécie	Contraste
<i>L. gaucho</i>	$(D_0 = D_{120}) < (D_{24} = D_{48} = D_{72} = D_{96})$
<i>L. intermedia</i>	$(D_0 = D_{120}) < (D_{24} = D_{48} = D_{72} = D_{96})$
<i>L. laeta</i>	$D_0 < (D_{24} = D_{72} = D_{96} = D_{120}) < D_{48}$

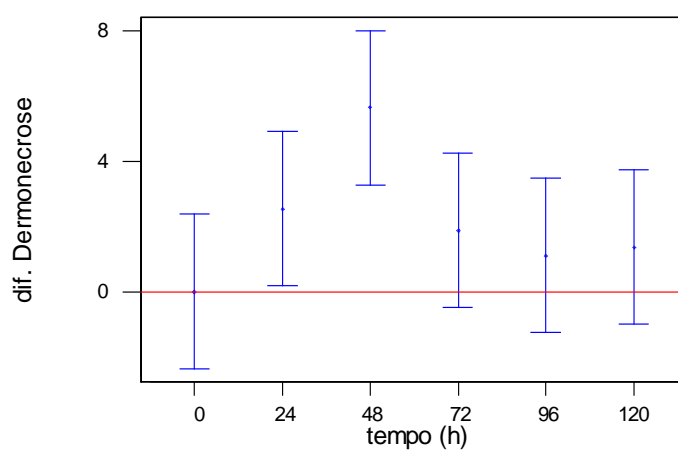
**Gráfico E.1** - Intervalos de confiança para a média da variável diferença de dermonecrose entre machos e fêmeas - *L. gaucho*.



**Gráfico E.2** - Intervalos de confiança para a média da variável diferença de dermonecrose entre machos e fêmeas - *L. intermedia*.



**Gráfico E.3** - Intervalos de confiança para a média da variável diferença de dermonecrose entre machos e fêmeas - *L. laeta*.



**Tabela E.3 - Tabela de Análise de Variância para a variável leucograma.**

Analysis of Variance for leucograma

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
tempo	1	5608717	4525765	4525765	0,69	0,414
sexo	2	5718913	5702294	2851147	0,43	0,653
tempo*sexo	2	58520	58520	29260	0,00	0,996
Error	26	171066271	171066271	6579472		
Total	31	182452422				

**Tabela E.4 - Tabela de Análise de Variância para a variável PMN.**

Analysis of Variance for PMN

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
tempo	1	48,8	94,7	94,7	0,68	0,418
sexo	2	410,0	485,7	242,8	1,75	0,197
tempo*sexo	2	299,4	299,4	149,7	1,08	0,358
Error	22	3056,5	3056,5	138,9		
Total	27	3814,7				

**Tabela E.5 - Tabela de Análise de Variância para a variável linfócitos.**

Analysis of Variance for linfócitos

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
tempo	1	27,7	60,7	60,7	0,43	0,520
sexo	2	464,2	555,9	277,9	1,96	0,165
tempo*sexo	2	299,6	299,6	149,8	1,06	0,365
Error	22	3118,7	3118,7	141,8		
Total	27	3910,2				

**Tabela E.6** - Tabela de Análise de Variância para a variável monócitos.

Analysis of Variance for monócitos

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
tempo	1	3,404	4,346	4,346	2,42	0,134
sexo	2	8,460	8,524	4,262	2,38	0,116
tempo*sexo	2	1,697	1,697	0,848	0,47	0,629
Error	22	39,467	39,467	1,794		
Total	27	53,027				

**Tabela E.7** - Estimativas para média, erro padrão e o p-valor da interação.

Variável	Média	Erro Padrão
Leucograma (céls./ cm <sup>3</sup> )	9798	429
PMN (núm. céls.)	25,27	2,25
Linfócitos (núm. céls.)	71,55	2,27
Monócitos (núm. céls.)	3,16	0,27

**Tabela E.8** - Tabela de Análise de Variância para a variável leucócitos ativados.

Analysis of Variance for leucócitos ativados

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
tempo	1	10770	5375	5375	3,85	0,061
sexo	2	59483	64106	32053	22,93	0,000
tempo*sexo	2	16598	16598	8299	5,94	0,008
Error	26	36341	36341	1398		
Total	31	123192				

**Tabela E.9** - Tabela de Análise de Variância para a variável GPA-GPB - *L. intermedia*.

Analysis of Variance for GPA-GPB

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
sexo	1	6455.7	6455.7	6455.7	588.78	0.000
conc	5	33245.5	33245.5	6649.1	606.42	0.000
sexo*conc	5	1463.5	1463.5	292.7	26.69	0.000
Error	12	131.6	131.6	11.0		
Total	23	41296.2				

**Tabela E.10** - Estimativas para a diferença das médias de GPA-GPB entre machos e fêmeas e para o erro padrão e p-valor do teste de igualdade das médias - *L. intermedia* - GPA-GPB.

Concentração	Contraste (fêmea - macho)	Erro Padrão	p - valor
0	0,00	3,31	1,000
0,5	-43,52	3,31	<0,0001
1	-43,53	3,31	<0,0001
2	-40,79	3,31	<0,0001
5	-41,12	3,31	<0,0001
10	-27,85	3,31	<0,0001

$$\alpha^* = 0,0083$$

**Tabela E.11** - Tabela de Análise de Variância para a variável GPA-GPB - *L. laeta*.

Analysis of Variance for GPA-GPB

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
sexo	1	540.4	540.4	540.4	485.72	0.000
conc	5	40070.5	40070.5	8014.1	7203.73	0.000
sexo*conc	5	606.4	606.4	121.3	109.02	0.000
Error	12	13.3	13.3	1.1		
Total	23	41230.6				

**Tabela E.12** - Estimativas para a diferença das médias de GPA-GPB entre machos e fêmeas e para o erro padrão e p-valor do teste de igualdade das médias - *L. laeta* - GPA-GPB.

Concentração	Contraste (fêmea - macho)	Erro Padrão	p - valor
0	0,00	1,05	1,0000
0,5	-15,28	1,05	<0,0001
1	-25,33	1,05	<0,0001
2	-15,49	1,05	<0,0001
5	-4,39	1,05	0,0013
10	3,55	1,05	0,0056

$$\alpha^* = 0,0083$$

**Tabela E.13** - Tabela de Análise de Variância para a variável GPC - *L. intermedia*.

Analysis of Variance for GPC

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
sexo	1	735.65	492.20	492.20	488.73	0.000
conc	6	7091.31	6882.27	1147.05	1138.98	0.000
sexo*conc	6	622.06	622.06	103.68	102.95	0.000
Error	12	12.08	12.08	1.01		
Total	25	8461.10				

**Tabela E.14** - Estimativas para a diferença das médias de GPC entre machos e fêmeas e para o erro padrão e p-valor do teste de igualdade das médias - *L. intermedia* - GPC.

Concentração	Contraste (fêmea - macho)	Erro Padrão	p - valor
0	0,00	1,00	1,0000
0,1	0,00	1,00	1,0000
0,5	-3,80	1,23	0,0093
1	-23,55	1,00	<0,0001
2	-23,85	1,00	<0,0001
5	-11,45	1,00	<0,0001
10	-0,10	1,00	0,9223

$$\alpha^* = 0,0071$$

**Tabela E.15** - Tabela de Análise de Variância para a variável GPC - *L. laeta*.

Analysis of Variance for GPC

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
sexo	1	289.29	289.29	289.29	199.51	0.000
conc	6	8443.20	8443.20	1407.20	970.48	0.000
sexo*conc	6	1038.85	1038.85	173.14	119.41	0.000
Error	14	20.30	20.30	1.45		
Total	27	9791.64				

**Tabela E.16** - Estimativas para a diferença das médias de GPC entre machos e fêmeas e para o erro padrão e p-valor do teste de igualdade das médias - *L. laeta* - GPC.

Concentração	Contraste (fêmea - macho)	Erro Padrão	p - valor
0	0,00	1,20	1,0000
0,1	0,00	1,20	1,0000
0,5	-34,85	1,20	<0,0001
1	-10,65	1,20	<0,0001
2	-0,10	1,20	0,9350
5	0,30	1,20	0,8069
10	0,30	1,20	0,8069

$$\alpha^* = 0,0071$$

**Tabela E.17** - Tabela de Análise de Variância para a variável Remoção GPA-GPB - *L. gaucho*.

Analysis of Variance for Remoção GPA-GPB

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
sexo	1	1202.5	1202.5	1202.5	313.97	0.000
conc	3	26413.0	26413.0	8804.3	2298.75	0.000
sexo*conc	3	717.0	717.0	239.0	62.40	0.000
Error	8	30.6	30.6	3.8		
Total	15	28363.2				

**Tabela E.18** - Estimativas para a diferença das médias de GPA-GPB entre machos e fêmeas e para o erro padrão e p-valor do teste de igualdade das médias - *L. gaucho* - Remoção GPA-GPB.

Concentração	Contraste (fêmea - macho)	Erro Padrão	p-valor
0	0,00	1,96	1,0000
0,1	28,94	1,96	<0,0001
0,5	31,73	1,96	<0,0001
1	8,69	1,96	0,0022

$$\alpha^* = 0,0125$$

**Tabela E.19** - Tabela de Análise de Variância para a variável Remoção GPA-GPB - *L. intermedia*.

Analysis of Variance for Remoção GPA-GPB

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
sexo	1	1364.2	1364.2	1364.2	174.60	0.000
conc	3	8695.8	8695.8	2898.6	371.00	0.000
sexo*conc	3	915.3	915.3	305.1	39.05	0.000
Error	8	62.5	62.5	7.8		
Total	15	11037.8				

**Tabela E.20** - Estimativas para a diferença das médias de GPA-GPB entre machos e fêmeas e para o erro padrão e p-valor do teste de igualdade das médias - *L. intermedia* - Remoção GPA-GPB.

Concentração	Contraste (fêmea - macho)	Erro Padrão	p-valor
0	0,00	2,80	1,0000
0,1	7,15	2,80	0,0338
0,5	34,44	2,80	<0,0001
1	32,29	2,80	<0,0001

$$\alpha^* = 0,0125$$

**Tabela E.21** - Tabela de Análise de Variância para a variável Remoção GPA-GPB - *L. laeta*.

Analysis of Variance for Remoção GPA-GPB

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
sexo	1	446.8	446.8	446.8	34.55	0.000
conc	3	14776.5	14776.5	4925.5	380.88	0.000
sexo*conc	3	203.9	203.9	68.0	5.26	0.027
Error	8	103.5	103.5	12.9		
Total	15	15530.7				

**Tabela E.22** - Estimativas para a diferença das médias de GPA-GPB entre machos e fêmeas e para o erro padrão e p-valor do teste de igualdade das médias - *L. laeta* - Remoção GPA-GPB.

Concentração	Contraste (fêmea - macho)	Erro Padrão	p-valor
0	0,00	3,60	1,0000
0,1	10,14	3,60	0,0225
0,5	12,10	3,60	0,0099
1	20,04	3,60	0,0005

$$\alpha^* = 0,0125$$

**Tabela E.23** - Tabela de Análise de Variância para a variável GPA. - F35.

Analysis of Variance for GPA

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
sexo	1	7219.7	7219.7	7219.7	21.43	0.000
conc	3	11929.3	11929.3	3976.4	11.80	0.000
sexo*conc	3	4218.8	4218.8	1406.3	4.17	0.023
Error	16	5391.3	5391.3	337.0		
Total	23	28759.1				



**Tabela E.24** - Estimativas para a diferença das médias de GPA entre machos e fêmeas e para o erro padrão e p-valor do teste de igualdade das médias - F35 - GPA.

Concentração	Contraste(fêmea - macho)	Erro Padrão	p -valor
0	1,40	14,99	0,9267
1	65,39	14,99	0,0005
100	55,46	14,99	0,0019
1000	16,51	14,99	0,2870

$$\alpha^* = 0,0125$$

**Tabela E.25** - Tabela de Análise de Variância para a variável GPA. - F1.

Analysis of Variance for Remoção GPA

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
sexo	1	2167.9	2167.9	2167.9	42.90	0.000
conc	3	3830.6	3830.6	1276.9	25.27	0.000
sexo*conc	3	1612.3	1612.3	537.4	10.64	0.000
Error	16	808.5	808.5	50.5		
Total	23	8419.4				

**Tabela E.26** - Estimativas para a diferença das médias de GPA entre machos e fêmeas e para o erro padrão e p-valor do teste de igualdade das médias - F1 - GPA.

Concentração	Contraste(fêmea - macho)	Erro Padrão	p -valor
0	1,40	5,80	0,8125
1	6,65	5,80	0,2689
100	24,97	5,80	0,0005
1000	43,02	5,80	<0,0001

$$\alpha^* = 0,0125$$

**Tabela E.27** - Tabela de Análise de Variância para a variável GPA. - F2.

Analysis of Variance for Remoção GPA

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
sexo	1	8981.5	8981.5	8981.5	216.08	0.000
conc	3	19862.4	19862.4	6620.8	159.28	0.000
sexo*conc	3	2836.7	2836.7	945.6	22.75	0.000
Error	16	665.1	665.1	41.6		
Total	23	32345.7				

**Tabela E.28** - Estimativas para a diferença das médias de GPA entre machos e fêmeas e para o erro padrão e p-valor do teste de igualdade das médias - F2 - GPA.

Concentração	Contraste(fêmea - macho)	Erro Padrão	p -valor
0	1,40	5,26	0,7937
1	56,09	5,26	<0,0001
100	48,59	5,26	<0,0001
1000	48,67	5,26	<0,0001

$$\alpha^* = 0,0125$$

**Tabela E.29** - Tabela de Análise de Variância para a variável GPA. - F4.

Analysis of Variance for Remoção GPA

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
sexo	1	170.61	170.61	170.61	8.65	0.010
conc	3	6359.01	6359.01	2119.67	107.44	0.000
sexo*conc	3	179.58	179.58	59.86	3.03	0.040
Error	16	315.66	315.66	19.73		
Total	23	7024.86				

**Tabela E.30** - Estimativas para a diferença das médias de GPA entre machos e fêmeas e para o erro padrão e p-valor do teste de igualdade das médias - F4 - GPA.

Concentração	Contraste(fêmea - macho)	Erro Padrão	p -valor
0	1,40	3,63	0,7046
1	-1,42	3,63	0,7012
100	11,58	3,63	0,0056
1000	9,76	3,63	0,0160

$$\alpha^* = 0,0125$$

**Tabela E.31** - Tabela de Análise de Variância para a variável GPA. - P1.

Analysis of Variance for Remoção GPA

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
sexo	1	5289.6	5289.6	5289.6	24.20	0.000
conc	3	5169.6	5169.6	1723.2	7.88	0.002
sexo*conc	3	2351.1	2351.1	783.7	3.59	0.037
Error	16	3497.4	3497.4	218.6		
Total	23	16307.6				

**Tabela E.32** - Estimativas para a diferença das médias de GPA entre machos e fêmeas e para o erro padrão e p-valor do teste de igualdade das médias - P1 - GPA.

Concentração	Contraste(fêmea - macho)	Erro Padrão	p -valor
0	1,40	12,07	0,9091
1	21,58	12,07	0,0928
100	52,29	12,07	0,0005
1000	43,50	12,07	0,0024

$$\alpha^* = 0,0125$$

**Tabela E.33 - Tabela de Análise de Variância para a variável GPA. - P1'.**

Analysis of Variance for Remoção GPA

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
sexo	1	1244.6	1244.6	1244.6	88.48	0.000
conc	3	10029.4	10029.4	3343.1	237.68	0.000
sexo*conc	3	523.1	523.1	174.4	12.40	0.000
Error	16	225.1	225.1	14.1		
Total	23	12022.2				

**Tabela E.34 - Estimativas para a diferença das médias de GPA entre machos e fêmeas e para o erro padrão e p-valor do teste de igualdade das médias - P1' - GPA.**

Concentração	Contraste(fêmea - macho)	Erro Padrão	p -valor
0	1,40	3,06	0,6537
1	27,78	3,06	<0,0001
100	13,68	3,06	0,0004
1000	14,75	3,06	0,0002

$$\alpha^* = 0,0125$$

**Tabela E.35 - Tabela de Análise de Variância para a variável GPA. - P2.**

Analysis of Variance for Remoção GPA

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
sexo	1	6411.5	6411.5	6411.5	153.96	0.000
conc	3	3420.3	3420.3	1140.1	27.38	0.000
sexo*conc	3	3661.5	3661.5	1220.5	29.31	0.000
Error	16	666.3	666.3	41.6		
Total	23	14159.5				

**Tabela E.36** - Estimativas para a diferença das médias de GPA entre machos e fêmeas e para o erro padrão e p-valor do teste de igualdade das médias - P2 - GPA.

Concentração	Contraste(fêmea - macho)	Erro Padrão	p -valor
0	1,40	5,27	0,7939
1	16,72	5,27	0,0059
100	49,60	5,27	<0,0001
1000	63,03	5,27	<0,0001

$$\alpha^* = 0,0125$$

**Tabela E.37** - Tabela de Análise de Variância para a variável hemólise - *L. gaucho*.

Analysis of Variance for hemólise

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
sexo	1	1592.9	1592.9	1592.9	431.59	0.000
conc	4	42112.6	42112.6	10528.2	2852.64	0.000
sexo*conc	4	6371.5	6371.5	1592.9	431.59	0.000
Error	20	73.8	73.8	3.7		
Total	29	50150.8				

**Tabela E.38** - Estimativas para a diferença das médias de hemólise entre machos e fêmeas e para o erro padrão e p-valor do teste de igualdade das médias - *L. gaucho* - hemólise.

Concentração	Contraste (fêmea - macho)	Erro Padrão	p-valor
0	0,00	1,57	1,0000
0,001	72,87	1,57	<0,0001
0,01	0,00	1,57	1,0000
0,1	0,00	1,57	1,0000
0,5	0,00	1,57	1,0000

$$\alpha^* = 0,01$$

**Tabela E.39** - Tabela de Análise de Variância para a variável hemólise - *L. intermedia*.

Analysis of Variance for hemólise

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
sexo	1	181.1	181.1	181.1	12.22	0.002
conc	4	49744.6	49744.6	12436.1	839.30	0.000
sexo*conc	4	369.6	369.6	92.4	6.24	0.002
Error	20	296.3	296.3	14.8		
Total	29	50591.6				

**Tabela E.40** - Estimativas para a diferença das médias de hemólise entre machos e fêmeas e para o erro padrão e p-valor do teste de igualdade das médias - *L. intermedia* - hemólise.

Concentração	Contraste (fêmea - macho)	Erro Padrão	p-valor
0	0,00	3,14	1,0000
0,001	6,57	3,14	0,0497
0,01	18,00	3,14	<0,0001
0,1	0,00	3,14	1,0000
0,5	0,00	3,14	1,0000

 $\alpha^* = 0,01$ **Tabela E.41** - Tabela de Análise de Variância para a variável hemólise - *L. laeta*.

Analysis of Variance for hemólise

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
sexo	1	1029.7	568.8	568.8	45.86	0.000
conc	4	47928.1	47654.7	11913.7	960.65	0.000
sexo*conc	4	1499.8	1499.8	374.9	30.23	0.000
Error	19	235.6	235.6	12.4		
Total	28	50693.2				

**Tabela E.42** - Estimativas para a diferença das médias de hemólise entre machos e fêmeas e para o erro padrão e p-valor do teste de igualdade das médias - *L. laeta* - hemólise.

Concentração	Contraste (fêmea - macho)	Erro Padrão	p-valor
0	0,00	2,88	1,0000
0,001	8,12	3,21	0,0206
0,01	36,50	2,88	<0,0001
0,1	0,00	2,88	1,0000
0,5	0,00	2,88	1,0000

$\alpha^* = 0,01$

**Tabela E.43** - Tabela de Análise de Variância para a variável hemólise - F35.

Analysis of Variance for hemólise

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
sexo	1	9755.9	9373.4	9373.4	694.50	0.000
conc	8	57164.8	56963.9	7120.5	527.57	0.000
sexo*conc	8	3119.6	3119.6	389.9	28.89	0.000
Error	35	472.4	472.4	13.5		
Total	52	70512.7				

**Tabela E.44** - Estimativas para a diferença das médias de hemólise entre machos e fêmeas e para o erro padrão e p-valor do teste de igualdade das médias - F35 - hemólise.

Concentração	Contraste(fêmea - macho)	Erro Padrão	p -valor
0	-2,30	2,30	0,4490
0,001	24,40	2,30	<0,0001
0,015	35,18	2,30	<0,0001
0,03	37,11	2,30	<0,0001
0,06	37,02	2,30	<0,0001
0,12	35,95	2,30	<0,0001
0,2	38,97	2,30	<0,0001
0,5	33,50	2,30	<0,0001
1	0,59	2,30	0,8461

$\alpha^* = 0,0056$

**Tabela E.45** - Tabela de Análise de Variância para a variável hemólise - F1.

Analysis of Variance for hemólise

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
sexo	1	13002.7	13002.7	13002.7	1.4E+04	0.000
conc	8	19441.6	19441.6	2430.2	2676.14	0.000
sexo*conc	8	19896.1	19896.1	2487.0	2738.70	0.000
Error	36	32.7	32.7	0.9		
Total	53	52373.1				

**Tabela E.46** - Estimativas para a diferença das médias de hemólise entre machos e fêmeas e para o erro padrão e p-valor do teste de igualdade das médias - F1 - hemólise.

Concentração	Contraste(fêmea - macho)	Erro Padrão	p -valor
0	-2,30	0,78	0,0055
0,001	7,02	0,78	<0,0001
0,015	6,89	0,78	<0,0001
0,03	7,34	0,78	<0,0001
0,06	6,34	0,78	<0,0001
0,12	15,23	0,78	<0,0001
0,2	38,79	0,78	<0,0001
0,5	100,00	0,78	<0,0001
1	100,00	0,78	<0,0001

$$\alpha^* = 0,0056$$

**Tabela E.47** - Tabela de Análise de Variância para a variável hemólise - F2.

Analysis of Variance for hemólise

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
sexo	1	10984.5	10984.5	10984.5	3203.88	0.000
conc	8	21574.6	21574.6	2696.8	786.59	0.000
sexo*conc	8	19322.3	19322.3	2415.3	704.48	0.000
Error	36	123.4	123.4	3.4		
Total	53	52004.9				



**Tabela E.48** - Estimativas para a diferença das médias de hemólise entre machos e fêmeas e para o erro padrão e p-valor do teste de igualdade das médias - F2 - hemólise.

Concentração	Contraste(fêmea - macho)	Erro Padrão	p -valor
0	-2,30	1,51	0,1375
0,001	3,63	1,51	0,0218
0,015	4,00	1,51	0,0119
0,03	7,38	1,51	<0,0001
0,06	6,48	1,51	0,0001
0,12	8,91	1,51	<0,0001
0,2	34,95	1,51	<0,0001
0,5	100,00	1,51	<0,0001
1	93,66	1,51	<0,0001

$\alpha^* = 0,0056$

**Tabela E.49** - Tabela de Análise de Variância para a variável hemólise - F4.

Analysis of Variance for hemólise

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
sexo	1	495.5	495.5	495.5	1.41	0.242
conc	8	54946.6	54946.6	6868.3	19.58	0.000
sexo*conc	8	884.1	884.1	110.5	0.32	0.955
Error	36	12628.5	12628.5	350.8		
Total	53	68954.7				

**Tabela E.50** - Estimativas para a diferença das médias de hemólise entre machos e fêmeas e para o erro padrão e p-valor do teste de igualdade das médias - F4 - hemólise.

Concentração	Contraste(fêmea - macho)	Erro Padrão	p -valor
0	-2,30	15,29	0,8815
0,001	7,58	15,29	0,6230
0,015	7,8	15,29	0,6121
0,03	8,27	15,29	0,5918
0,06	5,82	15,29	0,7059
0,12	0,67	15,29	0,9655
0,2	0,33	15,29	0,9827
0,5	0,00	15,29	1,0000
1	26,32	15,29	0,0938

$\alpha^* = 0,0056$

**Tabela E.51** - Tabela de Análise de Variância para a variável hemólise - P1.

Analysis of Variance for hemólise

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
sexo	1	27756.7	27756.7	27756.7	2061.84	0.000
conc	8	58556.9	58556.9	7319.6	543.72	0.000
sexo*conc	8	19839.5	19839.5	2479.9	184.22	0.000
Error	36	484.6	484.6	13.5		
Total	53	106637.8				

**Tabela E.52** - Estimativas para a diferença das médias de hemólise entre machos e fêmeas e para o erro padrão e p-valor do teste de igualdade das médias - P1 - hemólise.

Concentração	Contraste(fêmea - macho)	Erro Padrão	p -valor
0	-2,30	2,30	0,4483
0,001	9,07	2,30	0,0045
0,015	50,87	2,30	<0,0001
0,03	78,72	2,30	<0,0001
0,06	100,00	2,30	<0,0001
0,12	87,04	2,30	<0,0001
0,2	71,90	2,30	<0,0001
0,5	10,42	2,30	0,0013
1	2,38	2,30	0,4315

$$\alpha^* = 0,0056$$

**Tabela E.53** - Tabela de Análise de Variância para a variável hemólise - P1'.

Analysis of Variance for hemólise

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
sexo	1	8948.8	8948.8	8948.8	1110.93	0.000
conc	8	10095.0	10095.0	1261.9	156.65	0.000
sexo*conc	8	10472.4	10472.4	1309.0	162.51	0.000
Error	36	290.0	290.0	8.1		
Total	53	29806.2				

**Tabela E.54** - Estimativas para a diferença das médias de hemólise entre machos e fêmeas e para o erro padrão e p-valor do teste de igualdade das médias - P1' - hemólise.

Concentração	Contraste(fêmea - macho)	Erro Padrão	p -valor
0	-2,30	2,32	0,3283
0,001	5,29	2,32	0,0284
0,015	16,21	2,32	<0,0001
0,03	28,49	2,32	<0,0001
0,06	17,70	2,32	<0,0001
0,12	15,67	2,32	<0,0001
0,2	16,87	2,32	<0,0001
0,5	34,90	2,32	<0,0001
1	98,89	2,32	<0,0001

$\alpha^* = 0,0056$

**Tabela E.55** - Tabela de Análise de Variância para a variável hemólise - P2.

Analysis of Variance for hemólise

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
sexo	1	14267.5	14267.5	14267.5	9100.86	0.000
conc	8	46760.1	46760.1	5845.0	3728.38	0.000
sexo*conc	8	12933.2	12933.2	1616.7	1031.22	0.000
Error	36	56.4	56.4	1.6		
Total	53	74017.3				

**Tabela E.56** - Estimativas para a diferença das médias de hemólise entre machos e fêmeas e para o erro padrão e p-valor do teste de igualdade das médias - P2 - hemólise.

Concentração	Contraste(fêmea - macho)	Erro Padrão	p -valor
0	-2,30	1,02	0,0309
0,001	8,38	1,02	<0,0001
0,015	8,65	1,02	<0,0001
0,03	9,66	1,02	<0,0001
0,06	19,50	1,02	<0,0001
0,12	53,38	1,02	<0,0001
0,2	99,90	1,02	<0,0001
0,5	56,11	1,02	<0,0001
1	39,11	1,02	<0,0001

$\alpha^* = 0,0056$

**Tabela E.57** - Tabela de Análise de Variância para a variável atividade esfingomielinásica.- *L. gaucho*.

Analysis of Variance for Atividade esfingomielinásica

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
sexo	1	0,0975	0,0975	0,0975	2,51	0,139
conc	5	10,9805	10,9805	2,1961	56,42	0,000
sexo*conc	5	0,2852	0,2852	0,0570	1,47	0,271
Error	12	0,4671	0,4671	0,0389		
Total	23	11,8303				

**Tabela E.58** - Estimativas para a média e erro padrão - *L. gaucho* - atividade esfingomielinásica.

Grupos	Média	Erro Padrão
Conc <sub>0</sub>	0,03	0,02
Conc <sub>1,25</sub> = Conc <sub>2,5</sub> = Conc <sub>5</sub> = Conc <sub>10</sub>	1,44	0,07
Conc <sub>20</sub>	2,25	0,13

**Tabela E.59** - Tabela de Análise de Variância para a variável atividade esfingomielinásica.- *L. intermedia*.

Analysis of Variance for Atividade esfingomielinásica

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
sexo	1	1,8150	1,8150	1,8150	20,53	0,001
conc	5	10,8023	10,8023	2,1605	24,44	0,000
sexo*conc	5	0,7700	0,7700	0,1540	1,74	0,200
Error	12	1,0607	1,0607	0,0884		
Total	23	14,4480				

**Tabela E.60** - Estimativas para média e erro padrão - *L. intermedia* - atividade esfingomielinásica.

Grupos	Média	Erro Padrão
Conc <sub>0</sub>	0,03	0,02
Conc <sub>1,25</sub> = Conc <sub>2,5</sub> = Conc <sub>5</sub> = Conc <sub>10</sub>	1,44	0,06
Conc <sub>20</sub>	2,28	0,12

**Tabela E.61** - Estimativas para média e erro padrão - *L. intermedia* - atividade esfingomielinásica.

Sexo	Média	Erro Padrão
Fêmea	1,52	0,13
Macho	1,16	0,13

**Tabela E.62** - Tabela de Análise de Variância para a variável atividade esfingomielinásica.- *L. laeta*.

Analysis of Variance for Atividade esfingomielinásica

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
sexo	1	1,0168	1,0168	1,0168	15,88	0,002
conc	5	13,0319	13,0319	2,6064	40,70	0,000
sexo*conc	5	2,2471	2,2471	0,4494	7,02	0,003
Error	12	0,7685	0,7685	0,0640		
Total	23	17,0643				

**Tabela E.63** - Estimativas para a diferença das médias de atividade esfingomielinásica entre machos e fêmeas e para o erro padrão e p-valor do teste de igualdade das médias - *L. laeta* - Atividade esfingomielinásica.

Concentração	Contraste	p - valor
0	0,00	1,0000
1,25	-0,08	1,0000
2,5	0,05	1,0000
5	-0,05	1,0000
10	1,30	0,0080
20	1,25	0,0110

$$\alpha^* = 0,0083$$

**Tabela E.64** - Tabela de Análise de Variância para a variável atividade esfingomielinásica.- Fêmeas.

Analysis of Variance for resp\_2\_1, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
especie	2	0,4417	0,4417	0,2208	2,45	0,114
conc	5	24,3679	24,3679	4,8736	54,12	0,000
especie*conc	10	1,7864	1,7864	0,1786	1,98	0,099
Error	18	1,6210	1,6210	0,0901		
Total	35	28,2171				

**Tabela E.65** - Estimativas para média e erro padrão - atividade esfingomielinásica - Fêmeas.

Grupos	Média	Erro Padrão
Conc <sub>0</sub>	0,03	0,02
Conc <sub>1,25</sub> = Conc <sub>2,5</sub> = Conc <sub>5</sub>	1,62	0,09
Conc <sub>10</sub> = Conc <sub>20</sub>	2,65	0,18

**Tabela E.66** - Tabela de Análise de Variância para a variável atividade esfingomielinásica.- Machos.

Analysis of Variance for Atividade esfingomielinásica

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
especie	2	0,25382	0,25382	0,12691	3,38	0,057
conc	5	11,45026	11,45026	2,29005	61,04	0,000
especie*conc	10	0,51235	0,51235	0,05124	1,37	0,271
Error	18	0,67526	0,67526	0,03751		
Total	35	12,89169				

**Tabela E.67** - Estimativas para média e erro padrão - atividade esfingomilelinásica - Machos.

Grupos	Média	Erro Padrão
Conc <sub>0</sub>	0,03	0,02
Conc <sub>1,25</sub> = Conc <sub>2,5</sub> = Conc <sub>5</sub> = Conc <sub>10</sub>	1,25	0,04
Conc <sub>20</sub>	1,92	0,09

**Tabela E.68** - Tabela de Análise de Variância para a variável concentração de esfingomielinase.

Analysis of Variance for concentração de esfingomielinase

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
especie	2	58,1	58,1	29,0	0,18	0,837
sexo	1	12757,0	12757,0	12757,0	80,28	0,000
especie*sexo	2	1694,4	1694,4	847,2	5,33	0,047
Error	6	953,4	953,4	158,9		
Total	11	15463,0				

**Tabela E.69** - Estimativas para a diferença das médias de concentração de esfingomielinase entre machos e fêmeas e para o erro padrão e p-valor do teste de igualdade das médias - concentração de esfingomielinase.

<b>Espécie</b>	<b>Contraste</b>	<b>p - valor</b>
<i>L. gaucho</i>	34,80	0,1026
<i>L. intermedia</i>	68,02	0,0086
<i>L. laeta</i>	92,81	0,0321