

**DOMESTICAÇÃO DA SAÚVA: AÇÃO DE LECTINAS VEGETAIS  
SOBRE A SAÚVA DO NORDESTE *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939**

**NIEDJA GOYANNA GOMES GONÇALVES**

**FORTALEZA – CEARÁ**

**2003**

**DOMESTICAÇÃO DA SAÚVA: AÇÃO DE LECTINAS VEGETAIS  
SOBRE A SAÚVA DO NORDESTE *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939**

**NIEDJA GOYANNA GOMES GONÇALVES**

**TESE APRESENTADA À COORDENAÇÃO DO CURSO DE PÓS - GRADUAÇÃO  
EM BIOQUÍMICA DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
CEARÁ COMO PARTE DOS REQUISITOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE  
“DOUTOR EM BIOQUÍMICA”**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**

**FORTALEZA – CEARÁ**

**2003**

G627d    Gonçalves, Niedja Goyanna Gomes

Domesticação da saúva: ação de lectinas vegetais sobre a saúva do nordeste *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 / Niedja Goyanna Gomes Gonçalves. – Fortaleza: N. G. G. Gonçalves, 2003.

xxviii, 162p., il. color.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Ceará / Departamento de Bioquímica, 2003.

1. Saúva – Comportamento. 2. Saúva – Domesticação. 3. *Atta opaciceps*. 4. Formiga. 5. Lectinas. I. Título.

CDD. 595.796

Catálogo na Fonte

Esta Tese foi submetida como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de "Doutor em Bioquímica", outorgado pela Universidade Federal do Ceará, e encontra-se à disposição dos interessados na Biblioteca de Ciências e Tecnologia da referida Universidade.

A citação ou transcrição de qualquer trecho desta Tese será permitida, desde que seja feita de conformidade com as normas da ética científica.

---

NIÉDJA GOYANNA GOMES GONÇALVES

APROVADA EM: 25 / março / 2003

---

Prof. Fernando João Montenegro de Sales – Post-Doctor  
Orientador

---

Prof. Benildo Sousa Cavada – Post-Doctor  
Conselheiro

---

Prof. Francisco Valter Vieira - Doutor  
Conselheiro

---

Profa. Maria Goretti Araújo de Lima - Doutora  
Conselheira

---

Profa. Edda Lisboa Leite - Doutora  
Conselheira

A DEUS,

todo poderoso do Universo pela felicidade da minha existência;

A meus pais e amigos,

PEDRO e ARABELA,

por minha vida e educação, além do inestimável amor, representando os pilares no meu caminho terreno;

A meus irmãos,

NADJA (“in memoriam”), NAÉDJA, NODGI, NADEDJA, NESTOR, NIDEDJA e NAJLA,

pelo incentivo e apoio;

A meus sobrinhos,

PEDRO ÍTALO, NODGI Jr., NESTOR Jr., JANAYNA EMANUELLY, PEDRO NETTO e BRUNO LUÍS,

Como um exemplo de perseverança e fé;

A meus filhos,

NIDYEDJA e VICTOR,

base segura que me estimula a enfrentar novos desafios e para que no futuro entendam e perdoem o meu absenteísmo temporário;

A meu esposo e companheiro,

FRANCISCO,

por sua compreensão e preciosa ajuda sem as quais teria sido impossível a realização desta grande jornada;

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

A Deus e a seus mensageiros pela minha fé, por todas as vitórias alcançadas e pela certeza de seu amparo em todos os momentos da minha vida;

Ao Professor Dr. FERNANDO JOÃO MONTENEGRO DE SALES, pela amizade, incentivo e confiança, além do exemplo de integridade ímpar e competência profissional;

Ao Professor Dr. BENILDO SOUSA CAVADA, pela oportunidade, contribuição e estímulo à remoção dos obstáculos encontrados no exercício da profissão;

Aos Professores Dra NORMA MARIA BENEVIDES e Dr. THALLES BARBOSA GRANJEIRO, pela valorosa colaboração sempre que solicitados;

Ao Professor Dr. FRANCISCO VALTER VIEIRA, pelo apoio imprescindível e confiança durante a realização do curso;

Especial gratidão à Professora Dra. SÍLVIA MARIA DE FREITAS, pela amizade, dedicação e presteza na análise estatística, extensiva a MARILUSE VIANA FORTE (estatística), pela atenção e colaboração nos momentos decisivos;

Às Professoras Dra. EDDA LISBOA LEITE e Dra. MARIA GORETTI ARAÚJO DE LIMA, pela solicitude, colaboração e sugestões oportunas;

À FUNDAÇÃO CEARENSE DE AMPARO À PESQUISA (FUNCAP), pela ajuda financeira no decorrer deste trabalho;

Aos PROFESSORES, ALUNOS e FUNCIONÁRIOS do Curso de Pós-Graduação em Bioquímica, pelo bom relacionamento e contribuição no decorrer desta imensa jornada;

Aos colegas do curso, BATISTA, DESIREÉ, EDNA, NOÉLIA e VANDA pela amizade dedicada, acrescida à confiança e ao companheirismo vividos durante o Doutorado;

A todos que fazem parte do Laboratório de Moléculas Biologicamente Ativas (BIOMOL – LAB), em especial aos colegas TATIANA, KÁTIA, CARLOS, RENATO, ROLANDO e FERNANDA pela convivência desprendida;

Aos bolsistas do BIOMOL-LAB, em particular, CARLOS, DANIEL, MAX, GEORG, CAROL e INGRID pela colaboração prestada;

A todos que integram o PROJETO DOMESTICAÇÃO DA SAÚVA, em particular, MANOEL, LEVI, EUCLIDES e KÁTIA pela amizade e apoio demonstrados;

Ao graduando em Agronomia FRANCISCO VANICEZAR pela amizade e incondicional cooperação sempre que necessárias;

Aos funcionários da Biblioteca de Ciências e Tecnologia da Universidade Federal do Ceará, ELIETE, RÔMULO, MARCUS e ROSANE pela prontidão no atendimento e empenho na orientação de referências bibliográficas;

A todos que de algum modo, mesmo sem perceber, auxiliaram na realização desta obra.

*“Não foi de um salto que os grandes homens chegaram às culminâncias do êxito; mas sim, trabalhando e velando enquanto os outros dormiam”.*

*James Allen*

## SUMÁRIO

	Página
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	xiii
<b>LISTA DE TABELAS</b>	xix
<b>LISTA DE QUADROS</b>	xxiii
<b>RESUMO</b>	xxvii
<b>ABSTRACT</b>	xxviii
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	1
<b>1.1.Considerações Gerais sobre Lectinas Vegetais</b>	1
1.2. Ocorrência e Localização	3
1.3. Propriedades Gerais	5
1.4. Características Químicas e Físico-Químicas	7
1.5. Funções Biológicas	8
1.5.1. Papel Extrínseco	9
1.5.2. Papel Intrínseco	11
1.6. Ação Sobre Insetos Fitófagos	13
1.6.1. Coleópteros	13
1.6.2. Lepidópteros	16
1.6.3. Homópteros	17

1.6.4. Himenópteros	18
1.7. Mecanismos de Toxicidade	19
1.8. Lectinas da Família Leguminosae	22
1.8.1. Tribo <i>Phaseoleae</i> , Subtribo <i>Diocleinae</i>	23
1.8.2. Tribo <i>Dalbergieae</i> , Subtribo: <i>Pterocarpinae</i>	24
<b>1.9. As Saúvas</b>	<b>24</b>
1.9.1. Origem e Distribuição	25
1.9.2. Importância	26
1.9.3. Dinâmica Populacional	28
1.9.4. Morfologia	30
1.9.5. Taxinomia	31
1.9.5.1. Família Formicidae	31
1.9.5.2. Subfamília Myrmicinae	32
1.9.6. Fungo	32
1.9.6.1. Preparação do Substrato Vegetal Necessário ao Desenvolvimento do Fungo	33
1.9.6.2. Cultivo do Fungo	33
1.9.6.3. Classificação do Fungo	34
1.9.6.4. Composição Química do Fungo	36
1.9.7. Comportamento das Saúvas	36
1.9.7.1. Mediadores de Interações Intraespecíficas	37

1.9.8. Seleção de Plantas	38
1.9.9. Digestão	39
1.9.10. Aleloquímicos	40
1.9.10.1. Transferência e Conversão de Aleloquímicos	43
<b>2. OBJETIVOS</b>	<b>45</b>
2.1. Objetivo Geral	45
2.2. Objetivos Específicos	45
<b>3. MATERIAIS</b>	<b>46</b>
3.1. Material Vegetal	46
3.2. Insetos	46
3.3. Reagentes	46
3.4. Outros Materiais	47
<b>4. MÉTODOS</b>	<b>48</b>
<b>4.1. Isolamento das Lectinas</b>	<b>48</b>
4.1.1. Preparação das Farinhas de Sementes de <i>Vatairea macrocarpa</i> e <i>Dioclea violacea</i>	48
4.1.2. Extração e Fracionamento de Proteínas de <i>Vatairea macrocarpa</i>	49
4.1.2.1. Cromatografia de Afinidade em Coluna de Goma de Guar	49
4.1.3. Extração de Proteínas de <i>Dioclea violacea</i>	49
4.1.3.1. Cromatografia de Afinidade em Coluna de Sephadex G-50	52

4.2. Eletroforese em Gel de Poliacrilamida em Presença de SDS e $\beta$ -mercaptoetanol	52
4.3. Diluição das Lectinas	55
4.4. Sauveiros Artificiais	55
4.5. Análise das Lectinas Vegetais sobre as Atividades Comportamentais, a Biologia e o Fungo Cultivado pela Saúva do Nordeste, <i>Atta opaciceps</i> Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae)	57
4.5.1. Tratamentos e Delineamento Experimental	57
4.6. Metodologia da Análise Estatística	62
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	64
5.1. Comportamento da Saúva do Nordeste <i>Atta opaciceps</i> na Busca de Provisão	64
5.2. Ação das Lectinas de Sementes de <i>Dioclea violacea</i> e <i>Vatairea macrocarpa</i> no Comportamento da Saúva do Nordeste <i>Atta opaciceps</i> Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae)	65
5.2.1. Análise das Características de Comportamento da Saúva do Nordeste <i>Atta opaciceps</i> no Lapso da Primeira Hora, Correspondendo a Intervalos de Dez em Dez Minutos	66
5.2.2. Análise das Características de Comportamento da Saúva do Nordeste <i>Atta opaciceps</i> no Lapso de Seis Horas, em Intervalos de Hora em Hora	83
5.3. Ação das Lectinas de Sementes de <i>Dioclea violacea</i> e <i>Vatairea macrocarpa</i> no Desenvolvimento do Fungo <i>Leucoagaricus gongylophorus</i>	121

<b>5.3.1. Ação das Lectinas de Sementes de <i>Dioclea violacea</i> e <i>Vatairea macrocarpa</i> no Percentual do Material Transportado para o Jardim Fúngico de <i>Leucoagaricus gongylophorus</i></b>	122
<b>6. RESUMO DOS RESULTADOS</b>	129
<b>7. CONCLUSÃO</b>	131
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	132
<b>APÊNDICE - Dados Originais dos Números Médios de Operárias de Saúva do Nordeste, <i>Atta opaciceps</i> Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) Analisados quanto à Reação aos Diferentes Tratamentos, ao Tempo, as Doses e Tipos de Respostas, Considerando-se as Variáveis do Comportamento do Referido Atíneo, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.</b>	150

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA		Página
1	Esquema de Isolamento da Lectina de Sementes de <i>Vatairea macrocarpa</i> (VML)	50
2	Cromatografia de Afinidade em Coluna de Goma de Guar da Lectina de Sementes de <i>Vatairea macrocarpa</i>	51
3	Esquema de Isolamento da Lectina de Sementes de <i>Dioclea violacea</i> (DvioL)	53
4	Cromatografia de Afinidade em Coluna de Sephadex G-50 da Lectina de Sementes de <i>Dioclea violacea</i>	54
5	Eletroforese em Gel de Poliacrilamida em presença de SDS e de $\beta$ -mercaptoetanol. Poço 1 e 4 - Marcadores de Massa Moleculares: Albumina Serica Bovina (66 kDa), Anidrase Carbonica (29 kDa), Citocromo C (12,4 kDa), Aptotina (6,5 kDa). Poço 2 – Lectina de <i>Vatairea macrocarpa</i> . Poço 3 – Lectina de <i>Dioclea violacea</i>	56
6	Sauveiros Artificiais de <i>Atta opaciceps</i> Borgmeier, 1939, em vista parcial, exibindo as unidades experimentais e a disposição dos tratamentos na área de provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.	58
7	Sauveiro Artificial de <i>Atta opaciceps</i> Borgmeier, 1939, em vista parcial, exibindo jardins fúngicos de <i>Leucoagaricus gongylophorus</i> e a disposição dos mesmos nas unidades experimentais, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.	60
8	Valores médios, ao longo do tempo(h), do número de operárias de saúva do nordeste, <i>Atta opaciceps</i> Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Acesso à Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.	69

- 9 Valores médios, ao longo do tempo(h), do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Marcação de Território na Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 70
- 10 Valores médios, por formulação de Lectina, do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Acesso ao Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 73
- 11 Regressão do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Marcação de Território na Área do Papel de Filtro em função das doses, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 75
- 12 Valores médios, ao longo do tempo(h), do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Exploração do Local do Tratamento, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 77
- 13 Valores médios por tratamento, ao longo do tempo(h), do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Exploração do Local do Tratamento, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 79
- 14 Valores médios, ao longo do tempo(h), do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Início do Corte do Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 82
- 15 Valores médios, por testemunha, do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Acesso à Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 85

- 16 Valores médios, ao longo do tempo(h), do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Acesso à Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 86
- 17 Valores médios por tratamento, ao longo do tempo(h), do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Acesso à Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 88
- 18 Regressão do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Acesso à Área de Provisão em função das doses, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 89
- 19 Valores médios por testemunha, do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Marcação de Território na Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 91
- 20 Valores médios, ao longo do tempo(h), do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Marcação de Território na Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002 92
- 21 Regressão do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Marcação de Território na Área de Provisão em função das doses, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 93
- 22 Valores médios por testemunha, do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Acesso ao Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 95

- 23 Valores médios, ao longo do tempo(h), do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Acesso ao Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 96
- 24 Valores médios por tratamento, ao longo do tempo(h), do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Acesso ao Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 97
- 25 Regressão do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Acesso ao Papel de Filtro em função das doses da lectina *Dioclea violacea*, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 100
- 26 Regressão do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Acesso ao Papel de Filtro em função das doses da lectina *Vatairea macrocarpa*, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 102
- 27 Valores médios por testemunha, do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Exploração do Local do Tratamento, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 105
- 28 Valores médios, ao longo do tempo(h), do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Exploração do Local do Tratamento, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 106
- 29 Regressão do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Exploração do Local do Tratamento em função das doses da lectina *Dioclea violacea*, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 108

- 30 Regressão do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Exploração do Local do Tratamento em função das doses da lectina *Vatairea macrocarpa*, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 110
- 31 Valores médios por tratamento, ao longo do tempo(h), do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Exploração do Local do Tratamento, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 112
- 32 Valores médios por testemunha, do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Início do Corte no Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 114
- 33 Valores médios, ao longo do tempo(h), do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Início do Corte no Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 115
- 34 Regressão do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Início do Corte do Papel de Filtro em função das doses da lectina *Dioclea violacea*, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 117
- 35 Regressão do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Início do Corte do Papel de Filtro em função das doses da lectina *Vatairea macrocarpa*, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 119
- 36 Valores médios por tratamento, ao longo do tempo(h), do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Início do

	Corte do Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.	120
37	Regressão da altura do fungo <i>Leucoagaricus gongylophorus</i> cultivado por operárias de saúva do nordeste, <i>Atta opaciceps</i> Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) em função das diferentes doses das lectinas, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.	124
38	Valores médios por tratamento, do percentual do material transportado por operárias de saúva do nordeste, <i>Atta opaciceps</i> Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.	127
39	Regressão do percentual do material transportado por operárias de saúva do nordeste, <i>Atta opaciceps</i> Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) em função das doses das lectinas, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.	128

## LISTA DE TABELAS

TABELA		Página
1	Análise de Variância do número médio de operárias de saúva do nordeste, <i>Atta opaciceps</i> Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Acesso à Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.	67
2	Análise de Variância do número médio de operárias de saúva do nordeste, <i>Atta opaciceps</i> Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Marcação de Território na Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.	68
3	Análise de Variância do número médio de operárias de saúva do nordeste, <i>Atta opaciceps</i> Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Acesso ao Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.	72
4	Análise de Variância do número médio de operárias de saúva do nordeste, <i>Atta opaciceps</i> Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Marcação de Território na Área do Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.	74
5	Análise de Variância do número médio de operárias de saúva do nordeste, <i>Atta opaciceps</i> Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Exploração do Local do Tratamento, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.	76
6	Análise de Variância do número médio de operárias de saúva do nordeste, <i>Atta opaciceps</i> Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Início do Corte no Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.	81

- 7 Análise de Variância do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento, Acesso à Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 84
- 8 Análise de Variância do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Marcação de Território na Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 90
- 9 Análise de Variância do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento, Acesso ao Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 94
- 10 Análise de Variância da Regressão do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Acesso ao Papel de Filtro em função das doses da lectina *Dioclea violacea*, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 99
- 11 Análise de Variância da Regressão do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Acesso ao Papel de Filtro em função das doses da lectina *Vatairea macrocarpa*, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 101
- 12 Análise de Variância do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Marcação de Território na Área do Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 103

- 13 *Análise de Variância do número médio de operárias de saúva do nordeste, Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Exploração do Local do Tratamento, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 104
- 14 *Análise de Variância da Regressão do número médio de operárias de saúva do nordeste, Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Exploração do Local do Tratamento em função das doses da lectina *Dioclea violacea*, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 107
- 15 *Análise de Variância da Regressão do número médio de operárias de saúva do nordeste, Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Exploração do Local do Tratamento em função das doses da lectina *Vatairea macrocarpa*, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 109
- 16 *Análise de Variância do número médio de operárias de saúva do nordeste, Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Início do Corte do Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 113
- 17 *Análise de Variância da Regressão do número médio de operárias de saúva do nordeste, Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Início do Corte no Papel de Filtro em função das doses da lectina *Dioclea violacea*, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 116
- 18 *Análise de Variância da Regressão do número médio de operárias de saúva do nordeste, Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Início do Corte do Papel de Filtro em função das doses da lectina *Vatairea macrocarpa*, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 118

- 19      *Análise de Variância da altura (cm) do fungo *Leucoagaricus gongylophorus* cultivado por operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) em função dos tratamentos: papel de filtro, papel de filtro + solução salina e lectinas *Dioclea violacea* e *Vatairea macrocarpa* cada uma nas doses 0,02; 0,06; 1,00; 1,50; 2,00 e 2,50 mg.ml<sup>-1</sup>, diluídas em solução salina, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.* 123
- 20      *Análise de Variância da percentagem do material transportado por operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) em função dos tratamentos: papel de filtro, papel de filtro + solução salina e lectinas *Dioclea violacea* e *Vatairea macrocarpa* cada uma nas doses 0,02; 0,06; 1,00; 1,50; 2,00 e 2,50 mg.ml<sup>-1</sup>, diluídas em solução salina, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.* 125

## LISTA DE QUADROS

QUADRO		Página
1	Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, <i>Atta opaciceps</i> Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função do tempo (h), no comportamento Acesso à Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.	151
2	Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, <i>Atta opaciceps</i> Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função do tempo (h), no comportamento Marcação de Território na Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.	151
3	Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, <i>Atta opaciceps</i> Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função dos tratamentos com lectinas, no comportamento Acesso ao Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.	152
4	Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, <i>Atta opaciceps</i> Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função do tempo (h), no comportamento Exploração do Local do Tratamento, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.	152
5	Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, <i>Atta opaciceps</i> Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função dos tratamentos e do tempo (h), no comportamento Exploração do Local do Tratamento, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.	153
6	Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, <i>Atta opaciceps</i> Borgmeier, 1939	

- (Hymenoptera: Formicidae), em função do tempo (h), no comportamento Início do Corte do Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 154
- 7 Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função dos tratamentos testemunhas, no comportamento Acesso à Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 154
- 8 Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função do tempo (h), no comportamento Acesso à Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 155
- 9 Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função dos tratamentos e do tempo(h), no comportamento Acesso à Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 155
- 10 Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função dos tratamentos testemunhas, no comportamento Marcação de Território na Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 156
- 11 Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função do tempo (h), no comportamento Marcação de Território na Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 156

- 12 Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função dos tratamentos testemunhas, no comportamento Acesso ao Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 157
- 13 Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função do tempo (h), no comportamento Acesso ao Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 157
- 14 Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função dos tratamentos e do tempo (h), no comportamento Acesso ao Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 158
- 15 Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função dos tratamentos testemunhas, no comportamento Marcação de Território na Área do Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 159
- 16 Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função dos tratamentos testemunhas, no comportamento Exploração do Local do Tratamento, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 159
- 17 Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função do tempo (h), no comportamento Exploração do Local do Tratamento, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 159

- 18 Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função dos tratamentos e do tempo(h), no comportamento Exploração do Local do Tratamento, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 160
- 19 Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função dos tratamentos testemunhas, no comportamento Início do Corte no Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 160
- 20 Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função do tempo (h), no comportamento Início do Corte no Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 161
- 21 Comparação das médias do número de operárias da saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função dos tratamentos e do tempo(h), no comportamento Início do Corte do Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 161
- 22 Comparação das médias do percentual do material transportado por operárias da saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função dos tratamentos testemunhas, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 162
- 23 Teste de Dunnett<sup>1</sup> para comparação das médias, entre os tratamentos com a lectina e cada testemunha, do percentual do material transportado para o saúveiro, por operárias da saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002. 162

## RESUMO

A interação saúva-meio ambiente conduz à reflexão sobre os métodos de controle aplicados para o atíniio, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), direcionando-os para um estudo do comportamento e, possível domesticação da espécie. Com estes objetivos desenvolveram-se estudos científicos em sauveiros artificiais, ensejando a avaliação da ação das lectinas de sementes das leguminosas *Dioclea violacea* e *Vatairea macrocarpa*, em diferentes concentrações: 0,02; 0,06; 1,00; 1,50; 2,00 e 2,50 mg.ml<sup>-1</sup>, sobre o comportamento da saúva do nordeste, *Atta opaciceps*, em intervalos de tempo variados. O primeiro ensaio ocorreu no lapso de uma hora, a partir das 15 horas, de 10 em 10 minutos, num total de seis tempos analisados, culminando às 16 horas. O segundo ensaio realizou-se, subseqüentemente, a partir das 16:10 horas, a intervalos de hora em hora, estendendo-se às 21:10 horas, consolidando também seis tempos estudados. Projetaram-se os tratamentos, em número de 14, com 3 repetições, segundo o delineamento inteiramente casualizado, dos quais 12 em função das lectinas (2) x doses (6) e os outros (2) em função das testemunhas (tratamentos sem as lectinas). Utilizou-se o papel de filtro como substrato neutro onde se aplicaram os tratamentos. A metodologia estatística baseou-se em modelos para medidas repetidas no tempo e modelos para tratamentos adicionais. As reações das operárias de *Atta opaciceps* aos tratamentos utilizados como fonte de estímulos, analisaram-se em função do tempo, doses, tipo de resposta e número médio de formicídeos, considerando-se as variáveis do comportamento: acesso à área de provisão, marcação de território na área de provisão, acesso ao papel de filtro, marcação de território na área do papel de filtro, exploração do local do tratamento, recrutamento, início do corte no papel de filtro, corte e transporte e o desenvolvimento do jardim fúngico. Constatou-se que as lectinas interferem no padrão de comportamento da espécie, incitando as reações de atração e busca de provisão, sendo o corte e o transporte influenciados pelas doses das lectinas. A altura do fungo também varia em função das doses, verificando-se o efeito probiótico sobre o mesmo. A lectina de *Vatairea macrocarpa*, na dose 0,02 mg.ml<sup>-1</sup>, é preferida pela formiga em referencia, por isso a mais transportada (61%). O tempo é fator inerente a todas as variáveis do comportamento analisadas.

## ABSTRACT

The surrounding leaf-cutting ant – environment interaction leads to the reflection on the applied methods of control for the atíño, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), directing them for a study of the behavior and, possible domestication of the species. With these objectives scientific studies in artificial anthill had been developed, trying the evaluation of the action of the lectins of seeds of the leguminous *Dioclea violacea* and *Vatairea macrocarpa*, in different concentrations: 0,02; 0,06; 1,00; 1,50; 2,00 and 2,50 mg.ml<sup>-1</sup>, on the behavior of the northeast leaf-cutting ant, *Atta opaciceps*, in varied intervals of time. The first assay occurred in the lapse of one hour, from the 15 hours, of 10 in 10 minutes, a total of six analyzed times, culminating to the 16 hours. As the second assay was become fulfilled, subsequently, from the 16:10 hours, at intervals hourly, extending to the 21:10 hours, also consolidating six studied times. The treatments had been projected, in number of 14, with 3 repetitions, according to delineation entirely casualizado, of which 12 in function of lectinas (2) x doses (6) and the others (2) in function of the witnesses (treatments without the lectins). The filter paper was used as neutral substratum where if they had applied the treatments. The methodology statistics was based on models for measures repeated in the time and models for treatments you add. The reactions of the laborers of *Atta opaciceps* to the used treatments as source of stimulations, had been analyzed in function of the time, doses, type of reply and average number of leaf-cutting ants, considering themselves the variable of the behavior: access to the provision area, marking of territory in the provision area, access to the filter paper, marking of territory in the area of the filter paper, exploration of the place of the treatment, conscription, beginning of the cut in the paper of filter, cut and transport and the development of the fungous garden. One evidenced that the lectins intervene with the standard of behavior of the species, stirring up the reactions of attraction and search of provision, being the cut and the transport influenced by the doses of the lectins. The height of fungous garden also varies in function of the doses, verifying itself the probiótico effect on the same. The lectin of *Vatairea macrocarpa*, in dose 0,02 mg.ml<sup>-1</sup>, is preferred by the ant in referencia, therefore the most carried (61%). The time is inherent factor to all the analyzed variable of the behavior.

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. Considerações Gerais sobre Lectinas Vegetais

Decorrido mais de um século da descoberta das lectinas, i.é., 1888 por Hermann Stillmark, persistem as investigações sobre seu papel nos vegetais (PEUMANS; VAN DAMME, 1995a, b). Apesar de amplamente distribuídas na natureza (em animais e vegetais), e do emprego usual de lectinas de plantas, nos mais diversos campos da biociência, inclusive em engenharia agrônômica e pesqueira, o estudo de suas funções biológicas está longe de superar suas aplicações, embora algumas propostas tenham sido feitas. Dentro deste enfoque, um particular papel para um limitado grupo de lectinas há sido proposto por alguns pesquisadores, a exemplo de Chrispeels e Raikhel (1991a, b), Etzeler (1992), Cavada et al., (1993) e Peumans e Van Damme (1995a, b).

Reveladas em diferentes formas de vida, vírus, bactérias, animais e, principalmente vegetais, essas proteínas constituem, de algum modo, uma importante peça no metabolismo daqueles organismos. Mesmo que muitas funções hajam sido atribuídas às lectinas, seu papel fisiológico ainda é pouco compreendido, porém, acredita-se que sua estrutura e especificidade devem estar linearmente relacionadas com a sua função biológica, e seus sítios de ligação devem ser as condições essenciais para a expressão dessa atividade.

Proteínas ou glicoproteínas de origem não imune, as lectinas possuem a habilidade de reconhecer e interagir reversivelmente com mono e oligossacarídeos, apresentando alta especificidade, sendo capazes de aglutinar células e/ou precipitar glicoconjugados sem, contudo, alterarem a estrutura química dos ligantes (GOLDSTEIN et al., 1980; KOCOUREK; HOREJSI, 1980, 1983; VAN DAMME et al., 1998a, b). Assim, a especificidade por carboidratos é estabelecida por testes de inibição da reação causada pela lectina, com açúcares simples, classificando-se as lectinas em grupos distintos específicos como D-glicose/manose, D-manose, N-acetil-D-glicosamina, D-galactose/N-acetilgalactosamina, L-fucose, e ácido siálico (PUSZTAI, 1991; PEUMANS; VAN DAMME, 1995a; LIS; SHARON, 1998).

Em razão das características estruturais observadas na quantidade de lectinas já isoladas e seqüenciadas, Peumans e Van Damme (1995a) definem

*lectinas como proteínas de origem não imune, possuindo pelo menos um domínio não catalítico de ligação a carboidrato, e capazes de se ligarem a mono ou oligossacarídeos específicos. Desta maneira, amplia-se o grupo de proteínas que se comportam como lectinas, mas são diferentes do ponto de vista de suas propriedades aglutinantes e/ou de precipitação de glicoconjugados. Fundamentada nestas características e com o avanço das pesquisas desenvolvidas, as lectinas foram, então, divididas, conforme Peumans e Van Damme (1995a) e Van Damme et al. (1998a) em quatro grupos principais: merolectinas, hololectinas, quimerolectinas e superlectinas.*

As merolectinas são definidas como pequenas proteínas compostas exclusivamente de um único sítio ligante a carboidratos e, por causa de sua natureza monovalente, não podem precipitar glicoconjugados ou aglutinar células. Como exemplo, pode-se citar a heveína (VAN PARIJS et al., 1991) e as proteínas monoméricas das orquídeas (VAN DAMME et al., 1994).

As hololectinas são também constituídas, excepcionalmente, por sítios ligantes a carboidratos possuindo, entretanto, dois ou mais destes sítios idênticos ou homólogos. A este grupo pertencem muitas lectinas de plantas que apresentam múltiplos domínios ligantes e são, portanto, capazes de aglutinar células e/ou precipitar glicoconjugados.

As quimerolectinas compreendem todas as lectinas que possuem, além do sítio de ligação a carboidratos, uma região, com atividade catalítica ou outra atividade biológica bem definida, agindo independentemente dos sítios ligantes de carboidratos, e que, dependendo do número de sítios ligantes a carboidratos, podem comportar-se como merolectinas ou hololectinas. Por exemplo, as proteínas inativadoras de ribossomos, RIP's tipo II, que possuem dois sítios de ligação a carboidratos em sua cadeia B (e.g., ricina), podendo, por isso, ser chamadas de quimerolectinas tipo hololectinas, e as quitinases classe I, que apresentam, além do sítio catalítico, um único sítio ligante a carboidratos (quitina), podendo ser quimerolectinas tipo merolectinas.

As superlectinas são um tipo especial de quimerolectinas, que têm dois sítios de ligação a carboidratos, os quais são, estruturalmente, diferentes e reconhecem açúcares distintos. Apenas a lectina de bulbos de tulipa com dois domínios, um específico para N-acetilgalactosamina e outro para manose, tem sido descrita até o momento como superlectina.

## 1.2. Ocorrência e Localização

As lectinas já foram detectadas em quase todas as classes e famílias de organismos, a exemplo de animais vertebrados e invertebrados, vírus, plantas monocotiledôneas e dicotiledôneas, algas, protozoários, bactérias e fungos (SHARON; LIS, 1989). Não obstante, as lectinas de plantas continuam ainda a ser as mais extensiva e intensivamente estudadas, apesar do grande interesse em lectinas animais. No Reino Vegetal estão distribuídas em diversas famílias e em mais de mil espécies (SHARON; LIS, 1989), ocupando, as leguminosas, posição de destaque, com um grande número de lectinas de sementes (cerca de cem), já isoladas e caracterizadas (CAVADA et al., 1993; SHARON; LIS, 1990; SHARON, 1993).

Ainda que possa ser encontrada, particularmente abundante, em sementes, as lectinas distribuem-se por toda a planta. Apresentam-se de forma bem expressiva em tubérculos, rizomas, bulbos, casca de plantas e em diminutas quantidades em outras partes vegetativas como folhas, flores, caules e raízes (ETZLER, 1996; RÜDIGER, 1998), atingindo, em certos casos, 10% do nitrogênio total nas sementes.

Em sementes de leguminosas são mais notórias nos cotilédones, como parte integrante dos corpos protéicos — organelas esféricas que possuem uma matriz protéica amorfa, em cujo interior estão armazenadas as proteínas de reserva e as enzimas hidrolíticas — que funcionam como um tecido de reserva, o qual é consumido durante a germinação da semente, quando estas enzimas são ativadas. Além dos cotilédones, pequenas porções de lectinas são ainda encontradas em embriões e tegumentos. Ademais, algumas plantas produzem grande quantidade de exsudatos, sob injúria, a exemplo de *Hevea brasiliensis* quando libera o látex, no qual a lectina heveina ocorre (VAN PARIJS et al., 1991; GIDROL et al., 1994). Plantas da família Cucurbitaceae também produzem exsudatos lectínicos (ALLEN, 1979; BOSTWICK et al., 1992, 1994; VOZARI-HAMPE et al., 1992); enquanto na leguminosa *Dolichos biflorus*, sob lesão, e também, sob choque térmico, tem sido detectada uma proteína lectin-like (ETZLER, 1996). Todavia, essas lectinas de raízes, folhas, caules e flores não são necessariamente idênticas àquelas dos órgãos de reserva, em estrutura ou especificidade por carboidratos. Sabe-se ainda,

que algumas sementes excretam lectinas para o meio circundante durante a germinação (RÜDIGER, 1998). Embora possam ser essenciais ao ciclo vital da planta, as lectinas de outras partes vegetais, que não os órgãos de reserva, tornam-se insignificantes do ponto de vista da aplicação prática, em virtude da ocorrência em pequenas quantidades (RÜDIGER, 1998). Em sementes, no entanto, podem variar bastante, chegando muitas vezes a constituir cerca de 2% do peso seco das mesmas.

Nas Gramíneas, as lectinas de cereais são, principalmente, embrionárias, destacando-se as lectinas WGA, do germe do trigo (*Triticum aestivum*), e OSA, do arroz (*Oriza sativa*), como as mais estudadas, sendo a WGA uma das primeiras a ser caracterizada. Contudo, já foram isoladas lectinas de cevada (*Hordeum sp.*), centeio (*Secale sp.*), milho (*Zea mays*), além de capim *Brachypodium*, e de folhas de *Agropyrum repens* e *Phragmites australis* (MOREIRA, 1998).

Nos últimos anos, de conformidade com a literatura pertinente, outras famílias de vegetais tiveram suas lectinas igualmente isoladas, tais como: Liliaceae (*Colchicum autumnale*), Amaryllidaceae (*Galanthus nivalis*), Alliaceae (*Allium sativum*), Orchidaceae (*Listera ovata*), Araceae (*Arisema wilsonii*) e Iridaceae (*Iris spp.*); todas, a exemplo das Gramíneas, pertencentes à classe Monocotiledoneae. Entretanto, é na classe das dicotiledôneas ou Magnoliatae, que se encontra a maioria das lectinas já purificadas, as quais estão distribuídas nas famílias: Amaranthaceae (*Amaranthus leucocarpus*), Cactaceae (*Machaerocereus eruca*), Caprifoliaceae (*Sambucus nigra*), Compositae (*Helianthus tuberosus*), Cruciferae (*Brassica sp.*), Cucurbitaceae (*Sechium edule*), Euphorbiaceae (*Ricinus communis*), Labiatae (*Moluccella laevis*), Laranthaceae (*Laranthus europaeus*), Moraceae (*Artocarpus integrifolia*), Papaveraceae (*Chelidonium majus*), Phytolaccaceae (*Phytolacca americana*), Ranunculaceae (*Eranthis hyemalis*), Solanaceae (*Solanum tuberosum*), Umbelliferae (*Aedopodium podagraria*), Urticaceae (*Urtica dioica*), Convolvulaceae (*Colystegia sepium*) e Leguminosae (*Canavalia ensiformes*).

Em animais vertebrados, as lectinas foram encontradas em Ciclostomos, Peixes, Répteis, Anfíbios, Aves e Mamíferos. Foram detectadas no fígado de ratos, coelhos e galinha, sendo que neste último, também no intestino delgado. No ser humano elas existem em células endoteliais vasculares e no sistema imunológico (moléculas lectin-like) (BARONDES, 1984).

Nos invertebrados são encontradas em quase todas as classes e subclasses, principalmente na hemolinfa e nos órgãos sexuais. Algumas dessas lectinas foram isoladas e caracterizadas em esponjas, caramujos, mexilhões, ouriços-do-mar, assídiás, insetos e caranguejos (SHARON; LIS, 1989).

Em microorganismos, descobriram lectinas no vírus da influenza, nas bactérias *Escherichia coli*, *Salmonellae spp.* (SHARON; LIS, 1989), no protozoário *Entamoeba histolítica* e nos fungos: *Amanita muscaria* e *A. solitária*, *Kuehneromyces mutabilis*, *Pholiota squarross*, *Rhizoctonia solani*, *Lactarius deterrimus* (GIOLLANT et al., 1993), *Rigidoporus lignosus* (RICHARD; BOTTON, 1995), *Arthrotrix oligosporus* (ROSEN et al., 1997), *Agaricus bisporus* e *Aluria aurantia* (RÜDIGER, 1998). Muito pouco se conhece sobre lectinas em fungos. Em *Lactarius deterrimus* foi constatada na parede de hifas (a exemplo do fungo fitopatogênico *Rigidoporus lignosus*). Já em *Arthrotrix oligosporus* (um fungo nematófago) a lectina foi encontrada quase que exclusivamente, no citoplasma.

Lectinas já foram isoladas de algas verdes, *Codium tomentosum* (FABREGAS et al., 1988), algas vermelhas (*Plumaria elegans* e *Ptilota serrata*), e algas pardas (*Fucus vesiculares*), predominando, em número, as lectinas isoladas de algas vermelhas (AINOUZ et al., 1991, 1992, 1995; BENEVIDES et al., 1996).

### 1.3. Propriedades Gerais

As lectinas constituem um grupo heterogêneo de proteínas com propriedades moleculares diversas. Caracteristicamente, as lectinas vegetais são, em geral, glicoproteínas, contendo elevados teores de aminoácidos ácidos e hidroxilados (podendo perfazer mais de 30% do conteúdo de aminoácidos), e são pobres em aminoácidos sulfurados ou são totalmente destituídas destes, i.é., as lectinas de gramíneas possuem alto teor de glicina (23%) e cisteína (21%), estando todos os resíduos de cisteína envolvidos em pontes dissulfeto (STINISSEN; PEUMANS, 1985), enquanto as lectinas de Solanáceas são ricas em hidroxiprolina, serina, glicina e cisteína. Nas lectinas, que são glicoproteínas, o conteúdo de carboidratos pode alcançar bem mais que 50% de sua massa molecular, (a exemplo da lectina da batata) (LIS; SHARON, 1981). Todavia, diversas lectinas da tribo *Phaseoleae*, subtribo *Diocleinae* como *Dioclea grandiflora*, *Canavalia brasiliensis*,

*Canavalia ensiformes* e *Cratylia floribunda*, não apresentam carboidratos ligados covalentemente (MOREIRA et al., 1983; MOREIRA; CAVADA, 1984; OLIVEIRA et al., 1991). Os principais açúcares encontrados nas lectinas são N-acetilglicosamina, Manose, L-fucose e Xilose, característicos das Leguminosas. As lectinas de Solanáceas possuem arabinose e galactose como os únicos constituintes da porção glicídica. Nas lectinas de *Solanum tuberosum* e de *Datura stramonium* todos os resíduos de arabinose (90% glicídico) estão ligados covalentemente aos resíduos de hidroxiprolina, enquanto os de galactose estão ligados aos resíduos de serina.

Várias lectinas têm a capacidade de se ligar a compostos hidrofóbicos que não contêm carboidratos em suas estruturas, sendo estas ligações não inibidas por açúcares específicos, evidência clara, de que os ligantes hidrofóbicos combinam-se com as lectinas em sítios de ligação diferentes daqueles que se ligam a carboidratos, e, segundo Cavada et al. (1993), alguns destes sítios se encontram bem caracterizados.

O peso molecular das lectinas varia de 3.500 Da a 500.000 Da (SHARON; LIS, 1989), e com raras exceções, são proteínas oligoméricas constituídas de subunidades idênticas ou não, podendo possuir de 2 a 10 subunidades por molécula. Assim, a lectina de *Ulex europeus* (KONAMI et al., 1991) apresenta 2 subunidades e *Cratylia floribunda* (OLIVEIRA et al., 1991) compreende 4 subunidades. Registra-se ainda, *Solanum tuberosum* (ALLEN et al., 1978) com 1 subunidade e *Araucaria angustifolia* com 10 subunidades (DATTA et al., 1991). Em geral, os padrões de associações entre as subunidades de uma lectina podem variar em função do pH do meio em que se encontram. A lectina de *Dioclea grandiflora* (tetramérica entre pH 5,0 e 8,0 e de peso molecular aparente, de 100 kDa), em valores de pH, acima de 8,0, forma agregados com pesos moleculares mais elevados e se apresenta dimérica, em pH inferior a 5,0, mostrando-se monomérica em pH abaixo de 3,1 (MOREIRA et al., 1983).

Uma consequência importante da constituição oligomérica é a existência de formas moleculares múltiplas de lectinas, denominadas de Isolectinas, que são proteínas muito similares, resultantes de combinações diferentes das mesmas subunidades ou de subunidades estreitamente relacionadas. Segundo alguns autores, a ocorrência de Isolectinas pode acontecer em sementes de uma mesma planta, em variedades diferentes de uma mesma espécie de planta e, mesmo, em espécies diferentes de um mesmo gênero.

Alguns íons metálicos como  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  ou  $\text{Mn}^{2+}$  são essenciais à atividade das lectinas, que apresentam para a ligação dos mesmos, sítios específicos em sua estrutura tridimensional, recebendo em contrapartida, alto grau de estabilidade e protegendo-a contra a inativação pelo calor e contra a hidrólise por enzimas proteolíticas.

#### 1.4. Características Químicas e Físico-Químicas

Na lectina de *Canavalia ensiformes* (Con A) cada subunidade possui um sítio de ligação a  $\text{Mn}^{2+}$ , denominado S1, e um segundo sítio S2, onde o íon  $\text{Ca}^{2+}$  será ligado na proteína nativa. A ocupação dos sítios por estes íons modifica de alguma forma a estrutura da proteína, resultando no reconhecimento do carboidrato, pelo qual a lectina tem afinidade. A Con A desmetalizada possui uma menor estabilidade térmica, desnaturando-se a  $63^{\circ}\text{C}$ . A Con A nativa é desnaturada a  $85^{\circ}\text{C}$ .

O sítio S1 é composto pelos resíduos GLU8, ASP10, ASP19, HIS24 e duas moléculas de água. Os resíduos VAL32 e SER34, de forma indireta estão envolvidos na ligação do íon  $\text{Mn}^{2+}$ . Uma ponte de hidrogênio é formada com cada um dos resíduos e uma das duas moléculas de água, que está interagindo com o íon de forma direta.

Os resíduos ASP10, ASN14, ASP19, TYR12 e duas moléculas de água diferentes do sítio S1 formam o sítio S2. Os resíduos ASP10 e ASP19 são compartilhados pelos dois cátions, conforme Hardman e Ainsworth (1972) e Becker et al., (1975).

Os resíduos envolvidos nos sítios de ligação a metais, GLU8, ASP10, ASN14, ASP19, SER34 e ASP208, de acordo com Konami et al., (1991), não variam em todas as lectinas de Leguminosas já seqüenciadas. Afirmam ainda os autores, que nos sítios de ligação a carboidratos, os resíduos envolvidos são TYR12, ASN14, ASP16, LEU99, TYR100, ASP208 e ARG228. Todavia, somente ASP208 é comum nas lectinas de Leguminosas seqüenciadas.

De conformidade com Pusztai (1991), as lectinas apresentam uma fina especificidade por açúcares diversos, e mesmo assim foram classificadas, segundo Makela (1957), em quatro grupos distintos, de acordo com a configuração espacial das hidroxilas dos carbonos 3 e 4 do anel piranosídico e furanosídico dos

monossacarídeos, pelos quais têm maior afinidade. Então, as lectinas específicas de Manose e/ou Glicose, tais como a Concanavalina A, pertencem ao grupo III. Lectinas que se ligam a N-acetilgalactosamina e/ou D-galactose, como a lectina de soja, são classificadas no grupo II. Ao grupo I pertencem aquelas que interagem com L-fucose. No grupo IV (composto por Idose, L-glicose, Gulose e L-xilose) não foi observada ainda, nenhuma lectina na natureza.

Além dos sítios de ligação para metais e para carboidratos, a presença de sítios ligantes hidrofóbicos tem sido investigada. Os aminoácidos hidrofóbicos envolvidos nesta formação foram conservados durante o processo evolutivo, para conferir à lectina a chance de interagir com um grande número de moléculas quimicamente distintas dos carboidratos, o que deve permitir à lectina desempenhar certas funções até agora não muito definidas. Estes sítios, pesquisados com mais frequência em leguminosas, são de dois tipos: os que ocorrem dentro de uma única subunidade e os que se estabelecem no centro do tetrâmero.

### 1.5. Funções Biológicas

A facilidade e rapidez com que as lectinas de plantas podem ser isoladas, atualmente, têm contribuído para muitas aplicações práticas em glicociências e levado a um maior número de pesquisas em relação à caracterização química, físico-química e biológica. Acrescente-se ainda, o uso de lectinas como ferramentas na imunologia, em virtude da capacidade de reconhecimento de açúcares específicos ligantes da superfície celular (VILLALOBO; GABIUS, 1998). Não obstante estas lectinas apresentarem grande potencial de produção de uma série de respostas biológicas em diferentes modelos experimentais, i.é., aglutinação de eritrócitos, estimulação mitogênica de linfócitos, inibição do crescimento de células de tumores, indução da liberação da histamina por basófilos e mastócitos, inibição do crescimento de fungos, toxicidade sobre células e organismos (animais e insetos, etc.). Mesmo assim, seu papel continua sendo um enigma, pois em algumas proposições lançadas, o que há são meras hipóteses. Do ponto de vista da habilidade de se ligarem a diferentes açúcares, as lectinas de plantas, com certeza não possuem um papel universal. Mesmo uma lectina específica pode ter diferentes

*funções, dependendo de sua ocorrência e distribuição durante o ciclo vital da planta* (RÜDIGER, 1998).

Suposições sobre as funções biológicas de lectinas de plantas culminam por atribuir a estas um papel extrínseco, quando formam associações externas e, um papel intrínseco, quando esta interação com ligantes ocorre dentro da planta.

#### 1.5.1. Papel Extrínseco

Há muito tem sido proposto que a função biológica das lectinas consiste na proteção de plantas ou de suas sementes contra o ataque de microorganismos, insetos invasores ou predadores. Tal hipótese, sem dúvida, foi sustentada por experimentos *in vitro*. Posteriormente, mostrou-se que, o papel de defesa, antes atribuído às lectinas, não necessariamente caberia a estas proteínas, mas, poderia ser devido às enzimas contidas nas preparações lectínicas (HUESING et al., 1991a). A partir daí intensificaram-se os estudos sob o ponto de vista da aplicabilidade prática de lectinas como instrumentos de diagnósticos na microbiologia ou como defensores potenciais em plantas transgênicas (CHRISPEELS; RAIKHEL, 1991a, b; GATEHOUSE et al., 1992a, b, 1995; PEUMANS; VAN DAMME, 1994b, 1995a, b, c; GATEHOUSE; GATEHOUSE, 1998; JOUANIN et al., 1998).

As lectinas que são tóxicas a insetos, investigadas em ensaios de alimentação, têm sido utilizadas com sucesso em engenharia genética, com o intuito de impedirem a fecundidade e o desenvolvimento de insetos considerados nocivos. Diversas pesquisas utilizam lectinas manose específica, i.é., lectina de *Galanthus nivalis*, ou N-acetilglicosamina específica (GlcNAc) tal como a WGA (lectina de germe de trigo) (MURDOCK et al., 1990). Contudo, visto que insetos podem adaptar-se à lectina (HUESING et al., 1991b; POWELL et al., 1993) e desenvolver resistência, algumas estratégias não são empregadas na formação de plantas transgênicas, com o objetivo de expressarem não só o gen para a lectina, mas, também, genes de outras proteínas tóxicas, tais como inibidores de quitinases, proteases e amilase.

O fato de lectinas desempenharem um papel na defesa vegetal pode ser sustentado no efeito deletério que proteínas citotóxicas, como ricina, abrina e modecina, por exemplo, causam a todas as espécies de organismos eucarióticos,

protegendo, assim, a planta contra agressores parasitas e herbívoros (GATEHOUSE et al., 1979, 1990; PEUMANS; VAN DAMME, 1995a).

Interações de lectinas de plantas com fungos têm sido demonstradas através da capacidade da lectina de *Urtica dioica*, com especificidade para quitina, inibir o crescimento de alguns fungos fitopatogênicos (BROEKAERT et al., 1989). A heveína, uma proteína do látex de *H. brasiliensis*, é um outro exemplo de proteína ligante de quitina, que apresenta propriedades antifúngicas (VAN PARIJS et al., 1991).

O estudo fitopatogênico tem revelado ainda a interação de lectinas vegetais e bactérias. A lectina que liga GlcNAc da Solanácea *Cyphomandra betacea* mostrou-se capaz de inibir o crescimento de algumas bactérias gram-negativas (NIEVE MORENO et al., 1997).

Há tempos que, a interação lectina-bactéria tem despertado interesse não só pelo possível papel de defesa da lectina, mas, principalmente, para elucidar a especificidade da simbiose entre plantas e bactérias fixadoras de nitrogênio (exemplo, *Rhizobium* e *Bradyrhizobium*), que permitem às leguminosas sintetizarem grandes quantidades de proteínas, sem a necessidade do uso adicional de fertilizantes contendo nitrogênio, o que é muito importante do ponto de vista agrícola e da nutrição humana e animal. As interações entre gramíneas e bactérias fixadoras de nitrogênio não são tão restritas como no sistema Leguminosae-Rhizobia, embora também lectinas possam estar envolvidas (ou seja, uma positiva correlação foi observada entre o conteúdo de lectina de raízes em diferentes variedades de arroz (*O. sativa*) e a extensão com a qual estas são colonizadas por *Klebsiella* (CHAOPONGPANG et al., 1992)); igualmente, a lectina WGA é capaz de induzir fixação de nitrogênio por *Azospirillum* (ANTONYUK et al., 1997). Foi também mostrado que a lectina produzida pela bactéria está envolvida na adesão bactéria-planta (NIKITINA et al., 1996), e na interação Leguminosae-bactéria simbiote, as lectinas produzidas pela bactéria podem, similarmente, estar envolvidas (LOH et al., 1993).

A propósito do papel das lectinas na defesa de plantas, não há dúvidas que muitas lectinas vegetais são tóxicas ao homem e animais domésticos. A razão de sua toxicidade reside, justamente, na habilidade de ligar-se a glicoconjugados da mucosa intestinal e causar sérios distúrbios orgânicos (RÜDIGER, 1998) (exemplo: a

lectina de *Phaseolus vulgaris*, cuja semente crua, é tóxica para o homem e animais) (PUSZTAI; BARDOCZ, 1995).

### 1.5.2. Papel Intrínseco

Visto que em algumas sementes as lectinas representam o maior percentual de proteínas solúveis, a elas têm sido atribuídas funções de proteínas de reserva. Obviamente, as lectinas são sintetizadas durante o desenvolvimento da semente e são degradadas durante a germinação, contribuindo, então, para a reserva nutricional das mesmas. Porém, tem sido observado que, tanto a síntese como a degradação das lectinas não seguem o padrão típico das proteínas de reserva, porque persistem por mais tempo ao longo da germinação de sementes, do que as outras proteínas (MOREIRA; CAVADA, 1984; CAVADA et al., 1990). Se o papel das lectinas está restrito ao de proteínas de reserva, por que então possuem sítios específicos de ligação a carboidratos e outros ligantes?

Sob o enfoque da habilidade de lectinas interagirem com outras moléculas, faz-se imprescindível identificar os possíveis ligantes e em que local, nos órgãos de reserva, as lectinas se encontram. Em bulbos de *Galanthus nivalis* e *Narcissus* (VAN DAMME; PEUMANS, 1990), o conteúdo de lectinas atinge o nível máximo durante o outono, quando os órgãos de reserva estão em fase de dormência; na primavera os níveis chegam ao mínimo, por haverem as lectinas sido mobilizadas durante o desenvolvimento vegetativo e floração. Comportamento semelhante ocorre em lectinas de rizomas e cascas de plantas decíduas. Em todos estes casos, as lectinas comportam-se como proteínas de reserva, porém, com especificidades definidas de ligação a carboidratos, o que as distingue das demais proteínas de reserva (VAN DAMME; PEUMANS, 1990; PEUMANS; VAN DAMME, 1995a). Alguns cientistas sugerem que a função de lectinas como proteínas de reserva, nestes casos, pode ser verdadeira, mas, deve haver uma outra função, ainda não conhecida, nos processos de mobilização e acúmulo de substâncias de reserva. As lectinas de planta quer sejam de sementes ou de tecidos vegetativos, comportam-se como proteínas de reserva com atividade fisiológica relacionada a processos de reconhecimento intracelular ou intercelular, identificando carboidratos, participando na proteção de plantas contra fitopatógenos e, mediando a simbiose

*bactéria fixadora de nitrogênio-planta* (SHARON; LIS, 1989; PEUMANS; VAN DAMME, 1995a).

As lectinas podem exercer um papel peculiar quando interagem com membranas. HINCHA et al. (1993, 1997a) observaram que, em cloroplastos de espinafre (*Spinacia cleracea*, Chenopodiaceae), membranas de tilacóides eram estabilizadas contra danos provocados pelo frio, após interagirem com lectina galactose específica de algumas plantas das famílias Leguminosae, Moraceae ou Euphorbiaceae. A estabilidade foi proporcionada pela redução da fluidez e permeabilidade da membrana. Um outro ensaio reforça a hipótese de lectinas como crioprotetores. Em plantas de visco (*Viscum album*, Viscaceae), o conteúdo de lectinas sofre variações sazonais (HINCHA et al., 1997b, c), como acontece com muitas lectinas que ocorrem em órgãos dormentes de plantas (PEUMANS; VAN DAMME, 1994c). Indícios que apontam a relação conteúdo de lectina/especificidade e adaptação ao frio têm suporte também em ensaios com plantas de trigo (KOMAROVA et al., 1997). Os corpos protéicos não servem somente para estocar proteínas e lectinas, mas ainda algumas enzimas hidrolíticas. É sabido que lectinas são capazes de interagir com algumas dessas enzimas, e a maioria são glicosidases, das quais, algumas interagem com lectinas endógenas. Porém, cada caso deve ser estudado separadamente, visto que, nem todas as glicosidases interagem com lectinas endógenas e podem ligar-se a lectinas de outras fontes (GERS-BARLAG et al., 1988).

Um caso intrigante é a interação entre  $\alpha$ - manosidase de sementes de *Canavalia ensiformes* e sua lectina Con A, ambas ocorrendo nos corpos protéicos dos cotilédones (BOWLES et al., 1983; MARCUS et al., 1989). A enzima, ainda que uma glicoproteína, não interage com a lectina em pH próximo de 7, a menos que seja desnaturada. Uma outra hidrolase de sementes de *Canavalia ensiformes*, uma ácido fosfatase, liga-se a lectina Con A, neste caso, interagindo com o sítio ligante de carboidratos (RÜDIGER; BARTZ, 1993). Mais recentemente, Smeets et al. (1997) descreveram a interação entre a lectina manose específica de bulbos de *Allium sativum* e uma enzima de mesma fonte, alinase.

Conforme Rüdiger (1998), as interações entre lectinas e enzimas, como depreendem os autores supracitados, são fenômenos estáticos. Neste particular existem alguns relatos, nos quais as lectinas modulam as propriedades dinâmicas das enzimas. Então, Ferenc e Morawiecka (1985) descobriram que a fosfatase do

centeio (*Secale cereale*) é ativada pela lectina do centeio acima de 140%, e que essa ativação pode ser suprimida pela adição de um açúcar hapteno, o GlcNAc. A ativação pode servir para acelerar a mobilização das reservas de sementes. Da mesma forma, a lectina da batata (*S. tuberosum*) ativa uma fosfatase endógena (WIERZBA-ARABSKA; MORAWIECKA, 1987). O arranjo modular de um domínio enzimático e de um domínio de reconhecimento a carboidrato, há também sido observado em algumas lectinas animais (GABIUS, 1997).

## 1.6. Ação sobre Insetos Fitófagos

O potencial de lectinas como proteínas de defesa de plantas contra insetos fitófagos já tem sido relatado há um certo tempo. Não só algumas lectinas foram identificadas como possuidoras de efeitos deletérios sobre insetos, por conferir proteção às sementes vegetais, como também, alguns experimentos têm levado ao isolamento e purificação de lectinas, para que sejam aplicadas contra aqueles insetos não desejáveis e economicamente importantes para a agricultura, no intuito de se revelarem proteínas inseticidas (MURDOCK et al., 1990), para que os seus genes sejam úteis na engenharia genética. Assim, consoante Czaplá (1998), habitualmente em ensaios biológicos, faz-se uso de lectinas ou de preparações lectínicas, as quais podem ser incorporadas a dietas artificiais ou a sementes artificiais, ou ainda, procede-se a aplicação tópica.

### 1.6.1. Coleópteros

Vulgarmente conhecidos por besouros, esses insetos, em sua grande maioria, causam prejuízos à agricultura, danificando os vegetais, quer seja em condições de campo, quer seja na forma de produtos armazenados, por meio de suas formas larvais ou adultas.

O primeiro registro do efeito inseticida de lectinas vegetais data de 1976, quando Janzen et al. constataram a incapacidade do gorgulho do cowpea, *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae), danificar sementes de feijão *Phaseolus vulgares*, em razão da presença da lectina PHA.

Posteriormente, Huesing et al. (1991a) verificaram que os efeitos foram devidos à contaminação por inibidor de  $\alpha$ -amilase. Entretanto, esta observação parece ser pertinente apenas a *P. vulgares* e não a preparações lectínicas de outras espécies. A lectina de sementes de feijão *Psophocarpus tetragonolobus*, por exemplo, tem mostrado estar envolvida na proteção da semente a insetos (GATEHOUSE et al., 1984, 1991). Uma outra proteína, a arcelina, presente em sementes de algumas linhagens resistentes de *P. vulgares*, parece estar associada à inibição não só de insetos, como também de fungos. Experimentos revelaram uma forte correlação entre a presença da arcelina e a resistência das sementes a uma importante praga do feijão, *Zabrotis subfasciatus* (Coleoptera: Bruchidae) (OSBORNE et al., 1989).

Analisando 17 lectinas vegetais, na intenção de identificar as que são tóxicas ao *Callosobruchus maculatus*, Murdock et al. (1990) constataram 3 lectinas N-acetilglicosamina (GlcNAc) específica e 2 N-acetilgalactosamina/galactose (GalNAc/Gal) específica, causando retardamento no desenvolvimento larval do referido inseto. O efeito tóxico das lectinas vegetais, provavelmente, foi devido ao fato de células epiteliais, ao longo do trato digestivo de insetos fitófagos, estarem em contato direto com o conteúdo da dieta alimentar, sendo assim, possíveis alvos, para proteínas de defesa do vegetal. Desde que os maiores constituintes dessas membranas são as glicoproteínas, a luz do trato intestinal está literalmente coberta com potenciais sítios ligantes para as lectinas da dieta. Então, quando a ligação da lectina a uma glicoproteína receptora provoca um efeito nocivo local ou sistêmico, o inseto pode ser repellido, retardado em seu crescimento ou morrer. Ensaios de alimentação com sementes artificiais e dietas contendo vários níveis de diferentes lectinas não demonstrado que muitas lectinas são tóxicas a uma ou mais espécies de insetos, e que, a amplitude desses insetos com sensibilidade a uma lectina em especial é muito variável. O motivo, portanto, para o uso racional de lectinas com especificidade para GlcNAc, é que o intestino do inseto contém quitina, um polímero de N-acetilglicosamina, também na membrana peritrófica (RICHARDS; RICHARDS, 1977).

Das lectinas testadas contra o *C. maculatus*, a WGA, lectina do germe do trigo, específica para GlcNAc, foi particularmente ativa na concentração fisiológica, ou seja, a mais potente. Todavia, as lectinas de *Arachis hipogea* (amendoim) e *Maclura pomifera*, ambas GalNAc/Gal, também apresentaram efeito inibitório. E

ainda, as lectinas de *S. tuberosum* (batata) e *Datura stramonium*, todas GlcNAc, provocaram um pequeno efeito retardado sobre o desenvolvimento da larva do mesmo inseto. Por outro lado, Huesing et al. (1991b) ao incorporarem 3 lectinas de trigo em sementes artificiais, verificaram que estas foram similarmente positivas em retardar o crescimento e desenvolvimento do gorgulho do feijão de corda, *Vigna unguiculata*. Igualmente, as lectinas de *Urtica dioica*, UDA, e de germe de arroz (*Oryza sativa*), com especificidade para GlcNAc, mostraram-se tóxicas para o *C. maculatus* (HUESING et al., 1991c). Já na lectina de mamona, *Ricinus communis*, GalNAc/Gal, o efeito deletério foi de 100%. Com efeito, a lectina isolada de sementes de *P. tetragonolobus*, se mostrou bastante tóxica ao referido inseto (GATEHOUSE et al., 1991). O resultado não foi diferente quando extratos enriquecidos com lectina de *Sphenostylis stenocarpa*, galactose específica, foram incorporados a dietas artificiais (1%) ou a sementes artificiais (5%) e oferecidos às larvas de *C. maculatus* (OMITOGUN et al., 1999). Ao ser purificada, esta lectina apresentou comportamento semelhante em relação à taxa de mortalidade do *C. maculatus*, que variou entre 30% e 88%, além da observação de larvas dessa espécie com desenvolvimento retardado, entre 7 e 13 dias (MACHUKA et al., 2000).

Avaliando o efeito de uma série de lectinas com diferentes especificidades contra larvas de uma importante praga do milho, nos Estados Unidos, a vaquinha *Diabrotica undecimpunctata* (Coleoptera: Chrysomelidae), Czaplá e Lang (1990) relataram que as lectinas de mamona, alga verde marinha (*Codium fragile*), *Vicia villosa*, *M. pomifera* e *Artocarpus integrifolia* (jaca), do grupo GalNAc/Gal, e as lectinas de *Bandeiraea simplicifolia*, trigo (WGA) e *Phytolaca americana*, do grupo GlcNAc, foram todas deletérias, contudo, a lectina da mamona foi a mais tóxica com 100% de mortalidade. A WGA, no entanto, mostrada a mais potente contra o *C. maculatus* (MURDOCK et al., 1990), reduziu em 58% o peso das larvas, porém, a taxa de mortalidade foi de 10%, ao passo que *M. pomifera* e *C. fragile* restringiram o peso das larvas em 85%, sem, todavia, causar a morte. Reforçando os resultados obtidos por Murdock et al. (1990) com *C. maculatus*, todas as lectinas com propriedades inseticidas contra *D. undecimpunctata* eram específicas para GalNAc/Gal ou GlcNAc.

Contrariando o efeito das lectinas anteriormente mencionadas, a lectina isolada da ervilha, *Pisum sativum*, tem se mostrado inócua a mamíferos (BEGBIE; KING, 1985). Esta lectina específica para manose/glicose, embora ineficiente contra

*D. undecimpunctata*, foi tóxica para *C. maculatus*, a exemplo da lectina de *Galanthus nivalis*, GNA (PUSZTAI et al., 1990), sendo ambos os genes que codificam as lectinas ideais para a engenharia genética.

### 1.6.2. Lepidópteros

A ordem Lepidoptera compreende as mariposas e borboletas. É no estágio larval que estes insetos danificam, atacando todas as partes da planta, ocasionando sérios prejuízos. Representa cerca de 150.000 espécies conhecidas, e é considerada uma das ordens mais importante, em razão do elevado número de insetos pragas existentes na agricultura, atuando tanto em áreas produtivas, como em grãos e produtos armazenados.

Apesar dos danos provocados e dos gastos envolvidos no controle destes insetos, poucas lectinas têm sido testadas em dietas artificiais, embora os resultados tenham se mostrado promissores no controle de alguns insetos indesejáveis. A lectina SBA (GalNAc/Gal) de sementes de soja *Glycine max*, causou retardo no crescimento larval de *Manduca sexta* (Lepidoptera: Sphingidae), o mandarová do fumo (SHUKLE; MURDOCK, 1983).

Czapla e Lang (1990) avaliando diversas lectinas contra *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae), uma importante broca do milho nos Estados Unidos, registraram 100% de mortalidade da referida praga por ação das lectinas de *R. communis*, *Bauhinia purpurea*, ambas GalNAc específica; e do germe do trigo (WGA), específica para GlcNAc.

A lectina de *Galanthus nivalis* (GNA), manose específica, tem se mostrado tóxica a uma importante lagarta do tomate, *Lacanobia oleracea* (Lepidoptera: Noctuidae), diminuindo-lhe tanto o crescimento, quanto o desenvolvimento, e ainda a ingestão de alimentos pelas lagartas (FITCHES et al., 1997).

Extratos enriquecidos com a lectina do feijão africano, *Sphenostylis stenocarpa* Harms, quando incorporados a dietas ou a sementes artificiais, afetaram significativamente a sobrevivência de *Maruca vitrata* Fab. (syn. *M. testutalis* Geyer) (Lepidoptera: Pyralidae), uma notável broca do cowpea *Vigna unguiculata*, na África (OMITOGUN et al., 1999). Todavia, purificada, esta lectina galactose específica, não

mostrou nenhum efeito sobre o desenvolvimento larval da praga, exceto em dietas com concentrações extremamente altas (35%) (MACHUKA et al., 1999, 2000).

### 1.6.3. Homópteros

A ordem Homoptera é representada por afídeos ou pulgões, cigarras, cigarrinhas e cochonilhas. São insetos sugadores, que podem causar expressivos prejuízos às culturas, de forma direta, sugando de maneira contínua a seiva, e de forma indireta, por agir como vetores de um variegado de doenças fitopatogênicas, provocando, conseqüentemente, deformações e lesões na planta, além de introduzir substâncias tóxicas.

Os primeiros resultados sobre a toxicidade de lectinas vegetais para estes artrópodos datam de 1993, quando Powell et al. investigaram algumas lectinas contra a cigarrinha marron do arroz, *Nilaparvata lugens* e a cigarrinha verde do arroz, *Nephotettix cinciteps*, importantes pragas da gramínea na Ásia. Das lectinas testadas, somente a lectina de bulbos de *G. nivalis* (GNA), específica para resíduos de manose, e a WGA mostraram efeitos antimetabólicos significantes para ninfas do 1º e 3º instares de *N. lugens*. As lectinas de sementes de arroz e de rizomas de *Urtica dioica*, apesar de apresentarem a mesma especificidade de WGA (ou seja, GlcNAc), não foram efetivas (POWELL et al., 1995b) para ninfas do 3º instar de *N. lugens*. No entanto, as lectinas de *Narcissus pseudonarcissus* e de *Allium sativum*, ambas com especificidade para manose como a GNA, expressaram efeito inseticida (POWELL et al., 1995a). Ao investigarem GNA e WGA contra ninfas do 3º instar de *N. cinciteps*, Powell et al. (1995a, b) afirmam que somente GNA mostrou-se significativamente tóxica, sugerindo que este efeito se deveria à ação inibitória na alimentação, similar ao que ocorreu com fêmeas adultas de *N. lugens*. A localização imunohistoquímica da lectina GNA em adultos e ninfas intoxicadas de *N. lugens*, demonstrou que ela é capaz de ultrapassar as barreiras do intestino, posto que foi detectada em corpos gordurosos, ovariolos e hemolinfa dos insetos (POWELL et al., 1998).

Rahbé e Febvay (1993) estudando a ação de lectinas WGA e Con A (*Canavalia ensiformes*) contra o afídeo *Acyrtosiphon pisum*, inseto indesejável economicamente para as culturas de milho, trevo e feijão, constataram a toxicidade

de Con A, porém, a WGA não apresentou nenhum efeito adverso sobre o crescimento e sobrevivência de ninfas do citado pulgão.

Lectinas de *Brassicae fruticulosa*, *B. spinescens*, WGA e UDA específicas para GlcNAc revelaram antibiose contra o afídeo *Brevicorne brassicae* (COLLE, 1994).

Posteriormente, Rahbé et al. (1995) avaliaram outras lectinas com diferentes especificidades contra ninfas de *A. pisum* e revelaram que as lectinas mais tóxicas foram as de *Amaranthus candatus*, *Lens culinaris* (ervilha), Con A e GNA. Conferindo o efeito tóxico de Con A em relação a outras espécies de afídeos: *Aphis gossypii*, *Aulacorthum solani*, *Macrosiphum euphorbiae*, *M. albifrons* e *Myzus persicae*, os mesmos pesquisadores encontraram diferentes respostas, que variaram desde muito afetadas até pouco ou não afetadas. Verificaram também que as espécies de insetos oligófagos apresentaram maior sensibilidade a Con A do que aquelas espécies polífagas. Constataram ainda nenhuma atividade endoproteásica no trato digestivo de *A. pisum*. Rahbé e seu grupo recuperaram a maioria das lectinas no líquido de excreção sem que elas tivessem sofrido modificação aparente de degradação proteolítica.

Analisando a ação da lectina de *C. brasiliensis* (Con Br) sobre o pulgão da batata, *Aulacorthum solani*, Granjeiro (1996) não verificou nenhum efeito deletério sobre o crescimento e desenvolvimento das ninfas de 1º ínstar, mas sim, um efeito estimulatório no tempo de sobrevivência.

Pesquisas dentro de novos métodos para controle de afídeos incluem o uso de plantas transgênicas (SCHULER et al., 1998). Plantas de batata contendo o gen que codifica a lectina GNA tem se mostrado parcialmente resistente aos afídeos *Myzus persicae* (GATEHOUSE et al., 1996) e *Aulacorthum solani* (DOWN et al., 1996; SAUVION et al., 1996). Além do mais, em plantas transgênicas de arroz e trigo com GNA (gen) conferem resistência à cigarrinha marrom *N. lugens* e afídeos, respectivamente (RAO et al. 1998; STOGER et al., 1999).

#### 1.6.4. Himenópteros

Em número de espécies a ordem Hymenoptera está em terceiro lugar com 120.000 já descritas. Constituem, biologicamente, um grupo interessante,

*exibindo uma grande diversidade de hábitos e de complexidade de comportamento que culminam na organização social de vespas, de abelhas e de formigas.*

Ao contrário das ordens anteriormente citadas, é muito escasso o estudo de lectinas vegetais com atividade inseticida contra himenópteros.

Belzunces et al. (1994) investigaram os efeitos do germe do trigo (WGA) e do inibidor de tripsina do feijão sobre as atividades das enzimas esterase e protease de abelhas *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae). Concluíram que, nem o inibidor de tripsina, nem a WGA exibiram toxicidade aguda. In vivo; o inibidor de tripsina (1mg/g) reduziu a atividade da tripsina em 75%, porém, não foi significativo sobre a atividade da esterase. In vitro; o inibidor de tripsina inibiu a atividade de protease não específica, em torno de 80%, e a atividade de tripsina em 100%. Com WGA (1mg/ml), in vivo, houve uma grande redução na atividade de tripsina: 98%, todavia, não apresentou reação sobre a atividade da esterase. In vitro; a WGA não resultou em ação significativa sobre as atividades de tripsina e protease não específica e pouco ativou a ação da esterase.

Posteriormente, Isidro em 1996 constatou que as lectinas de sementes de *Canavalia brasiliensis* (Con Br), *Cratylia floribunda* (CFL) e *Dioclea virgata* (DvL) promovem alterações no comportamento da saúva do nordeste *Atta opaciceps*, estando essas mudanças associadas às doses aplicadas.

### 1.7. Mecanismos de Toxicidade

É de fundamental importância o modo, através do qual as lectinas inseticidas exercem seus efeitos tóxicos. Para uma dada lectina ser tóxica, é necessário que ela percorra o intestino do animal, dentro de um período suficientemente longo, para que o efeito se manifeste. Na tentativa de explicar porque algumas lectinas são tóxicas a lepidópteros, foi comparado o tempo de permanência de diferentes lectinas no intestino de larvas de *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) e de *Diabrotica undecimpunctata* (Coleoptera: Chrysomelidae). Das lectinas testadas, a exceção da lectina de *Pisum sativum*, que foi prontamente hidrolisada por *H. virescens*, as demais permaneceram estáveis, embora não necessariamente tóxicas. Os resultados sugerem que, somente a estabilidade da proteína não é suficiente para a manifestação do efeito tóxico, e que,

alguns mecanismos devem atuar (GATEHOUSE et al., 1995). As primeiras investigações sobre o possível mecanismo de toxicidade de lectina a insetos ocorreram em 1984, quando Gatehouse et al. demonstraram, por imunoflorescência, a ligação da lectina de *Phaseolus vulgaris* (PHA) às células epiteliais do intestino médio de *C. maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). Por outro lado, não houve ligação de moléculas de lectina às células epiteliais do intestino médio de *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae), uma praga de grãos armazenados de *P. vulgaris*, capaz de tolerar níveis moderadamente elevados de PHA (GATEHOUSE et al., 1989). Parece que a não ligação da lectina às células do intestino médio, em *A. obtectus*, o capacita a alimentar-se em *P. vulgaris* sem qualquer efeito danoso. Entretanto, os efeitos desta ligação nas células epiteliais do intestino médio de *C. maculatus* não são conhecidos. De acordo com Gatehouse et al. (1995), a ligação da lectina pode inibir a absorção de nutrientes ou dilacerar as células do intestino médio, por estimular a endocitose não só da lectina, mas, possivelmente, de outros metabólitos tóxicos e de toxinas bacterianas presentes no intestino médio.

Outra possibilidade, é que, lectinas podem ligar-se a membrana peritrófica em oposição ao epitélio no intestino médio. Esta membrana está presente em muitos insetos fitófagos, protegendo as células epiteliais do intestino médio de alimentos abrasivos. Uma vez que a membrana é composta primariamente de quitina, e esta é constituída de resíduos de N-acetilglicosamina (GlcNAc) (RICHARDS; RICHARDS, 1977), não é irracional postular que certas lectinas exercem seus efeitos através da ligação a esta membrana, principalmente porque a maioria das lectinas inseticidas é específica para GlcNAc (CZAPLA; LANG, 1990; HUESING et al., 1991c).

Talvez um dos estudos mais abrangentes sobre os possíveis mecanismos de toxicidade da lectina envolva os efeitos de WGA, Con A e lectina de lentilha, sobre larvas de *Lucilia cuprina*. O efeito inseticida (EISEMANN et al., 1994) é causado pelo menos por três diferentes mecanismos: a) redução na ingestão de alimentos (jejum), b) bloqueio parcial dos poros na membrana peritrófica e c) ligação de lectinas específicas com células epiteliais no intestino médio. Os dois primeiros mecanismos podem causar restrição na disponibilidade de nutrientes para as células digestivas e, conseqüentemente, inanição, conclusão suportada na observação de que a ingestão de WGA, Con A e lectina de lentilha não causam danos óbvios às larvas e sim reduzem o seu peso acima de 80-90% antes da substancial mortalidade. A deterrência alimentar provocada pela ingestão de lectinas, se

mediada por gustação, pode ser por causa da glicoproteína ligante de lectina situada nos dentritos de neurônios quimiorreceptores próximos às peças bucais da larva. Uma conseqüente quebra do funcionamento normal destes neurônios pode gerar um desequilíbrio sensorial no sistema nervoso central, culminando numa parcial inibição alimentar. O evidente bloqueio dos poros da membrana peritrófica devido a ingestão de lectinas pode não ser um simples acontecimento. A grande quantidade de materiais indeterminados localizados no lúmen do intestino, ao lado desta membrana, após a larva alimentar-se em meio de crescimento contendo qualquer das lectinas Con A, lectina de lentilha ou WGA, supõe que os ligantes destas lectinas à membrana peritrófica induzem a agregação do material ingerido, provavelmente proteína.

A redução na ingestão de alimentos pode também ser o mecanismo pelo qual certas lectinas exercem seus efeitos deletérios na cigarrinha marrom do arroz (POWELL et al., 1995a). Quando adultos deste inseto foram alimentados com dieta contendo GNA ou WGA, o volume de excreção produzido foi significativamente menor do que aquele produzido por insetos do controle (dieta sem lectina). Visto que o volume de excreção é mais ou menos proporcional ao volume líquido ingerido, parece que as lectinas WGA e GNA, conhecidas tóxicas para a cigarrinha marrom do arroz (PUSZTAI et al., 1993), provocam um efeito deterrente marcante, apresentando-se a GNA bem mais efetiva do que a WGA na redução alimentar. Entretanto, Fitches et al. (1998) em ensaios de alimentação, utilizando GNA e Con A para larvas do 5<sup>o</sup> ínstar do lepidóptero *Lacanobia oleracea*, observaram que estas lectinas provocaram similar ganho de peso, induzindo um aumento no consumo e na produção fecal, havendo uma redução na concentração média de proteínas dos resíduos fecais, contrastando estes resultados com os efeitos que WGA e GNA provocaram em *N. lugens*, i.é., deterrência (POWELL et al., 1995a). A falta de correlação entre consumo e crescimento (ganho de peso larval) em *L. oleracea* indicou que as referidas lectinas apresentam um impacto negativo quase imediato sobre o metabolismo digestivo da larva, fato este confirmado quando as larvas foram submetidas a dietas com GNA e Con A por um período de 16 dias, revelando que os efeitos negativos são cumulativos sobre as primeiras fases do desenvolvimento larval. Embora neste ensaio os valores sejam um tanto superior (GNA e Con A mostraram 66% e 50% de redução no peso larval, respectivamente), o que foi observado é compatível com Fitches et al. (1997), onde GNA, em 21 dias, causou

uma redução de 32% no peso das larvas, e um significativo retardamento no desenvolvimento larval de *L. oleracea* (FITCHES et al., 1998).

As lectinas GNA e Con A afetaram as atividades das enzimas digestivas no intestino médio de larvas de *L. oleracea* após a exposição destas às dietas sob um curto período de tempo. Ambas elevaram os níveis de proteínas no intestino, bem como a ação da aminopeptidase e da tripsina. Altos níveis de tripsina foram também encontrados em extratos fecais. A GNA, mas não a Con A, induziu um relevante aumento na atividade da  $\alpha$ -glicosidase, todavia, nenhuma lectina exibiu significativo efeito sobre a fosfatase alcalina. No entanto, larvas cronicamente tratadas com GNA e Con A mostraram de 50% a 60% de redução no peso e um significativo decréscimo na atividade da  $\alpha$ -glicosidase, porém, o tratamento pouco afetou as demais enzimas. As duas lectinas foram acumuladas em tecidos do intestino após a longa exposição in vivo, mas Con A estava presente em maior quantidade do que GNA. In vitro, Con A ligou-se a maioria das células na membrana epitelial, tanto quanto na membrana peritrófica, enquanto que GNA revelou-se mais específica, com forte ligação a uma proteína não caracterizada (FITCHES et al., 1998).

De qualquer modo, a sensibilidade de diferentes espécies de insetos aos efeitos inseticidas da lectina ingerida é variável e, o ligante de uma certa lectina presente no intestino de um dado inseto não implica necessariamente, em toxicidade (HARPER et al., 1995).

### 1.8. Lectinas da Família Leguminosae

As leguminosas lideram o “ranking” dos vegetais com o maior número de lectinas já isoladas e melhor caracterizadas. Na atualidade encontram-se registradas mais de setenta lectinas distribuídas em diferentes subfamílias, tribos, subtribos, gêneros e espécies. Ademais, nos gêneros *Canavalia*, *Cratylia* e *Dioclea* pertencentes à subtribo *Diocleinae*, esse número ultrapassa a quinze (SHARON; LIS, 1990). Relevante é mencionar que as espécies de *Diocleinae* são comuns em regiões tropicais e em grande parte são nativas do Brasil.

Conforme Sharon e Lis (1990), as lectinas de leguminosas possuem características estruturais peculiares como: seqüência de aminoácidos, estrutura

*secundária e conformação tridimensional de unidades estruturais, que se convertem num fator indutivo de que elas tiveram origem num ancestral comum.*

O estudo ativo destas proteínas, no que diz respeito às suas propriedades biológicas, tem sido facilitado em sua maioria, pelo fato das sementes de leguminosas apresentarem elevada concentração de lectinas (cerca de 10% do total de proteínas), por rapidez na obtenção de preparações lectínicas com elevado grau de pureza, além da disponibilidade de sementes na natureza.

#### 1.8.1. Tribo *Phaseoleae*, Subtribo *Diocleinae*

Todas as lectinas da subtribo *Diocleinae*, atualmente isoladas, apresentam especificidade por resíduos de glicose, manose e derivados. A lectina Con A de sementes de *Canavalia ensiformes* isolada por Sumner e Howell em 1936, é a mais investigada até o momento. Tendo sido a primeira a ser isolada por cromatografia de afinidade em gel de polidextrana (Sephadex); desde então, as demais lectinas *Diocleinae* seguem protocolo semelhante. A exemplo da Con A, estas são tetrâmeros compostos por uma mistura de subunidades intactas, formadas por uma única cadeia polipeptídica com 237 aminoácidos, e subunidades fragmentadas, nas quais a mesma cadeia polipeptídica está dividida em dois fragmentos por não ter havido, consoante Chrispeels et al. (1986), a formação de uma ligação peptídica entre os resíduos 118 e 119. Mesmo não estando ligados covalentemente, os dois fragmentos  $\beta$  e  $\gamma$  são mantidos juntos e formam um protômero cuja estrutura tridimensional é essencialmente a mesma da subunidade formada pela cadeia polipeptídica íntegra, sem descontinuidade na sua estrutura primária (BECKER et al., 1975; SHARON; LIS, 1989). Assim, os fragmentos  $\beta$  e  $\gamma$  são característicos das lectinas da subtribo *Diocleinae*, como *Dioclea grandiflora*, *Canavalia brasiliensis*, *Cratylia floribunda*, *Dioclea guianensis*, *Dioclea rostrata*, *Dioclea virgata*, *Dioclea violacea*, *Canavalia bonariensis*, *Dioclea altissima* var. *megacarpa* e *Canavalia dictyota* (MOREIRA et al., 1983; MOREIRA; CAVADA, 1984; OLIVEIRA et al., 1991; VASCONCELOS et al., 1991; CAVADA et al., 1996a; CAVADA et al., 1996b; MOREIRA et al., 1996; CAVADA et al., 1996c; MOREIRA et al., 1997; MONTEIRO et al., 1998).

### 1.8.2. Tribo *Dalbergieae*, Subtribo: *Pterocarpinae*

As únicas lectinas isoladas da tribo *Dalbergieae* pertencem às sementes de *Machaerium acutifolium*, *Lonchocarpus capassa* e *Vatairea macrocarpa*, (JOUBERT et al., 1986; SOUSA, 1997; SANTOS, 1998). Destas espécies, somente *V. macrocarpa* tem a lectina, VML - uma galactose específica, já seqüenciada na sua totalidade. Caracteristicamente, VML é formada por uma mistura de subunidades intactas (cadeia  $\alpha$ ) e clivadas (cadeias  $\beta$  e  $\gamma$ ), correspondendo às cadeias  $\beta$  e  $\gamma$  às metades C e N-terminal da cadeia  $\alpha$ , respectivamente, à semelhança das lectinas de espécies *Diocleinae*. Constitui-se, portanto, a primeira lectina não *Diocleinae* com este padrão (SANTOS, 1998). É composta por 239 aminoácidos, apresentando estrutura primária análoga a outras lectinas de leguminosas. Sua estrutura quaternária mostrou-se bastante estável na forma de um tetrâmero, quando na faixa de pH variando de 2,5 a 8,5, qualidade incomum em outras lectinas (SANTOS, 1998).

### 1.9. As Saúvas

As saúvas são espécimes importantes, altamente organizadas em comportamento e, notadamente, atraem a atenção do homem desde a época do descobrimento do Brasil.

Ocupando posição de destaque no acervo da literatura entomológica universal, as formigas do gênero *Atta* pertencem a um grupo de Hymenoptera eusocial, fazendo parte da família Formicidae. Apresentam ainda, uma extrema capacidade de adaptação aos mais diferenciados ecossistemas, encontrando-se as espécies do referido atíneo espalhadas nas Américas do Norte, Central e Sul.

O centro de origem e irradiação deste gênero, acredita a maioria dos mirmecologistas, está no Brasil, possivelmente na região amazônica. Neste país representado por ecossistemas múltiplos, refugia-se o maior número de espécies deste formicídeo.

Uma análise retrospectiva, não só na investigação científica como também no setor primário, o que nos leva diretamente aos choques competitivos, e, a observância concomitante das relações e da integração das saúvas com os fatores

*dependentes e independentes da densidade*, apontam a necessidade de mudança nos procedimentos e atitudes, em se tratando deste inseto. Pesquisas não convencionais, que envolvem novos critérios e abordagens filosófica e metodológica diversas, revelam que os processos cuja finalidade é o aprimoramento dos meios de extermínio e/ou redução populacional das espécies, através de agentes catastróficos, principais responsáveis pela destruição da homeostasia nos ecossistemas, estão ultrapassados no tempo e no espaço. Deduz-se então, que o controle às saúvas deverá transmutar do padrão simplório de eliminação das espécies para o controle comportamental e a subsequente domesticação (SALES, 1998).

#### 1.9.1. Origem e Distribuição

Não obstante, pode-se afirmar que as saúvas habitam os ecossistemas brasileiros há cerca de trinta milhões de anos, a começar da era Cenozóica, período Terciário, série Oligoceno, era esta, que ainda é caracterizada pelo vasto desenvolvimento de espécies vegetais e diversos tipos de pássaros, somando-se ainda a predominância de mamíferos. De fato, a permanência do gênero *Atta* ao longo do período geológico ressaltou as saúvas como um inseto bem sucedido e funcionalmente ajustado aos biomas em que o formicídeo está envolvido no continente americano. Releve-se ainda, que este mirmicíneo vem superando e/ou adaptando-se a todas as pressões impostas pelos mais diferentes processos evolutivos naturais e microevolutivos proporcionados pelo homem brasileiro desde 1500, marco do descobrimento do País (SALES, 1990). Além disso, as treze espécies/subespécies de saúvas vastamente distribuídas no Brasil, levam os entomologistas a concordar e admitir a Amazônia brasileira como centro de origem e irradiação deste atíneo (ANDREWARTHA; BIRCH, 1984; LOFGREN; VANDER MEER, 1986; ROSS, 1959; SALES, 1991b).

Por conseguinte, as formigas do gênero *Atta* mostram uma excepcional capacidade de adaptação aos mais variados ecossistemas do Novo Mundo. A faixa de dispersão situa-se entre os limites de 33 graus de Latitude Norte e 44 graus de Latitude Sul, abrangendo, assim, as áreas compreendidas entre os paralelos próximos às cidades de Forth Worth, Texas, Estados Unidos e Plumas, no Sul da

Argentina. Em relação à distribuição vertical, elas são detectadas do zero a estratos de até 2500 metros de altitude. Entretanto, de conformidade com a literatura, não há registro de ocorrência deste atíneo no Chile, algumas ilhas do Caribe e Canadá. No Brasil, não foi ainda detectada na Ilha de Fernando de Noronha (GONÇALVES, 1960; MARICONE, 1970). Deste modo, as espécies e subespécies encontradas no continente americano estão distribuídas assim: *Atta bisphaerica* Forel, 1908: Brasil; *A. capiguara* Gonçalves, 1944: Brasil; *A. cephalotes* (Linné, 1758): Bolívia, Brasil, Colômbia, Costa Rica, Equador, Guatemala, Guiana, México, Nicarágua, Panamá, Peru, Trinidad e Venezuela; *A. colombica* Guérin, 1845: Colômbia, Costa Rica, Guatemala e Panamá; *A. goiana* Gonçalves, 1942: Brasil; *A. insulares* Guérin, 1845: Cuba; *A. laevigata* (F. Smith, 1858): Bolívia, Brasil, Colômbia, Guiana, Paraguai e Venezuela; *A. mexicana* (F. Smith, 1858): El Salvador, Estados Unidos (especialmente, no sul do Estado do Arizona), Guatemala e México; *A. opaciceps* Borgmeier, 1939: Brasil; *A. robusta* Borgmeier, 1939: Brasil; *A. saltensis* Forel, 1903: Argentina, Bolívia e Paraguai; *A. sexdens* (Linné, 1758): Brasil; *A. sexdens piriventris* Santschi, 1919: Argentina, Bolívia, Brasil e Paraguai; *A. sexdens rubropilosa* Forel, 1908: Argentina, Bolívia, Brasil e Paraguai; *A. sexdens sexdens* (Linné, 1758): Bolívia, Brasil, Colômbia, Costa Rica, Equador, Guadalupe, Guiana, Guiana Francesa, Panamá, Peru, Suriname e Venezuela; *A. silvai* Gonçalves, 1982: Brasil; *A. texana* (Buckley, 1860): Estados Unidos da América (Texas e Louisiana) e, possivelmente Nordeste do México; *A. vollenweideri*, Forel, 1893: Argentina e Brasil.

### 1.9.2. Importância

Estigmatizada como o flagelo secular da agricultura nacional e considerada o “inimigo número um” do Brasil, a resolução final, então, foi a erradicação total da espécie. Protagonista da história da agricultura brasileira, já em 1560, o padre José de Anchieta escrevia a Portugal informando da atuação do referido atíneo sobre o solo e as plantas. Em 1587, Gabriel Soares de Souza em “Tratado Descritivo do Brasil”, aponta a saúva como o mais terrível inimigo das fazendas. Em 1658, no livro “História Natural e Médica”, Guilherme Pidonis escreve que, para os portugueses, a saúva era o “Rei do Brasil”, visto que só se cultivava o que o inseto não cortava. Estando no Brasil de 1816 a 1822, o naturalista francês

*Auguste Saint'Hilaire* criou a célebre frase: "Ou o Brasil mata a saúva ou a saúva mata o Brasil". Thomas Belt, em 1874, considera as formigas o maior flagelo da América Tropical (GONSALVES, 1935; MARICONI et al., 1964; TOWNSEND, 1921; WEBER, 1966). Jacoby em 1950 comenta: "se as misteriosas ações, o comportamento e as atividades da formiga são emanções de instintos herdados, tais insetos seriam simples máquina de reflexo. Se, pelo contrário, são devidas a quaisquer sentidos da formiga, para nós desconhecidos, esta estaria apta a raciocinar e tomar decisões."

A utilização de uma série diversificada de plantas domesticadas como fonte direta e indireta de energia pela saúva foi, neste caso, capaz de caracterizá-la como o maior de todos os inimigos do trabalho do homem sobre o solo (CONCEIÇÃO, 1934). Portanto, a erradicação total da espécie foi, assim, defendida como solução definitiva para o problema (MARIANO FILHO, s.d.; SAUER, 1941).

A saúva distingue-se também nos ecossistemas do continente americano como inseto abundante, não só pela densidade de sauveiros nas áreas infestadas, como, pelo elevado número de espécimes que compõe cada formigueiro (SALES, 1979, 1991a). Neste contexto existiam no Brasil duas Bahias, uma cuja superfície era habitada pelo povo, e a outra subterrânea, que segundo os leigos pertencia às saúvas.

Poucos animais e raízes de plantas conseguem atingir a tão profundas camadas do subsolo nas florestas tropicais e nas regiões semi-áridas do Nordeste brasileiro. Nestes casos, um sauveiro considerado de grande porte possui muito mais matéria orgânica, sob a forma de painéis de fungo, do que qualquer outra entidade do solo, tornando provável a multiplicação de bactérias, nematóides, insetos, ácaros e outros organismos que somente podem existir ali, em tais profundidades, em razão da atividade destes importantes atíneos (SALES, 1991b; WEBER, 1966).

Bondar (1927) afirma que os estragos provocados pelas saúvas nas fundações dos edifícios, em virtude do afundamento do solo, causam um acréscimo de vinte por cento no orçamento destas construções. A rede subterrânea de canais, resultante da ação direta desse formicídeo sobre o solo, se estende cerca de três quilômetros (GONSALVES, 1935).

A atividade da saúva sobre o solo contribui para alterações físico-químicas do mesmo e ainda modifica sua cobertura vegetal (BUCHER; ZUCCARDI,

1967). Assim, elas colaboram para o revolvimento e aeração do solo, e ainda potencializa a fertilidade do mesmo.

Na área de terra solta, ou seja, na terra escavada pela saúva e transferida para a superfície do solo, os teores de fósforo, potássio, cálcio e magnésio são superiores aos observados em solos circunvizinhos, tanto em ecossistemas naturais, como em artificiais (SALES, 1979).

O fungo que o inseto cultiva metaboliza cerca de metade da celulose do substrato vegetal. A ação podadora, em algumas plantas, induz o aparecimento de uma quantidade maior de novas folhas e flores. Em algumas situações, como em regiões semi-áridas e em época de precipitação pluvial nula ou baixa, esta ação reduz a transpiração vegetal (SALES, 1991b; WEBER, 1976).

Sob a ótica evolucionária, as saúvas pertencem a um grupo de insetos dos mais complexos e avançados. Seu sucesso ecológico pode ser demonstrado pela manutenção de uma linha filogenética em todo o período geológico. A eusocialidade, isto é, a atenção e os cuidados com a prole, a superposição de gerações e a presença de castas sexuadas e assexuadas, é extremamente avançada nestes formicídeos. E isto, é uma maneira de superar as formas solitárias (HOLLOBLER; WILSON, 1990; TAVARES, 1915; WILSON, 1987). Por conseguinte, as ligações tróficas das saúvas são excepcionalmente complexas dentro dos biomas em que estão inseridas, reforçando, deste modo, a tese de revisão conceitual sobre a verdadeira função deste artrópode dentro das comunidades vegetais nativas e/ou domesticadas (SALES, 1991b).

### 1.9.3. Dinâmica Populacional

Menção à densidade, refere-se à distribuição e à abundância. Disponibilizada dentro dos limites da distribuição, a densidade pode assumir diversos valores, que variam a partir de zero. Assim, pode-se afirmar que a população de um certo inseto herbívoro é densa, se existem indivíduos o bastante para consumir uma considerável quantidade daquela cultura. Diz-se que esta mesma população é esparsa se a cultura ocupa uma grande área e o nível de dano pode ser suportado. A unidade fundamental para a densidade, segundo

Andrewartha e Birch (1984) e Sales (1991b), consiste no número de indivíduos por unidade de área.

Consumidores ergonomicamente superiores aos vertebrados, os insetos eusociais têm suas populações limitadas pelos mesmos fatores que regulam as populações dos insetos solitários. Todavia, alguns atributos das espécies eusociais lhes conferiram um nível significativo de sucesso ecológico em comparação às espécies solitárias. Por conseguinte, as formigas constituem o grupo mais abundante dentre os insetos eusociais e o mais diverso dentro de seus hábitos tróficos. Das vinte mil espécies que se acredita existirem, oito mil e oitocentos estão identificadas e reunidas em duzentos e noventa e sete gêneros e onze subfamílias. Registre-se ainda que um terço da biomassa animal de terra firme, da Floresta Amazônica, compõe-se de formigas e cupins ou térmites. A cada hectare de solo, têm-se, portanto, oito milhões de formigas e um milhão de cupins. Contudo, alguns grupos de formicídeos agem como eficientes predadores, a exemplo de *Solenopsis spp.*, *Pseudomyrmex mexicanus*, *P. pallida* e outros (BOLTON, 1995; HOLLDOBLER; WILSON, 1990; JEANNE; DAVIDSON, 1984; SALES, 1996).

Metodologia ideal na estimativa da dinâmica populacional das saúvas, não existe na literatura entomológica. Contudo, os fatores mesológicos, com certeza, colaboram na sua flutuação populacional. Além disso, fatores catastróficos: incêndios provocados e/ou errantes, eliminação de comunidades vegetais nativas e a redução de humus no solo favorecem o crescimento populacional (OLIVEIRA FILHO, 1934; SALES, 1991b).

A expansão da área de terra solta (munduru ou murundu: montículos de terra que as saúvas acumulam na superfície, ao escavarem as camadas mais profundas do solo, quando constroem o sauveiro) de formigueiros da saúva do nordeste *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 acha-se correlacionada com o aumento do número de olheiros (SALES et al., 1979), ou seja, com o aumento do número de orifícios externos encontrados à superfície sobre a terra solta.

A densidade das colônias de saúvas apresenta grande variabilidade, provavelmente em resposta à diversidade de habitats que lhes servem de abrigo. Em algumas comunidades existem evidências de pequenas variações de ano para ano. Com certeza tais populações estão próximas a capacidade de suporte destes habitats. Agressões inter e intraespecíficas estão incluídas, consoante Fowler et al. (1986), entre os mecanismos de regulação das populações.

Em ecossistemas naturais, a simplificação destes, favorece as atividades da saúva do nordeste *Atta opaciceps*. Assim, em monocultivo de capim bufell, *Cenchrus ciliaris*, a atividade observada foi 10,3 vezes maior do que a verificada em vegetação nativa contígua à monocultura (SALES et al., 1986).

Em 1991 publicou-se que o Estado de São Paulo alojava em seus ecossistemas 16 milhões de sauveiros, que equivale a uma densidade de 64,54 formigueiros/km<sup>2</sup>. Se comparado à média nacional, em 1947, quando o Brasil abrigava 300 milhões de sauveiros, equivalente a uma densidade de 35,52 sauveiros/km<sup>2</sup>, verifica-se que há um excedente de 1,82 vezes à referida média. Pois bem, em 45 anos de controle essencialmente químico, a saúva continuou com população ascendente e mesmo diante de pressões microevolutivas, continua a ser uma espécie biológica bem sucedida (SALES, 1991b).

#### 1.9.4. Morfologia

O ideal de toda sistemática está no estudo comparativo do maior número de caracteres fenotípicos possíveis; assim, pode-se formar uma idéia exata da espécie. A identificação dos formicídeos é baseada quase que exclusivamente em caracteres morfológicos das operárias, ou seja, formas degeneradas, deixando-se de lado as formas sexuadas, o que é lastimável e pode comprometer a identificação (BORGMEIER, 1950). Atualmente, as espécies de saúvas podem ser identificadas através de caracteres morfológicos das operárias, especialmente os soldados (BASTOS, 1980; GONÇALVES, 1951).

As operárias da saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939, são em geral de coloração castanha, às vezes apresentando cor escura ou parda. Os soldados possuem a cabeça glabra, geralmente fosca, algumas vezes, brilhante, e neles é bastante evidente a reticulação microscópica e a pontuação. Possuem tórax piloso com espinhos mesonotais anteriores, freqüentemente rombos, algumas vezes podem ser cônicos e pontiagudos. Os espinhos epinotais são mais finos e mais longos que os mesonotais anteriores. O gáster é glabro, regularmente com certo brilho, podendo medir até 3,5mm de largura. Os soldados chegam a medir 13mm de comprimento. A exemplo de outras espécies de saúvas, existem operárias de todos

os tamanhos intermediários, chegando a medir 2mm de comprimento (GONÇALVES, 1951).

#### 1.9.5. Taxinomia

A grande vantagem para os taxinomistas que se dedicam às formigas, em relação àqueles que se dedicam a outros insetos é que, as formigas apresentam características morfológicas marcantes e facilmente discerníveis. Além do mais, na grande maioria, as colônias de formigas são oriundas de uma única fêmea.

##### 1.9.5.1. Família Formicidae

A característica estrutural mais típica da família Formicidae é a forma do pedicelo ou pedicelo abdominal. O mesmo é composto por um ou dois segmentos, servindo como peça essencial à separação de subfamílias (CREIGHTON, 1966). As antenas são, em geral, geniculadas e o primeiro segmento é, freqüentemente, longo ou muito longo.

Todas as formigas são Hymenoptera eusocial e cada colônia é formada por três castas: rainhas, machos e operárias. As rainhas são fêmeas integralmente desenvolvidas, maiores que os demais indivíduos das outras castas, aladas, embora as asas caiam após o vôo nupcial. Os machos são alados, em geral, consideravelmente menores que as rainhas. As operárias são fêmeas estéreis e ápteras, recebendo denominações especiais como soldados (operárias maiores), enquanto as formas de menor porte são referidas como operárias menores. Todas as espécies de formigas produzem machos em abundância como parte do ciclo normal da colônia. Não são conhecidos casos de partenogênese obrigatória. Há, entretanto, castas intermediárias ou de transição, as castas ergatóginas, que se posicionam entre operárias e rainha e, ainda as que se interpõem entre operárias maiores e operárias menores. Uma classificação mais simples e uma nova terminologia para definição de castas e suas variantes é proposto por Wilson (1974), fundamentado no sistema de W. M. Wheeler.

As operárias maiores, no caso das saúvas, são responsáveis pela defesa da colônia, mas também cortam folhas algumas vezes. As operárias intermediárias são as cortadeiras e carrêgadeiras ou transportadoras de fragmentos vegetais, e as operárias menores ou jardineiras, trituram o material vegetal, colocam-no sobre as paredes do fungo, mantendo o seu cultivo, e ainda refugam todo o material estranho que tenha sido introduzido no interior do sauveiro.

#### 1.9.5.2. Subfamília Myrmicinae

A subfamília Myrmicinae é a maior e a mais comum dentre as subfamílias de formigas, apresentando grande variabilidade em comportamento e morfologia. Seus membros podem ser reconhecidos simplesmente por apresentarem o pedículo do abdômen formado por dois segmentos, carinas frontais separadas e freqüentemente expandidas lateralmente, escondendo mais ou menos as inserções das antenas, e, clipeo geralmente prolongando-se para trás entre as carinas frontais.

Dentre as formigas mirmicíneas encontram-se aquelas que cultivam e se alimentam de fungos, pertencentes à tribo *Attini*, ressaltando-se os gêneros *Atta* (saúvas) e *Acromyrmex* (CREIGHTON, 1966).

#### 1.9.6. Fungo

A associação saúva-fungo foi identificada pela primeira vez na Nicarágua em 1868, por Thomas Belt. A possível existência de uma forma sexual do fungo foi suposta por Alfred Möeller, que o classificou como *Rhozites gongylophora*. Ele acreditava então, que este fungo se desenvolvia naturalmente, nas panelas ou câmaras umedecidas do subsolo do sauveiro (WEBER, 1966). Na realidade, *R. gongylophora* é saprófita e nutre-se de substrato vegetal elaborado pelas saúvas operárias. Contudo, há quem concorde que o fungo é uma micorriza que evoluiu e adaptou-se às necessidades dos atíneos. A capacidade das saúvas de conservarem a cultura pura do fungo que lhes serve como alimento, apesar da contaminação exógena de outros fungos e bactérias conduzidos para as panelas vivas (câmara onde é cultivado o fungo no interior do ninho) pelos próprios atíneos, está

diretamente ligada às secreções salivares e anais depositadas na massa fúngica. O fungo é constantemente podado pelas formigas operárias para interromper a formação do pileo ou chapéu dos agaricáceos (CUNHA, 1936; VELHO, 1948; WEBER, 1955).

#### 1.9.6.1. Preparação do Substrato Vegetal Necessário ao Desenvolvimento do Fungo

As saúvas operárias cortam partes do vegetal e após fragmentá-los, transportam-nos para o interior das painelas ou câmaras subterrâneas. Conduzem ainda, partes de gravetos secos, pedaços de papel, pontas de cigarros, fragmentos de pão, bolo, arroz, feijão e macarrão cozidos. A função que estes elementos poderiam exercer no interior do sauveiro, não se sabe até agora. Não obstante, nos meses de nula ou baixa precipitação pluvial o estrume seco de vaca é bastante utilizado (MARICONE; PAIVA CASTRO, 1960; PAIVA CASTRO et al., 1961; SALES, 1991b; WEBER, 1966).

Uma vez transportado o material vegetal fresco, as porções são depositadas na base, nos lados e/ou no topo da massa fúngica, e subseqüentemente, inicia-se o processo de corte a porções de 1 a 2mm de tamanho. Antes ou durante esta ação de corte, os fragmentos são inteiramente lambidos. Em seguida, as operárias pressionam com suas mandíbulas as extremidades do material cortado, de modo a torná-lo úmido e pastoso, podendo ainda posicioná-lo sob o seu corpo e, curvando o abdômen, depositar uma gotícula clara de líquido anal sobre o mesmo. O fragmento assim tratado é inserido na massa fúngica, então uma operária apanha um tufo de micélio e o coloca sobre o substrato recém preparado, a intervalos regulares. Daí, as hifas crescem em todas as direções (SALES, 1991b).

#### 1.9.6.2. Cultivo do Fungo

As 190 espécies de mirmicíneos que representam a tribo *Attini* estão agrupadas em 11 gêneros que cultivam o fungo como fonte de alimento. A primeira descrição do consumo do fungo pelas saúvas foi feita por A. Möeller, em 1893. Ele

observou que as extremidades das hifas produziam intumescências de forma esférica ou elipsoidal, as quais denominou de *kohlrabi*, em alusão à semelhança que apresentavam com a porção globular do bulbo comestível da olerícola, *Brassica oleracea caulorapa*. Porém, W. M. Wheeler, mais tarde, nomeou as mesmas estruturas de gongilídea. E esta é a denominação melhor aceita entre os entomologistas, e, micologicamente, a terminologia correta (SALES, 1991b; STRADLING; POWER, 1986; WEBER, 1966).

É comum a maneira com que os atíneos cuidam do fungo. Eles habitualmente percorrem todas as partes expostas, bem como o interior da massa fúngica. Com toques antenais avaliam as condições do jardim de fungo. Lambem as hifas e, ocasionalmente, as consomem; gotículas anais são acrescentadas, ao que tudo indica, exclusivamente sobre a esponja fúngica. O desenvolvimento de contaminantes, (fungos e bactérias) é inibido pela atuação de agentes fungistáticos e bacteriostáticos. O fungo compete, em grande desvantagem, com outros fungos e, a remoção de operárias responde pelo seu deslocamento e extinção. Em condições naturais, os contaminantes fúngicos são eliminados pelo ácido  $\beta$ -hidroxidecanóico ou mirmicacina que, elaborado pelas operárias, inibe a germinação de esporos. As secreções salivares e as gotículas anais depositadas, direta e indiretamente sobre a esponja fúngica estimulam o crescimento do fungo (CUNHA, 1936; SALES, 1991b; STRADLING; POWELL, 1986; WEBER, 1976).

#### 1.9.6.3. Classificação do Fungo

As formigas *Attini* do continente americano são as únicas a desenvolverem uma relação mutualística, em que o micélio vegetativo de um fungo passa de uma geração para outra, através de uma fêmea recém-fecundada. A. Möeller classificou-o como fungo agaricíneo e o denominou *Rhozites gongylophora*. Os micologistas confirmaram, posteriormente, que o fungo pertencia a família *Agaricaceae*, entretanto, transferiram a espécie *gongylophora* para o gênero *Leucocoprinus* (WILSON, 1974). Agora, na literatura micológica, registra-se na Classe Homobasidiomycetes, Ordem Agaricales, Família Agaricaceae, Gênero *Leucoagaricus* e Espécie *Leucoagaricus gongylophorus*. Esta é a citação específica

comum referida nos trabalhos pertinentes (SIQUEIRA, 1998; FERNANDES et al., 2002).

A marcação feromonal é responsável pela não aceitação de massa fúngica entre colônias da mesma espécie. Logo, fungo de outra colônia ao ser introduzido em saúveiros da mesma espécie é refugado e não se desenvolve. Por conseguinte, a marcação feromonal é específica para cada colônia, sendo a responsável por tal comportamento (WEBER, 1966).

É muito difícil, quiçá impossível, a produção de esporos pelo fungo. A secreção de mirmicacina, pelas operárias, ratifica a impossibilidade de esporos participarem da propagação. Há indícios que, não somente diferentes espécies de atíneos cultivam a mesma espécie de fungo mas, através dos métodos vegetativos de propagação, estas culturas constituem clones fúngicos que podem ser utilizados por mais de uma espécie de mirmicíneo, sendo, portanto, bastante primitivo. Atualmente, *Attamyces bromatificus* Kreisel tem sido o nome específico mais aceito como classificação para este basidiomiceto cultivado pelas saúvas. Esta certeza está baseada em descrições do fungo cultivado por *Atta insularis*, que na ausência de esporóforos foi colocado em *Agonomycetales* (ALMEIDA, 1991; STRADLING; POWELL, 1986; WEBER, 1966, 1977).

Na opinião de Roger Heim, entretanto, o fungo cultivado por todos os Atíneos é o *Leucocoprinus gongylophorus* e, evidências atuais parecem vir fortalecer este julgamento. A identificação desta espécie ou pelo menos de um grupo muito semelhante colocado por várias vezes nos gêneros *Leucocoprinus*, *Lepiota* e *Rhizites*, dos basidiomicetos, tem sido confirmada através da multiplicação de esporóforos de micélios dos atíneos *Myrmicocrypta*, *Cyphomyrmex* e *Atta*. Estes formicídeos representam a quase totalidade da distribuição filogenética da tribo *Attini*. Segundo R. Heim, é improvável que diferentes atíneos tenham escolhido, aqui e acolá vários *Leucocoprinus* no curso de suas evoluções (HOLLDOBLER; WILSON, 1990). De qualquer modo, torna-se conveniente incorporar à discussão ou ao mistério da taxonomia do fungo das saúvas os artigos de Muchovej et al. (1991) e Fisher et al. (1994).

#### 1.9.6.4. Composição Química do Fungo

Persistem incertezas quanto a origem das substâncias químicas identificadas no fungo cultivado pelas saúvas; se das plantas ou resultantes do metabolismo do fungo. Análises realizadas em material coletado em painéis vivos de saúva limão, *Atta sexdens rubropilosa* de três localidades diferentes: Ilha do Governador, Estado do Rio de Janeiro, Cravinhos e Sertãozinho, Estado de São Paulo, levaram à conclusão de que, no caso dos hidrocarbonetos lineares, a relação da cadeia de carbonos par: ímpar foi de 1,0:1,0 para o saúveiro da Ilha do Governador; 3,5:6,5 para o saúveiro de Cravinhos e 3,0:2,0 para o saúveiro de Sertãozinho. Os hidrocarbonetos ímpares, produzidos pela descarboxilação de ácidos pares são os mais abundantes em plantas. O fungo oriundo do saúveiro de Sertãozinho, localizado num eucaliptal, provavelmente a única fonte de substrato vegetal, tem a proporção par: ímpar de hidrocarbonetos praticamente idêntica à da planta. As amostras continham hidrocarbonetos alifáticos saturados. Dois extratos apresentaram o  $\beta$ -sitosterol, enquanto que os ácidos ursólico e oleanólico foram detectados em uma das amostras (LOPES; GILBERT; 1977).

#### 1.9.7. Comportamento das Saúvas

A persistência das saúvas ao longo do período geológico, conduziu a uma bem sucedida, eficiente e organizada sociedade, denotando que este inseto faz parte de um grupo dos mais complexos e avançados sob a ótica evolucionária. Um dos fatores que contribui para este sucesso ecológico é, sem dúvida, a comunicação. Dos diferentes tipos já percebidos pelo homem, a comunicação química é essencial no comportamento das saúvas, porque atuando de modo intraespecífico, intervém desde o acasalamento até a determinação das castas. Contudo, estímulos físicos também têm seu papel no processo de comunicação (SALES, 1991b; FREIRE, 1994).

### 1.9.7.1. Mediadores de Interações Intraespecíficas

Os feromônios, substâncias químicas voláteis ou não, na forma de estímulos ou sinais estão estreitamente comprometidos com a disciplina comportamental intraespecífica das saúvas (HOWSE, 1986; VILELA et al., 1987; VILELA; HOWSE, 1988; OLIVEIRA et al., 1990; SALES, 1998; SALZEMANN; JAFFÉ, 1990). Aspectos fenológicos correlacionados com a intensidade do feromônio revelam que os insetos estão aptos a biossintetizar compostos específicos com grande precisão temporal. Assim, feromônios casta-específicos são produzidos pelas rainhas e operárias, de modo a administrarem as inúmeras interações sociais (BLUM, 1988).

Em um mesmo saueiro, a identificação individual entre operárias se dá por deposição de substâncias químicas sobre a cutícula do inseto. Parece existir em cada colônia um odor característico, o “odor da colônia”, que é passível de sofrer transformações por fatores genéticos e ambientais (VILELA et al., 1987).

O recrutamento de operárias, porque há uma fonte de provisão, é realizado pela saúva da mata, *A. cephalotes* (Linné, 1758), por emissão de substâncias químicas quando esta toca com a extremidade do gáster a superfície do solo, em intervalos regulares, de modo a deixar uma trilha que deverá ser perseguida. O grau de recrutamento é determinado pela quantidade de feromônio depositado na trilha e a intensidade do odor leva as operárias a seguirem a trilha até o seu final, sem que se deixem influenciar por qualquer odor de outras fontes de provisão. Ao que parece, as operárias ao se deslocarem na trilha, reforçam-na com toques intermitentes da extremidade do gáster. Outrossim, o extrato obtido da glândula de veneno ou o metil-4-metil-pirrole-2-carboxilato, principal constituinte sintético do feromônio de trilha, pode induzir a formação de trilha, todavia, o recrutamento tende a decrescer após 5 a 10 minutos, pois não há o fator autoestimulatório para mantê-lo. Caso a provisão seja encontrada, as operárias fortalecem a trilha (HOWSE, 1986; TUMLINSON et al., 1972).

A marcação do território, i.é., a delimitação da área em torno do saueiro ou em locais de corte de material vegetal ou provisão, também se faz por intermédio de feromônios. De forma semelhante à da fixação de trilhas, o território assinalado influencia o comportamento das saúvas e do mesmo modo deve ser remarcado

sucessivamente, posto que, após uma hora as formigas parecem não identificar a secreção ali depositada (HOWSE, 1986).

Os feromônios são ainda aplicados aos materiais que devem ser transportados para o interior da colônia. Operárias de saúva da mata, *A cephalotes*, marcaram folhas recém-cortadas e folhas estocadas com secreção abdominal, em ritual parecido com o já descrito, antes de transportá-las. Este comportamento acelera o processo de transporte, visto que as folhas marcadas são mais rapidamente coletadas do que as que não receberam tal tratamento. O n-tridecano e o (Z)-9-nonadecano foram responsáveis, tanto pela marcação, quanto pela coleta do material, parecendo regular inclusive, o transporte em cadeia da fonte de provisão ao interior do ninho. Além disso, influencia o comportamento da saúva que o segrega, sendo assim, um feromônio autoestimulatório (BRADSHAW et al., 1986).

#### 1.9.8. Seleção de Plantas

Adaptações coevolucionárias de insetos levaram-nos ao desenvolvimento de mecanismos quimiosensoriais específicos para a seleção de espécies vegetais, permitindo-lhes avaliar não só as diferentes estratégias químicas e físicas de defesa de plantas, como também, os nutrientes disponíveis, além de estimar a qualidade destes.

As formigas da tribo *Attini*, mesmo utilizando uma ampla variedade de plantas como substrato para o desenvolvimento do fungo, mostraram-se altamente seletivas quanto aos vegetais a serem cortados e transportados (HUBELL et al., 1984; SALES, 1991b). Muitos são os fatores determinantes neste processo de escolha: substâncias atrativas em flores e folhas, palatabilidade e qualidade nutricional de folhas, presença de repelentes ou compostos secundários tóxicos em folhas, folhas lactíferas, aspereza e idade das folhas, teor de umidade das folhas, partes vegetais e energia disponível - biomassa, a forma, a cor, a resistência ao corte (HUBELL et al., 1984; ROCKWOOD, 1978; SALES, 1986, 1991b; WALLER, 1982). Entretanto, tais fatores não são exclusivos e mútuos, podendo variar entre plantas e/ou através do tempo, modificando deste modo a importância relativa dos fatores na seleção, o que dificulta uma avaliação dos mesmos (HOWARD, 1987).

Investigações preliminares com *Atta cephalotes* tem estabelecido correlações entre a palatabilidade da planta ou a probabilidade de ataque deste atíneo

e a aspereza das folhas, teor de umidade das folhas e compostos secundários das plantas. Estes últimos revelaram-se como os melhores indicadores da preferência no período de máxima colheita de folhas no meio ambiente (HOWARD, 1987). As saúvas utilizam uma combinação de químicos secundários e a disponibilidade de nutrientes para aferir a qualidade das folhas. Para elas, “maximizar nutrientes e minimizar compostos secundários potencialmente tóxicos, parece ser mais importante do que minimizar os custos de busca, atacando plantas próximas aos saúveiros”, afirma Rockwood (1978).

Observando-se a saúva da mata, *A. cephalotes*, nota-se que a preferência por folhas jovens às folhas maduras é evidente. A análise química das folhas revelou que a razão proteína: fibra era coerente com esta predileção. O maior teor de proteína e o menor teor de fibra nas folhas parecem determinantes na seleção. Dentre 40 espécies vegetais da floresta tropical de Los Tuxtlas, no México, as famílias Moraceae e Lauraceae destacaram-se como as mais preferidas por esta espécie (ESTRADA; COATES-ESTRADA, 1986).

Diferenças em compostos químicos secundários, disponibilidade de nutrientes e teor de umidade entre folhas de diferentes estágios de desenvolvimento e posição da folha na planta são fatores relevantes na escolha do material vegetal a ser cortado e transportado. Variações quantitativas dos compostos químicos secundários, disponibilidade de nutrientes e umidade podem colaborar na seleção pela saúva *A. colombica* por plantas e tecidos de plantas altamente palatáveis (HOWARD, 1990).

O formato das folhas parece não exercer qualquer influência na atratividade às saúvas. Amostras de folhas de eucaliptos (*Eucaliptus rophylla* e *E. saligma*) nas formas circular, semicircular, quadrada e triangular foram semelhantemente atrativas aos atíneos *A. cephalotes* e *A. s. rubropilosa*, mostrando que estes percebem mais rápido os fatores químicos do que os físicos (SANTANA et al., 1990).

#### 1.9.9. Digestão

Os alimentos dos insetos podem constituir-se de quase todos os tipos de substâncias orgânicas naturais. Contudo, a exemplo de outros animais as fontes finais de energia são carboidratos, lipídeos e proteínas.

A digestão engloba vários fatores, dos quais pode-se ressaltar a qualidade do alimento e a atividade enzimática do aparelho digestivo. Iniciando-se com a tomada do alimento na cavidade infrabucal, o processo digestivo culmina com a absorção e assimilação dos nutrientes pelos tecidos (FEBVAY; KERMARREC, 1986).

As formigas do gênero *Atta* alimentam-se de um fungo e da seiva das plantas por elas cortadas para o cultivo daquele fungo. As operárias ao cortar o vegetal fazem a deglutição de parte do suco celular ainda que uma porção deste líquido seja para irrigar a massa fúngica. O fungo é a principal fonte de alimento para as larvas, enquanto as operárias podem obter apenas parte de sua dieta, i.é., 5%, desta fonte. Através da seiva obtida das folhas, durante o processo de corte, os adultos podem suprir suas necessidades energéticas por um período de vinte e quatro horas (FEBVAY; KERMARREC, 1986).

A dieta mais especializada, com certeza, surgiu entre as formigas da tribo *Attini*. Uma vez que não são estritamente fungívoras, a análise química do fungo revelou que este fornece uma dieta rica e completa constituída de 27% de carboidratos (trealose, manitol, arabitol e glucose), 13% de aminoácidos ligados a proteínas, 47% de aminoácidos livres e 0,2% de lipídeos, constando o ergosterol como o estero principal. Consoante ainda Febvay e Kermarrec (1986), 56% do peso seco destes nutrientes poderão ser aproveitados como nutrientes solúveis.

#### 19.10. Aleloquímicos

Muitos aspectos da biologia dos insetos, incluindo comportamento, fisiologia e ecologia, estão de alguma forma inseridos dentro de um contexto nutricional. Além da quantidade, a qualidade e a proporção de nutrientes presentes no alimento e a presença de compostos secundários ou não nutricionais (aleloquímicos) causam um impacto variável na biologia dos insetos, determinando a sua capacidade de contribuição reprodutiva para a geração seguinte.

Aleloquímicos são compostos químicos sintetizados por um organismo com capacidade para alterar o crescimento, a saúde, o comportamento e a população biológica de outra espécie, excluindo substâncias utilizadas como alimento pela segunda espécie (WHITTAKER; FEENY, 1971). Classificam-se ainda os aleloquímicos

como alomônios, se sua atividade favorecer adaptativamente o organismo emissor, e como queromônios, se sua atividade induzir uma resposta adaptativamente favorável ao receptor do sinal químico (BROWN et al., 1970).

Os aleloquímicos são produtos do metabolismo secundário das plantas com funções alelopáticas específicas, que durante um longo período foram considerados um simples desvio das suas funções primárias (ALMEIDA, 1990). Além disso, são de importância fundamental nas relações interespecíficas entre os organismos vivos e essenciais nas interações inseto-planta (ALMEIDA, 1990; CRAVEIRO; MACHADO, 1986), podendo aumentar ou diminuir a ação de outros fatores de mortalidade.

É grande a variedade de esqueletos e grupamentos funcionais que compõem os metabólitos secundários (CRAVEIRO; MACHADO, 1986). Dentre as principais classes de compostos podem ser citados: aminoácidos tóxicos, glicosídeos cianogênicos, alcalóides, lipídeos tóxicos, glicosinolatos, sesquiterpenos lactônicos e outros terpenóides, saponinas, inibidores de proteinases, flavonóides, fenóis, taninos e ligninas, cumarinas, óleos essenciais (EDWARDS; WRATTEN, 1981; SCRIBER, 1984; WALLER, 1989).

Estas substâncias aleloquímicos estão diretamente associadas ao comportamento e ao sucesso dos atíneos como espécie (SALES, 1986). A maior disponibilidade dos aleloquímicos das plantas hospedeiras no meio ambiente, acelera a consolidação dos carreiros de alimentação, bem como, aumenta a intensidade exploratória de operárias de *Atta opaciceps* (GONÇALVES, 1984).

Na avaliação do grau de repelência de extratos foliares de 42 espécies de plantas da floresta de Santa Rosa, Guanacaste, Costa Rica, a *Atta cephalotes*, verificou-se que 3/4 dessas espécies apresentaram grande quantidade de repelentes não polares extraíveis (lipídeos solúveis), i.é., terpenóides, esteróis e ceras, e que metade das espécies mostrou repelentes polares removíveis, v.g., fenóis, flavonóides e glicosídeos. Procedendo-se o isolamento químico em 4 espécies vegetais; *Hymenaea courbaril* (Caesalpinaceae) revelou um sesquiterpenóide, o epóxido de carotileno, 20 vezes mais repelente em bioensaios do que o seu precursor biológico carotileno, porém, em concentrações naturais nas folhas não se mostrou repelente; *Cordia alliodora* (Borraginaceae) exibiu 7 compostos repelentes em concentrações naturais, nas folhas, i.é., 1 sesquiterpeno e 6 triterpenos, todavia, nenhum ficou caracterizado estruturalmente; *Malvariscus arboreus* (Malvaceae) apresentou um ácido graxo repelente, que foi parcialmente caracterizado e, *Verbesina gigantea* (Compositae)

mostrou o epóxido de carotileno e terpenóides parcialmente identificados. Os terpenóides constituíram a maioria dos compostos repelentes isolados das espécies estudadas por HUBELL et al. (1984).

Os compostos secundários lipofílicos podem ser o fator químico mais importante determinante da palatabilidade de plantas para *A. cephalotes*. Aqueles com ação deterrente para formigas, já identificados, são derivados de mono, di, tri e sesquiterpenos. A baixa palatabilidade das plantas que encerram pequenas quantidades de deterrentes não polares, pode ser devido a outras classes de compostos químicos secundários: fenólicos simples, aminas e aminoácidos não protéicos. Acredita-se que alcalóides específicos ou taninos possam também influenciar a baixa palatabilidade. Várias plantas não palatáveis contendo terpenóides inibiram o crescimento de culturas isoladas do fungo de *A. cephalotes*, confirmando a ação fungistática e fitotóxica desses compostos (HOWARD, 1987)

Investigações em 49 espécies lenhosas de floresta decídua, na Costa Rica, selecionadas por *A. cephalotes*, revelaram que as diferenças relativas na palatabilidade dessas plantas estavam relacionadas a deterrência de extratos não polares e a presença ou ausência de taninos hidrolizáveis. As folhas não palatáveis, em sua maioria, apresentaram extratos não polares, que por sua vez suprimiram a atividade de corte das folhas em bioensaios de laboratório. As folhas altamente palatáveis continham, em geral, taninos hidrolizáveis (HOWARD, 1988).

A análise do porquê da seletividade e desfolhamento parcial de 2 espécies da floresta tropical decídua do Panamá por *A. colombica*, mostrou conteúdos fenólicos negativamente correlacionados a palatabilidade de *Spondias mombin* (Anacardiaceae), uma espécie com taninos hidrolizáveis. Já em *Bursera simaruba* (Burseraceae), onde houve predominância de taninos condensados, os compostos fenólicos relacionaram-se positivamente a palatabilidade.

Avaliando-se a preferência de *Atta s. rubropilosa* em teste de múltipla escolha com 11 espécies vegetais de larga disseminação em Southampton, Inglaterra, constatou-se o efeito supressor de corte em folhas de *Scilla* sp. e *Scilla non scripta* (Liliáceas), pela presença de glicosídeos cardíacos, fatores alomonais identificados pelos insetos, que desestimulam as atividades de corte e transporte. Todavia, *Mahonia aquifolium* (Berberidaceae) mostrou-se altamente atrativa, incitando todo o ritual de busca, corte e transporte (SALES, 1991b, 1994). A realização de bioensaios em laboratório confirmou que grânulos anti-ebulientes esterilizados, tratados com 15 µg de

extrato queromonal extraído de *M. aquifolium* induziram os atíneos ao transporte de 98,16% dos mesmos para o interior da colônia (SALES; HOWSE, 1992).

Em teste de múltipla escolha com *A. opaciceps*, dentre 11 espécies vegetais nativas e exóticas do Nordeste do Brasil, as flores de *Senna siamaea* (Lam.) (Leguminosae: Caesalpinoidea) apresentaram queromônios que incitaram as reações de atração e busca de provisão por este mirmicíneo (SALES, 1991b). O extrato de suas flores após análise cromatográfica e espectral de massa, computadorizada, revelou que o 2-metil-2,4-pentanodiol; decano; n-decano; n-undecano; 6-metil-5-hepten-2-ona; n-octadecano; cis-ocimeno e linalol foram os constituintes queromonais que originaram as reações de atração, exploração, corte e transporte de suprimento floral nas operárias de *A. opaciceps* (CRAVEIRO; SALES, 1992).

Alguns aleloquímicos exercem ainda atividade hormonal sobre os insetos, além de influenciar as interações inseto-planta e fatores outros ligados ao requerimento nutricional, quimiorrecepção, toxicidade, etc. A incapacidade destes artrópodos de sintetizar o esqueleto básico dos esteróides, constituintes de secreções comuns de glândulas internas, faz com que dependam de um suprimento dietético destes compostos, que se torna imprescindível ao crescimento e desenvolvimento (SLAMA, 1969).

#### 1.9.10.1. Transferência e Conversão de Aleloquímicos

Nos insetos, a habilidade de localização da planta hospedeira, o ato de se alimentar, a localização do sexo oposto para o acasalamento, e também, a escolha do habitat para a nova geração, dentre outros movimentos, são comportamentos controlados pela química do meio ambiente, i.é., substâncias voláteis que emanam das plantas ou que são perdidas através da exsudação das raízes ou áreas de ativo crescimento ou mesmo da decomposição de resíduos, assim como aquelas que provêm de microorganismos. A ação de algumas dessas substâncias sobre as espécies receptoras, conforme Einhellig (1995), resulta em inibição do crescimento e desenvolvimento. Outros compostos, no entanto, sofrem transformações para que possam atuar. Sob certas circunstâncias, compostos lixiviados e voláteis ao alcançarem o meio podem ser absorvidos de forma direta pelas plantas. Não obstante, a atividade biológica dos aleloquímicos pode ser ampliada pela

*degradação de substâncias produzidas, a exemplo da amidalina, glicosídeo cianogênico, liberado pelas raízes do pessegueiro, que eventualmente produz ácido cianídrico e benzaldeído; e o hidrojuglone encontrado em tecidos de plantas da família Juglandaceae, que se oxida a juglone com maior ação tóxica quando em contato com o ar e ainda, a florizina, em macieiras, que se transforma em floroglucinol, ácido p-hidroxicinâmico e ácido p-hidroxibenzóico.*

Os metabólitos primários: carboidratos, aminoácidos, bases de purina, pirimidina e lipídeos acham-se vastamente dispersos na natureza com funções vitais entre os seres vivos. Os metabólitos secundários: terpenos, alcalóides, flavonóides, esteróides, taninos, etc., têm entre os organismos distribuição limitada, comumente se destacando apenas dentro de um contexto ecológico. Mesmo assim, torna-se difícil diferenciar de forma absoluta e independente compostos primários e secundários de origem vegetal sob o ponto de vista químico ou ecológico. Posto que não foi ainda elucidada a função fisiológica de vários compostos secundários de plantas, porém, a função ecológica já está efetivamente aceita, inclusive por químicos. A variedade, a grande quantidade e os padrões singulares de ocorrência destes compostos, somados aos padrões de preferência pelas plantas hospedeiras nos insetos oligófagos, contribuíram para a formação da teoria de interação planta-inseto e a teoria da coevolução. Segundo a teoria anti-herbívora de coevolução, a maioria das substâncias secundárias de plantas evoluiu em resposta às pressões exercidas pelos herbívoros, servindo então para proteção da planta em geral, ou seja, com funções alomônias. A adaptação recíproca de herbívoros especialistas culminou não só na evolução de mecanismos que tornaram os compostos ineficazes pela desintoxicação ou comportamento de recusa, mas também, na transformação de alomônios em queromônios, sinais para localizar e alimentar-se do hospedeiro, ou excitação na oviposição. Logicamente, muitos dos compostos secundários de plantas são alomônios defensivos para a maioria da fauna simpátrica e queromônios para certos insetos oligófagos nas plantas que produzem aleloquímicos. A classificação dos hábitos alimentícios dos insetos, de forma generalizada, tem sido baseada na taxinomia dietética. Neste caso, insetos monófagos, oligófagos e polífagos são aqueles associados a uma, a poucas, ou a muitas espécies de plantas dentro de um gênero, alguns gêneros dentro de uma família ou diferentes famílias, respectivamente (KOGAN, 1986).

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo Geral

O presente ensaio foi desenvolvido com o intuito de estudar-se o efeito de lectinas vegetais como agentes passíveis de interagir com a saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939, sobre os aspectos de sua biologia, que refletem direta ou indiretamente na sua dinâmica populacional, em decorrência de fracassados esforços destinados ao controle da saúva, inclusive a erradicação, através de substâncias químicas, que culminaram, principalmente, em desequilíbrio ecológico e destruição da homeostasia nos ecossistemas.

### 2.2. Objetivos Específicos

- 1) Investigar se as lectinas de *Dioclea violacea* e *Vatairea macrocarpa* exercem alguma influência no comportamento apetitivo, e no comportamento consumatório de operárias da saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939.
- 2) Observar se estas lectinas possuem ação probiótica sobre o fungo, *Leucoagaricus gongylophorus*, cultivado pela referida espécie.
- 3) Averiguar se há algum efeito tóxico das lectinas de *Dioclea violacea* e *Vatairea macrocarpa* sobre o fungo supracitado.
- 4) Avaliar ações inseticidas das lectinas de *Dioclea violacea* e *Vatairea macrocarpa* sobre as castas assexuadas e a rainha da saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939.

### 3. MATERIAIS

#### 3.1. Material Vegetal

Utilizaram-se sementes quiescentes de vegetais da família *Leguminosae*, subfamília *Papilionoideae*, sendo a espécie *Dioclea violacea* Martius, ex Bentham pertencente à Tribo *Phaseoleae*, Subtribo *Diocleinae*, e a espécie *Vatairea macrocarpa* Ducke, pertencente à Tribo *Dalbergieae*, Subtribo *Pterocarpinae*. Todas as sementes foram coletadas no Brasil, sendo as de *V. macrocarpa* provenientes do Campus do Picí, em Fortaleza, Ceará, e as de *D. violacea*, oriundas do Rio Grande do Sul.

#### 3.2. Insetos

Os insetos utilizados no ensaio eram rainhas e operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939, pertencentes ao Atinário do Núcleo de Experimentação Fitossanitária (NUCLEF) do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará.

#### 3.3. Reagentes

Acrilamida, N,N'-metilenobisacrilamida, Coomassie Brilliant Blue R-250, Albumina Sérica Bovina, Anidrase Carbonica, Cytocrome C, Aplotinina foram obtidos da Sigma Chemical Company, St. Louis, EUA. Sephadex G-50, da Pharmacia, Uppsala, Suécia.  $\beta$ -mercaptoetanol e Dodecil Sulfato de Sódio (SDS), da Merk, Darmstadt, Alemanha.

Os demais reagentes utilizados são de grau analítico e obtidos comercialmente.

### 3.4. Outros Materiais

Papéis de filtro qualitativo “Framex”, plataformas retangulares de vidro transparente, vidros transparentes grandes e pequenos, placas de gesso, copos tipo “americano” de vidro transparente, bandejas retangulares de alumínio, pontes de alumínio, colunas de vidro, mangueiras plásticas, cortiças de borracha, beakers, pinças, pipetas graduadas, ponteiras esterilizadas, luvas cirúrgicas descartáveis, tubos de ensaios, etc.

## 4. MÉTODOS

As etapas da pesquisa relacionadas ao processamento das sementes quiescentes de *Vatairea macrocarpa* e *Dioclea violacea*, desde a preparação das farinhas até a obtenção das lectinas purificadas, e, subseqüentemente, as diluições das mesmas, foram realizadas no Laboratório de Moléculas Biologicamente Ativas (BIOMOL – LAB), do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular do Centro de Ciências da Universidade Federal do Ceará. As demais etapas, i.é., preparação, criação e manutenção de saúveiros de *Atta opaciceps*, bem como, os ensaios de atividade biológica aconteceram no campo experimental, no Laboratório do Núcleo de Experimentação Fitossanitária (NUCLEF) e no Laboratório de Entomologia Agrícola (LEA), todos pertencentes ao Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Ceará.

### 4.1. Isolamento das Lectinas

As lectinas de sementes de *Vatairea macrocarpa* e *Dioclea violacea* foram isoladas segundo metodologias estabelecidas por Crisóstomo (1996) e Cavada et al. (1996a, b), respectivamente, descritas a seguir.

Os protocolos de isolamento das lectinas foram repetidos exaustivamente, a fim de se obterem quantidades suficientes das mesmas para a realização de bioensaios com a saúva do nordeste, *Atta opaciceps*.

#### 4.1.1. Preparação das Farinhas de Sementes de *Vatairea macrocarpa* e *Dioclea violacea*

As sementes quiescentes de cada espécie, após destegumentação mecânica, foram reduzidas a farinhas finas; utilizando-se para este mister um moinho tipo Wiley, acoplado com peneira de 60 mesh, em seguida delipidadas com n-hexano na proporção 1:2 (m/v) e secas à temperatura ambiente, sendo posteriormente acondicionadas em frascos hermeticamente fechados e estocadas em câmara fria a 4°C.

#### 4.1.2. Extração e Fracionamento de Proteínas de *Vatairea macrocarpa*

Submeteu-se a farinha de sementes de *Vatairea macrocarpa* a extrações protéicas com tampão glicina 0,1 M, pH 2,6 contendo NaCl 0,15 M, na proporção 1:10 (m/v), sob agitação constante por 12 horas, à temperatura ambiente. A suspensão obtida foi centrifugada a 10.000 x g por 20 minutos, a 4<sup>o</sup>C, o sobrenadante, filtrado em papel de filtro e o resíduo, desprezado. O extrato protéico foi então submetido à precipitação com sulfato de amônio (60% de saturação) por um período de 4 horas, à temperatura ambiente, em seguida, centrifugado a 10.000 x g por 20 minutos, a 4<sup>o</sup>C e, ademais, redissolvido o precipitado em NaCl 0,15 M, exaustivamente dialisado contra a mesma solução, depois novamente centrifugado a 10.000 x g por 20 minutos, a 4<sup>o</sup>C. O sobrenadante foi filtrado e incontinentemente submetido à cromatografia de afinidade para o isolamento da lectina, havendo-se descartado o precipitado (FIGURA 1).

##### 4.1.2.1. Cromatografia de Afinidade em Coluna de Goma de Guar

A fração 0/60 foi submetida à cromatografia de afinidade em coluna de goma de guar, preparada conforme Appukuttan et al. (1977). Antecipadamente equilibrou-se a coluna com NaCl 0,15 M. Após a eluição com NaCl 0,15 M do primeiro pico (PI), que contém as proteínas que não interagiram com a matriz cromatográfica, o material retido ou pico dois (PII) neste caso, eluiu-se com tampão glicina 0,1 M, pH 2,6 contendo NaCl 0,15 M. Realizou-se a cromatografia a fluxo constante e o eluato coletado em frações de 5 ml, monitoradas a 280 nm (FIGURA 2). O PII que equivale à lectina de *Vatairea macrocarpa* (VML) foi exaustivamente dialisado contra água destilada, liofilizado e estocado em recipientes hermeticamente fechados, à temperatura ambiente.

##### 4.1.3. Extração de Proteínas de *Dioclea violacea*

Efetuaram-se extrações protéicas da farinha de *D. violacea* com solução de NaCl 0,15 M, na proporção 1:10 (m/v), por 4 horas, à temperatura ambiente, sob

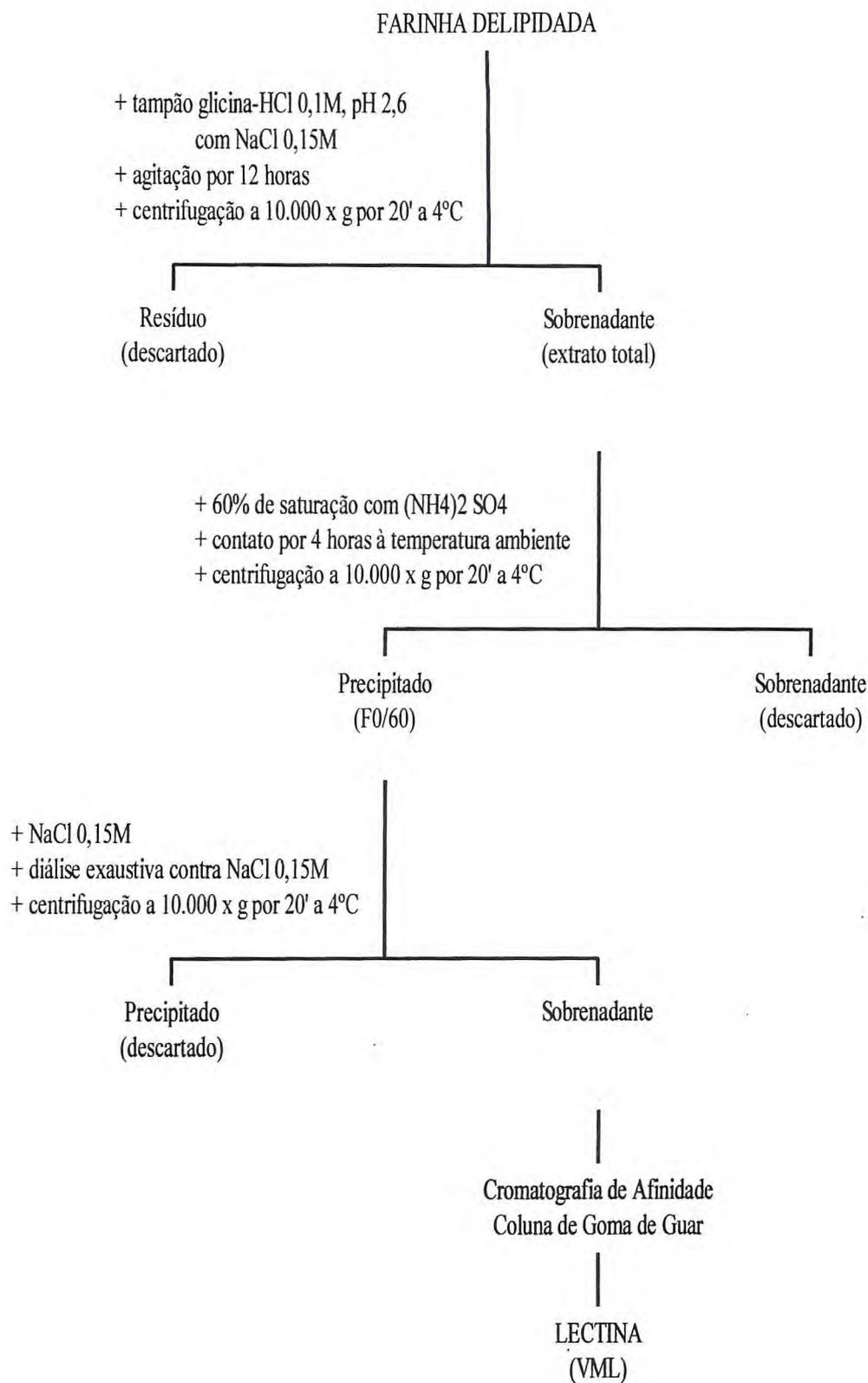


FIGURA 1 – Esquema de Isolamento da Lectina de Sementes de *Vatairea macrocarpa* (VML)

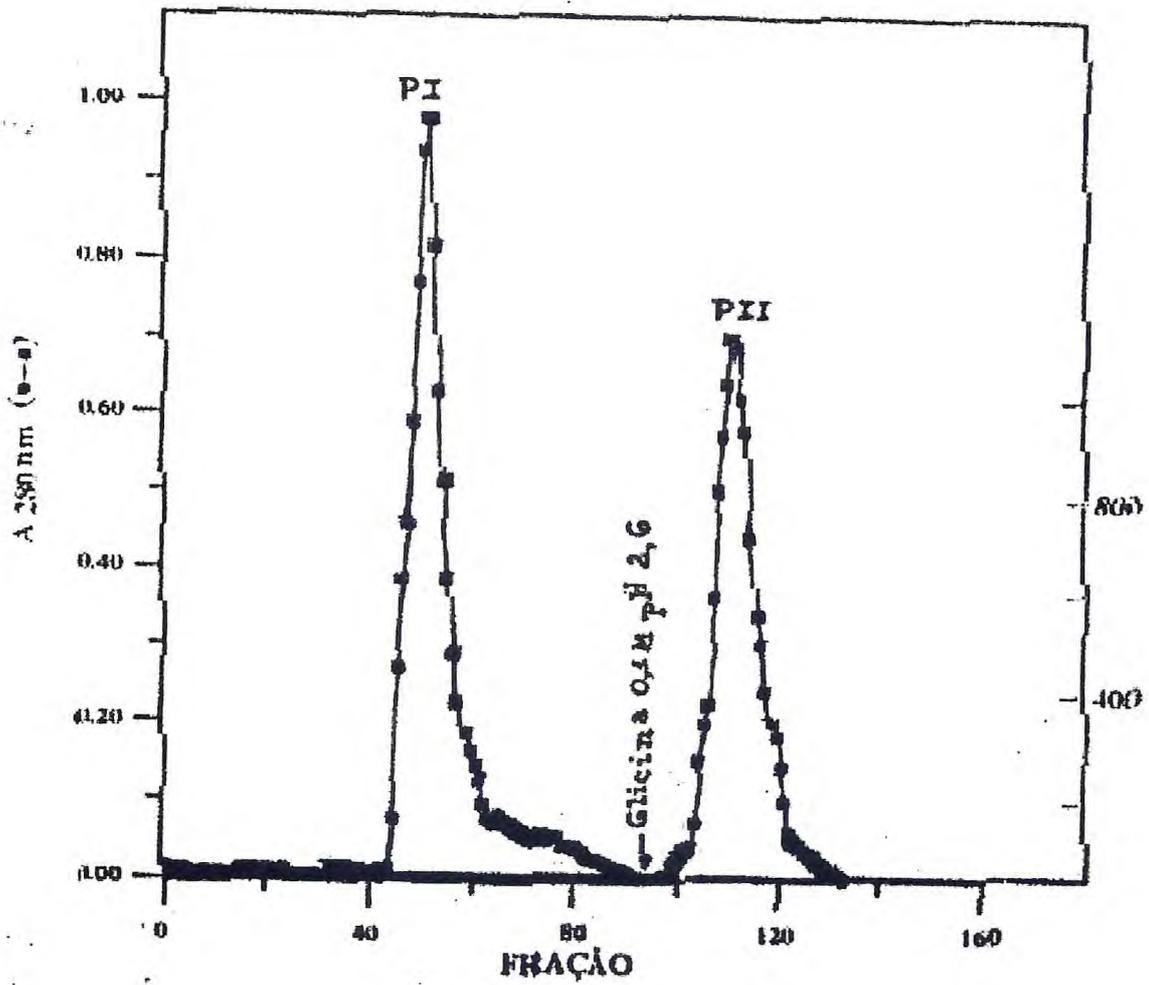


FIGURA 2- Cromatografia de Afinidade em Coluna de Goma de Guar da Lectina de Sementes de *Vatairea macrocarpa*

*agitação constante*. A suspensão obtida, naquele momento, foi centrifugada a 10.000 x g por 20 minutos, a 4°C. O sobrenadante resultante, em seguida, filtrado em papel de filtro, e subseqüentemente utilizado em cromatografia de afinidade para o isolamento da lectina, descartando-se, porém, o precipitado (FIGURA 3).

#### 4.1.3.1. Cromatografia de Afinidade em Coluna de Sephadex G-50

Aplicou-se o sobrenadante (extrato bruto) a uma coluna cromatográfica de Sephadex G-50, previamente equilibrada com NaCl 0,15 M contendo CaCl<sub>2</sub> 5 mM e MnCl<sub>2</sub> 5 mM. Após a eluição, com a solução de equilíbrio do primeiro (PI) e segundo (PII) picos, i.é., aqueles que encerravam as proteínas que não interagiram com a matriz cromatográfica, o material retido (PIII) foi então eluído com tampão Glicina-HCl 0,1 M, pH 2,6 contendo NaCl 0,15 M. A cromatografia foi realizada a fluxo constante e o eluato coletado em frações de 4 ml monitoradas a 280 nm (FIGURA 4). O PIII, com a lectina de *Dioclea violacea* (Dviol), dializado exaustivamente contra água destilada, liofilizado, após o que, acondicionado adequadamente e estocado à temperatura ambiente.

#### 4.2. Eletroforese em Gel de Poliacrilamida em Presença de SDS e β-mercaptoetanol

As preparações lectínicas de *Vatairea macrocarpa* e *Dioclea violacea*, isoladamente, foram testadas quanto à pureza, através de experimentos de eletroforese em gel de poliacrilamida 15% (m/v), montados em placas de vidro, na presença de dodecil sulfato de sódio (SDS) e β-mercaptoetanol, seguindo-se o método descrito por Laemmli (1970). Os géis, conforme o protocolo, preparados com Acrilamida: bisacrilamida (30:0,8), SDS 10% (m/v), Persulfato de Amônio 1,5%, água deionizada e TEMED (N,N,N',N'- tetrametiletilenodiamina), sendo que o gel de separação continha tris-HCl 3 M pH 8,8, e o gel de aplicação tris-HCl 0,5 M pH 6,8. Dissolveram-se as amostras em tampão tris-HCl 0,0625 M pH 6,8, contendo SDS 2% (m/v), β-mercaptoetanol 5% (v/v) e glicerol 10%, em seguida, submetidas a 100°C, por 10 minutos. Depois de resfriadas, adicionou-se azul de bromofenol 0,1% (m/v) e aplicou-se ao gel.

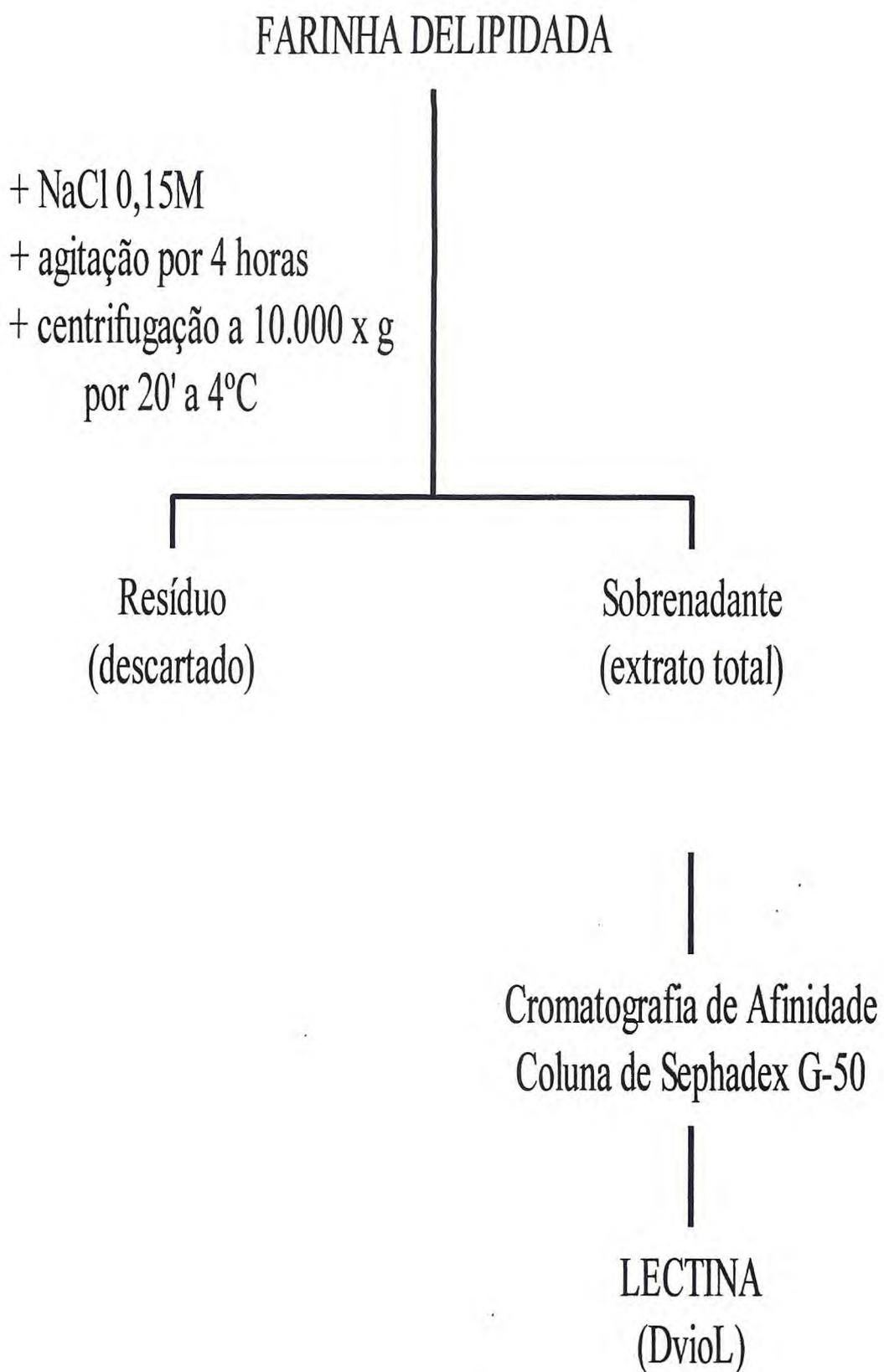


FIGURA 3 – Esquema de Isolamento da Lectina de Sementes de *Dioclea violacea* (DvioL)

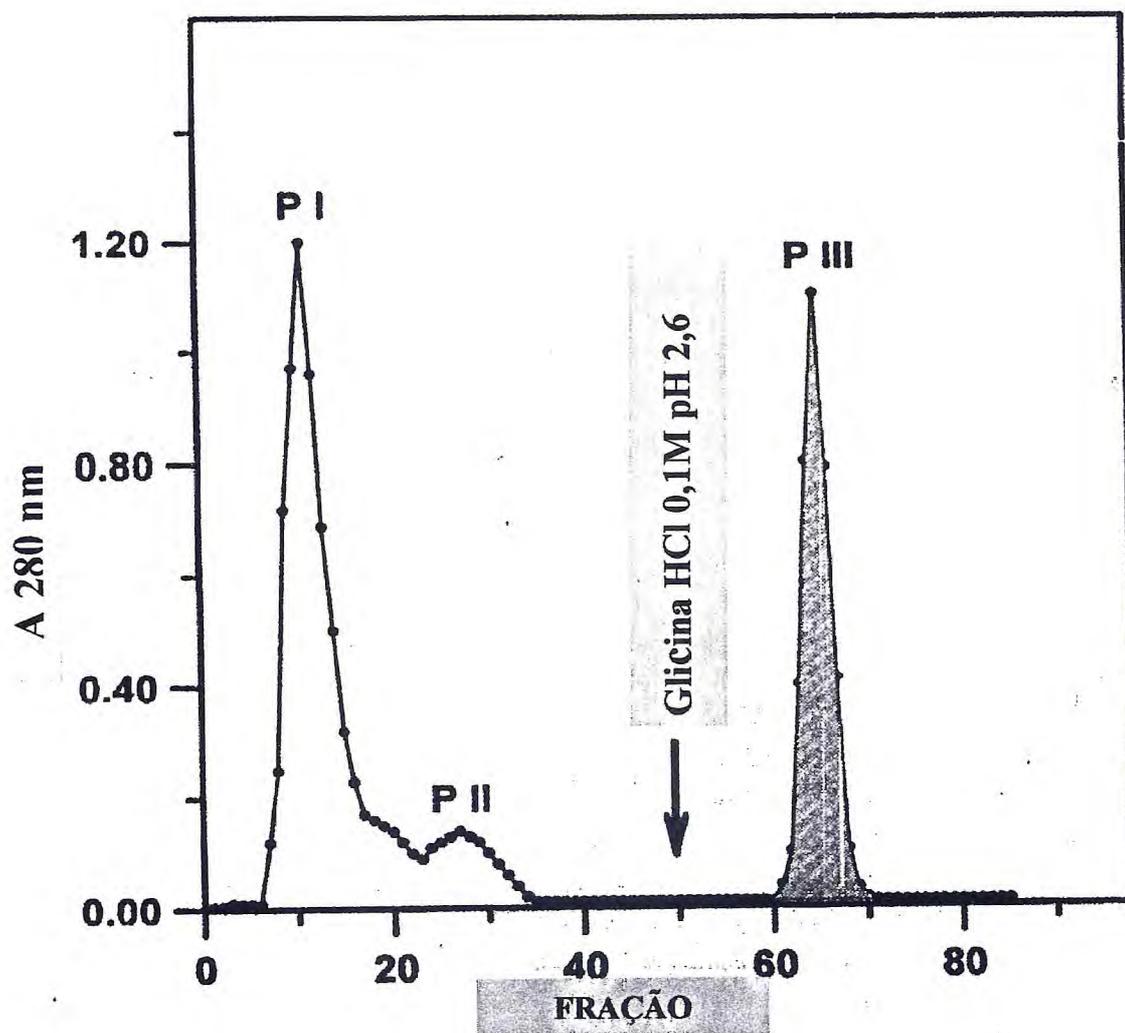


FIGURA 4 – Cromatografia de Afinidade em Coluna de Sephadex G-50 da Lectina de Sementes de *Dioclea violácea*

A corrida eletroforética foi realizada a uma amperagem constante de 20 mA por um período de 2 horas, utilizando-se como tampão de corrida, tris 0,025 M (tris-hidroxiaminometano) pH 8,3, com glicina a 0,192 M e SDS a 0,1% (m/v).

As bandas protéicas foram visualizadas, corando-se o gel com Coomassie Brilliant Blue R 250 0,1% (m/v), preparado em solução de metanol 50% (v/v), ácido acético 10% (v/v) e água. Eliminou-se o excesso pela utilização da mesma solução, a exceção do corante (FIGURA 5).

### 4.3. Diluição das Lectinas

As lectinas, purificadas e liofilizadas, sofreram processo de diluição sempre no dia da realização do experimento. Primeiro foram pesadas, individualmente, usando-se uma balança analítica (Analytical Standard, tipo OHAVS), em seguida, colocadas em tubos de ensaios, antecipadamente tarados, em quantidades (mg) de lectina determinadas para cada ensaio. Através de uma pipeta graduada adicionou-se em cada tubo um volume (ml) calculado de solução salina (NaCl 0,15M), os quais posteriormente agitados, manualmente, a fim de obter-se uma mistura homogênea. O volume total da solução, em cada tubo, era de 1ml por tratamento, quer os tubos contivessem ou não o princípio ativo. Assim posto, as respectivas soluções foram aplicadas com uma pipeta graduada, individualmente, em cada papel de filtro distribuído aleatoriamente nos sauveiros com o auxílio de uma pinça esterilizada.

Conduziu-se o ensaio com as lectinas *Dioclea violacea* e *Vatairea macrocarpa*, cada uma nas seguintes doses (mg.ml<sup>-1</sup>): 0,02; 0,06; 1,00; 1,50; 2,00 e 2,50.

### 4.4. Saugeiros Artificiais

Vinte colônias artificiais da saúva do nordeste *Atta opaciceps*, utilizadas no ensaio, foram mantidas no Atinário do Núcleo de Experimentação Fitossanitária (NUCLEF) do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, em Fortaleza, Ceará, sob condições de temperatura a  $27^{\circ} \pm 0,5^{\circ}$  C, umidade relativa de

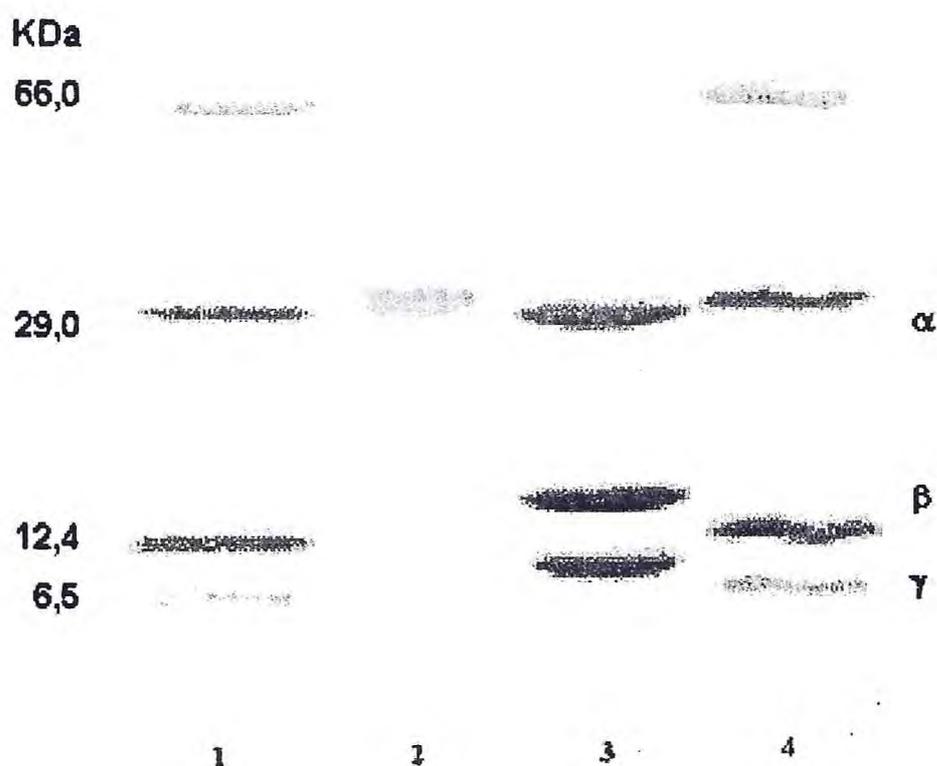


FIGURA 5 – Eletroforese em Gel de Poliacrilamida 15% (m/v) em presença de SDS e de  $\beta$ - mercaptoetanol. Poço 1 e 4 – Marcadores de Massa Moleculares: Albumina Sérica Bovina (66 kDa), Anidrase Carbônica (29 kDa), Citocromo C (12,4 kDa), Aplotinina (6,5 kDa). Poço 2 – Lectina de *Vatairea macrocarpa*. Poço 3 – Lectina de *Dioclea violacea*.

60 ± 0,5% e fotofase de 14 horas de luz. Os saueiros estavam montados em plataformas de vidro transparente, suportadas por copos de vidro imersos numa mistura de água potável, hipoclorito de sódio e detergente neutro líquido, dentro de bandejas de alumínio. Sobre cada plataforma, puseram-se suportes de gesso e sobre estes, recipientes de vidro transparente com capacidade de 1 a 4 litros, nos quais foram cultivados os jardins do fungo *Leucoagaricus gongylophorus*. A ligação entre as plataformas deu-se por intermédio de pontes de alumínio em forma de arco, cobertas com fina camada de gesso. Os locais de provisão, onde os tratamentos foram aplicados, constituíram-se também de plataformas de vidro transparente. Mantiveram-se pequenos vidros transparentes sobre as placas de gesso onde chumaços de algodão, embebidos em água destilada, eram colocados em seu interior para manutenção da umidade necessária ao meio. Desta forma, compoe-se cada unidade do saueiro (FIGURA 6). As plataformas de provisão destinadas ao tratamento, assim como as pontes de alumínio, foram higienizadas com sabão neutro líquido, esponja, água corrente, água destilada, após o que, postas a secar em estufa a 100°C por uma hora e logo depois resfriadas. Tal procedimento realizou-se 24 horas antes do início de cada ensaio para que não houvesse a contaminação ou a impregnação de odores.

#### **4.5. Análise das Lectinas Vegetais sobre as Atividades Comportamentais, a Biologia e o Fungo Cultivado pela Saúva do Nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae)**

##### **4.5.1. Tratamentos e Delineamento Experimental**

Os ensaios envolveram 12 (doze) unidades experimentais (saueiros artificiais) semelhantes, considerando-se o total de 14 (catorze) tratamentos, dos quais 12 (doze) em função das lectinas (2) x doses (6) e os outros 2 (dois) em função dos tratamentos testemunhas (papel de filtro e, papel de filtro + solução salina), com 3 (três) repetições, cada. Os tratamentos, segundo o delineamento inteiramente casualizado estão definidos a seguir:

- 1- T<sub>0</sub>: Papel de Filtro
- 2- T<sub>1</sub>: Papel de Filtro + Solução Salina



FIGURA 6 – Saveiros Artificiais de *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939, em vista parcial, exibindo as unidades experimentais e a disposição dos tratamentos na área de provisão. Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

- 3- LDv<sub>1</sub>: Papel de Filtro + Lectina *D. violacea* na dose 0,02 mg.ml<sup>-1</sup>
- 4- LDv<sub>2</sub>: Papel de Filtro + Lectina *D. violacea* na dose 0,06 mg.ml<sup>-1</sup>
- 5- LDv<sub>3</sub>: Papel de Filtro + Lectina *D. violacea* na dose 1,00 mg.ml<sup>-1</sup>
- 6- LDv<sub>4</sub>: Papel de Filtro + Lectina *D. violacea* na dose 1,50 mg.ml<sup>-1</sup>
- 7- LDv<sub>5</sub>: Papel de Filtro + Lectina *D. violacea* na dose 2,00 mg.ml<sup>-1</sup>
- 8- LDv<sub>6</sub>: Papel de Filtro + Lectina *D. violacea* na dose 2,50 mg.ml<sup>-1</sup>
- 9- LVm<sub>1</sub>: Papel de Filtro + Lectina *V. macrocarpa* na dose 0,02 mg.ml<sup>-1</sup>
- 10-LVm<sub>2</sub>: Papel de Filtro + Lectina *V. macrocarpa* na dose 0,06 mg.ml<sup>-1</sup>
- 11-LVm<sub>3</sub>: Papel de Filtro + Lectina *V. macrocarpa* na dose 1,00 mg.ml<sup>-1</sup>
- 12-LVm<sub>4</sub>: Papel de Filtro + Lectina *V. macrocarpa* na dose 1,50 mg.ml<sup>-1</sup>
- 13- LVm<sub>5</sub>: Papel de Filtro + Lectina *V. macrocarpa* na dose 2,00 mg.ml<sup>-1</sup>
- 14- LVm<sub>6</sub>: Papel de Filtro + Lectina *V. macrocarpa* na dose 2,50 mg.ml<sup>-1</sup>

Realizaram-se, ao todo, 12 ensaios, cada quinze dias, quando os sauveiros, em condições semelhantes de desenvolvimento, foram submetidos aos diferentes tratamentos nas suas respectivas doses, obedecendo-se, então, o intervalo de recuperação pertinente a cada sauveiro observado, época em que eram providos com folhas e/ou flores de *Cassia* sp. (Leguminosae) ou polpa de laranja. Submetiam-se os sauveiros igualmente ao jejum por um período de 24 horas antes do início de cada ensaio. Todos apresentavam, na ocasião, bom condicionamento da massa fúngica (FIGURA 7).

Avaliou-se o comportamento das operárias da saúva *Atta opaciceps*, sob a influencia dos tratamentos, em função do tempo, dose e tipo de resposta, quantificando-se o número de operárias em atividade inerente ao propósito estudado. Foram consideradas as variáveis: comportamento apetitivo, comportamento consumatório, porcentagens de sobrevivência e longevidade média da saúva em cada tratamento. Observou-se a seguir *A. opaciceps* com os respectivos registros, os seguintes parâmetros: 1) Acesso à área de provisão; 2) Acesso ao papel de filtro (suporte do tratamento); 3) Marcação de território na área de provisão; 4) Marcação de território na área do papel de filtro (suporte do tratamento); 5) Exploração do local do tratamento; 6) Exploração do local do tratamento e recrutamento; 7) Início do corte do papel de filtro (suporte do tratamento); 8) Corte e transporte; 9) Altura do fungo e 10) Material transportado (%).



FIGURA 7. Sauveiro Artificial de *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939, em vista parcial, exibindo jardins fúngicos de *Leucoagaricus gongylophorus* e a disposição dos mesmos nas unidades experimentais, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Assim, cada parâmetro ou atividade das formigas, nominalmente repetida, foi caracterizado pelas seguintes ocorrências:

1) Acesso à área de provisão: número de operárias que se direcionava à plataforma de vidro transparente na extremidade do sauveiro, área em que se colocou o tratamento em questão.

2) Acesso ao papel de filtro (local de aplicação do tratamento): número de operárias que se encontrava sobre o papel de filtro na área de provisão.

3) Marcação de território na área de provisão: número de operárias que se apresentava realizando toques intermitentes com a extremidade do gáster na plataforma de vidro e levantava o flagelo antenal, realizando movimentos oscilatórios com o mesmo e ainda dava pequenos toques antenais na superfície de vidro, em sinal de percepção ao estímulo recebido.

4) Marcação de território na área do papel de filtro: número de operárias que apresentava comportamento semelhante ao citado no item precedente, mas na área do papel de filtro.

5) Exploração do local do tratamento: número de operárias que ao alcançar a fonte de estímulo (tratamento) concentrava suas atividades sobre o papel de filtro, realizando, por vezes, as operárias, pequenas paradas e toques antenais, a exemplo do comportamento anteriormente descrito.

6) Exploração do local do tratamento e recrutamento: em função do tipo de comportamento externado pelas operárias na área da fonte de estímulo (papel de filtro), verificando-se a comunicação processada entre as formigas, ao retornar a sede real, através do número de operárias recrutadas na comunidade.

7) Início do corte do papel de filtro: número de operárias que executava o corte do papel de filtro (suporte do tratamento), decorrente da exploração do tratamento.

8) Corte e transporte do papel de filtro: número de operárias que após o corte do papel de filtro (suporte do tratamento) transportava os fragmentos para o interior da colônia, sendo estes depositados na massa fúngica.

Nos ensaios, a atividade das operárias que sincronizava a busca de provisão foi avaliada ao longo do tempo. O primeiro experimento ocorreu no lapso de uma hora, a partir de 15 horas, a intervalos de 10 em 10 minutos, culminando, portanto, às 16 horas, num total de seis tempos analisados. No segundo experimento, realizado em seqüência, as observações foram consideradas a partir

das 16:10 horas, a intervalos de hora em hora, estendendo-se o tempo até às 21:10 horas, consolidando também seis tempos estudados. Avaliaram-se ainda, as atividades após 24 horas do início do primeiro experimento. Seguiu-se sempre a mesma metodologia de percurso, de acordo com a disposição dos sauveiros instalados no espaço físico do laboratório.

O material (papel de filtro) não transportado pelas saúvas para o interior do sauveiro, durante os ensaios, foi registrado, recolhido e acondicionado adequadamente, decorridos 24 (vinte e quatro) horas do início da pesquisa, para avaliação posterior. Tal procedimento transcorreu da metodologia aplicada, a fim de não haver qualquer interferência nas respostas das operárias. Para tanto, o ambiente foi mantido praticamente desprovido de ruídos e odores, utilizando-se sempre máscaras, luvas e pinças esterilizadas, além de calçados e vestimentas apropriadas.

Mensurou-se, em cm, a altura do jardim de fungo decorridos 7 (sete) dias da realização de cada ensaio, para avaliação do efeito dos tratamentos aplicados, registrando-se a altura máxima da massa fúngica em quatro pontos eqüidistantes e aplicando-se a média aritmética nos dados coletados.

A análise estatística foi realizada em dois momentos. No primeiro, analisaram-se os parâmetros comportamentais no lapso da primeira hora e, no segundo, os mesmos parâmetros, de hora em hora. Os dados foram analisados em sua forma original, sem transformação.

#### **4.6. Metodologia da Análise Estatística**

A metodologia estatística baseou-se nos modelos para medidas repetidas no tempo (SINGER e ANDRADE, 1986) e modelos para tratamentos adicionais (PIMENTEL GOMES, 1978), considerando-se tratamentos adicionais as 2 (duas) testemunhas (papel de filtro e papel de filtro + solução salina), pelo fato de as mesmas não terem sido utilizadas em diferentes doses.

Os tratamentos avaliados somaram um total de 14 (catorze), dos quais 12 (doze) vieram em função do delineamento fatorial lectinas (2) x doses (6) e os outros 2 (dois) em função das testemunhas. Desta forma, a observação do i-ésimo

tratamento ( $i = 1, 2, \dots, 14$ ), no  $j$ -ésimo saubeiro ( $j = 1, 2, 3$ ), no  $k$ -ésimo tempo ( $k = 1, 2, \dots, 6$ ), pode ser expressa pelo modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{j(i)} + \beta_k + \tau\beta_{ik} + \varepsilon_{jk(i)}$$

onde:

$\mu$ : representa o efeito da média geral;

$\tau_i$ : representa o efeito do tratamento  $i$ ;

$\varepsilon_{j(i)}$ : representa o efeito do erro dentro da parcela principal, chamado resíduo 1;

$\beta_k$ : representa o efeito do tempo  $k$ ;

$\tau\beta_{ik}$ : representa o efeito da interação tratamento  $i$  no tempo  $k$ ;

$\varepsilon_{jk(i)}$ : representa o efeito do erro dentro da sub-parcela, chamado resíduo 2.

O modelo adotado é equivalente ao de parcelas subdivididas ou split-plot, sendo que, neste caso, o tempo é fator considerado na subparcela. Tal abordagem é também conhecida como parcela subdividida no tempo (CAMPOS, 1984; MONTGOMERY, 1991).

A análise foi realizada da forma usual, através da Análise de Variância, a não ser para a subparcela (tempo) e na interação Tempo x Tratamento em que se efetuou, em algumas situações, uma correção para os graus de liberdade desses efeitos e do resíduo 2. As correções aplicadas foram baseadas nos testes de Geisser e Greenhouse e no teste F-Conservativo (SINGER e ANDRADE, 1986).

Ao se verificar o efeito significativo dos tratamentos, procederam-se desdobramentos em função do fatorial (lectina x dose) e das testemunhas. Para os testes de comparação de médias a posteriori, aplicou-se o teste de Tukey e, quando significativo o efeito das doses do fatorial, foi feito um ajuste do modelo de regressão para as mesmas. Na interação significativa das testemunhas e nos demais tratamentos do fatorial empregou-se o teste de Dunnett (Winner, 1971) para a comparação de cada testemunha com os demais tratamentos.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Comportamento da Saúva do Nordeste *Atta opaciceps* na Busca de Provisão

No comportamento das saúvas intercedem substâncias químicas que transmitem estímulos capazes de desenvolver comportamentos específicos, disciplinando as interações sociais que vão do acasalamento à definição de castas, importantes, contudo, para a manutenção e sobrevivência da espécie.

Os padrões de comportamento, que evidenciam as diferentes reações de operárias da saúva do nordeste *Atta opaciceps* frente aos tratamentos ensaiados e suas respectivas combinações, foram registrados ao longo dos experimentos em períodos de tempo diferenciados. A metodologia utilizada de observações diretas ao longo do tempo, nos sauveiros artificiais, em intervalos de dez em dez minutos, na primeira hora, e, de hora em hora no lapso de seis horas, mostrou-se perfeitamente adequada para a análise da influência das lectinas *Dioclea violacea* e *Vatairea macrocarpa* sobre o etograma da espécie e para investigar o comportamento que caracteriza a busca de provisão.

Constatou-se na fase experimental, em laboratório, que a introdução da fonte de estímulo, i.é., tratamentos, na área de provisão, desencadeou uma sucessão de eventos comportamentais compatíveis com aqueles observados em condições naturais de campo, peculiares ao etograma da espécie (BEZERRA, 1995). Lá, a busca pela provisão acontece sempre que o estímulo é percebido por uma ou mais operárias; neste caso, as formigas denominadas batedoras, que se movimentam nas circunvizinhanças e incitam o recrutamento de outras operárias, podendo ser estas cortadeiras e/ou transportadeiras e soldados, para desempenharem o processo de coleta e transporte do material da área de provisão até a sede real. O soldado, designado para fazer a defesa, realiza, por vezes, também o transporte.

No sauveiro artificial, a busca em quase todas as unidades experimentais foi iniciada assim que os tratamentos foram postos na área de provisão, deduzindo-se que ocorreu a percepção do estímulo oriundo do meio externo, através do incitamento de operárias denominadas batedoras, naquela direção. Em sua postura

natural na sede real, a operária permanece com os três pares de patas apoiados sobre a superfície, na qual repousa. No momento em que um estímulo químico proveniente da sede real ou do meio externo atinge seus órgãos sensoriais, esta passa a mover os flagelos antenais, tocando-os sobre a superfície, na qual se encontra, movimentando-se, em seguida, pela sede real até alcançar a saída. Ergue, então, os flagelos antenais, fazendo movimentos oscilatórios com a porção terminal destes, e assim, avalia o estímulo recebido. Depois se desloca ao local do estímulo, tocando sempre os flagelos antenais e a extremidade do gáster, de modo intermitente, no caminho que está percorrendo (trilha), descrevendo uma trajetória em ziguezague e/ou ondulatória, até localizar e identificar o estímulo. O toque do gáster enseja a deposição do feromônio de trilha que marca o caminho perseguido pela operária designada como batedora. Os rituais iniciados com a percepção do estímulo até culminar na localização e identificação da fonte de estímulo que servirá de substrato ao desenvolvimento do fungo compõem o que se define como comportamento apetitivo (BEZERRA, 1995). Ao identificar a fonte de provisão, a batedora, após um período de avaliação antenal que acontece em poucos segundos, toma uma das seguintes atitudes: a) faz contato com a fonte, avalia e retorna à sede real sem levar material da fonte de estímulo, tocando, ocasionalmente, a extremidade do gáster na trilha e mantendo os flagelos antenais abaixados; b) não faz contato e retorna à sede real como em "a"; c) mantém contato, avalia, corta e retorna à sede transportando o material da fonte e agindo com em "a". Depois de uma das três possibilidades ocorre o recrutamento de outras operárias para auxiliarem no corte e transporte de provisão para o fungo. Estas etapas finais de avaliação, recrutamento, corte e transporte do material para a sede real, define-se como comportamento consumatório.

## **5.2. Ação das Lectinas de Sementes de *Dioclea violacea* e *Vatairea macrocarpa* no Comportamento da Saúva do Nordeste *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae)**

De acordo com os padrões de comportamento selecionados para a investigação, os tratamentos aplicados incitaram o ritual normal do processo de busca, corte, transporte e preparação de substrato ao fungo cultivado pela saúva do

nordeste. As operárias exibiram reações aos tratamentos: papel de filtro, papel de filtro com a solução salina (NaCl 0,15M) e papel de filtro com as lectinas de sementes de *Dioclea violácea* (LDv) e de *Vatairea macrocarpa* (LVm), diluídas em solução salina, cada uma nas doses ( $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ): 0,02; 0,06; 1,00; 1,50; 2,00 e 2,50.

### **5.2.1. Análise das Características de Comportamento da Saúva do Nordeste *Atta opaciceps* no Lapso da Primeira Hora, Correspondendo a Intervalos de Dez em Dez Minutos.**

Na TABELA 1 estão contidos os valores obtidos para a análise de variância em relação à variável Acesso a Área de Provisão de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps*. Na TABELA 2 encontram-se os dados, para a análise de variância, relativos a variável Marcação de Território na Área de Provisão. Examinando-se essas tabelas, não se observou, efeito significativo ( $p>0,05$ ) das diferentes lectinas, doses, testemunhas e nem das interações desses fatores no comportamento do número de formigas que desempenharam essas atividades no lapso da primeira hora do ensaio. Verificou-se que o teste “F” foi significativo ( $p<0,05$ ) somente para o fator tempo, em ambos os casos, indicando que há uma dependência do tempo para que se manifestem as etapas consecutivas à percepção de qualquer estímulo diferenciado (comportamento apetitivo) na área externa ou interna (sede real) do sauveiro, o que pode ser verificado, também, através do teste de comparação de médias cujos resultados mostram médias mais altas para a variável Acesso à Área de Provisão nos tempos 15:20 h e 15:30 h, sendo estas estatisticamente iguais, conforme o QUADRO 1 em APÊNDICE, fato perfeitamente revelado através da FIGURA 8. Na FIGURA 9 e QUADRO 2 (APÊNDICE), percebe-se às 15:20 h, 15:30 h e 15:40 h médias mais altas para a variável Marcação de Território na Área de Provisão. Todavia, as médias mais baixas são observadas nos momentos 15:10 h, 15:50 h e 16:00 h, para com este mesmo comportamento. O deslocamento das batedoras da sede real ao local do estímulo, objetiva o transporte de provisão, comportamento essencial ao sucesso de sauveiros naturais e artificiais. Tal comportamento ocorre quando o estímulo correto é percebido, fazendo, também, com que as saúvas assegurem o caminho a ser percorrido, marcando sua

TABELA 1. Análise de Variância do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Acesso à Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Fonte de Variação	G.L.	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	Pr > F	
Tratamento	13	58.953,10	4.534,85	1,39	0,1906	
Resíduo1	58	188.794,05	3.255,07			
Tempo	5	10.582,48	2.116,50	3,30	0,0064*	G - G 0,0306**
Tempo x Tratamento	65	26.333,30	405,13	0,63	0,9862	
Resíduo2	290	185.805,56	640,71			
Total	431	470.468,50				

Nota: \* = significativo a 1%, \*\* = significativo a 5%, \*\*\* = significativo a 10%,  
G-G = Teste Geisser e Greenhouse

TABELA 2. Análise de Variância do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Marcação de Território na Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Fonte de Variação	G.L.	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	Pr > F	
Tratamento	13	101,16	7,78	0,92	0,5407	
Resíduo1	58	491,81	8,48			
Tempo	5	50,73	10,14	4,60	0,0005*	F-Conservativo 0,0362**
Tempo x Tratamento	65	125,74	1,93	0,88	0,7347	
Resíduo2	290	639,96	2,21			
Total	431	1.409,41				

Nota: \* = significativo a 1%, \*\* = significativo a 5%, \*\*\* = significativo a 10%.

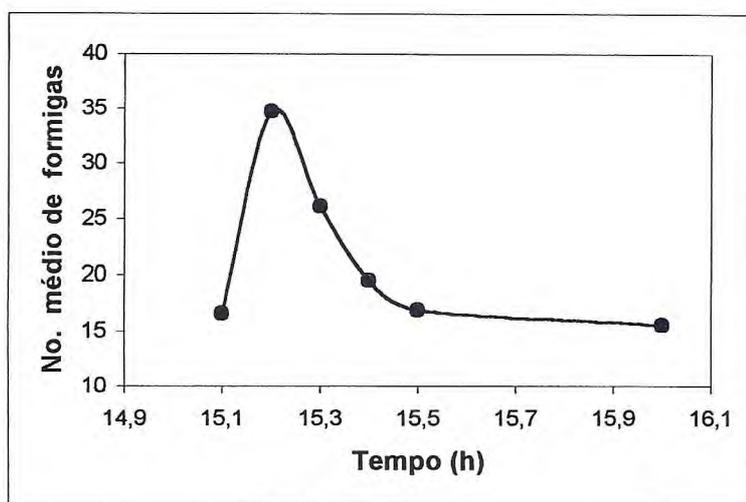


FIGURA 8. Valores médios, ao longo do tempo(h), do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Acesso à Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

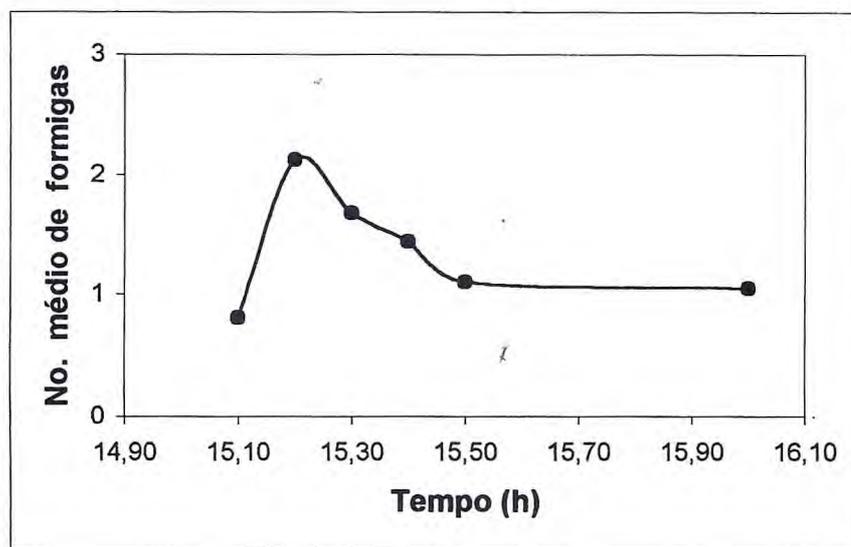


FIGURA 9. Valores médios, ao longo do tempo(h), do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Marcação de Território na Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

*territorialidade na área com toques intermitentes da extremidade do gáster e, ainda, com toques antenais na superfície da área de provisão.*

A TABELA 3 exibe a análise de variância concernente a variável Acesso ao Papel de Filtro. Pode-se observar o efeito significativo ( $p < 0,05$ ) das diferentes lectinas no comportamento do formicídeo, contudo, as doses, as testemunhas e as interações destes fatores não se manifestaram significativamente, assim como o tempo ( $p > 0,05$ ), demonstrando que as saúvas localizaram e identificaram as diferentes lectinas, fontes de estímulo, observando-se, neste ensejo, outros dois estágios característicos do padrão do comportamento apetitivo. No QUADRO 3 (APÊNDICE), o teste de Tukey para comparação das médias nas formulações lectínicas avaliadas, assim como na FIGURA 10 pode-se constatar a expressiva diferença do número médio de operárias com acesso ao papel de filtro com as lectinas. A média maior corresponde à lectina de sementes de *Vatairea macrocarpa*, demonstrando a elevada preferência das saúvas por esta lectina.

Na análise da variável, Marcação de Território na Área do Papel de Filtro, (TABELA 4), os dados revelaram efeito significativo ( $p < 0,05$ ) das diferentes doses das lectinas no comportamento do atíneo. Este padrão de comportamento, marcação de território, é compatível com o etograma da saúva do nordeste e é parte integrante das atividades desenvolvidas pelo inseto na exploração e avaliação de recursos ou provisão para o cultivo do fungo, assegurando à comunidade dos formicídeos a territorialidade e a magnitude da área especulada. O modelo de regressão na FIGURA 11 quantifica o fenômeno entomológico descrito na TABELA 4, através de uma regressão polinomial de quarto grau em função das doses.

Os sinais químicos utilizados na marcação de trilha para acesso a área de provisão podem ser modulados para a marcação de áreas em volta do sauveiro e/ou nos locais de fonte de provisão. O território marcado interfere no comportamento das formigas naquela área.

A TABELA 5 e o QUADRO 4 (APÊNDICE) correspondem à avaliação do comportamento de formigas que fizeram a exploração do local do tratamento. O tempo e a interação tempo x tratamento mostraram efeito significativo ( $p < 0,10$ ). Isto se explica porque ao identificar a fonte de provisão, o inseto inicia a avaliação da mesma. Na FIGURA 12 pode-se observar como é crescente o número de operárias nesta atividade no primeiro momento, i.é., 15:10h, 15:20h e 15:30h, mantendo-se praticamente a mesma média, posteriormente. Nesta fase, a formiga

TABELA 3. Análise de Variância do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Acesso ao Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Fonte de Variação	G.L.	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	Pr > F
Tratamentos	13	2.443,33	187,95	1,55	0,1271
Lectinas	1	573,63	573,63	4,73	0,0337**
Doses	5	941,54	188,31	1,55	0,1887
Lectina x Dose	5	725,15	145,03	1,20	0,3206
Testemunhas	1	146,69	146,69	1,21	0,2759
Testemunhas x Fatorial	1	56,33	56,33	0,46	0,5003
Resíduo1	58	7.028,19	121,18		
Tempo	5	112,06	22,41	1,41	0,2196
Tempo x Tratamento	65	1.240,58	19,09	1,20	0,1564
Resíduo2	290	4.601,48	15,87		
Total	431	15.425,64			

Nota: \* = significativo a 1%, \*\* = significativo a 5%, \*\*\* = significativo a 10%.

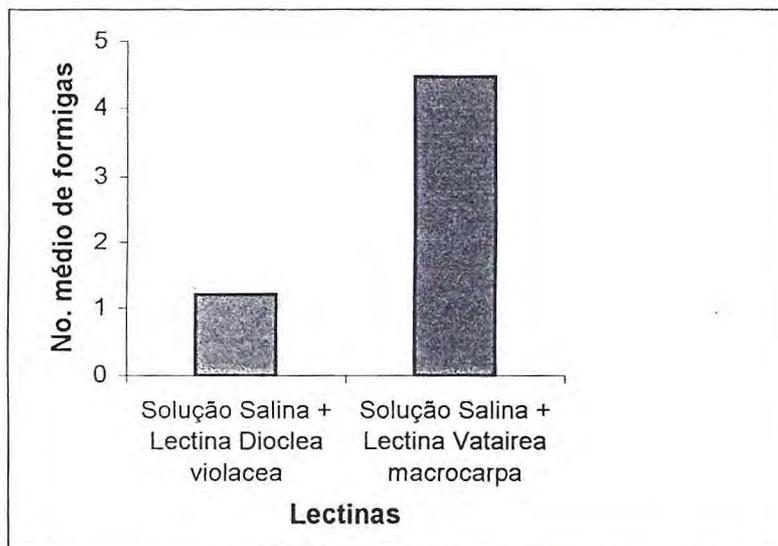


FIGURA 10. Valores médios, por formulação de lectina, do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Acesso ao Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

TABELA 4. Análise de Variância do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Marcação de Território na Área do Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Fonte de Variação	G.L.	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	Pr > F
Tratamentos	13	25,67	1,97	1,91	0,0475**
Lectinas	1	2,67	2,67	2,58	0,1136
Doses	5	13,89	2,78	2,69	0,0297**
Linear	1	2,80	2,80	2,71	0,1051
Quadrática	1	2,33	2,33	2,26	0,1382
Cúbica	1	1,73	1,73	1,68	0,2000
4 <sup>o</sup> grau	1	4,86	4,86	4,70	0,0343**
5 <sup>o</sup> grau	1	2,16	2,16	2,09	0,1536
Lectina x Dose	5	6,61	1,32	1,28	0,2849
Testemunhas	1	1,67	1,67	1,62	0,2082
Testemunhas x Fatorial	1	0,84	0,84	0,81	0,3718
Resíduo1	58	59,93	1,03		
Tempo	5	2,58	0,52	1,16	0,3298
Tempo x Tratamento	65	36,34	0,56	1,26	0,1075
Resíduo2	290	129,12	0,44		
Total	431	253,65			

Nota: \* = significativo a 1%, \*\* = significativo a 5%, \*\*\* = significativo a 10%.

Modelo de regressão:  $Y = -1,77 + 3,93D - 2,37D^2 + 0,54D^3 - 0,04D^4$ , sendo  $D = 1, 2, 3, 4, 5, 6$  (doses) e  $Y =$  número médio de formigas no comportamento Marcação de Território na Área do Papel de Filtro.

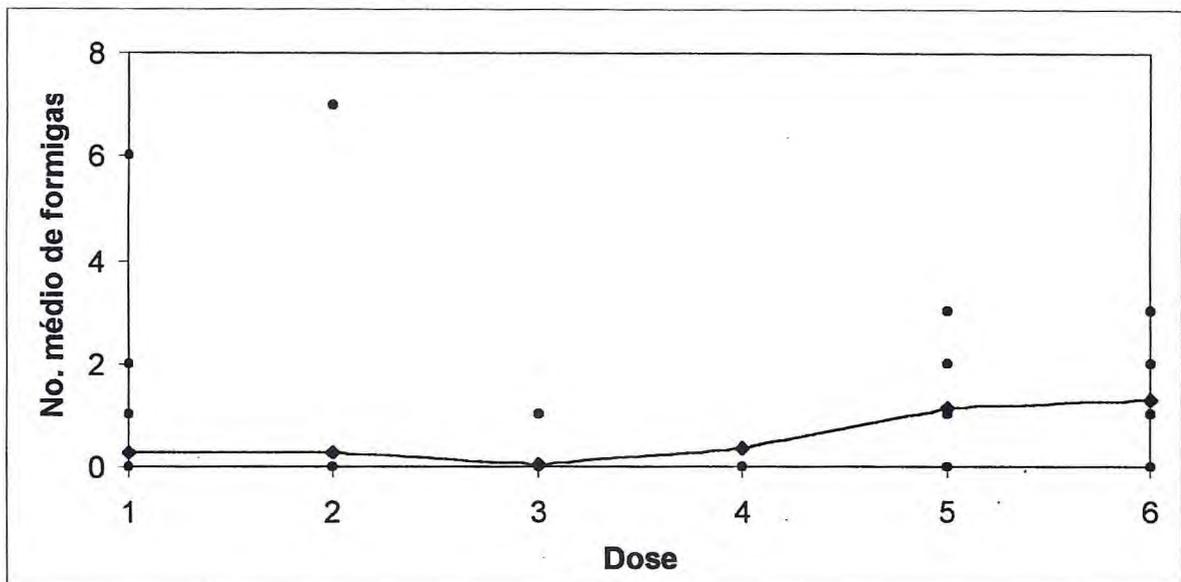


FIGURA 11. Regressão do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Marcação de Território na Área do Papel de Filtro em função das doses, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

TABELA 5. Análise de Variância do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Exploração do Local do Tratamento, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Fonte de Variação	G.L.	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	Pr > F	
Tratamentos	13	1.303,65	100,28	1,39	0,1931	
Resíduo1	58	4.190,12	72,24			
Tempo	5	95,76	19,52	2,03	0,0744***	G - G
Tempo x Tratamento	65	863,91	13,29	1,41	0,0309**	0,0857***
Resíduo2	290	2.735,71	9,43			
Total	431	9.189,16				

Nota: \* = significativo a 1%, \*\* = significativo a 5%, \*\*\* = significativo a 10%,  
G-G = Teste Geisser e Greenhouse

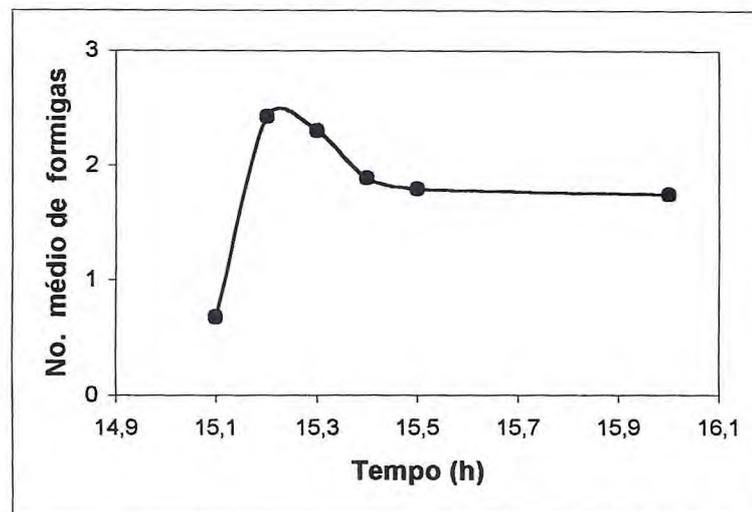


FIGURA 12. Valores médios, ao longo do tempo (h), do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Exploração do Local do Tratamento, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

permanece um tempo parada sobre o local explorado, levanta os flagelos antenais e avalia o estímulo com movimentos oscilatórios da porção terminal das antenas, em seguida, desloca-se um pouco sobre a área e procede com o mesmo ritual, que se repete algumas vezes. Após o período de avaliação, toma uma das iniciativas como descritas no item 5.1. A consequência deste comportamento é o recrutamento de operárias. As etapas de avaliação e retorno à sede real configuram a primeira etapa do comportamento consumatório. Ao analisar-se os valores médios do número de operárias de saúva do nordeste *Atta opaciceps*, obtidos no lapso da primeira hora dos ensaios, referentes aos diferentes tratamentos aplicados e seus respectivos tempos, para avaliação da variável Exploração do Local do Tratamento, percebeu-se as diferentes reações das operárias às lectinas em suas doses mais altas e as mais baixas, não houve, porém, diferença estatística entre as doses intermediárias ( $1,00 \text{ mg.ml}^{-1}$  e  $1,50 \text{ mg.ml}^{-1}$ ) de ambas as lectinas e nem entre as doses  $0,02 \text{ mg.ml}^{-1}$  e  $0,06 \text{ mg.ml}^{-1}$  da lectina *Dioclea violacea* e a testemunha papel de filtro, segundo o QUADRO 5 (APÊNDICE). Comprova-se na FIGURA 13 a grande influência da lectina *Vatairea macrocarpa* no comportamento estudado, pelo registro de números consideráveis de operárias de *A. opaciceps* reagindo às doses ( $\text{mg.ml}^{-1}$ ): 0,02; 2,00 e 2,50, da referida proteína.

Nas observações procedidas para o estudo da variável Exploração do Local do Tratamento e Recrutamento, não se pode avaliar o número de operárias realizando este tipo de comportamento, tendo em vista que, os dados não apresentaram resultados significativamente diferentes de zero, o que impossibilitou o uso da metodologia de análise estatística. Neste estudo percebeu-se em algumas unidades experimentais, a ocorrência de um número mínimo de formigas desenvolvendo tal atividade (recrutamento), em outras não se denotava qualquer reação. Contudo, nos demais sauveiros, registrou-se uma afluência de operárias oriundas da sede real. Tal atitude permite discernir que o estímulo químico foi percebido, numa brevidade de tempo, pelas operárias, dentro da sede real, como se as formigas batedoras já estivessem em estado de alerta, prontas a atenderem qualquer acontecimento na área externa do sauveiro, e como resposta ao estímulo recebido desencadeou-se uma reação de deslocamento da sede real até a fonte de provisão, de um relevante número de operárias, sem que se observasse um recrutamento propriamente dito. Segundo Sales (1994), o estímulo químico

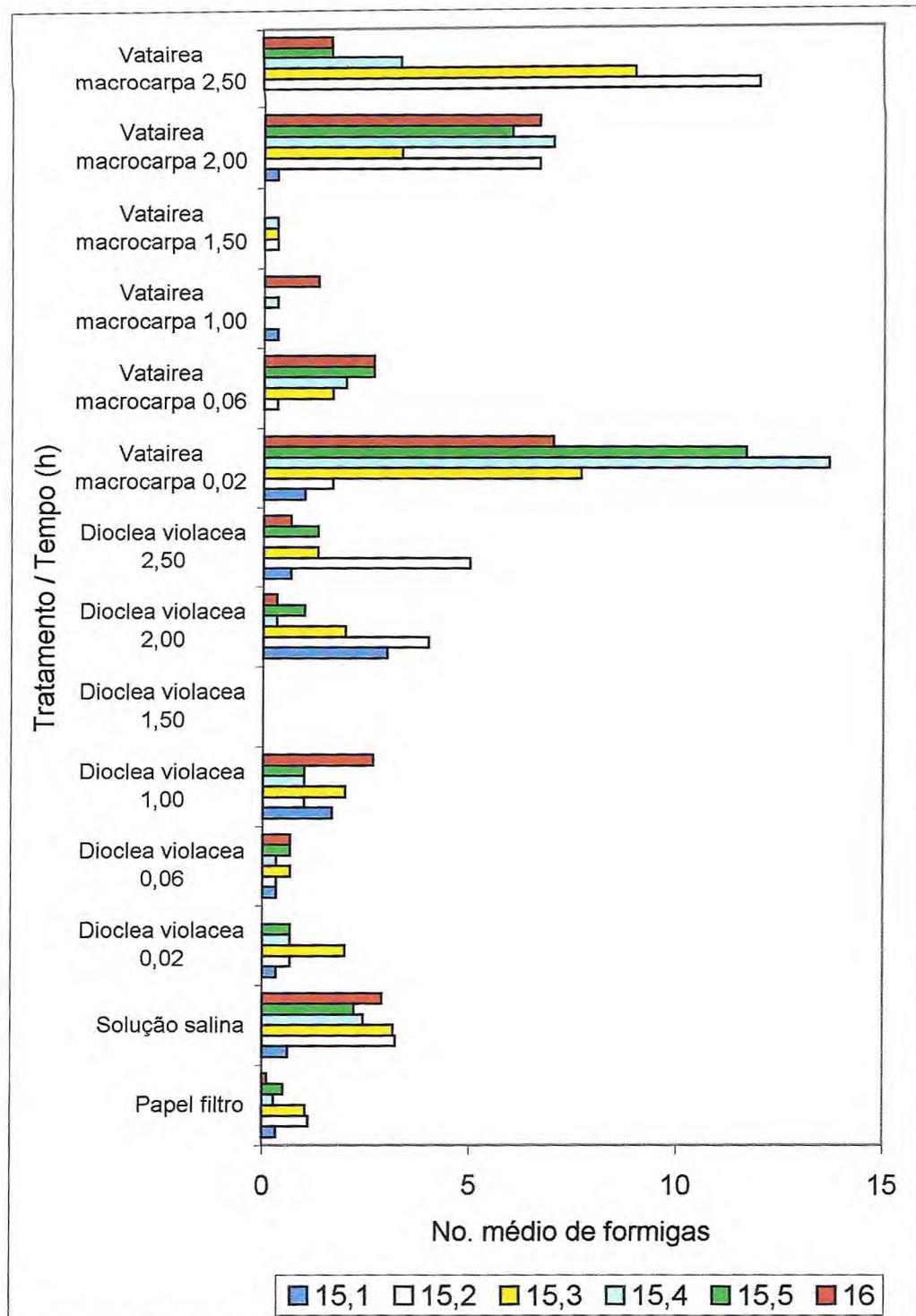


FIGURA 13. Valores médios por tratamento, ao longo do tempo (h), do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), no comportamento Exploração do Local do Tratamento, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

desencadeia o início e a manutenção da busca de provisão na saúva do nordeste *Atta opaciceps*. O comportamento das saúvas na busca de provisão sofre influências de natureza física, química e biológica, ou ainda uma combinação de algumas destas, consoante Moreira (1997). Por conseguinte, a quantidade de operárias recrutadas para a fonte de provisão pode sobrevir da atratividade da provisão, da qualidade nutricional da mesma e, das necessidades nutricionais do sauveiro. A reação a determinado estímulo depende, ainda, do estado fisiológico que o inseto apresenta, de seu desenvolvimento biológico, além de outros fatores.

Ao avaliar-se a dinâmica populacional verificou-se que as formigas recrutadas eram jardineiras, principalmente cortadeiras e/ou transportadeiras e, uma vez ou outra, ergatóginas, intermediárias entre soldados e cortadeiras, agindo estas como elementos de defesa, posto que, nos sauveiros artificiais não há o soldado.

A TABELA 6 encerra os valores referentes ao número de operárias que iniciaram o corte do papel de filtro. Somente o tempo apresentou efeito significativo ( $p < 0,05$ ). Durante o período de exploração da fonte de estímulo, operárias, a exemplo de uma das iniciativas das etapas de avaliação já mencionadas no item 5.1, iniciaram o corte do material especulado após o período de avaliação do mesmo. Ao tempo em que este parâmetro foi observado constataram-se operárias de vários tamanhos no local, além de um aumento gradativo do número de operárias na atividade de corte do papel de filtro (FIGURA 14). Nos horários de 15:40h, 15:50h e 16:00h, ocorreram médias mais altas, mas não diferiram estatisticamente (QUADRO 6, APÊNDICE).

Os resultados que exprimem o número de operárias que realizaram o corte e o transporte do papel de filtro não se mostraram significativamente diferentes de zero. Tal efeito impediu o uso da metodologia de análise estatística. Vale ressaltar, porém, que nas observações desta variável, mesmo havendo uma grande concentração de operárias na atividade de corte, somente algumas, ao finalizarem o corte, transportavam, indicando que o número de operárias que realizava o transporte não era elevado. Assim, certa quantidade de material cortado permanecia no local, sendo transportado depois de algum tempo. Somente após o recrutamento de outros membros da comunidade para auxiliarem no corte e no transporte dos substratos - tratamentos, consolida-se o transporte propriamente dito, havendo a participação da maioria das castas. O transporte pode ser individual ou cooperativo.

TABELA 6. Análise de Variância do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Início do Corte no Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Fonte de Variação	G.L.	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	Pr > F	
Tratamento	13	115,28	8,87	0,77	0,6849	
Resíduo1	58	665,82	11,48			
						F-Conservativo
Tempo	5	46,61	9,32	5,17	0,0001*	0,0267**
Tempo x Tratamento	65	123,17	1,89	1,05	0,3834	
Resíduo2	290	523,01	1,80			
Total	431	1.473,89				

Nota: \* = significativo a 1%, \*\* = significativo a 5%, \*\*\* = significativo a 10%.

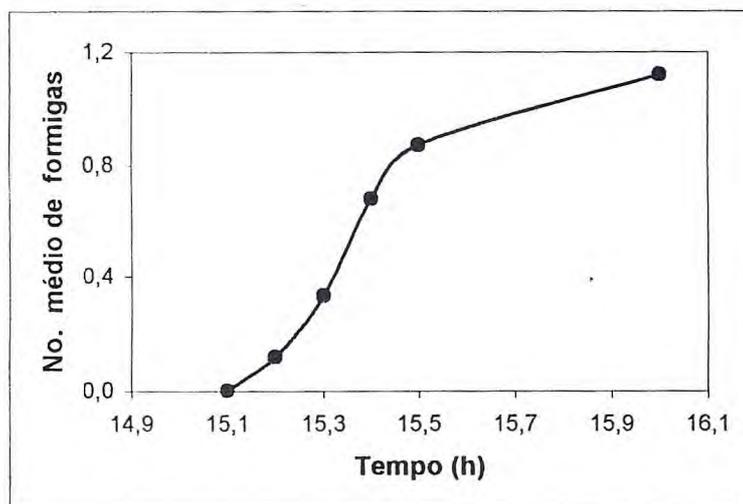


FIGURA 14. Valores médios, ao longo do tempo(h), do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Início do Corte do Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Neste último caso há a participação de outro(s) membro(s) da comunidade, dependendo do tamanho da partícula a ser transportada. A seleção do material, a ser transportado, se constitui o ponto crucial da busca de provisão, posto que, todo o material escolhido objetiva o desenvolvimento adequado da massa fúngica. Maximizar nutrientes e minimizar compostos potencialmente tóxicos parece ser regra geral dentro da colônia. O comportamento consumatório é caracterizado pela integralização destas etapas finais: avaliação, recrutamento e transporte.

No deslocamento das saúvas da sede real à fonte de provisão, de acordo com a série de comportamentos apresentados (QUADROS 1, 2, 4, 5 e 6, em APÊNDICE) no lapso de uma hora, nota-se uma tendência maior de concentração de operárias nos intervalos de tempos de 15:20h, 15:30h e 15:40h. As ações desenvolvidas pelas saúvas visam o emprego racional do tempo e do espaço, de maneira a otimizarem o processo ergonômico e assegurarem o bom êxito no desenvolvimento da espécie.

### **5.2.2. Análise das Características de Comportamento da Saúva do Nordeste *Atta opaciceps* no Lapso de Seis Horas, em Intervalos de Hora em Hora**

De conformidade com os tipos de comportamento visados nos ensaios, todas as variáveis se mostraram adequadamente perfeitas para expressarem as respostas aos tratamentos e suas interações ao longo do tempo.

A análise das características de comportamento da saúva do nordeste *Atta opaciceps* para a variável Acesso à Área de Provisão (TABELA 7), no período de seis horas, em intervalos de hora em hora, revelou as ações das testemunhas (papel de filtro e papel de filtro com a solução salina) e do tempo, sobre este tipo de comportamento, percebendo-se o efeito significativo ( $p < 0,05$ ) das testemunhas e a alta significância ( $p < 0,01$ ) em relação aos tempos observados. Na FIGURA 15, os valores das médias das testemunhas apontam a diferença entre os tratamentos papel de filtro e papel de filtro + solução salina, sendo estes estatisticamente diferentes (consoante o QUADRO 7 em APÊNDICE), evidenciando a interferência deste último no comportamento observado às formigas. A FIGURA 16 exhibe os números médios de operárias com acesso à área de provisão, notando-se que esse

TABELA 7. Análise de Variância do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento, Acesso à Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Fonte de Variação	G.L	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	Pr > F	
Tratamentos	13	85.721,54	6.593,96	1,76	0,0729***	
Lectinas	1	156,74	156,74	0,04	0,8422	
Doses	5	36.822,44	7.364,49	1,96	0,0983***	
Linear	1	1,07	1,07	0,00	0,9862	
Quadrática	1	4.343,05	4.343,05	1,16	0,2859	
Cúbica	1	20.238,82	20.238,82	5,39	0,0238**	
4 <sup>o</sup> grau	1	4.064,06	4.064,06	1,08	0,3030	
5 <sup>o</sup> grau	1	8.175,32	8.175,32	2,18	0,1452	
Lectina x Dose	5	26.625,93	5.325,18	1,42	0,2307	
Testemunhas	1	21.540,04	21.540,04	5,74	0,0198**	
Testemunhas x Fatorial	1	576,39	576,39	0,15	0,6999	
Resíduo 1	58	217.611,23	3.751,92			
Tempo	5	37.016,19	7.403,24	10,23	<0,0001*	F-Conservativo 0,0022*
Tempo x Tratamento	65	63.171,69	971,87	1,34	0,0544**	G -G 0,0742***
Resíduo 2	290	209.892,93	723,77			
Total	431	613.413,59				

Nota: \* = significativo a 1%, \*\* = significativo a 5%, \*\*\* = significativo a 10%.  
G-G= Teste Geisser e Greenhouse.

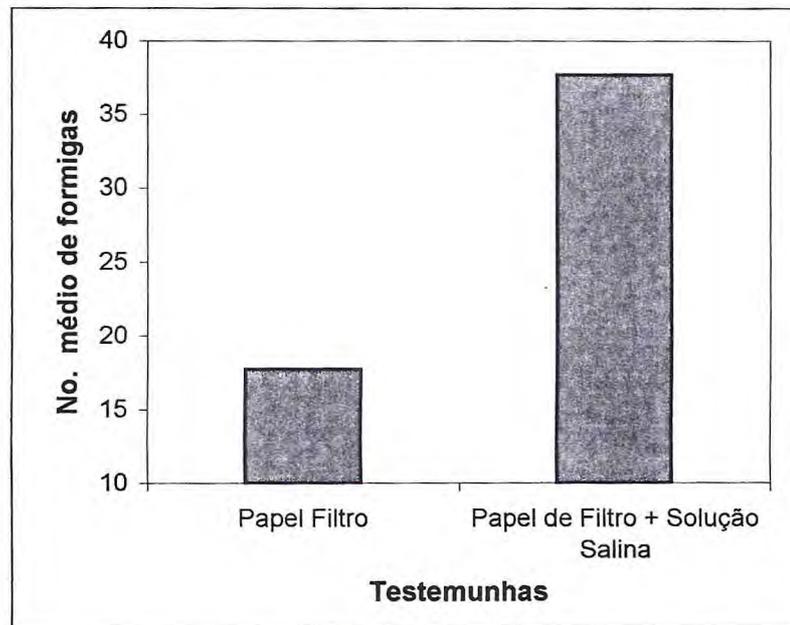


FIGURA 15. Valores médios, por testemunha, do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Acesso à Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

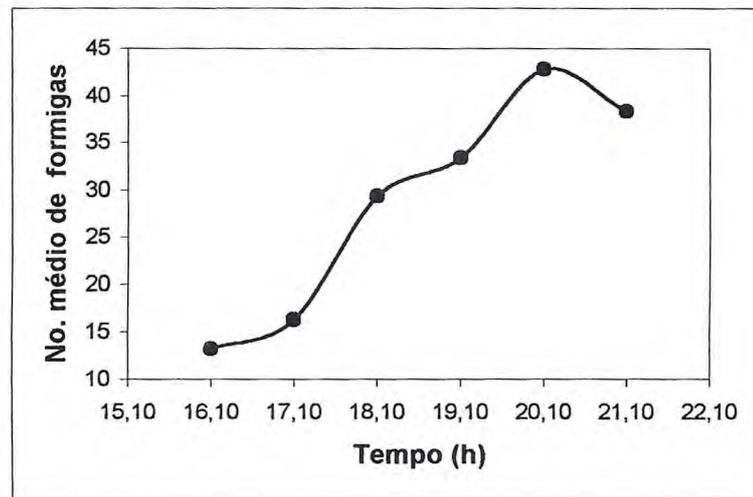


FIGURA 16. Valores médios, ao longo do tempo(h), do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Acesso à Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

número cresce ao longo do tempo, com pico de acesso no horário de 20:10h. A comparação das médias do número de operárias, nesta atividade, em função dos tempos observados, assim como, para cada tratamento em razão do tempo, acha-se discriminada nos QUADROS 8 e 9 (APÊNDICE), respectivamente. Conforme o teste de Tukey, verifica-se que o horário de 20:10h é diferente, estatisticamente, dos demais horários, à exceção dos tratamentos com a lectina de *Dioclea violacea* 0,06 mg.ml<sup>-1</sup> e *Vatairea macrocarpa* nas doses 0,06 mg.ml<sup>-1</sup>; 1,00 mg.ml<sup>-1</sup> e 2,50 mg.ml<sup>-1</sup>, constatando-se tal ocorrência na FIGURA 17. A FIGURA 18 oferece o modelo de regressão para as ações do formicídeo nas diferentes doses das lectinas.

A análise da TABELA 8 corresponde à variável Marcação de Território na Área de Provisão, pela qual observa-se o efeito significativo ( $p < 0,05$ ) das diferentes doses das lectinas, das testemunhas e do tempo no comportamento das operárias que realizaram esta atividade. A FIGURA 19, a FIGURA 20, e ainda, a FIGURA 21, apresentam o efeito causado, aliás, satisfatoriamente, por esses fatores no comportamento do inseto. Houve diferença estatística entre as duas testemunhas e ao longo do tempo observado, nota-se o aumento gradual do número médio de operárias para esta função, o que pode ser comprovado nos QUADROS 10 e 11 em APÊNDICE.

A TABELA 9 exprime os valores obtidos para o comportamento Acesso ao Papel de Filtro. Verifica-se que há uma influência relevante dos diferentes tratamentos ( $p < 0,05$ ), destacando-se o efeito significativo ( $p < 0,05$ ) das diferentes doses das lectinas aplicadas, das testemunhas ( $p < 0,01$ ) e da interação lectinas x dose ( $p < 0,10$ ). De igual modo, também foram significativos o tempo ( $p < 0,01$ ) e a interação tempo x tratamento ( $p < 0,10$ ). Constata-se, novamente, a diferença entre as testemunhas com destaque para o número médio de operárias que se direcionavam ao papel de filtro + solução salina exibido na FIGURA 22, QUADRO 12 (APÊNDICE). A influência do tempo pode ser verificada na FIGURA 23 e QUADRO 13 (APÊNDICE). Comprova-se na FIGURA 24 que há diferença, estatística (QUADRO 14, APÊNDICE), entre os horários, os tratamentos e entre as doses dos tratamentos avaliados, todavia, nos tempos de 16:10 h; 19:10 h e 21:10 h não houve diferença significativa entre os tratamentos aplicados. Para a lectina de *Vatairea macrocarpa* na dose de 2,50 mg.ml<sup>-1</sup>, não houve qualquer diferença em relação aos tempos observados, mas no horário de 20:10 h registrou-se diferença estatística entre as doses 1,50 mg.ml<sup>-1</sup> e 2,50 mg.ml<sup>-1</sup>.

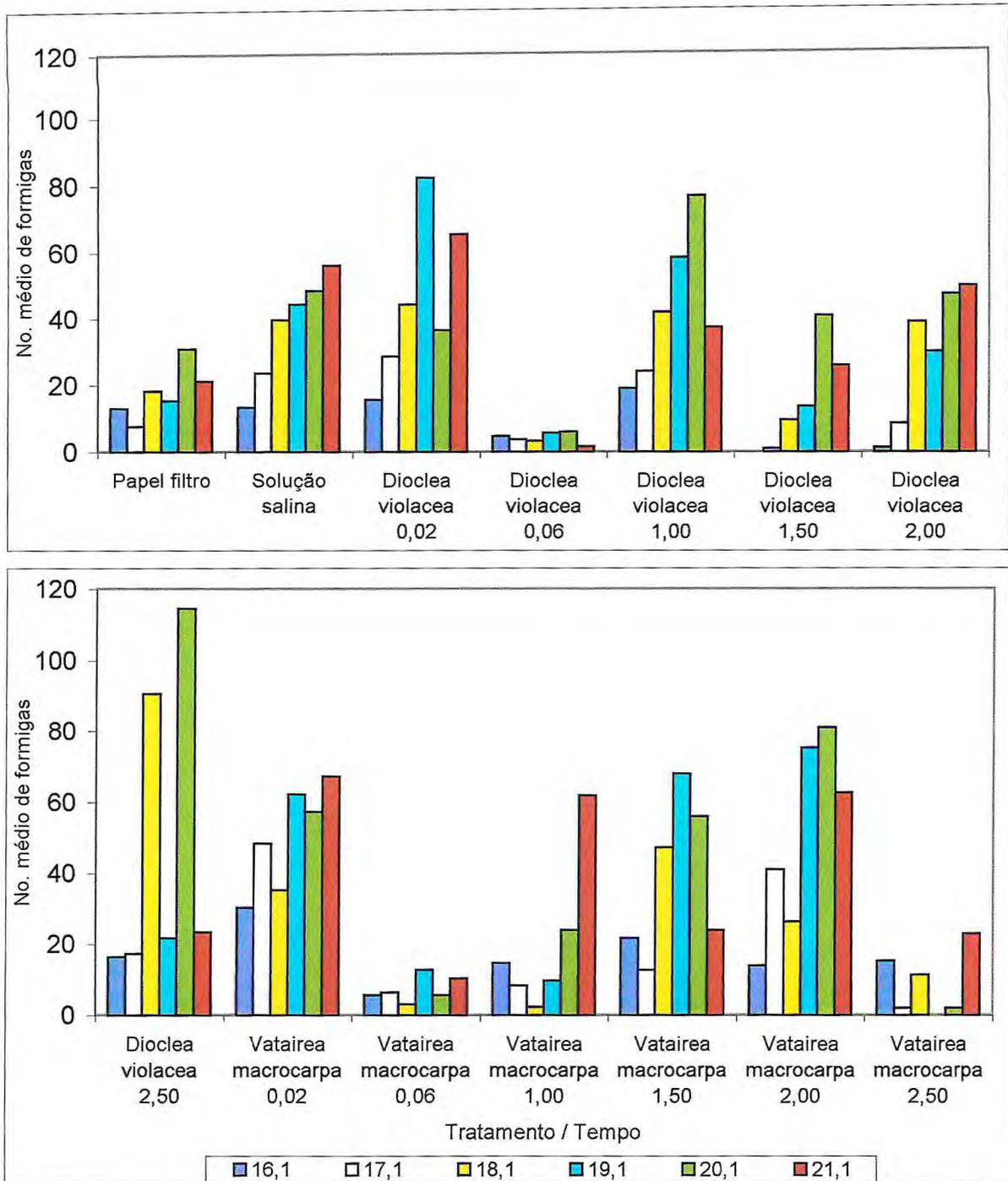


FIGURA 17. Valores médios por tratamento, ao longo do tempo (h), do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Acesso à Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Modelo de regressão:  $Y=121,15-105,99D+32,72D^2-2,94D^3$ , sendo  $D=1, 2, 3, 4, 5, 6$  (doses) e  $Y$  = número médio de formigas no comportamento Acesso à Área de Provisão.

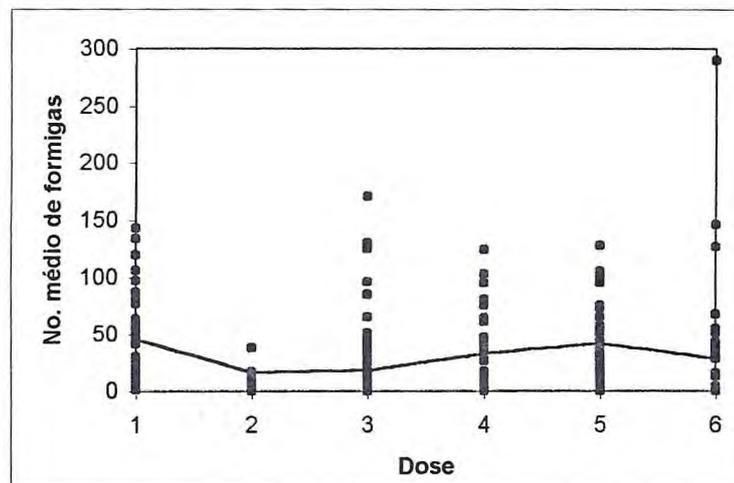


FIGURA 18. Regressão do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Acesso à Área de Provisão em função das doses, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

TABELA 8. Análise de Variância do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Marcação de Território na Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Fonte de Variação	G.L	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	Pr > F	
Tratamentos	13	235,09	18,08	1,82	0,0609***	
Lectinas	1	3,89	3,89	0,39	0,5347	
Doses	5	142,31	28,46	2,87	0,0221**	
Linear	1	26,21	26,21	2,64	0,1096	
Quadrática	1	10,95	10,95	1,10	0,2986	
Cúbica	1	91,97	91,97	9,27	0,0035*	
4º grau	1	3,11	3,11	0,31	0,5798	
5º grau	1	10,05	10,05	1,01	0,3191	
Lectina x Dose	5	26,41	5,28	0,53	0,7526	
Testemunhas	1	49,12	49,12	4,95	0,0299**	
Testemunhas x Fatorial	1	13,37	13,37	1,35	0,2500	
Resíduo 1	58	575,50	9,92			
						F-Conservativo
Tempo	5	82,27	16,45	5,21	0,0001*	0,0261**
Tempo x Tratamento	65	166,18	2,56	0,81	0,8455	
Resíduo 2	290	915,12	3,16			
Total	431	1.974,15				

Nota: \* = significativo a 1%, \*\* = significativo a 5%, \*\*\* = significativo a 10%.

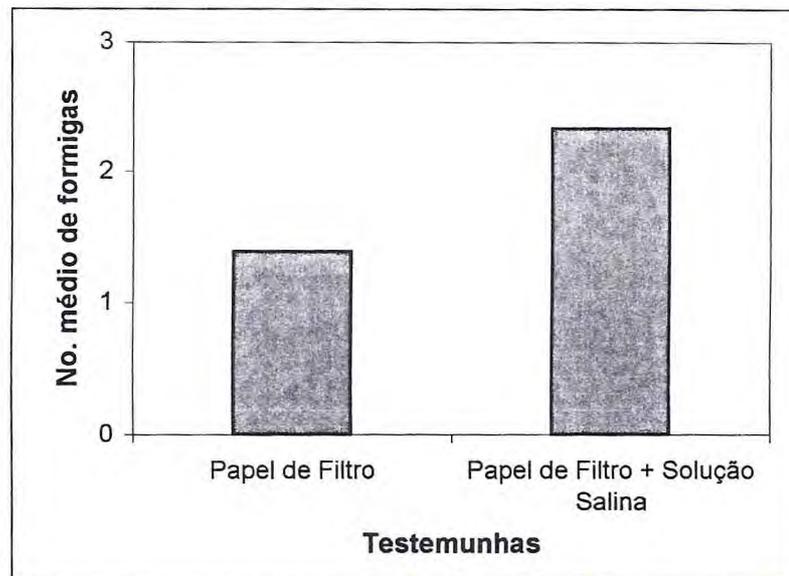


FIGURA 19. Valores médios por testemunha, do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Marcação de Território na Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

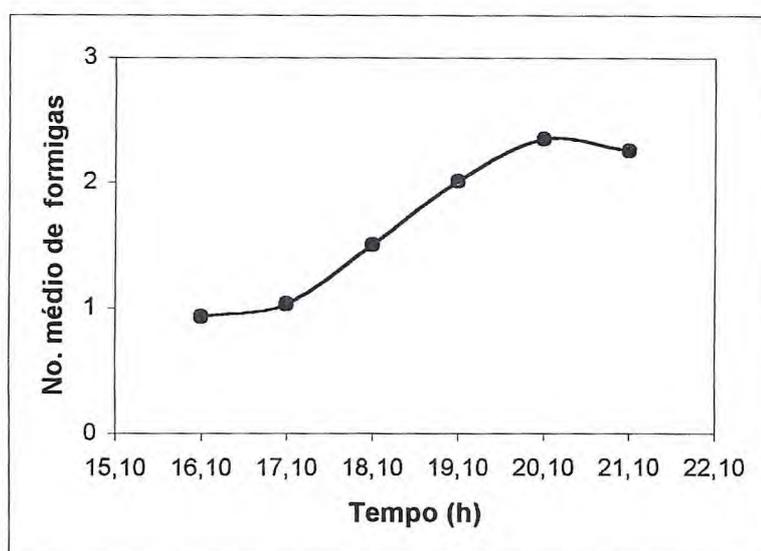


FIGURA 20. Valores médios, ao longo do tempo(h), do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Marcação de Território na Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Modelo de regressão:  $Y=8,06-7,13D+2,17D^2-0,20D^3$ , sendo  $D=1, 2, 3, 4, 5, 6$  (doses) e  $Y$ =número médio de formigas no comportamento Marcação de Território na Área de Provisão.

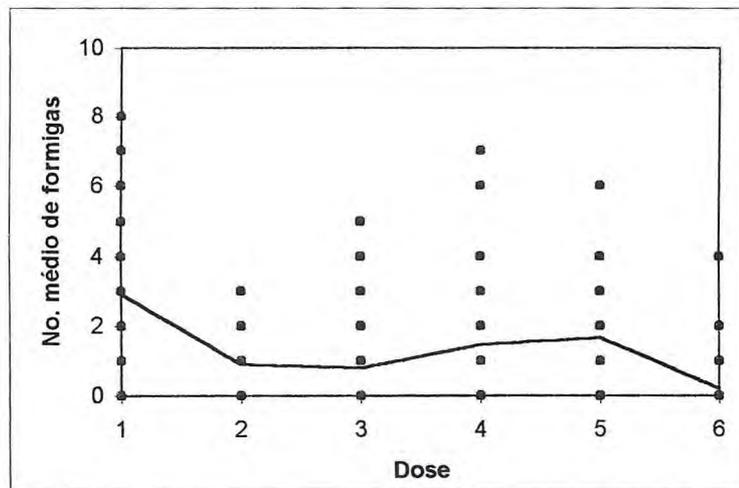


FIGURA 21. Regressão do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Marcação de Território na Área de Provisão em função das doses, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

TABELA 9. Análise de Variância do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento, Acesso ao Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Fonte de Variação	G.L	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	Pr > F	
Tratamentos	13	20.188,99	1.553,00	3,40	0,0006**	
Lectinas	1	492,02	492,02	1,08	0,3030	
Doses	5	7.056,83	1.411,37	3,09	0,0153**	
Lectina x Dose	5	5.351,70	1.070,34	2,34	0,0528***	
Testemunhas	1	5.612,04	5.612,04	12,30	0,0009*	
Testemunhas x Fatorial	1	1.676,39	1.676,39	0,007	0,9336	
Resíduo 1	58	26.471,79	456,41			
Tempo	5	3.633,84	726,77	9,23	<0,0001*	F-Conservativo 0,0036*
Tempo x Tratamento	65	7.446,08	114,55	1,45	0,0204**	G - G 0,0549***
Resíduo 2	290	22.834,27	78,74			
Total	431	80.574,96				

Nota: \* = significativo a 1%, \*\* = significativo a 5%, \*\*\* = significativo a 10%.  
G-G= Teste Geisser e Greenhouse.

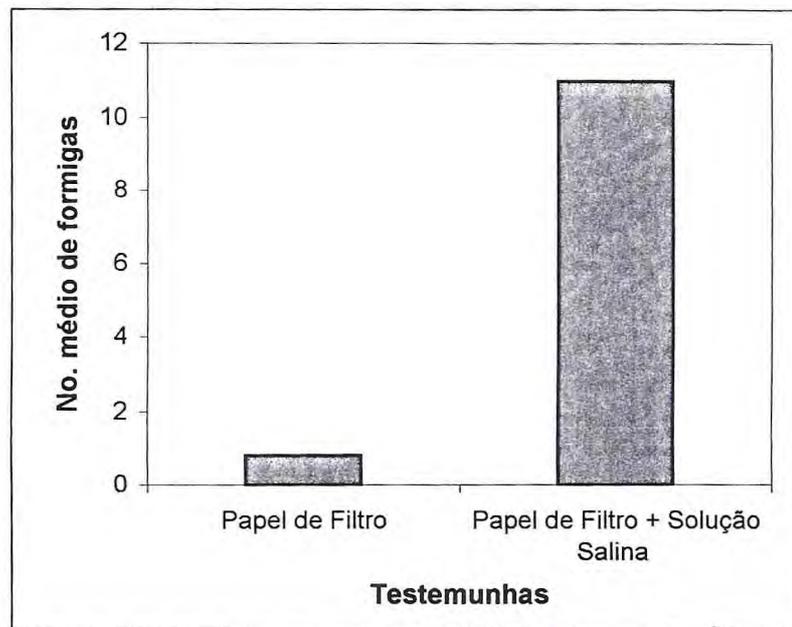


FIGURA 22. Valores médios, por testemunha, do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Acesso ao Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

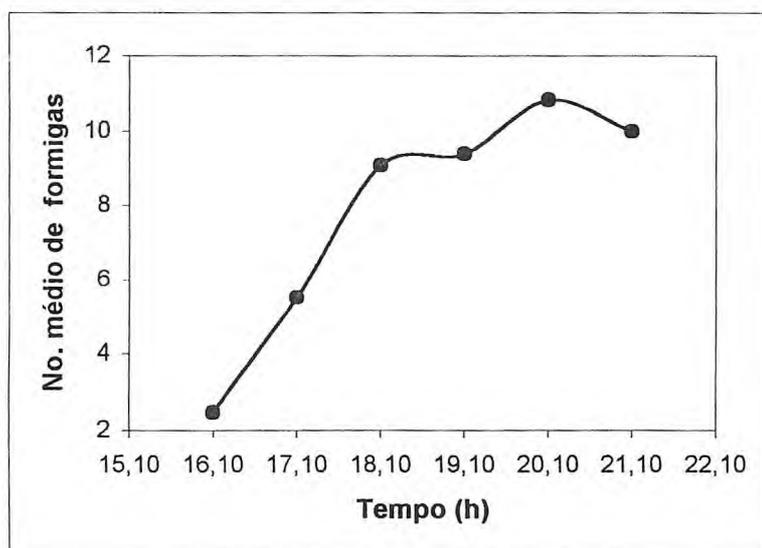


FIGURA 23. Valores médios, ao longo do tempo (h), do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Acesso ao Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

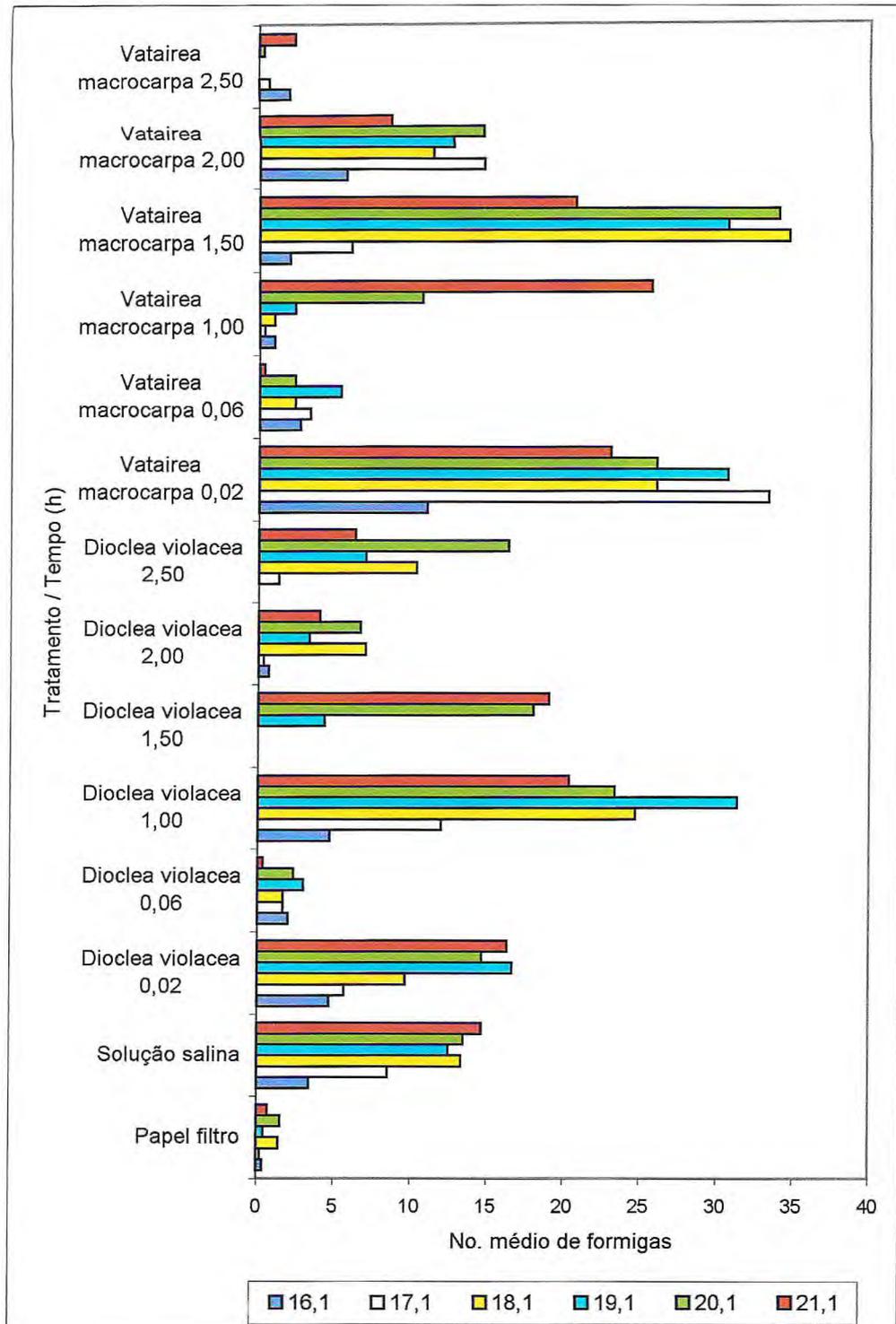


FIGURA 24. Valores médios por tratamento, ao longo do tempo (h), do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Acesso ao Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Na TABELA 10 está representada a análise de variância da regressão das doses da lectina *Dioclea violacea* e na FIGURA 25 quantifica-se estes efeitos através da equação de regressão. Outrossim, pela TABELA 11 comprova-se a ação das doses da lectina *Vatairea macrocarpa*, sendo significativo o modelo cúbico. A equação de regressão é apresentada na FIGURA 26.

Na realidade, no estudo do comportamento das operárias que realizaram a marcação de território na área do papel de filtro, suporte do tratamento, (TABELA 12), ocorreram significâncias ( $p < 0,05$ ) do fator tempo e das testemunhas ( $p < 0,05$ ). De fato, registrou-se uma diferença significativa na resposta das operárias aos tratamentos representados pelo papel de filtro, somente, e papel de filtro + solução salina (QUADRO 15, APÊNDICE). Foi pequeno o número de operárias na atividade de marcação de território na área do papel de filtro, ainda que esse número tenha crescido ao longo do tempo.

O comportamento relativo à exploração do local do tratamento pelas operárias de *Atta opaciceps*, quando analisado (TABELA 13), constatou-se que houve a influencia dos diferentes tratamentos ( $p < 0,01$ ) e suas respectivas doses ( $p < 0,05$ ), além da interação lectina x dose ( $p < 0,10$ ), notando-se que os tratamentos-testemunhas e o tempo foram altamente significativos ( $p < 0,01$ ). Para as interações, testemunha x fatorial ( $p < 0,10$ ) e tempo x tratamento ( $p < 0,05$ ), também se observou efeito significativo. Confirma-se, através do teste de Tukey (QUADRO 16, APÊNDICE), e mostra-se na FIGURA 27, a influencia da testemunha, papel de filtro + solução salina neste comportamento. A análise das médias, em função dos tempos considerados, está exposta no QUADRO 17 (APÊNDICE) e FIGURA 28. A TABELA 14 evidencia a ação das doses da lectina *Dioclea violacea*, mostrando que o efeito significativo é do componente do quarto grau. A equação da regressão é exibida na FIGURA 29. Da mesma maneira, estão na TABELA 15 os valores que demonstram o efeito significativo do componente cúbico ao nível de  $p < 0,01$  das doses da lectina *Vatairea macrocarpa* e na FIGURA 30, a equação da regressão. O QUADRO 18 (APÊNDICE) expõe as diferenças entre os horários, os tratamentos e as doses das formulações lectínicas. Os tempos 18:10h e 20:10h resultaram estatisticamente diferentes dos demais, em razão dos tratamentos e doses. Os tratamentos, papel de filtro e formulação com a lectina *Vatairea macrocarpa* nas doses  $0,06 \text{ mg.ml}^{-1}$  e  $2,50 \text{ mg.ml}^{-1}$  não apresentaram diferenças significativas quanto

TABELA 10. Análise de Variância da Regressão do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Acesso ao Papel de Filtro em função das doses da lectina *Dioclea violacea*, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Fonte de Variação	G.L	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	Pr>F
Linear	1	215,43	215,43	0,47	0,4957
Quadrática	1	83,82	83,82	0,18	0,6729
Cúbica	1	23,17	23,17	0,05	0,8238
4º grau	1	1.890,03	1.890,03	4,14	0,0465**
5º grau	1	1.371,26	1.371,26	3,00	0,0886***

Nota: \* = significativo a 1%, \*\* = significativo a 5%, \*\*\* = significativo a 10%.

Equação da regressão:  $Y=85,70-133,96D+73,53D^2-15,67D^3+1,13D^4$ , sendo  $D=1, 2, 3, 4, 5, 6$  (doses) e  $Y$ = número médio de formigas no comportamento Acesso ao Papel de Filtro.

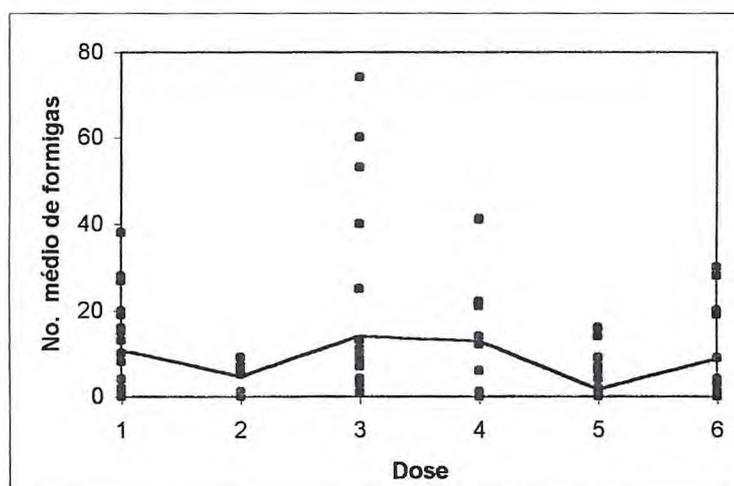


FIGURA 25. Regressão do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Acesso ao Papel de Filtro em função das doses da lectina *Dioclea violacea*, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

TABELA 11. Análise de Variância da Regressão do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Acesso ao Papel de Filtro em função das doses da lectina *Vatairea macrocarpa*, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Fonte de Variação	G.L.	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	Pr>F
Linear	1	1.661,75	1.661,75	3,64	0,0614**
Quadrática	1	1,65	1,65	0,003	0,9498
Cúbica	1	5.685,57	5.685,57	12,46	0,0008*
4º grau	1	1.040,03	1.040,03	2,28	0,1365
5º grau	1	435,81	435,81	0,95	0,3338

Nota: \* = significativo a 1%, \*\* = significativo a 5%, \*\*\* = significativo a 10%

Equação da regressão:  $Y=75,48-72,63D+23,23D^2-2,21D^3$ , sendo  $D=1, 2, 3, 4, 5, 6$  (doses) e  $Y=$  número médio de formigas no comportamento Acesso ao Papel de Filtro.

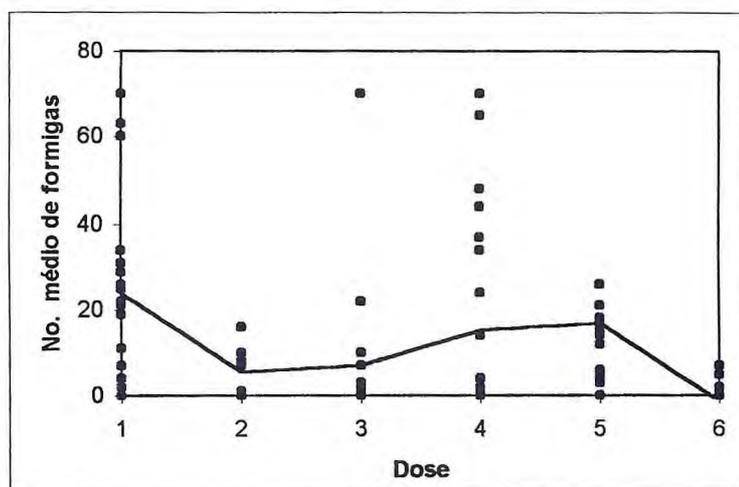


FIGURA 26. Regressão do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Acesso ao Papel de Filtro em função das doses da lectina *Vatairea macrocarpa*, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

TABELA 12. Análise de Variância do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Marcação de Território na Área do Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Fonte de Variação	G.L	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	Pr > F	
Tratamentos	13	12,94	0,99	1,70	0,0858***	
Lectinas	1	0,91	0,91	1,55	0,2181	
Doses	5	5,00	1,00	1,70	0,1491	
Lectina x Dose	5	3,76	0,75	1,29	0,2807	
Testemunhas	1	3,13	3,13	5,34	0,0244**	
Testemunhas x Fatorial	1	0,15	0,15	0,25	0,6190	
Resíduo 1	58	34,02	0,59			
						G - G
Tempo	5	5,26	1,05	3,09	0,0098*	0,0247**
Tempo x Tratamento	65	27,31	0,42	1,23	0,1262	
Resíduo 2	290	98,76	0,34			
Total	431	178,29				

Nota: \* = significativo a 1%, \*\* = significativo a 5%, \*\*\* = significativo a 10%.  
G-G= Teste Geisser e Greenhouse.

TABELA 13. Análise de Variância do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Exploração do Local do Tratamento, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Fonte de Variação	G.L	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	Pr > F	
Tratamentos	13	14.813,81	1.139,52	3,11	0,0015*	
Lectinas	1	242,78	242,78	0,66	0,4199	
Doses	5	4.872,15	974,43	2,66	0,0312**	
Lectina x Dose	5	3.785,52	757,10	2,07	0,0822***	
Testemunhas	1	4.638,89	4.638,89	12,67	0,0007*	
Testemunhas x Fatorial	1	1.274,45	1.274,45	3,48	0,0672***	
Resíduo 1	58	21.230,38	366,04			
						F-Conservativo
Tempo	5	3.105,06	621,01	10,31	<0,0001*	0,0021*
						G - G
Tempo x Tratamento	65	6.085,86	93,63	1,55	0,0079*	0,0264**
Resíduo 2	290	17.464,79	60,22			
Total	431	62.699,89				

Nota: \* = significativo a 1%, \*\* = significativo a 5%, \*\*\* = significativo a 10%.  
G-G= Teste Geisser e Greenhouse.

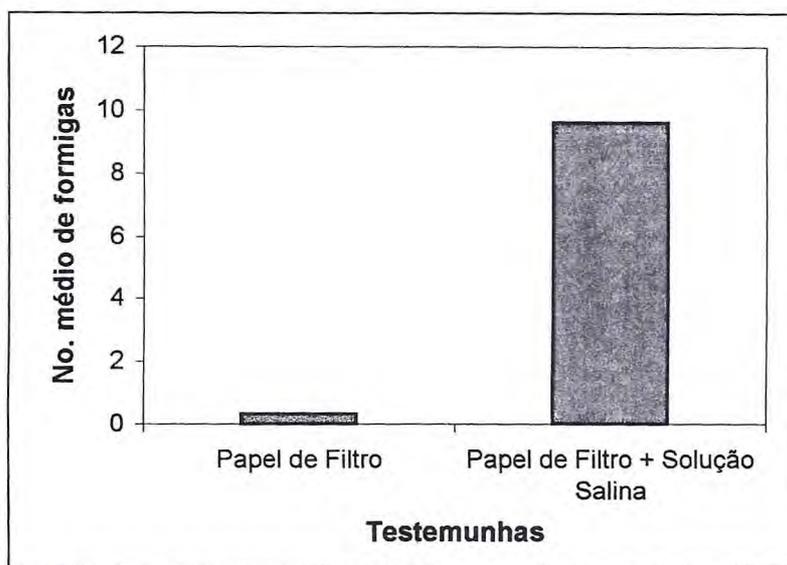


FIGURA 27. Valores médios por testemunha, do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Exploração do Local do Tratamento, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

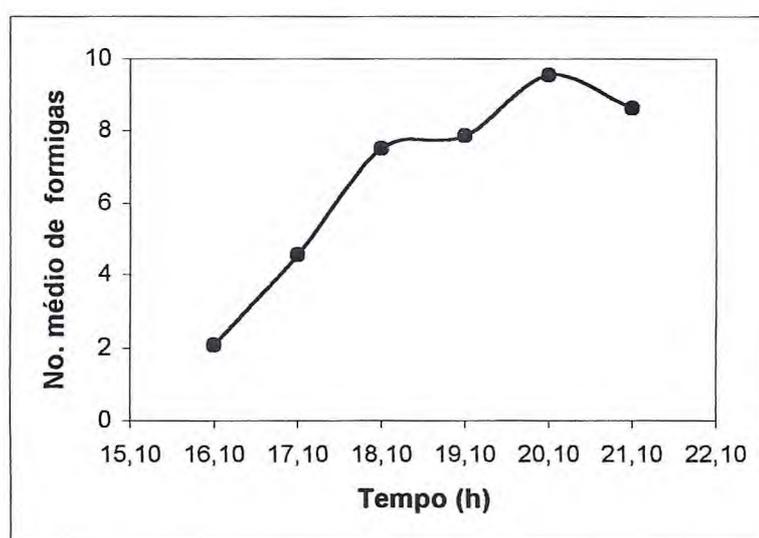


FIGURA 28. Valores médios, ao longo do tempo(h), do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Exploração do Local do Tratamento, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

TABELA 14. Análise de Variância da Regressão do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Exploração do Local do Tratamento em função das doses da lectina *Dioclea violacea*, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Fonte de Variação	G.L.	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	Pr>F
Linear	1	191,33	191,33	0,52	0,4737
Quadrática	1	95,00	95,00	0,26	0,6120
Cúbica	1	25,78	25,78	0,07	0,7923
4º grau	1	1.683,02	1.683,02	4,60	0,0362**
5º grau	1	1.001,14	1.001,14	2,74	0,1033

Nota: \* = significativo a 1%, \*\* = significativo a 5%

Equação da regressão:  $Y=79,56-125,61D+69,18D^2-14,77D^3+1,06D^4$ , sendo  $D=1, 2, 3, 4, 5, 6$  (doses) e  $Y$ = número médio de formigas no comportamento Exploração do Local do Tratamento.

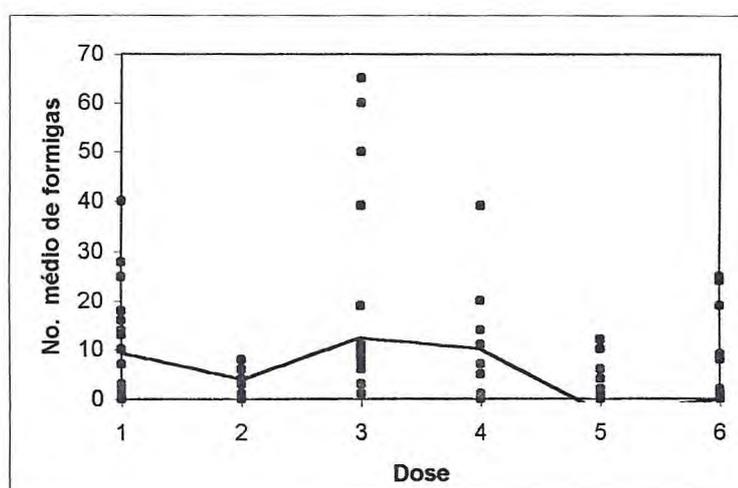


FIGURA 29. Regressão do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Exploração do Local do Tratamento em função das doses da lectina *Dioclea violacea* Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

TABELA 15. Análise de Variância da Regressão do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Exploração do Local do Tratamento em função das doses da lectina *Vatairea macrocarpa*, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Fonte de Variação	G.L.	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	Pr>F
Linear	1	925,71	925,71	2,53	0,1171**
Quadrática	1	0,81	0,81	0,002	0,9645
Cúbica	1	3.966,74	3.966,74	10,84	0,0017*
4º grau	1	518,10	518,10	1,41	0,2399
5º grau	1	250,05	250,05	0,68	0,4130

Nota: \* = significativo a 1%, \*\* = significativo a 5%.

Equação da regressão:  $Y=61,61-59,93D+19,33D^2-1,84D^3$ , sendo  $D=1, 2, 3, 4, 5, 6$  (doses) e  $Y$ = número médio de formigas no comportamento Exploração do Local do Tratamento.

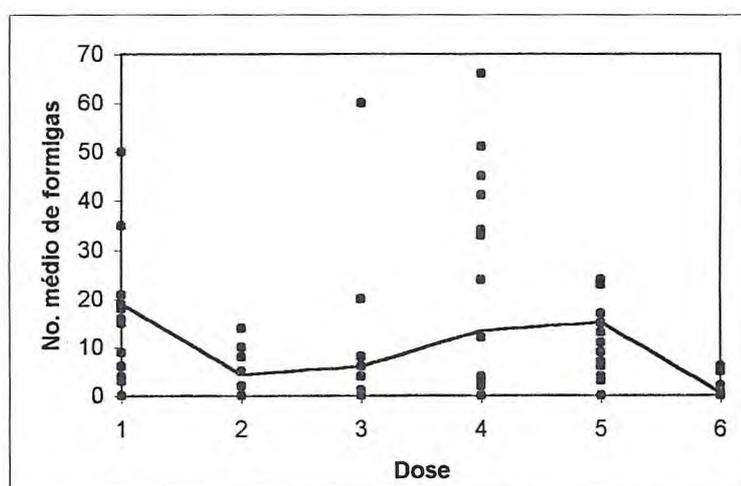


FIGURA 30. Regressão do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Exploração do Local do Tratamento em função das doses da lectina *Vatairea macrocarpa*, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

aos horários investigados. Na FIGURA 31 percebe-se que os maiores valores de médias, ao longo do tempo, encontram-se nos tratamentos com a lectina *Vatairea macrocarpa*, nas doses  $0,02 \text{ mg.ml}^{-1}$  e  $1,50 \text{ mg.ml}^{-1}$  e, *Dioclea violacea*, na dose  $1,00 \text{ mg.ml}^{-1}$ .

Os resultados do estudo do comportamento de operárias de *Atta opaciceps* que exerceram a atividade relativa à exploração do local do tratamento e recrutamento de formigas, não foram significativamente diferentes de zero. Tal fato pode haver sido decorrente de uma das iniciativas tomadas na percepção da fonte de estímulo pelas operárias, como no item 5.1, anteriormente descrito.

Na análise do comportamento das operárias de saúvas, que iniciaram o corte do papel de filtro – suporte dos tratamentos (TABELA 16), percebe-se que há influencia altamente significativa ( $p < 0,01$ ) dos tratamentos aplicados. Ao se realizar os desdobramentos dos graus de liberdade, as diferenças convergem para as testemunhas, as doses, a interação lectina x dose e a interação testemunha x fatorial, todos significativos ao nível  $p < 0,05$ , com exceção das testemunhas ( $p < 0,01$ ). Os tempos investigados ( $p < 0,01$ ) e a interação tempo x tratamento ( $p < 0,05$ ) também afetaram sensivelmente o comportamento das operárias de *Atta opaciceps*. As diferenças de significância nas testemunhas podem ser conferidas através do QUADRO 19 (APÊNDICE). Na FIGURA 32 é singular o efeito do tratamento papel de filtro + solução salina. Na FIGURA 33 e QUADRO 20 (APÊNDICE), têm-se as médias do número de operárias que iniciaram o corte, em função dos intervalos de tempo e, na TABELA 17, mostra-se a análise de variância da regressão nas doses da lectina de *Dioclea violacea*, com o componente do quinto grau significativo ( $p < 0,10$ ) quantificado na FIGURA 34. Para a lectina de *Vatairea macrocarpa*, o componente cúbico é que exprime significância (TABELA 18), expressando-se o efeito das doses através da equação da regressão, visto na FIGURA 35. Verificou-se no QUADRO 21 (APÊNDICE), que houve diferença estatística entre os horários e tratamentos ensaiados, embora às 16:10h; 17:10h e 21:10h não se denote qualquer efeito significativo entre os tratamentos. A testemunha papel de filtro e o tratamento papel de filtro + lectina *Vatairea macrocarpa*, na dose  $2,50 \text{ mg.ml}^{-1}$ , não demonstraram qualquer diferença entre si, em relação aos parâmetros em estudo. Os maiores valores médios de operárias (FIGURA 36) decorreram dos tratamentos com as lectinas *Vatairea macrocarpa*, na dose  $1,50 \text{ mg.ml}^{-1}$ , e *Dioclea violacea*, na dose  $1,00 \text{ mg.ml}^{-1}$  e nos horários de 18:10h; 19:10h e 20:10h, que responderam de

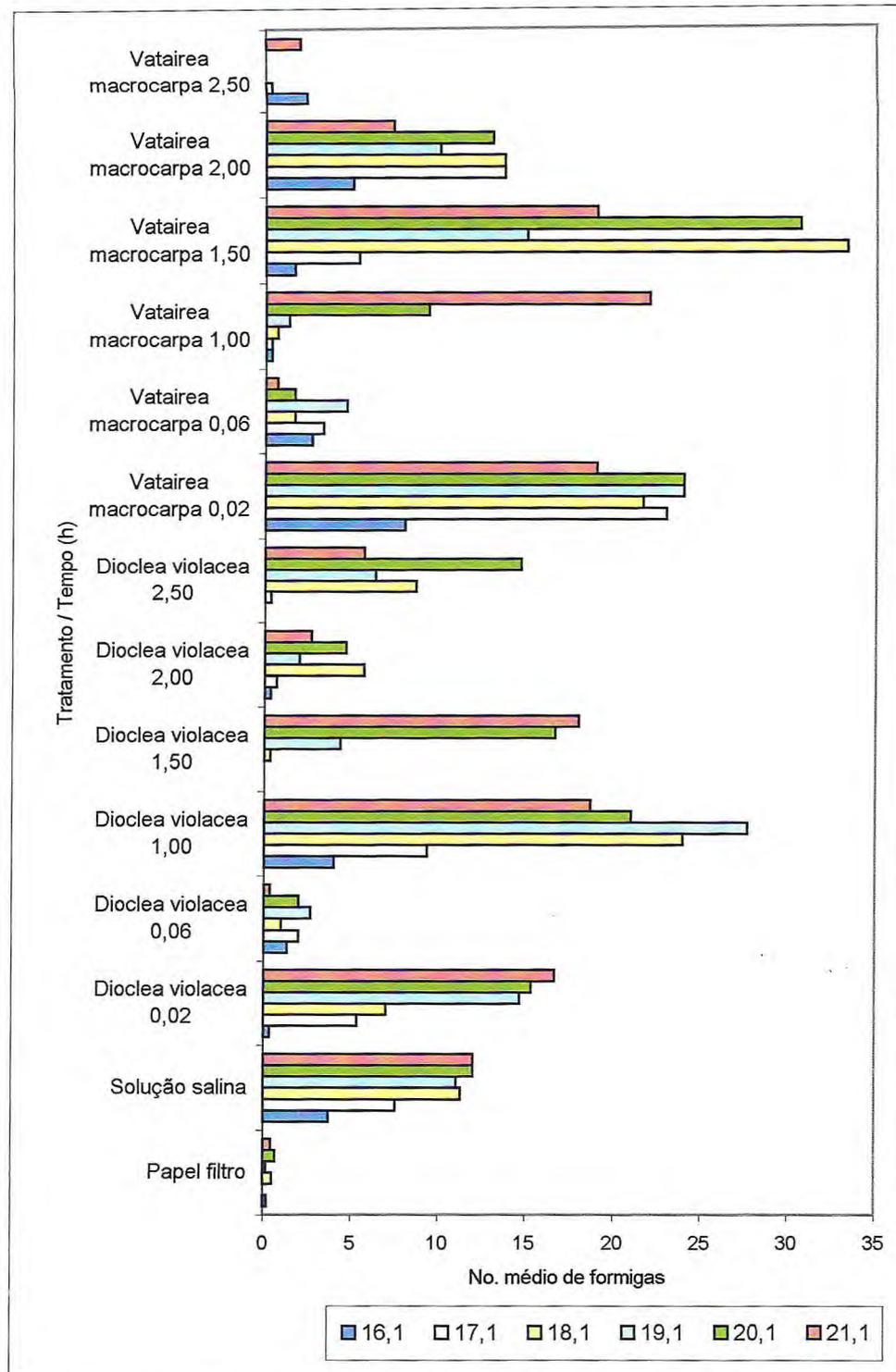


FIGURA 31. Valores médios por tratamento, ao longo do tempo (h), do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Exploração do Local do Tratamento, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

TABELA 16. Análise de Variância do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Início do Corte do Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Fonte de Variação	G.L.	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	Pr > F	
Tratamentos	13	11.096,72	853,59	3,35	0,0007*	
Lectinas	1	161,89	161,89	0,63	0,4286	
Doses	5	3.931,82	786,36	3,09	0,0154**	
Lectina x Dose	5	3.096,63	619,33	2,43	0,0455**	
Testemunhas	1	2.583,37	2.583,37	10,14	0,0023*	
Testemunhas x Fatorial	1	1.323,00	1.323,00	5,19	0,0264**	
Resíduo 1	58	14.775,19	254,74			
Tempo	5	2.304,08	460,82	12,66	<0,0001*	F-Conservativo 0,0007*
Tempo x Tratamento	65	4.998,44	76,90	2,11	<0,0001*	F-Conservativo 0,0269**
Resíduo 2	290	10.558,75	36,41			
Total	431	43.733,20				

Nota: \* = significativo a 1%, \*\* = significativo a 5%, \*\*\* = significativo a 10%.

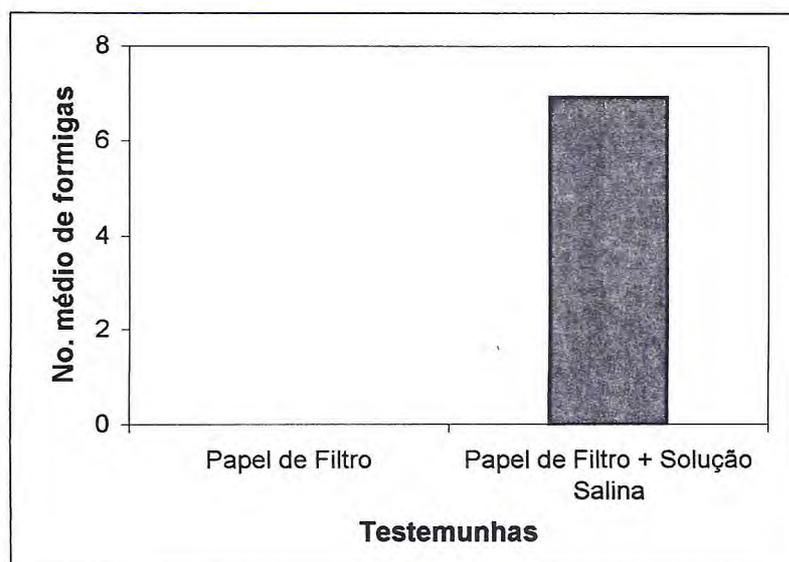


FIGURA 32. Valores médios por testemunha, do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Início do Corte no Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

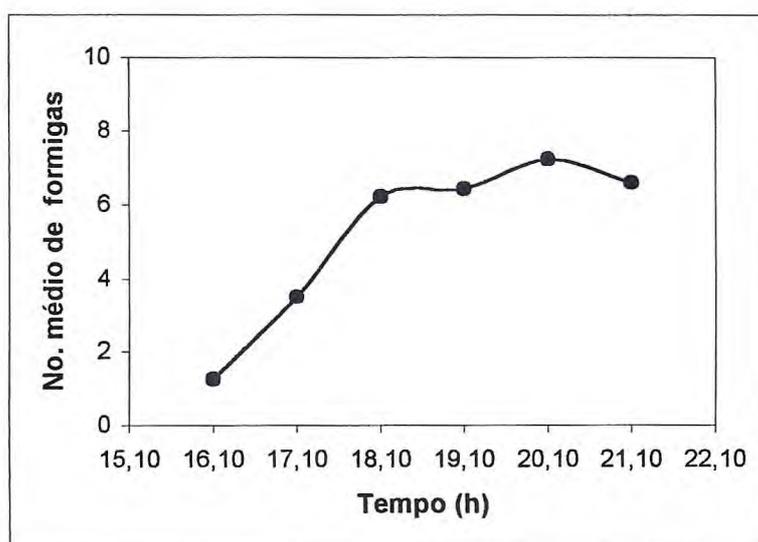


FIGURA 33. Valores médios, ao longo do tempo (h), do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Início do Corte no Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

TABELA 17. Análise de Variância da Regressão do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Início do Corte no Papel de Filtro em função das doses da lectina *Dioclea violacea*, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Fonte de Variação	G.L.	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	Pr>F
Linear	1	247,11	247,11	0,97	0,3288
Quadrática	1	174,73	174,73	0,68	0,4130
Cúbica	1	24,54	24,54	0,09	0,7652
4º grau	1	1.257,17	1.257,17	4,93	0,0303**
5º grau	1	782,51	782,51	3,07	0,0850***

Nota: \* = significativo a 1%, \*\* = significativo a 5%, \*\*\* = significativo a 10%.

Equação da regressão:  $Y=259,00-513,19D+359,62D^2-112,57D^3+16,18D^4-0,87D^5$ , sendo  $D=1, 2, 3, 4, 5, 6$  (doses) e  $Y$ = número médio de formigas no comportamento Início do Corte do Papel de Filtro.

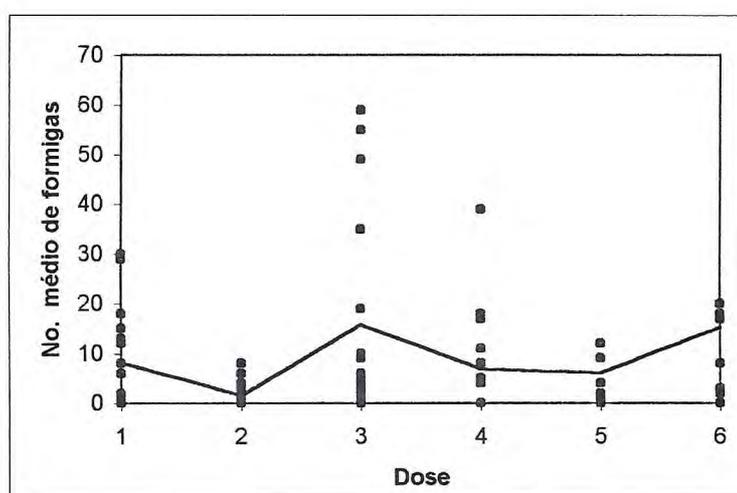


FIGURA 34. Regressão do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Início do Corte do Papel de Filtro em função das doses da lectina *Dioclea violacea*, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

TABELA 18. Análise de Variância da Regressão do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Início do Corte do Papel de Filtro em função das doses da lectina *Vatairea macrocarpa*, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Fonte de Variação	G.L.	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	Pr>F
Linear	1	499,09	499,09	1,96	0,1668
Quadrática	1	91,03	91,03	0,36	0,5508
Cúbica	1	2.691,42	2.691,42	10,56	0,0019*
4º grau	1	637,87	637,87	2,50	0,1193
5º grau	1	622,96	622,96	2,44	0,1237

Nota: \* = significativo a 1%

Equação da regressão:  $Y=47,07-46,83D+15,58D^2-1,52D^3$ , sendo  $D=1, 2, 3, 4, 5, 6$  (doses) e  $Y$ = número médio de formigas no comportamento Início do Corte do Papel de Filtro.

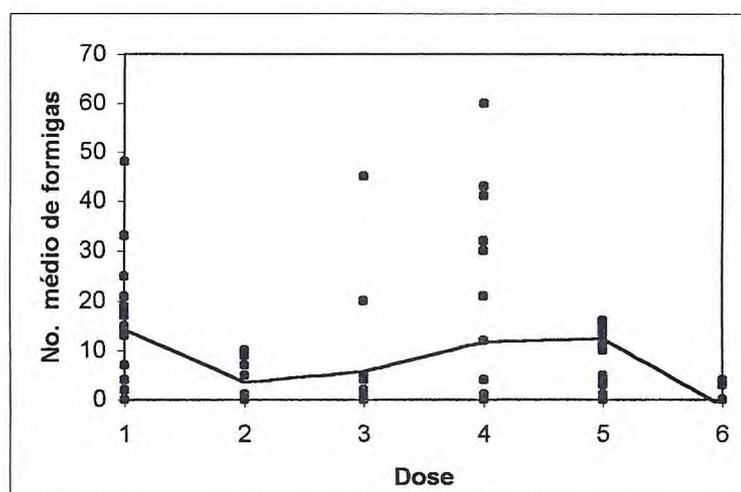


FIGURA 35. Regressão do número médio de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Início do Corte do Papel de Filtro em função das doses da lectina *Vatairea macrocarpa*, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

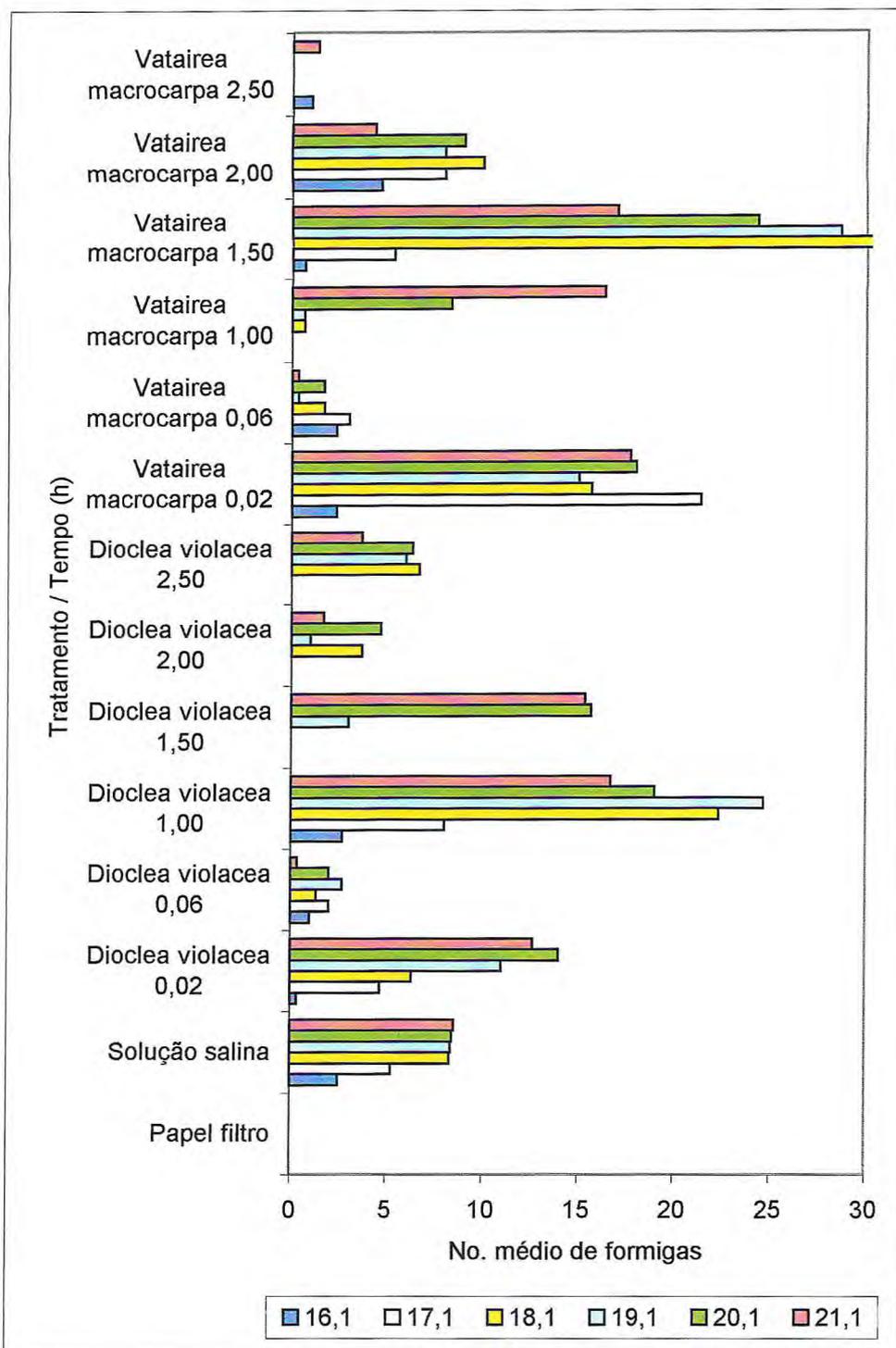


FIGURA 36. Valores médios por tratamento, ao longo do tempo (h), do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) no comportamento Início do Corte do Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

forma semelhante, inclusive quanto aos demais tempos analisados. Também, as lectinas, na dose  $0,06 \text{ mg.ml}^{-1}$  não acusaram diferença de comportamento entre elas.

Na avaliação do comportamento das operárias que efetuaram o corte e o transporte do material ensaiado, observou-se que o número de operárias desenvolvendo tal atividade foi mínimo, pelo menos durante o período de tempo estudado, não existindo deste modo, suficientes respostas diferentes de zero que pudessem ser utilizadas para a análise estatística. A par do número de operárias que iniciaram o corte, deduz-se que o transporte foi acontecendo ao longo do tempo.

As operárias que se deslocaram da área de provisão à sede real, sem transportar qualquer fragmento do material especulado, foram ágeis no deslocamento, porém, tocaram a extremidade do gáster na superfície que estavam percorrendo, reforçando a trilha. Operárias que transportaram, também fizeram pequenas paradas para a marcação da trilha.

A redução e/ou conclusão do transporte de provisão é regulada por fatores endógenos à espécie e fatores mesológicos. Os fatores endógenos estão ligados à capacidade de processamento do substrato transportado pelas operárias para o interior da colônia, por membros da comunidade, principalmente as jardineiras.

As diferentes doses de lectinas extraídas às sementes de *Dioclea violacea* e *Vatairea macrocarpa* influenciaram o comportamento das operárias sobre as atividades de marcação do território na área de provisão do saúveiro, acesso ao papel de filtro, exploração do local do tratamento e início do corte. Durante todo o processo de avaliação do ensaio, não houve qualquer fator que apontasse para um efeito inseticida dessas lectinas. O fator tempo foi decisivo e inerente a todas as variáveis do comportamento estudadas.

### **5.3. Ação das Lectinas de Sementes de *Dioclea violacea* e *Vatairea macrocarpa* no Desenvolvimento do Fungo *Leucoagaricus gongylophorus***

O fungo cultivado pelas saúvas parece ser, para elas, a fonte mais importante de alimento, posto que as formigas também ingerem quantidades apreciáveis de seiva vegetal, ao cortarem as plantas, e conseqüentemente devem utilizar, em parte, seus nutrientes, inclusive para o cultivo do fungo. Acredita-se,

portanto, que as saúvas usam a cultura do fungo como uma maneira de evitarem componentes químicos tóxicos, uma vez que os nutrientes são palatáveis e os compostos menos palatáveis se disponibilizam para as saúvas através da desintoxicação pelo fungo.

As etapas do processamento do material que servirá de substrato ao desenvolvimento do fungo envolvem: trituração, ensalivação e deposição do substrato processado nas paredes do jardim fúngico pelas operárias da saúva do nordeste *Atta opaciceps*. Ao se submeterem os dados de altura do fungo à análise de variância (TABELA 19), constatou-se que não houve efeito significativo nem das lectinas e nem das testemunhas. O desenvolvimento do fungo variou, portanto, em função das doses da lectina utilizada, quer seja *Dioclea violacea*, quer seja *Vatairea macrocarpa*. Para o estudo deste parâmetro foi aplicado o ajuste do modelo de regressão polinomial as doses, o qual se mostrou significativo para o modelo quadrático ( $p < 0,01$ ), representado quantitativamente na FIGURA 37.

### **5.3.1. Ação das Lectinas de Sementes de *Dioclea violacea* e *Vatairea macrocarpa* no Percentual do Material Transportado para o Jardim Fúngico de *Leucoagaricus gongylophorus***

Na TABELA 20 aprecia-se a análise de variância para a variável percentagem do material transportado pela saúva do nordeste *Atta opaciceps* frente aos diferentes tratamentos estudados. Observou-se efeito significativo ( $p < 0,01$ ) das diferentes doses das lectinas avaliadas, das testemunhas e da interação testemunha  $\times$  fatorial. O QUADRO 22 (APÊNDICE) encerra a comparação das médias do percentual do material transportado sob o efeito das testemunhas, registrando-se a diferença entre elas e notadamente a interferência da testemunha papel de filtro + solução salina. Ao se verificar o comportamento de cada testemunha, em relação aos demais tratamentos, aplicou-se o teste de Dunnett (QUADRO 23 em APÊNDICE) para comparação das médias. Concluiu-se que, o percentual médio de material transportado contendo as doses  $0,02 \text{ mg.ml}^{-1}$  e  $1,50 \text{ mg.ml}^{-1}$  de quaisquer das lectinas *Dioclea violacea* ou *Vatairea macrocarpa*, apresenta diferença altamente significativa ( $p < 0,01$ ) quando comparado com o da testemunha papel de filtro. Comparando-se o percentual do material transportado com as diferentes doses

TABELA 19. Análise de Variância da altura (cm) do fungo *Leucoagaricus gongylophorus* cultivado por operárias da saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) em função dos tratamentos: papel de filtro, papel de filtro + solução salina, papel de filtro + *Dioclea violacea* e papel de filtro + *Vatairea macrocarpa*, cada uma das lectinas, diluídas em solução salina, nas doses 0,02; 0,06; 1,00; 1,50; 2,00 e 2,50 mg.ml<sup>-1</sup>, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Fonte de Variação	G.L.	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	Pr > F
Tratamentos	13	21,12	1,62	1,52	0,1366
Lectinas	1	0,25	0,25	0,23	0,6333
Doses	5	15,08	3,02	2,83	0,0236**
Linear	1	0,06	0,06	0,06	0,8074
Quadrática	1	10,29	10,29	9,65	0,0029*
Cúbica	1	1,13	1,13	1,06	0,3075
4 <sup>o</sup> Grau	1	2,38	2,38	2,23	0,1408
5 <sup>o</sup> Grau	1	1,22	1,22	1,15	0,2880
Lectina x Dose	5	3,83	0,77	0,72	0,6111
Testemunhas	1	1,17	1,17	1,10	0,2986
Testemunhas x Fatorial	1	0,78	0,78	0,73	0,3964
Resíduo	58	61,85	1,07		
<b>Total</b>	<b>71</b>	<b>82,97</b>			

Nota: \* = significativo a 1%, \*\* = significativo a 5%, \*\*\* = significativo a 10%.

Equação da regressão:  $Y = 4,75 - 1,52D + 0,21D^2$ , sendo  $D=1, 2, 3, 4, 5, 6$  (doses) e  $Y$ = altura do fungo.

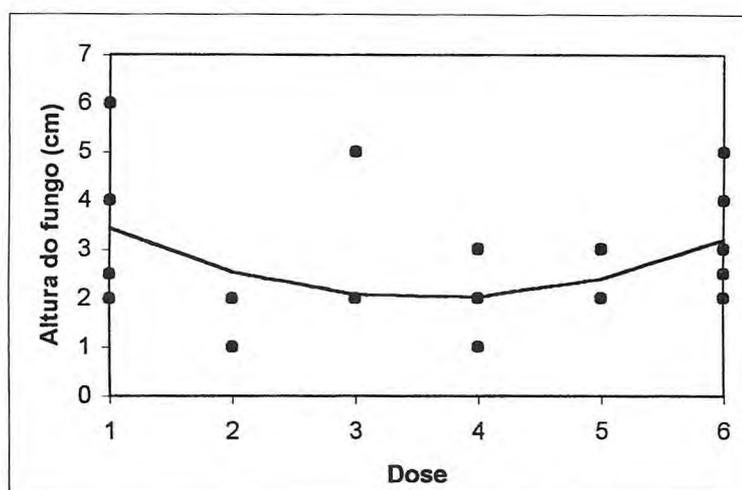


FIGURA 37. Regressão da altura do fungo *Leucoagaricus gongylophorus* cultivado por operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) em função das diferentes doses das lectinas, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

TABELA 20. Análise de Variância da percentagem do material transportado por operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) em função dos tratamentos: papel de filtro, papel de filtro + solução salina, papel de filtro + *Dioclea violacea* e papel de filtro + *Vatairea macrocarpa*, cada uma das lectinas diluídas em solução salina, nas doses 0,02; 0,06; 1,00; 1,50; 2,00 e 2,50 mg.ml<sup>-1</sup>, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Fonte de Variação	G.L.	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	Pr > F
Tratamentos	13	21.174,26	1.705,71	5,58	<0,0001*
Lectinas	1	31,83	31,83	0,10	0,7530
Doses	5	15.412,25	3.082,45	10,09	<0,0001*
Linear	1	5.133,04	5.133,04	16,80	0,0001*
Quadrática	1	237,97	237,97	0,78	0,3808
Cúbica	1	2.132,90	2.132,90	6,98	0,0106**
4 <sup>o</sup> Grau	1	7.785,19	7.785,19	25,48	<0,0001*
5 <sup>o</sup> Grau	1	123,14	123,14	0,40	0,5296
Lectina x Dose	5	764,13	152,83	0,50	0,7749
Testemunhas	1	2.318,90	2.318,90	7,59	0,0078*
Testemunhas x Fatorial	1	3.647,15	3.647,15	11,94	0,0010*
Resíduo	58	17.717,18	305,47		
<b>Total</b>	<b>71</b>	<b>39.891,44</b>			

Nota: \* = significativo a 1%, \*\* = significativo a 5%, \*\*\* = significativo a 10%.

de lectinas, com aquele da testemunha papel de filtro + solução salina, constata-se que, apenas há diferença significativa ( $p < 0,01$ ) em relação ao material contendo a lectina *Vatairea macrocarpa*, na dose  $0,02 \text{mg.ml}^{-1}$ . Na FIGURA 38 estão diferenciados os valores médios por tratamento, do percentual de material transportado pelas operárias para a sede real do saueiro. A FIGURA 39 mostra a equação de regressão do percentual do material transportado que quantifica os efeitos assinalados em função das doses de lectinas.

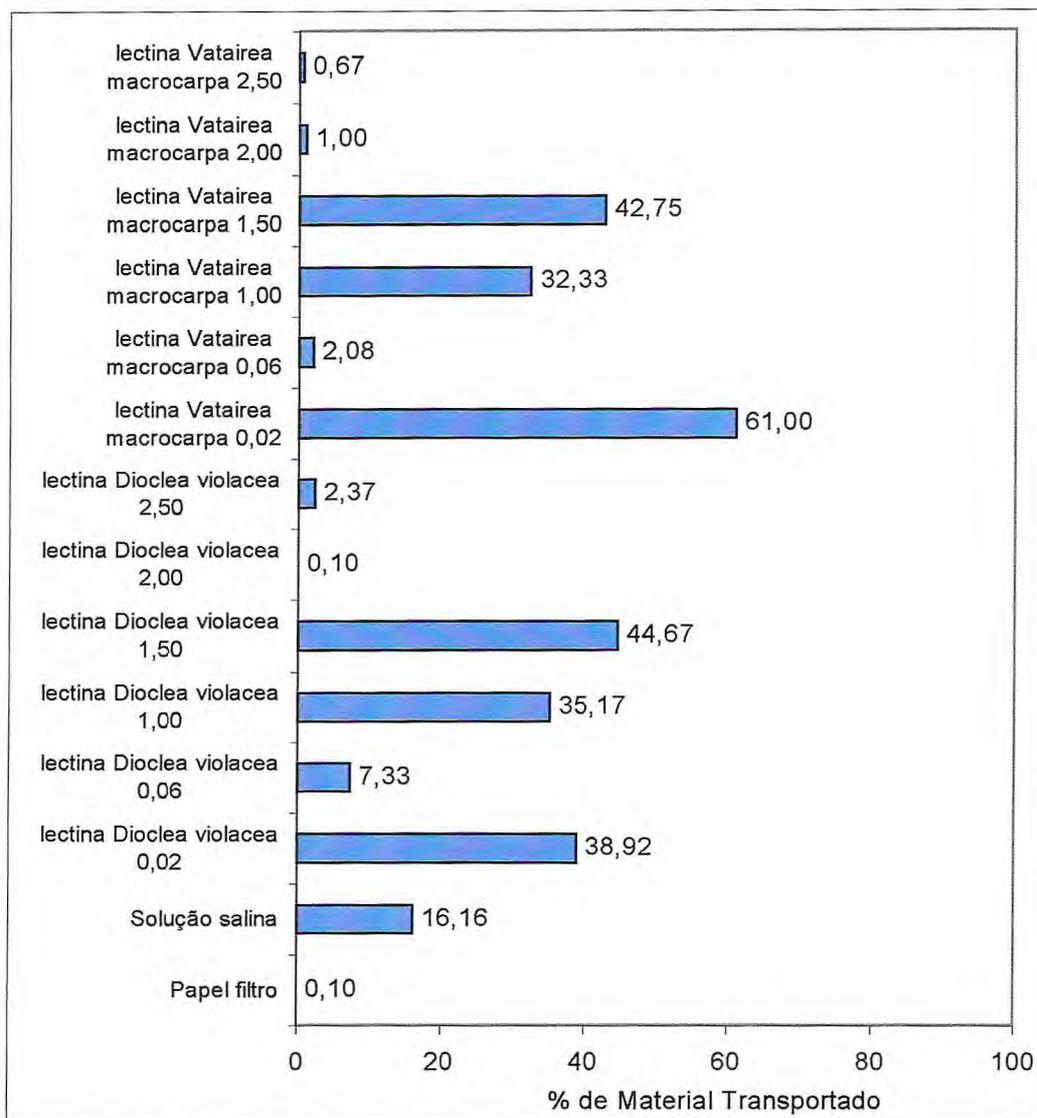


FIGURA 38. Valores médios por tratamento, do percentual do material transportado por operárias da saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Equação da regressão:  $Y=382,15 - 566,42D + 288,48D^2 - 57,93D^3 + 3,97D^4$ , sendo  $D=1, 2, 3, 4, 5, 6$  (doses) e  $Y=$  % do material transportado.

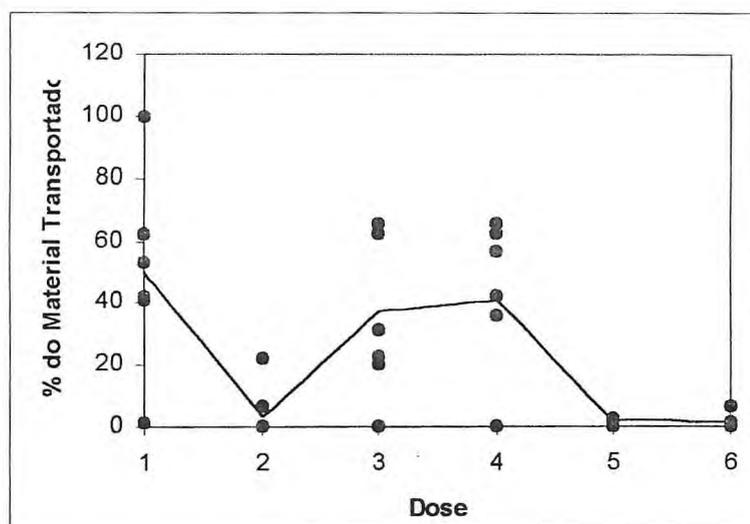


FIGURA 39. Regressão do percentual do material transportado por operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) em função das doses das lectinas, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

## 6. RESUMO DOS RESULTADOS

De acordo com as condições em que a pesquisa foi desenvolvida, conclui-se que:

1) Os tratamentos ensaiados desencadeiam uma série de eventos comportamentais, compatíveis com aqueles padrões característicos do etograma da espécie, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), já observados em saúveiros naturais.

2) As lectinas de sementes das leguminosas *Dioclea violacea* Martius e de *Vatairea macrocarpa* Ducke incitam a saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939, para o ritual característico da busca de provisão;

3) A busca de provisão inicia-se com a operária batedora, que percebe o estímulo, procede a avaliação deste, desloca-se em direção à fonte de estímulo, realiza a marcação da trilha que deverá perseguir, localiza e identifica a fonte de provisão, constituindo, assim, as etapas que definem o comportamento apetitivo;

4) Após identificar a fonte de provisão, a operária batedora avalia esta fonte, é impelida ao recrutamento de outras operárias, realiza a marcação do território, desloca-se para a sede real do saúveiro, reforçando a trilha e, auxiliada pelas novas operárias recrutadas, realiza o corte e o transporte do material na fonte de provisão, caracterizando o comportamento consumatório. As operárias recrutadas, neste caso, são jardineiras, cortadeiras e ergatóginas;

5) As observações no lapso da primeira hora, correspondendo a intervalos de 10 em 10 minutos e, no período de seis horas, com intervalos de hora em hora, são importantes, não só, para avaliação do efeito dos tratamentos sobre a saúva do nordeste, *Atta opaciceps*, bem como para caracterizar o ritual de busca de provisão para o saúveiro, dando a conhecer o comportamento complexo do referido inseto;

6) No lapso da primeira hora, somente as lectinas testadas influenciam, significativamente, o comportamento da saúva do nordeste quanto ao acesso ao papel de filtro (suporte do tratamento);

7) As lectinas de sementes de *Dioclea violacea* e de *Vatairea macrocarpa*, em doses diversas, interferem no comportamento das operárias de *Atta opaciceps*, pertinente às atividades: marcação de território na área de provisão, marcação de território na área do papel de filtro (suporte do tratamento), acesso ao papel de filtro

(suporte do tratamento), exploração do local do tratamento, início do corte do papel de filtro (suporte do tratamento) e transporte do papel de filtro (suporte do tratamento);

8) O comportamento das operárias de *Atta opaciceps* na atividade início do corte do papel de filtro (suporte do tratamento), evidencia a importância que representa a proteína para o referido inseto, independentemente de sua origem, se de *Dioclea violacea* ou de *Vatairea macrocarpa*;

9) A lectina da leguminosa *Vatairea macrocarpa*, na dose 0,02 mg.ml<sup>-1</sup>, revelou-se preferida pelas operárias de *Atta opaciceps*, conseqüentemente, a mais transportada, pelas formigas, para o interior do saúveiro;

10) Não há qualquer efeito inseticida ou tóxico das lectinas de *Dioclea violacea* e de *Vatairea macrocarpa* sobre a saúva do nordeste, *Atta opaciceps*, havendo, porém, o efeito probiótico em relação ao fungo-alimento da saúva, *Leucoagaricus gongylophorus*;

11) Os tratamentos ensaiados provocam o ritual de preparação do material transportado para ser incorporado ao jardim do fungo, *L. gongylophorus*;

12) Os tratamentos testemunhas, papel de filtro e papel de filtro + solução salina, influenciam, significativamente, o comportamento das operárias da saúva do nordeste, em relação a todas as atividades estudadas;

13) A influencia do tratamento testemunha, papel de filtro + solução salina, no comportamento da saúva, *Atta opaciceps*, provavelmente é devida à solução salina que serve, tanto para manter o equilíbrio do meio em que se desenvolve o fungo, no interior do saúveiro, como para disponibilizar componentes protéicos, a partir da lectina;

14) O tempo é fator inerente a todas as variáveis do comportamento da saúva *Atta opaciceps*, diagnosticadas neste estudo;

15) Os diferentes intervalos de tempo ensaiados produziram uma curva altamente representativa, dos tipos de comportamento da saúva do nordeste, exibindo uma tendência maior de concentração de operárias a partir do segundo horário de observação e um decréscimo, conseqüentemente, no final.

## 7. CONCLUSÃO

As lectinas de sementes das leguminosas de *Dioclea violacea* Martius e *Vatairea macrocarpa* Ducke interferem no comportamento da saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), uma vez que incitam as operárias da saúva para o ritual característico de busca de provisão. Não se constatou qualquer efeito inseticida ou tóxico, nas diferentes doses das lectinas estudadas, sobre a saúva do nordeste, havendo, porém, o efeito probiótico em relação ao fungo *Leucoagaricus gongylophorus*, alimento da saúva.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AINOUZ, I. L.; SAMPAIO, A. H. Screening of Brazilian marine algae for hemagglutinins. **Bot. Mar.**, v. 34, p. 211-214, 1991.
- AINOUZ, I. L. et al. Agglutination of enzyme treated erythrocytes by brazilian marine algae extracts. **Bot. Mar.**, v. 35, p. 475-479, 1992.
- AINOUZ, I. L. et al. Comparative study on hemagglutinins from the red algae *Bryothamnion seaforthii* and *Bryothamnion triquetrum*. **R. Bras. Fisiol. Veg.**, v. 7, p. 15-19, 1995.
- ALLEN, A. K. A lectin from the exudate of the fruit of the vegetable marrow (*Cucurbita pepo*) that has a specificity for  $\beta$  - 1,4 linked GlcNAc oligomers. **Biochem. J.**, v. 183, p. 133-137, 1979.
- ALLEN, A. K.: A. NEUBERGER. Potato lectin. **Methods Enzymol.**, v. 50, p. 340-345, 1978.
- ALMEIDA, R. T. **Comunicação pessoal sobre micologia**. Fortaleza: CCA/UFC/Departamento de Ciências do Solo, 1991.
- ALMEIDA, F. S. A defesa das plantas, Alelopatia. **Ciência Hoje**. SBPC. v. 11, n. 62, p. 38-45, 1990.
- ANDREWARTHA, H. G.; BIRCH, L. C. **The ecological web**. London: University of Chicago Press, 1984. 506 p.
- ANTONYUK, L. P. et al. Effector function of wheat germ agglutinin in the wheat *Azospirillum brasiliense* associative symbiosis. **Eur. J. Cell. Biol.**, v. 74, n. 46, p. 2, 1997. Suppl.
- BARONDES, S. H. Soluble lectins: a new class of extracellular proteins. **Science**, v. 223, p. 1259-1264, 1984.
- BASTOS, J. A. M. **Principais pragas das culturas e seus controles**. São Paulo, Nobel, 1980. 165 p., il.
- BECKER, J. W. et al. The covalent structure and three dimensional structure of concanavalina A III. Structure of the manomer and its interactions with metals and saccharids. **J. Biol. Chem.**, v. 250, n. 4, p. 1513-1524, 1975.

- BEGBIE, R.; KING, T. P. The interaction of dietary lectin with porcine small intestine and the production of lectin-specific antibodies. In: BOG-HANSEN, T. C.; BREBOROWICZ, J. (Eds). **Lectins**, 1985. v. 4, p. 15-17.
- BELZUNCES, L. P. et al. In vivo and in vitro effects of wheat germ agglutinin and Bowman-Birk soybean trypsin inhibitor, two potential transgenic products, on midgut esterase e protease activities from *Apis mellifera*. I. N. R. A. Station of Phytopharmacie, Montfavel Cedex, France. **Comp. Biochem. Physiol.**, v. 109B, p. 63-69, 1994.
- BENEVIDES, N. M.; LEITE, A. M.; FREITAS, A. L. P. Atividade hemaglutinante na alga vermelha *Solieria filiformis*. **R. Bras. Fisiol. Veg.**, v. 8, n. 2, p. 117-122, 1996.
- BEZERRA, P. R. S. **Etograma de operárias de saúvas do nordeste na busca de provisão**. 1995. 70f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1995.
- BLUM, M. S. Eclectic chemiosociality of the Hymenoptera. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF ENTOMOLOGY, 18, 1988, Vancouver, **Proceedings**...Vancouver, 1988, p. 232.
- BOLTON, B. **A new general catalogue of the ants of the world**. London, Harvard University Press, 1995. 504 p.
- BONDAR, G. A. A formiga saúva na Bahia. **Correio Agrícola**, v. 5, n. 5, p. 99-104, 1927.
- BORGMEIER, T. Estudos sobre *Atta* (Hym., Formicidae). **Memórias Instituto Oswaldo Cruz**, v. 48, p. 239-292, 1950.
- BOSTWICK, D. E.; SKAGES, M. I.; THOMPSON, G. A. Organization and characterization of *Curcubita* phloem lectin genes. **Plant Mol. Biol.**, v. 26, p. 887-897, 1994.
- BOSTWICK, D. E. et al. Pumpkin phloem lectin genes are specifically expressed in companion cells. **Plant Cell**, v. 4, p. 1539-1548, 1992.
- BOWLES, D. J.; CHAPLIN, M. F.; MARCUS, S. E. Interaction of concanavalin A with native and denatured forms of jack bean  $\alpha$ -mannosidase. **Eur. J. Biochem.**, v. 130, p. 613-618, 1983.
- BRADSHAW, J. W. S.; HOWSE, P. E. ; BAKER, R. A novel autostimulatory pheromone regulating transport of leaves in *Atta cephalotes*. **Anim. Behav.**, v. 34, p. 234-240, 1986.

BROEKAERT, W. F. et al. A chitin-binding lectin from stinging nettle rhizomes with antifungal properties. **Science**, v. 245, p. 1100-1102, 1989.

BROWN Jr., W. L.; EISNER, T. WHITTAKER, R. H. Allomones and kairomones: Transspecific Chemical Messengers. **BioScience**, v. 20, n. 1, p. 21-22, 1970.

BUCHER, E. H.; ZUCCARD, R. B. Signification de los hormigueiros de *Atta vollenweideri* Forel como alternadores del suelo en la Provincia de Tucuman. **Acta Zool. Lill.**, v. 23, p. 83-95, 1967.

CAMPOS, H. de. **Estatística Aplicada à Experimentação com Cana-de-Açúcar**. FEALQ, Piracicaba, São Paulo. 1984. 292p.

CAVADA, B. S. et al. Isolation and partial characterization of a lectin from *Dioclea rostrata* Benth seeds. **Rev. Bras. Fisiol. Veg.**, v. 8, n. 1, p. 31-36, 1996a.

CAVADA, B. S. et al. Primary structures and functions of plant lectins. **Rev. Bras. Fisiol. Veg.**, v. 5, n. 2, p. 193-202, 1993.

CAVADA, B. S. et al. Purification and biological properties of a lectin from *Canavalia bonariensis* Lind. seeds. In: VAN DRISSCHE, E. et al. (Eds). **Lectins: Biology, Biochemistry, Clinical Biochemistry**, Textop. Denmark, 1996c. v. 11.

CAVADA, B. S. et al. Purification and partial characterization of a lectin from *Dioclea virgata* Benth seeds. **Rev. Bras. Fisiol. Veg.**, v. 8, n. 1, p. 37-42, 1996b.

CAVADA, B. S. et al. Comportamento da lectina de *Canavalia brasiliensis* Mart. Durante a germinação na presença de luz. **Acta. Bot. Bras.**, v. 4, n. 2, p. 13-20, 1990.

CHAOPONGPANG, S. et al. The role of lectin in association between rice and nitrogen-fixing bacteria: In: MONGKOLSUK, S. et al. (Eds). **Biot. Envir. Sci.: Molecular Approaches**. New York, Plenum, 1992. p. 81-88.

CHRISPEELS, M. J.; HARTL, P. M.; FAYE, L. Characterization of the endoplasmic reticulo-associated precursor of concanavalin A. **J. Biol. Chem.**, v. 261, n. 22, p. 10021-10024, 1986.

CHRISPEELS, M. J.; RAIKHEL, N. V. Lectins, lectins genes and their role in plant defense. **Plant Cell.**, v. 3, p. 1-9, 1991a.

\_\_\_\_\_. Lectins, lectins genes and their role in plant defense: In: KILPATRICK, D. C.; VAN DRIESSCHE, E.; BOG-HANSEN, T. C. (Eds). **Lectins: Reviews**. St. Louis, Sigma, 1991b. v. 1, p. 183-194.

COLLE, R. A. Isolation of a chitin-binding lectin, with insecticidal activity in chemically defined synthetic diets, from two wilol brassica species with resistance to cabbage aphid *Brevicorne brassicae*. **Ent. Exp Appl.**, v. 72, p. 181-187, 1994.

CONCEIÇÃO, C. A formiga 'saúva' encarada como flagelo permanente do território brasileiro. **Rev. Dep. Nac. Café**, v. 20, n. 2/5, p. 193-198, 1934.

CRAVEIRO, A. A.; MACHADO, M.I.L. De aromas , insetos e plantas. **Ciência Hoje**, v.4, n. 23, p. 54-63, 1986.

CRAVEIRO, A. A.; SALES, F. J. M. de Source of kairomonal components for the leaf-cutting ant. In: INTERNACIONAL CONGRESS OF ENTOMOLOGY, 19., 1992, Beijing. **Proceedings...**, Beijing, 1992. p. 221.

CREIGHTON, W. S. **The ants of North America**. Cambridge Museum of Comparative Zoology. 1966. 585 p.

CRISÓSTOMO, C. V. **Purificação e caracterização parcial de uma lectina de sementes de *Vatairea macrocarpa* Ducke**. 1996. 85 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Depto. Bioq. Biol. Mol., Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 1996.

CUNHA, O. R. A saúva - O fungo. **O Campo**, v.7, n. 83, p. 40-43, 1936.

CZAPLA, T. H. Plant lectins as insect control agents in transgenic plants. In: CAROZZI, N.;KOZIEL, M. **Advances in insect control: The role of transgenic plants**. London: Taylor; Francys, 1998. p. 123-138.

CZAPLA, T. H.; LANG, B. A. Effect of plant lectins on the larval development of european corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) and southern corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). **J. Econ. Entom.**, v. 83, n. 6, p. 2480-2486, 1990.

DATTA, P. K.; FIGUEROA, M. O. C. R.; LAJOLO, F. M. Purification and characterization of two major lectins from *Araucaria brasiliensis syn angustifolia* seeds (pinhão). **Plant. Physiol.**, v. 97, p. 856-862, 1991.

DOWN, R. E. et al. Snowdrop lectin inhibits development and decreases fecundity of the glasshouse potato aphid (*Aulacorthum solani*) when administered in vitro and glasshouse trials. **J. Ins. Physiol.**, v. 42, p. 1035-105, 1996.

EDWARDS, P. J.; WRATTEN, S. D. Ecologia das interações insetos e plantas. In: **Temas de Biologia**. São Paulo: EPU-Univ. São Paulo, 1981. v. 27. 84p.

EINHELLIG, F. A. **Mechanisms and modes of action of allelochemicals.** Vermillion: Department of Biology/University of South Dakota, 1995. p. 171-187.

EISEMANN, C. H. et al. Larvicidal activity of lectins on *Luculia cuprina*: mechanism of action. **Ent. Exp. Appl.**, v. 72, p. 1-11, 1994.

ESTRADA, A.; COATES-ESTRADA, R. Use of leaf resources by howling monkeys (*Alouatta palliata*) and leaf-cutting ants (*Atta cephalotes*) in the tropical rain of Los Tuxtlas, México. **American Journal of Primatology**, v. 10, p. 51-66, 1986.

ETZLER, M. E. Plant lectins: Molecular biology, synthesis, and function. In: ALLEN, H. J.; KISAILUS, E. C. (Eds). **Glycocon.** New York, Dekker, 1992. p. 521-539.

\_\_\_\_\_. The *Dolichos biflorus* lectin family: A model system for studying legume lectin structure and function. In: Van DRIESSCHE, E. et al. (Eds). **Lectins: Biology, Biochemistry, Clinical Biochemistry**, 1996. v. 11, p. 3-9.

FABREGAS, J. et al. Purification and partial characterization of tomentine: an N-acetylglucosamine-specific lectin from the green alga *Codium tomentosum* (Huds.) Stackh. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.**, v. 124, p. 21-30, 1988.

FEBVAY, G.; KERMARREC, A. Digestive physiology of leaf-cutting ants. In: LOFGREN, C. S.; VANDER MEER, R. K. **Fire ants and leaf-cutting ants biology and management.** Boulder, Westview Press, 1986. 435 p. p. 274 -288.

FERENC, M.; MORAWIECKA, B. Lectins involved in fast mobilization of seeds reserves? Rye germ agglutinin (RGA) activates endogenous acid phosphatases. In: BOG-HANSEN, T. C.; BREBOROWICZ, J. (Eds). **Lectins: Biology, Biochemistry, Clinical Biochemistry**, Berlin, de Gryter, 1985. v. 4, p. 515-522.

FERNANDES, J. B. et al. Extrações óleos de sementes de citros e suas atividades sobre a formiga cortadeira *Atta sexdens* e seu fungo simbiote. **Quim. Nova**, v. 25, n.6B, p. 1095-2002.

FISHER, P. J.; STRADLING, D. J.; PEGLER, D. N. *Leucoagaricus basidiomata* from a live nest of the leaf-cutting ant *Atta cephalotes*. **Mycol. Res.**, v. 98, n. 8, p. 884-888, 1994.

FITCHES, E.; GATEHOUSE, A. M. R.; GATEHOUSE, J. A. Effects of snowdrop lectin (GNA) delivered via artificial diet transgenic plants on the development of the tomato moth (*Lacanobia oleracea*) larvae in laboratory and glasshouse trials. **J. Ins. Physiol.**, v. 43, n. 8, p. 727-739, 1997.

FITCHES, E.; GATEHOUSE, J. A. A comparison of the short and long term effects of insecticidal lectins on the activities of soluble and brush border enzymes of tomato moth larvae (*Lacanobia oleracea*). **J. Ins. Physiol.**, v. 44, p. 1213-1224, 1998.

FOWLER, H. G. et al. Population dynamics of leaf-cutting ants: a brief review. In: LOFGREN, C. S.; VANDER MEER, R. K. **Fire ants and leaf-cutting ants biology and management**. Boulder, Westview Press, 1986. 435 p. p. 123-145.

FREIRE, E. L. P. **Série temporal discreta do comportamento outonal da saúva do nordeste**. 1994. 43f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Depto Fitotecnia/CCA/UFC, Fortaleza. 1994.

GABIUS, H. J. Non-carbohydrate binding partners/domains of animals lectins. **Int. J. Biochem.** v. 26, p. 469-477, 1997.

GATEHOUSE, A. M. R. et al. Effects of ribosome inactivating proteins on insect development- differences between Lepidoptera and Coleoptera. **Ent. Exp. Appl.**, v. 54, p. 43-51, 1990.

GATEHOUSE, A. M. R.; BOULTER, D.; HILDER, V. Potential of plant derived genes in the genetic manipulation of crops for insect resistance. **Biotec. Agric. Ser.**, v. 7, p. 155-181, 1992a.

GATEHOUSE, A. M. R.; GATEHOUSE, J. A. Identifying proteins with insecticidal activity: use of encoding genes to produce insect-resistant transgenic crops. **Pest. Sci.**, v. 52, p. 165-175, 1998.

GATEHOUSE, A. M. R. et al. Effect of seed lectin from *Phaseolus vulgaris* on the development of larvae of *Callosobruchus maculatus*, mechanism of toxicity. **J. Sci. Food Agric.**, v. 35, p. 373-380, 1984.

GATEHOUSE, A. M. R. et al. Transgenic potato plants with enhanced resistance to the peach-potato aphid *Myzus persicae*. **Ent. Exp. Appl.**, v. 79, p. 295-307, 1996.

GATEHOUSE, A. M. R. et al. Biochemical basis of insect resistance in *Vigna unguiculata*. **J. Sci. Food Agric.**, v. 30, p. 948-958, 1979.

GATEHOUSE, A. M. R. et al. Potential of plant derived genes in the genetic manipulation of crops for insect resistance, In: MENKEN, S. B. J.; VISSER, J. A.; HAREWIJN, P. (Eds). **Proc. 8th Int. Symp. Insect-Plant Relationships**. Dordrecht, Kluwer, 1992b. p. 221-234.

GATEHOUSE, A. M. R. et al. Biochemical basis of insect resistance in winged bean seed (*Psophocarpus tetragonolobus*) seeds. **J. Sci. Food Agric.**, v. 55, p. 63-74, 1991.

GATEHOUSE, A. M. R. et al. Insecticidal properties of plant lectins. Their potential in plant protection. In: PUSZTAI, A.; BARDOCZ, S. (Eds). **Lectins: Biomedical Perspectives**. London: Francis & Taylor, 1995. p. 35-58.

GATEHOUSE, A. M. R. et al. Mechanism of seed lectin tolerance by a major insect storage pest of *Phaseolus vulgaris*, *Acanthoscelides obtectus*. **J. Sci. Food Agric.**, v. 47, p. 269-280, 1989.

GERS-BARLAG, H.; BARTZ, I.; RÜDIGER, H.  $\beta$ -N-acetilhexosaminidase from soybean. **Phytochem.**, v. 27, p. 3739-3841, 1988.

GIDROL, X. et al. Hevein, a lectin-like protein from *Hevea brasiliensis* (rubber tree) is involved in the coagulation of latex. **J. Biol. Chem.**, v. 269, p. 9278-9283, 1994.

GIOLLANT, M. O. et al. Characterization of a lectin from *Lactarius deterrimus*. Research on the possible involvement of the fungal lectin in recognition between mushroom and spruce during the early stages of mycorrhizae formation. **Plant Physiol.**, v. 101, p. 513-522, 1993.

GOLDSTEIN, I. J.; PORETZ, R. D. Isolation and chemical properties of lectins. In: LIENER, I. E.; SHARON, N.; GOLDSTEIN, I. J. (Eds). **The lectins: Properties, Functions, and Applications in Biology and Medicine**. Academic, London, 1986. p. 33-247.

GOLDSTEIN, I. J. et al. What should be called a lectin? **Nature**, v. 285, n. 66, 1980.

GONÇALVES, C. R. As saúvas do nordeste do Brasil (*Atta* spp., Formicidae). **Bol. Fitoss.**, v. 5, n. 1/2, p. 1-34, 1951.

GONÇALVES, L. R. Distribuição, biologia e ecologia das saúvas. **Divulg. Agron.** v. 1, p. 2-10, 1960.

GONÇALVES, N. G. G. **Manipulação cultural da saúva do nordeste em agroecossistemas de feijão-de-corda**. 1984. 94f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) – Depto Fitotecnia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 1984.

GONSALVES, A. D. Formiga saúva como fator geológico. **O Campo**, v. 6, p. 12-19, 1935.

GRANJEIRO, T. B. **Clonagem, sequenciamento e expressão do gen da lectina (Con Br) de sementes de *Canavalia brasiliensis***. 1996. 133f. Tese (Doutorado em Bioquímica) – Depto. Bioq. Biol. Mol. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 1996.

HARDMAN, K. D.; AINSWORTH, C. F. Structure of concanavalin A at 2,4-Å resolution. **Biochemistry**, v. 11, n. 26, p. 4910-4919, 1972.

HARPER, S. M. et al. Lectin binding to insect brush-border membranes. **J. Econ. Ent.**, v. 88, n. 5, p. 1197-1202, 1995.

HINCHA, D. K.; BAKALTCHEVA, I.; SCHMITT, J. M. Galactose specific lectins protect thylakoids against freeze thaw damage. **Plant Physiol.**, v. 103, p. 59-65, 1993.

HINCHA, D. K.; BRATT, P. J.; WILLIAMS, W. P. A cryoprotective lectins reduces the solute permeability and lipid fluidity of thylakoid membranes. **Cryobiol.**, v. 34, p. 193-199, 1997a.

HINCHA, D. K.; PFÜLLER, U.; SCHMITT, J. M. A role for lectins in frost hardiness. **Eur. J. Cell. Biol.**, v. 74, p. 14, 1997c. Suppl. 46.

\_\_\_\_\_. The concentration of cryoprotective lectins in mistletoe (*Viscum album*) leaves is correlated with leaf frost hardiness. **Planta**, v. 203, p. 140-144, 1997b.

HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E. O. **The ants**. Cambridge, The Belknap Press, 1990. 732p.

HOWARD, J. J. Infidelity of leaf-cutting ants to host plants: resource heterogeneity or defense induction? **Ecology**, v. 82, p. 394-401, 1990.

HOWARD, J. J. Leaf-cutting ant diet selection: relative influence of leaf chemistry and physical features. **Ecology**, v. 69, p. 250-260, 1988.

HOWARD, J. J. Leaf-cutting ant diet selection: the role of nutrients, water and secondary chemistry. **Ecology**, v. 68, p. 503-515, 1987.

HOWSE, P. E. Chemical communication in leaf-cutting ants. In: LOFGREN, C. S., VANDER MEER, R. K. **Fire ants and leaf-cutting ants biology and management**. Boulder: Westview Press, 1986. 435p. p. 192-200.

HUBELL, S. P. et al. Chemical leaf repellency to an attine ant: seasonal distribution among potential host plant species, **Ecology**, v. 65, p. 1067-1076, 1984.

HUESING, J. E.; MURDOCK, L. L.; SHADE, R. E. Effect of wheat germ isolectins on development of cowpea weevil. **Phytochem.**, v. 30, p. 785-788, 1991b.

\_\_\_\_\_. Rice and stinging nettle lectins: Insecticidal activity similar to wheat germ agglutinin. **Phytochem.**, v. 30, n. 11, p. 3565-3568, 1991c.

HUESING, J. E. et al.  $\alpha$  - Amylase inhibitor, not phytohemagglutinin, explains resistance of common bean to cowpea weevil. **Plant Physiol.**, v. 96, p. 993-936, 1991a.

ISIDRO, R. **Ação de lectinas vegetais sobre o comportamento da saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939.** 1996. 108f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Depto. de Fitotecnia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1996.

JACOBY, M. **A saúva – uma inteligência nociva.** Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1950. 76p.

JANZEN, D. H.; JUSTER, H. B.; LIENER, I. E. Insecticidal action of the phytohemagglutinin in black beans on a bruchidae beetle. **Science**, v. 192, p. 795-796, 1976.

JEANNE, R. L.; DAVIDSON, D. W. Population regulation in social insects. In: HUFFAKER, C. B.; RABB, R. L. **Ecolog. Ent.**, New York: John Wiley & Sons, p. 559-587, 1984.

JOUANIN, L. et al. Transgenic plants for insect resistance. **Plant Sci.**, v. 131, p. 1-11, 1998.

JOUBERT, F. J.; SHARON, N.; MERRIFIELD, E. H. Purification and properties of a lectin from *Lonchocarpus capassa* (apple-leaf) seed. **Phytochem.**, v. 25, n. 2., p. 323-327, 1986.

KOCOUREK, J.; HOREJSI, V. A note on the recent discussion on definition of the term "lectin". In: BOG-HANSEN, T. C.; SPENGLER, G. A. (Eds). **Lectins: Biology, Biochemistry, Clinical Biochemistry**, 1983. v. 3, p. 3-6.

\_\_\_\_\_. Defining a lectin. **Nature**, v. 290, p. 188, 1980.

KOGAN, M. Natural chemicals in plant resistance to insects. **Iowa State Jour. Resear.**, v. 60, n. 4, p. 501-527, 1986.

KOMAROVA, E. N. et al. Effect of fusicoccin on the activity and carbohydrate specificity of lectins from crown cell walls and the frost resistance of winter-wheat plants. **Russ. J. Plant Physiol.**, v. 44, p. 454-457, 1997.

KONAMI, Y.; YAMAMOTOK, K.; OSAWA, T. The primary structures of two types of the *Ulex europeus* seeds lectin. **J. Biochem.**, v. 109, p. 650-658, 1991.

LIS, H.; SHARON, N. Lectins: Carbohydrate-Specific Proteins That Mediate Cellular Recognition. **Chem. Rev.**, v. 98, p. 637-674, 1998.

LIS, H.; SHARON, N. Affinity chromatography for the purification of lectins. *J. Chromatogr.*, v. 215, p. 361-372, 1981.

LOFGREN, C. S.; VANDER MEER, R. K. **Fire ants and leaf-cutting ants biology and management**. Boulder, Westview Press, 1986. 435 p.

LOH, J. T. et al. Carbohydrate binding activities of *Bradyrhizobium japonicum*: Unipolar localization of the lectin BJ38 on the bacterial surface. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 90, p. 3033-3037, 1993.

LOPES, J. L. C.; GILBERT, B. Constituintes químicos do fungo da *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera, Formicidae). *Arq. Inst. Biol.*, v. 44, n. 1/2, p. 75-83, 1977.

MACHUKA, J. et al. The african yam bean seed lectin affects the development of the cowpea weevil but does not affect the development of larvae of the legume pod borer. *Phytochem.*, v. 53, p. 667-674, 2000.

MACHUKA, J. et al. Isolation and partial characterization of new galactose specific lectins from African yam beans *Sphenostylis stenocarpa* Harms. *Phytochem.*, v. 51, p. 721-728, 1999.

MAKELA, D. Studies in hemagglutinins of leguminosae seeds. *Ann. Med. Exp. Biol. Fenn.*, v. 35, n. 11, 1957. 56p. Suppl.

MARCUS, S.; MAYCOY, P. R.; BOWLES, D. J. Co A - binding polypeptides in jackbean cotyledons. *Phytochem.*, v. 28, p. 333-336, 1989.

MARIANO FILHO, J. Contribuição ao conhecimento da biologia de algumas espécies do gênero *Atta*. *Bol. Min. Agric.*, v. 3, p. 19-29, s.d.

MARICONI, F. A. M. **As saúvas**. São Paulo: Ceres, 1970. 167p.

MARICONI, F. A. M.; PAIVA CASTRO, U. Notas sobre a saúva e o sauveiro. *O Biológico*, v. 26, n. 6, p. 97-108, 1960.

MARICONI, F. A. M.; ZAMITH, A. P. L.; PAIVA CASTRO, U. As saúvas de Piracicaba e municípios vizinhos e sua relação com a flora, solo e clima. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE DE BOTÂNICA DO BRASIL, 13., 1964, Recife. *Anais...* Recife, 1964. p. 285-286.

MONTEIRO, A. C. O. et al. Isolation and partial characterization of a lectin from *Canavalia dictyota* seeds. *Rev. Bras. Fisiol. Veg.*, v. 10, n. 3, p. 167-172, 1998.

MONTGOMERY, D. C. **Designs and Analysis of Experiments**. 3<sup>rd</sup> ed., John Wiley, New York. 1991. 649p.

MOREIRA, R. A. **Domesticação da saúva: Influência do ciclo lunar na busca de provisão de operárias de *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939**. 1997. 111f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1997.

MOREIRA, R. A. **Lectinas Vegetais. Uma abordagem química e físico-química**. 1998. 600 f. Tese (Professor Titular) - Depto Bioq. Biol. Mol., Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 1998.

MOREIRA, R. A.; CAVADA, B. S. Lectin from *Canavalia brasiliensis* (Mart.). Isolation, characterization and behavior during germination. **Biol. Plant.**, v. 26, n. 2, p. 113-120, 1984.

MOREIRA, R. A. et al. Isolation and characterization of a lectin from the seeds of *Dioclea grandiflora* Mart. **Planta**, v. 158, p. 63-69, 1983.

MOREIRA, R. A. et al. Isolation and partial characterization of a lectin from *Dioclea violacea* Benth seeds. **Rev. Bras. Fisiol. Veg.**, v. 8, n. 1, p. 23-29, 1996.

MOREIRA, R. A. et al. Isolation and characterization of *Dioclea altissima* var. *megacarpa* seed lectin. **Phytochem.**, v. 46, n. 1, p. 139-144, 1997.

MUCHOVEJ, J. J.; DELLA LUCIA, T. M.; MUCHOVEJ, R. M. C. *Leucoagaricus weberi* sp. nov. from a live nest of leaf-cutting ants. **Mycol. Res.**, v. 95, n. 11, p.1308-1311, 1991.

MURDOCK, L. L. et al. Biological effects of plant lectins on the cowpea weevil. **Phytochem.**, v. 29, p. 85-89, 1990.

NIEVE MORENO, M. L. et al. Biological activity of lectin from mature *Cyphomandra betacea* Sendt. Fruits. **Eur. J. Cell Biol.**, v. 74, n. 46, p. 35, 1997. Suppl.

NIKITINA, V. E. et al. Role of lectins of the cell surface of *Azospirilla* in association with wheat roots. **Microbiol.**, v. 65, p. 144-148, 1996.

OLIVEIRA, J. S. de. et al. Componentes do feromônio de trilha das formigas cortadeiras *Atta bisphaerica* Forel (Formicidae: *Attini*). **An. Soc. Ent. Bras.**, v. 19, n. 1, p. 143-154, 1990.

OLIVEIRA, J. T. A.; CAVADA, B. S.; MOREIRA, R. A. Isolation and partial characterization of a lectin from *Cratylia floribunda* Mart. Seeds. **Rev. Bras. Botân.**, v. 14, p. 61-66, 1991.

OLIVEIRA FILHO, M. L. de. O problema da saúva. *Rev. Inst. Café*, v. 9, n. 85, p. 110-113, 1934.

OMITOGUN, O. G.; JACKAI, L. E. N.; THOTTAPPILLY, G. Isolation of insecticidal lectin-enriched extracts from African yam bean (*Sphenostylis stenocarpa*) and other legume species. *Ent. Exp. Appl.*, v. 301, p. 9301-9311, 1999.

OSBORNE, T. C. et al. Insecticidal activity and lectin homology of arcelin seed protein. *Science*, v. 240, p. 207-210, 1989.

PAIVA CASTRO, U.; ZAMITH, A. P. L.; MARICONI, F. A. M. Contribuição para o conhecimento da saúva de vidro, *Atta laevigata* Fred. Smith, 1858. *Anais...: E.S.A. 'Luiz de Queiroz'*, 18., p. 313-325, 1961.

PEUMANS, W. J.; De Ley, M.; BROEKAERT, W. F. An Unusual lectin from stinging nettle (*Urtica dioica*) rhizomas. *FEBS LETT.*, v. 177, p. 99-103, 1984.

PEUMANS, W. J.; Van DAMME, E. J. M. Lectins as plant defense proteins. *Plant Physiol.*, v. 109, p. 347-352, 1995c.

\_\_\_\_\_. Lectins as plant defense proteins. In: PUSZTAI, A.; BARDOCZ, S. (Eds): *Lectins: Biomedical Perspectives*. London: Taylor & Francis, 1995a, p. 1-12.

\_\_\_\_\_. Plant Lectins: Storage protein with a defensive role. In: BASU, J. P.; KUNDU, P.; CHAKRABARTI (Eds). *Lectins: Biology, Biochemistry, Clinical Biochemistry*. New Delhi, Wiley Eastern, 1994c. v. 9, p. 27-34.

\_\_\_\_\_. The role of lectins in plant defense. *Histochem. J.*, v. 27, p. 253-271, 1995b.

\_\_\_\_\_. The role of lectins in the plant's defense against insects: In: Van DRIESSCHE, E. et al. (Eds). *Lectins: Biology, Biochemistry, Clinical Biochemistry*. Hellerup, v. 10, p. 128-141, 1994b.

PEUMANS, W. J. et al. Isolation and partial characterization of a lectin from ground elder (*Aegopodium podagraria*) rhizomas. *Planta*, v. 164, p. 75-82, 1985.

PEUMANS, W. J. et al. Isolation of a novel plant lectin with an unusual specificity from *Calystegia sepium*. *Glycoconj. J.*, v. 14, p. 259-265, 1997.

PIMENTEL GOMES, F. *Curso de Estatística Experimental*. 8. ed. São Paulo: Livraria Nobel, 1978. 465p.

POWELL, K. S.; GATEHOUSE, A. M. R.; HILDER, V. A.; GATEHOUSE, J. A. Antimetabolic effects of plant lectins and plant and fungal enzymes on the nymphal stages of two important rice pest, *Nilaparvata lugens* and *Nephotettix cinciteps*. **Ent., Exp. Appl.**, v. 66, p. 119-126, 1993.

\_\_\_\_\_. Antifeedant effect of plant lectins and an enzyme on the adult stage of the rice brown planthopper *Nilaparvata lugens*. **Ent. Exp. Appl.**, v. 75, p. 51-59, 1995a.

POWELL, K. S. et al. Different antimetabolic effects of related lectins towards nymphal stages of *Nilaparvata lugens*. **Ent. Exp. Appl.**, v. 75, p. 61-65, 1995b.

POWELL, K. S. et al. Immunochemical and developmental studies to elucidate the mechanism of action of the snowdrop lectin on the rice brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stal). **J. Ins. Physiol.**, v. 44, p. 529-539, 1998.

PUSZTAI, A. **Plant Lectins**. Cambridge: University Press, 1991. 263 p.

PUSZTAI, A.; BARDOCZ, S. Physiological role(s) of lectins in plants and the effects of their inclusion in the diet on the gut and metabolism of mammals. **Curr. Top. Plant. Physiol.**, v. 15, p. 179-191, 1995.

PUSZTAI, A. et al. The relation-ship between survival and binding of plant lectins during small intestine passage and their effectiveness as growth factors. **Digestion**, v. 46, p. 308-316, 1990.

PUSZTAI, A. et al. Kidney bean lectin-induced *Escherichia coli* overgrowth in the small-intestine is blocked by GNA, a mannose-specific lectin. **J. Appl. Bacteriol.**, v. 75, p. 360-368, 1993.

RAHBÉ, Y.; FEBVAY, G. Protein toxicity to aphids: an in vitro test on *Acyrtosiphon pisum*. **Ent. Exp. Appl.**, v. 67, p. 149-160, 1993.

RAHBÉ, Y. et al. Toxicity of lectins and processing of ingested proteins in the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. **Ent. Exp. Appl.**, v. 76, p. 143-155, 1995.

RAO, K. V. et al. Expression of snowdrop lectin (GNA) in transgenic rice plants confers resistance to rice brown planthopper. **Plant J.**, v. 15, p. 469-477, 1998.

RICHARD, T.; BOTTON, B. Isolation, characterization and partial sequence of a lectin of *Rigidoporus lignosus* possible involvement in Rhizomorph production In: **INTERLEC MEETING TOULOUSE, 16<sup>th</sup>**, 1995. p.113.

RICHARDS, A. G.; RICHARDS, P. A. The peritrophia membranes of insects. **Ann. Rev. Entom.**, v. 22, p. 787-791, 1977.

ROCKWOOD, L. L. Foraging patterns and plant selection in Costa Rica leaf-cutting ants. **New York Entomol. Soc.**, v. 85, n. 4, p. 222-223, 1978.

ROSEN, S. et al. A cytoplasmatic lectin produced by the fungus *Arthrobotrys oligospora* functions as a storage protein during saprophytic and parasitic growth. **Microb.**, v. 143, p. 2593-2604, 1997.

ROSS, H. H. **A textbook of entomology**. New York: John Wiley & Sons, 1959. 519p.

ROUGÉ, P.; PÉRE, D. Occurrence of lectin during the life cycle of *Lathyrus* species In: Bog-Hansen, T. C. (Eds). **Lectins: Biology, Biochemistry**, Clinical Biochemistry, v. 2, p. 137-150, 1982.

RÜDIGER, H. Plant Lectins - More than tools for glycoscientists: Occurrence, structure, and possible functions of plant lectins. **Acta Anat.**, v. 161, p. 130-152, 1998.

RÜDIGER, H.; BARTZ, I. The phosphatase from *Canavalia ensiformis* seeds interacts with Concanavaline A, the lectin from the same plant. In: Van DRIESSCHE, E. et al. (Eds). **Lectins: Biology, Biochemistry**. Clinical Biochemistry. Hellerup, 1993. v. 8, p. 92-96.

SALES, F. M. Insetos e formas afins em agroecossistema de soja no Estado do Ceará. **Fitossanidade**, v. 3, n. 1/2, p. 57-58, 1979.

SALES, F. J. M. Assessment of the behaviour patterns of the lemon leaf-cutting ant, *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae), to natural sources of allelochemicals. **Bulletin of Entomological Research**, v. 84, n.1, p. 91-96, 1994.

\_\_\_\_\_. **Comunicação pessoal sobre saúvas**. Fortaleza: CCA/UFC/Departamento de Fitotecnia, 1991a. Não publicado.

\_\_\_\_\_. **Comunicação pessoal sobre domesticação da saúva**. CCA/UFC/Departamento de Fitotecnia, 1996. Não publicado.

\_\_\_\_\_. **Relatório do programa de pós-doutorado do bolsista Fernando João Montenegro de Sales, processo n. 6804/84-2. mar./jun., 1986**. Southampton: Universidade de Southampton/Departamento de Biologia, 1986. 57p. (Relatório Técnico-Científico).

\_\_\_\_\_. **Saúvas: bioecologia, comportamento e fontes queromonais**. Fortaleza, CCA/UFC/Departamento de Fitotecnia, 1991b. 277p. (Tese para Concurso de Professor Titular).

\_\_\_\_\_. Saúvas: comportamento, domesticação e aleloquímicos. Fortaleza: CCA/UFC/ Depto. Fitotecnia, 1990. 183f. **Relatório Técnico-Científico nº 1.**

\_\_\_\_\_. **Saúvas: comportamento, domesticação e aleloquímicos.** Fortaleza: EdiAtta, 1998, 326p., il.

SALES, F. J. M.; ALVES, V. P. O.; OLIVEIRA, L. Q.; GOMES, N. G.; VILELA, E. F. Flutuação populacional da saúva do nordeste em ecossistemas distintos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 10, 1986, Rio de Janeiro. **Resumos...** Rio de Janeiro, 1986. p. 112.

SALES, F. J. M.; HOWSE, P. E. Manipulation of the leaf-cutting ants through the use of allelochemicals. II Stimulus and behavior patterns. In: INTERNACIONAL CONGRESS OF ENTOMOLOGY, 19, 1992, Beijing. **Proceedings...** Beijing, 1992. p. 222.

SALZEMANN, A.; JAFFÉ, K. On the territorial behavior of field colonies of the leaf-cutting ant *Atta laevigata* (Hymenoptera: Myrmicinae). **J. Insect Physiol.**, v. 36, n. 2, p. 133-138, 1990.

SANTANA, D. L. Q. et al. Influencia do formato de amostras de folhas de *Eucaliptus* spp. Na atratividade à formiga cortadeira *Atta* spp. (Hymenoptera: Formicidae). **An. Soc. Ent. Bras.**, v. 19, n. 1, p. 67-73, 1990.

SANTOS, C. F. **Caracterização bioquímica e seqüência primária de uma lectina galactose específica (VML) de semente de *Vatairea macrocarpa* (Leguminosae, Dalbergaceae).** 1998. 118 f. Tese (Doutorado em Bioquímica) - Depto. Bioq. Biol. Mol., Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 1998.

SAUER, H. No meio das saúvas. **Chácaras e Quintais**, v. 63, n. 5, p. 603-604, 1941.

SAUVION, N. et al. Effects of GNA and other mannose binding lectins on development and fecundity of the peach-potato aphid *Myzus persicae*. **Ent. Exp. Appl.**, v. 79, p. 285-293, 1996.

SCHULER, T. H. et al. Insect-resistant transgenic plants. **Trends in Biotechnology**, v. 16, p. 168-175, 1998.

SCRIBER, J. M. Host-plant suitability. In: BELL, W. J.; CARDÉ, R. T. **Chemical Ecology of Insects.** London, New York: Chapman and Hall, 1984. p. 159- 202.

SHARON, N. Lectin-carbohydrate complexes and plants and animals: An atomic view. **Trends Biochemic. Sci.**, v. 18, p. 221-226, 1993.

- SHARON, N.; LIS, H. **Lectins**. Chapman and Hall. London, New York, 1989. 126p.
- SHARON, N.; LIS, H. Legumes lectins- a large family of homologous proteins. **FASEB Lett.**, v. 217, n. 2, p. 145-147, 1990.
- SHIOMI, K.; YAMANAKA, H.; KIKUCHI, T. Purification and physicochemical properties of a hemagglutinin (GVA-1) in the red algae *Gracilaria verrucosa*. **Bull. Japon. Soc. Sci. Fish.**, v. 47, n. 8, p. 1079-1084, 1981.
- SHUKLE, R. H.; MURDOCK, L. L. Lysoxygenase, trypsin inhibitor and lectin from soybeans effect on larval growth of *Manduca sexta* (Lepidoptera: Sphingidae). **Env. Entom.**, v. 12, p. 789-791, 1983.
- SINGER, J. M.; ANDRADE, D. F. **Análise de Dados Longitudinais**. Campinas, 1986. 106p.
- SIQUEIRA, C. G. et al, Metabolism of plant polysaccharides by *Leucoagaricus gongylophorus*, the symbiotic fungus of the leaf-cutting ant *Atta sexdens* L. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 64, n.12, p. 4820-4822, 1998.
- SLÁMA, K. Plants as source of materials with insect hormone activity. **Ent. Exp. Appl.**, v. 12, n. 1969, p. 721-728, 1969.
- SMEETS, K. et al. Isolation and characterization of lectins and alliinase complexes from bulbs of garlic (*Allium sativum*) and ramsons (*Allium ursinum*). **Glycoconj.**, v. 14, p. 331-343, 1997.
- SOUSA, F. M. A. **Comparação quimiotaxonômica de sementes de *Machaerium acutifolium* Vog.** 1997. 77f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Depto Bioq. Biol. Mol., Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 1997.
- STINISSEN, H. M.; PEUMANS, W. J. Recent advances in the biochemistry, cell biology, physiology, biosynthesis and genetics of Gramineae lectins. **Biochemie und Physiologie der Pflanzen**, v. 180, p. 85-106, 1985.
- STOGER, E. et al. Expression of the insecticidal lectin from snowdrop (*Galanthus nivalis* agglutinin; GNA) in transgenic wheat plants: effects on predation by the grain aphid *Sitobion avenae*. **Mol. Breed.**, v. 5, p. 65-77, 1999.
- STRADLING, D. J.; POWELL, R. J. The cloning of more highly productive fungal strains: a factor in the speciation of fungus-growing ants. **Exper.**, v. 42, p. 962-964, 1986.

SUMNER, J. B.; HOWELL, S. F. The identification of the hemagglutinin of the jack bean with concanavalin A. **J. Bacter.**, v. 32, p. 227-237, 1936.

TAVARES, J. S. A formiga é o maior inimigo dos brasileiros. **Alm. Agric. Braz.**, v. 4, p. 215-222, 1915.

TOWNSEND, C. H. T. A formiga saúva, hábitos, ninhos, inimigos, meios de combate. **Bol. Agric.**, v. 22, n. 3/4, p. 58-73, 1921.

TUMLINSON, J. H. Et al. Identification of the trail pheromone of a leaf-cutting ant, *Atta texana*. **Nature**, v. 234, p. 348-349, 1971.

Van DAMME, E. J. M.; PEUMANS, W. J. Developmental changes and tissues distribution of lectin in *Galantus nivalis* and *Narcissus*. **Planta**, v. 182, p. 605-609, 1990.

Van DAMME, E. J. M. et al. **Plant Lectins: a special class of plant proteins**. Handbook of plant lectins: Properties and Biochemical Applications. John Wiley & Sons, Chichester, UK, 1998a. 452p.

Van DAMME, E. J. M. et al. Plant Lectins: a composite of several distinct families of structurally and evolutionary related proteins with diverse biological roles. **Crit. Ver. Pl. Sci.**, v. 17, p. 575-692, 1998b.

Van DAMME, E. J. M. et al. Characterization and molecular cloning of the mannose-binding lectins from three Orchidaceae species: *Listera ovata*, *Epipactis hellborine* and *Cymbidium* hybrid. **Eur. J. Biochem.**, v. 221, p. 769-777, 1994.

Van PARIJS, J. et al. Hevein: An antifungal protein from rubber tree (*Hevea brasiliensis*) latex. **Planta**, v. 183, p. 258-264, 1991.

VASCONCELOS, I. M. et al. Purification and partial characterization of a lectin from the seeds of *Dioclea guianensis*. **J. Food Biochem.**, v. 15, p. 137-154, 1991.

VELHO, R. A saúva. **Bol. S. A. I. C.**, v. 15, n. 2, p. 156-160, 1948.

VILELA, E. F.; DELLA LÚCIA, T.; JAFFÉ, K. A linguagem dos odores. **Ciência Hoje**. SBPC. v. 6, n. 35, p. 26-31, 1987.

VILELA, E. F.; HOWSE, P. E. Pheromone performance as an attractive component in baits for the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae). **An. Soc. Ent. Bras.**, v. 17, p. 107-124, 1988. Suppl.

VILLALOBO, A.; GABIUS, H. J. Signaling pathway for transduction of the initial message of the glycode into cellular responses. **Acta Anat.**, v. 161, p. 110-129, 1998.

VOZARI-HAMPE, M. M. et al. A lectin from *Sechium edule* exudate. **Phytochem.**, v. 31, p. 1407-1480, 1992.

WALLER, D. A. Leaf-cutting ants and live oaks: the role of leaf toughness in seasonal and intraspecific host choice. **Ent. Exp. Appl.**, v. 32, p. 146-152, 1982.

WALLER, G. R. Allelochemical action of some natural products. **Phytoch. Ecol.**, v. 9, p. 129-154, 1989.

WARDMAN, K. D.; AINSWORTH, C. F. Structure of Concanavaline A at 2,4-A resolution. **Biochem.**, v. 11, n. 26, p. 4910-4919, 1972.

WEBER, N. A. Pure cultures of fungi produced by ants. **Science**, v. 121, p. 109, 1955.

\_\_\_\_\_. A ten-year laboratory colony of *Atta cephalotes*. **Ann. Ent. Soc. Am.**, v. 69, n. 5, p. 825-829, 1976.

\_\_\_\_\_. Fungus-growing ants. **Science.**, v. 153, n. 3736, p. 587-604, 1966.

\_\_\_\_\_. The fungus-culturing behavior of ants. In: INTERNATIONAL MYCOLOGICAL CONGRESS, 2., 1977, Tampa. **Abstract...** Tampa, 1977. p. 722.

WHITTAKER, R. H.; FEENY, P. P. Allelochemics: chemical interactions between species. **Science**. v. 171, n. 3973, p. 757-770, 1971.

WIERZBA-ARABSKA, E.; MORAWIECKA, B. Purification and properties of lectin from potato tubers and leaves: interaction with acid phosphatase from potato tubers. **Acta Biochem.**, v. 34, p. 407-420, 1987.

WILSON, E. O. Causes of ecological success: the case of the ants. The sixth Tansley lecture. **J. Anim. Ecol.**, v. 6, p. 1-9, 1987.

WILSON, E. O. **The insect societies**. Cambridge: The Belknap Press, 1974. 548p.

WINNER, B. J. **Statistical Principles in Experimental Design**. 2<sup>nd</sup> ed., McGraw-Hill, New York, 1971. 907p.

## APÊNDICE

Dados Originais dos Números Médios de Operárias de Saúva do Nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae) Analisados quanto à Reação aos Diferentes Tratamentos, ao Tempo, as Doses e Tipos de Respostas, Considerando-se as Variáveis do Comportamento do Referido Atínio, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

QUADRO 1. Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função do tempo (h), no comportamento Acesso à Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Tempo (h)	Média	Comparações*
15:10	16,57	a
15:20	34,72	b
15:30	26,10	a b
15:40	19,47	a
15:50	16,87	a
16:00	15,55	a

Nota: \* médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

QUADRO 2. Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função do tempo (h), no comportamento Marcação de Território na Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Tempo (h)	Média	Comparações*
15:10	0,81	a
15:20	2,12	c
15:30	1,68	b c
15:40	1,44	a b c
15:50	1,10	a b
16:00	1,05	a b

Nota: \* médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

QUADRO 3. Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função dos tratamentos com lectinas, no comportamento Acesso ao Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Lectinas	Média	Comparações*
Papel de Filtro + Sol. Salina + Lec. <i>D. violacea</i>	1,21	a
Papel de Filtro + Sol. Salina + Lec. <i>V. macrocarpa</i>	4,47	b

Nota: \* médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

QUADRO 4. Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função do tempo (h), no comportamento Exploração do Local do Tratamento, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Tempo (h)	Média	Comparações*
15:10	0,68	a
15:20	2,42	b
15:30	2,30	b
15:40	1,89	a b
15:50	1,79	a b
16:00	1,74	a b

Nota: \* médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

QUADRO 5. Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função dos tratamentos e do tempo (h), no comportamento Exploração do Local do Tratamento, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Tempo(h)	15:10	15:20	15:30	15:40	15:50	16:00
Tratamentos						
Papel de Filtro	0,33 a	1,11 a	1,05 a	0,28 a	0,50 a	0,11 a
Papel de Filtro + Solução Salina	0,61 a	3,22 ab	3,17 a	2,44 a	2,22 a	2,89 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Dioclea violacea</i> 0,02 mg.ml <sup>-1</sup>	0,33 a	0,67 a	2,00 a	0,67 a	0,67 a	0,00 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Dioclea violacea</i> 0,06 mg.ml <sup>-1</sup>	0,33 a	0,33 a	0,67 a	0,33 a	0,67 a	0,67 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Dioclea violacea</i> 1,00 mg.ml <sup>-1</sup>	1,67 a	1,00 a	2,00 a	1,00 a	1,00 a	2,67 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Dioclea violacea</i> 1,50 mg.ml <sup>-1</sup>	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Dioclea violacea</i> 2,00 mg.ml <sup>-1</sup>	3,00 a	4,00 ab	2,00 a	0,33 a	1,00 a	0,33 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Dioclea violacea</i> 2,50 mg.ml <sup>-1</sup>	0,67 a	5,00 ab	1,33 a	0,00 a	1,33 a	0,67 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Vatairea macrocarpa</i> 0,02 mg.ml <sup>-1</sup>	1,00 a	1,67 a	7,67 a	13,67 b	11,67 ab	7,00 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Vatairea macrocarpa</i> 0,06 mg.ml <sup>-1</sup>	0,00 a	0,33 a	1,67 a	2,00 a	2,67 ab	2,67 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Vatairea macrocarpa</i> 1,00 mg.ml <sup>-1</sup>	0,33 a	0,00 a	0,00 a	0,33 a	0,00 a	1,33 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Vatairea macrocarpa</i> 1,50 mg.ml <sup>-1</sup>	0,00 a	0,33 a	0,33 a	0,33 a	0,00 a	0,00 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Vatairea macrocarpa</i> 2,00 mg.ml <sup>-1</sup>	0,33 a	6,67 ab	3,33 a	7,00 ab	6,00 ab	6,67 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Vatairea macrocarpa</i> 2,50 mg.ml <sup>-1</sup>	0,00 a	12,00 b	9,00 a	3,33 a	1,67 a	1,67 a

Nota: \* médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 10% de probabilidade

QUADRO 6. Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função do tempo (h), no comportamento Início do Corte do Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Tempo (h)	Média	Comparações*
15:10	0,00	a
15:20	0,12	a b
15:30	0,33	a b
15:40	0,68	b c
15:50	0,87	c
16:00	1,12	c

Nota: \* médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

QUADRO 7. Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função dos tratamentos testemunhas, no comportamento Acesso à Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Testemunha	Média	Comparações*
Papel de Filtro	17,70	a
Papel de Filtro + Solução Salina	37,67	b

Nota: \* médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

QUADRO 8. Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função do tempo (h), no comportamento Acesso à Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Tempo (h)	Média	Comparações*
16:10	13,19	a
17:10	16,24	a
18:10	29,33	b
19:10	33,32	b c
20:10	42,74	c
21:10	38,25	b c

Nota: \* médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

QUADRO 9. Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função dos tratamentos e do tempo (h), no comportamento Acesso à Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Tempo (h)	16:10	17:10	18:10	19:10	20:10	21:10
Tratamento						
Papel de Filtro	13,00 a	7,61 a	18,27 a	15,33 a	30,89 ab	21,11 a
Solução Salina	13,33 a	23,61 a	39,78 a	44,55 a	48,55 ab	56,22 a
Papel de Filtro + Lec. <i>Dioclea violacea</i> 0,02 mg.ml <sup>-1</sup>	15,67 a	28,67 a	44,67 a	82,33 a	36,67 ab	65,67 a
Papel de Filtro + Lec. <i>Dioclea violacea</i> 0,06 mg.ml <sup>-1</sup>	4,67 a	3,67 a	3,33 a	5,67 a	6,00 a	1,67 a
Papel de Filtro + Lec. <i>Dioclea violacea</i> 1,00 mg.ml <sup>-1</sup>	19,00 a	24,33 a	42,33 a	58,67 a	77,00 ab	37,67 a
Papel de Filtro + Lec. <i>Dioclea violacea</i> 1,50 mg.ml <sup>-1</sup>	0,00 a	1,00 a	9,67 a	13,67 a	41,33 ab	26,00 a
Papel de Filtro + Lec. <i>Dioclea violacea</i> 2,00 mg.ml <sup>-1</sup>	1,33 a	8,67 a	39,33 a	30,33 a	47,67 ab	50,33 a
Papel de Filtro + Lec. <i>Dioclea violacea</i> 2,50 mg.ml <sup>-1</sup>	16,33 a	17,33 a	90,67 a	21,67 a	114,33 b	23,33 a
Papel de Filtro + Lec. <i>Vatairea macrocarpa</i> 0,02 mg.ml <sup>-1</sup>	30,33 a	48,33 a	35,33 a	62,33 a	57,33 ab	67,33 a
Papel de Filtro + Lec. <i>Vatairea macrocarpa</i> 0,06 mg.ml <sup>-1</sup>	5,67 a	6,33 <sup>a</sup>	3,00 a	12,67 a	5,67 a	10,33 a
Papel de Filtro + Lec. <i>Vatairea macrocarpa</i> 1,00 mg.ml <sup>-1</sup>	14,67 a	8,33 a	2,33 a	9,67 a	24,00 a	62,00 a
Papel de Filtro + Lec. <i>Vatairea macrocarpa</i> 1,50 mg.ml <sup>-1</sup>	21,67 a	12,67 a	47,33 a	68,00 a	56,00 ab	24,00 a
Papel de Filtro + Lec. <i>Vatairea macrocarpa</i> 2,00 mg.ml <sup>-1</sup>	14,00 a	41,00 a	26,33 a	75,33 a	81,00 ab	62,67 a
Papel de Filtro + Lec. <i>Vatairea macrocarpa</i> 2,50 mg.ml <sup>-1</sup>	15,33 a	2,00 a	11,33 a	0,00 a	2,00 a	23,00 a

Nota: \* médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 10% de probabilidade

QUADRO 10. Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função dos tratamentos testemunhas, no comportamento Marcação de Território na Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Testemunha	Média	Comparações*
Papel de Filtro	1,38	a
Papel de Filtro + Solução Salina	2,33	b

Nota: \* médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

QUADRO 11. Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função do tempo (h), no comportamento Marcação de Território na Área de Provisão, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Tempo (h)	Média	Comparações*
16:10	0,93	a
17:10	1,03	a
18:10	1,50	a b
19:10	2,01	b
20:10	2,35	b
21:10	2,26	b

Nota: \* médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

**QUADRO 12.** Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função dos tratamentos testemunhas, no comportamento Acesso ao Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Testemunha	Média	Comparações*
Papel de Filtro	0,80	a
Papel de Filtro + Solução Salina	10,99	b

Nota: \* médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

**QUADRO 13.** Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função do tempo (h), no comportamento Acesso ao Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Tempo (h)	Média	Comparações*
16:10	2,46	a
17:10	5,50	a b
18:10	9,06	b c
19:10	9,37	b c
20:10	10,82	c
21:10	9,97	c

Nota: \* médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

QUADRO 14. Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função dos tratamentos e do tempo (h), no comportamento Acesso ao Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Tempo (h)	16:10	17:10	18:10	19:10	20:10	21:10
Tratamento						
Papel Filtro	0,39 a	0,22 a	1,44 a	0,44 a	1,55 ab	0,72 a
Solução Salina	3,39 a	8,55 ab	13,33 ab	12,50 a	13,50 ab	14,67 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Dioclea violacea</i> 0,02 mg.ml <sup>-1</sup>	4,67 a	5,67 ab	9,67 ab	16,67 a	14,67 ab	16,33 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Dioclea violacea</i> 0,06 mg.ml <sup>-1</sup>	2,00 a	1,67 ab	1,67 a	3,00 a	2,33 ab	0,33 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Dioclea violacea</i> 1,00 mg.ml <sup>-1</sup>	4,67 a	12,00 ab	24,67 ab	31,33 a	23,33 ab	20,33 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Dioclea violacea</i> 1,50 mg.ml <sup>-1</sup>	0,00 a	0,00 a	0,00 a	4,33 a	18,00 ab	19,00 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Dioclea violacea</i> 2,00 mg.ml <sup>-1</sup>	0,67 a	0,33 a	7,00 ab	3,33 a	6,67 ab	4,00 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Dioclea violacea</i> 2,50 mg.ml <sup>-1</sup>	0,00 a	1,33 ab	10,33 ab	7,00 a	16,33 ab	6,33 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Vatairea macrocarpa</i> 0,02 mg.ml <sup>-1</sup>	11,00 a	33,33 b	26,00 ab	30,67 a	26,00 ab	23,00 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Vatairea macrocarpa</i> 0,06 mg.ml <sup>-1</sup>	2,67 a	3,33 ab	2,33 ab	5,33 a	2,33 ab	0,33 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Vatairea macrocarpa</i> 1,00 mg.ml <sup>-1</sup>	1,00 a	0,33 a	1,00 a	2,33 a	10,67 ab	25,67 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Vatairea macrocarpa</i> 1,50 mg.ml <sup>-1</sup>	2,00 a	6,00 ab	34,67 b	30,67 a	34,00 b	20,67 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Vatairea macrocarpa</i> 2,00 mg.ml <sup>-1</sup>	5,67 a	14,67 ab	11,33 ab	12,67 a	14,67 ab	8,67 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Vatairea macrocarpa</i> 2,50 mg.ml <sup>-1</sup>	2,00 a	0,67 a	0,00 a	0,00 a	0,33 a	2,33 a

Nota: \* médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

QUADRO 15. Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função dos tratamentos testemunhas, no comportamento Marcação de Território na Área do Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Testemunha	Média	Comparações*
Papel de Filtro	0,12	a
Papel de Filtro + Solução Salina	0,36	b

Nota: \* médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

QUADRO 16. Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função dos tratamentos testemunhas, no comportamento Exploração do Local do Tratamento, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Testemunha	Média	Comparações*
Papel de Filtro	0,33	a
Papel de Filtro + Solução Salina	9,60	b

Nota: \* médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

QUADRO 17. Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função do tempo (h), no comportamento Exploração do Local do Tratamento, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Tempo (h)	Média	Comparações*
16:10	2,07	a
17:10	4,54	a b
18:10	7,85	b c
19:10	7,50	b c
20:10	9,54	c
21:10	8,61	c

Nota: \* médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

QUADRO 18. Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função dos tratamentos e do tempo (h), no comportamento Exploração do Local do Tratamento, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Tempo (h)	16:10	17:10	18:10	19:10	20:10	21:10
Tratamento						
Papel Filtro	0,22 a	0,00 a	0,50 a	0,17 a	0,67 a	0,44 a
Solução Salina	3,72 a	7,55 a	11,28 ab	11,05 a	12,00 ab	12,00 a
Papel de Filtro + Lec. <i>Dioclea violacea</i> 0,02 mg.ml <sup>-1</sup>	0,33 a	5,33 a	7,00 ab	14,67 a	15,33 ab	16,67 a
Papel de Filtro + Lec. <i>Dioclea violacea</i> 0,06 mg.ml <sup>-1</sup>	1,33 a	2,00 a	1,00 a	2,67 a	2,00 ab	0,33 a
Papel de Filtro + Lec. <i>Dioclea violacea</i> 1,00 mg.ml <sup>-1</sup>	4,00 a	9,33 a	24,00 ab	27,67 a	21,00 ab	18,67 a
Papel de Filtro + Lec. <i>Dioclea violacea</i> 1,50 mg.ml <sup>-1</sup>	0,00 a	0,00 a	0,33 a	4,33 a	16,67 ab	18,00 a
Papel de Filtro + Lec. <i>Dioclea violacea</i> 2,00 mg.ml <sup>-1</sup>	0,33 a	0,67 a	5,67 ab	2,00 a	4,67 ab	2,67 a
Papel de Filtro + Lec. <i>Dioclea violacea</i> 2,50 mg.ml <sup>-1</sup>	0,00 a	0,33 a	8,67 ab	6,33 a	14,67 ab	5,67 a
Papel de Filtro + Lec. <i>Vatairea macrocarpa</i> 0,02 mg.ml <sup>-1</sup>	8,00 a	23,00 a	21,67 ab	24,00 a	24,00 ab	19,00 a
Papel de Filtro + Lec. <i>Vatairea macrocarpa</i> 0,06 mg.ml <sup>-1</sup>	2,67 a	3,33 a	1,67 a	4,67 a	1,67 a	0,67 a
Papel de Filtro + Lec. <i>Vatairea macrocarpa</i> 1,00 mg.ml <sup>-1</sup>	0,33 a	0,33 a	0,67 a	1,33 a	9,33 ab	22,00 a
Papel de Filtro + Lec. <i>Vatairea macrocarpa</i> 1,50 mg.ml <sup>-1</sup>	1,67 a	5,33 a	33,33 b	15,00 a	30,67 b	19,00 a
Papel de Filtro + Lec. <i>Vatairea macrocarpa</i> 2,00 mg.ml <sup>-1</sup>	5,00 a	13,67 a	13,67 ab	10,00 a	13,00 ab	7,33 a
Papel de Filtro + Lec. <i>Vatairea macrocarpa</i> 2,50 mg.ml <sup>-1</sup>	2,33 a	0,33 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	2,00 a

Nota: \* médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

QUADRO 19. Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função dos tratamentos testemunhas, no comportamento Início do Corte no Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Testemunha	Média	Comparações*
Papel de Filtro	0,00	a
Papel de Filtro + Solução Salina	6,92	b

Nota: \* médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

QUADRO 20. Comparação das médias do número de operárias de saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função do tempo (h), no comportamento Início do Corte no Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Tempo (h)	Média	Comparações*
16:10	1,25	a
17:10	3,51	a b
18:10	6,21	b c
19:10	6,43	c
20:10	7,24	c
21:10	6,61	c

Nota: \* médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

QUADRO 21. Comparação das médias do número de operárias da saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função dos tratamentos e do tempo (h), no comportamento Início do Corte do Papel de Filtro, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Tratamento	Tempo (h)	16:10	17:10	18:10	19:10	20:10	21:10
Papel Filtro		0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00a
Solução Salina		2,50 a	5,28 a	8,33 ab	8,39 ab	8,44 ab	8,56 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Dioclea violacea</i> 0,02 mg.ml <sup>-1</sup>		0,33 a	4,67 a	6,33 a	11,00 ab	14,00 ab	12,67 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Dioclea violacea</i> 0,06 mg.ml <sup>-1</sup>		1,00 a	2,00 a	1,33 a	2,67 a	2,00 b	0,33 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Dioclea violacea</i> 1,00 mg.ml <sup>-1</sup>		2,67 a	8,00 a	22,33ab	24,67 b	19,00 ab	16,67 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Dioclea violacea</i> 1,50 mg.ml <sup>-1</sup>		0,00 a	0,00 a	0,00 a	3,00 a	15,67 ab	15,33 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Dioclea violacea</i> 2,00 mg.ml <sup>-1</sup>		0,00 a	0,00 a	3,67 a	1,00 a	4,67 ab	1,67 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Dioclea violacea</i> 2,50 mg.ml <sup>-1</sup>		0,00 a	0,00 a	6,67 a	6,00 ab	6,33 ab	3,67 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Vatairea macrocarpa</i> 0,02 mg.ml <sup>-1</sup>		2,33 a	21,37 a	15,67 ab	15,00ab	18,00 ab	17,67 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Vatairea macrocarpa</i> 0,06 mg.ml <sup>-1</sup>		2,33 a	3,00 a	1,67 a	0,33 a	1,67 ab	0,33 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Vatairea macrocarpa</i> 1,00 mg.ml <sup>-1</sup>		0,00 a	0,00 a	0,67 a	0,67 a	8,33 ab	16,33 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Vatairea macrocarpa</i> 1,50 mg.ml <sup>-1</sup>		0,67 a	5,33 a	30,67 b	28,67 b	24,33 b	17,00 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Vatairea macrocarpa</i> 2,00 mg.ml <sup>-1</sup>		4,67 a	8,00 a	10,00 ab	8,00 ab	9,00 ab	4,33 a
Papel de Filtro + Lectina <i>Vatairea macrocarpa</i> 2,50 mg.ml <sup>-1</sup>		1,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	1,33 a

Nota: \* médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

QUADRO 22. Comparação das médias do percentual do material transportado por operárias da saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), em função dos tratamentos testemunhas, Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Testemunha	Média	Comparações*
Papel de Filtro	0,10	a
Papel de Filtro + Solução Salina	16,16	b

Nota: \* médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade.

QUADRO 23. Teste de Dunnett<sup>1</sup> para comparação das médias, entre os tratamentos com lectina e cada testemunha, do percentual do material transportado para o saúveiro, por operárias da saúva do nordeste, *Atta opaciceps* Borgmeier, 1939 (Hymenoptera: Formicidae), Fortaleza, Ceará, Brasil, 2002.

Tratamento	Papel de Filtro = 0,10	Papel de Filtro + Solução Salina = 16,16
Papel de Filtro + Lectina <i>Dioclea violacea</i> 0,02mg.ml <sup>-1</sup>	38,92 *	38,92
Papel de Filtro + Lectina <i>Dioclea violacea</i> 0,06mg.ml <sup>-1</sup>	7,33	7,33
Papel de Filtro + Lectina <i>Dioclea violacea</i> 1,00mg.ml <sup>-1</sup>	35,17	35,17
Papel de Filtro + Lectina <i>Dioclea violacea</i> 1,50mg.ml <sup>-1</sup>	44,67 *	44,67
Papel de Filtro + Lectina <i>Dioclea violacea</i> 2,00mg.ml <sup>-1</sup>	0,10	0,10
Papel de Filtro + Lectina <i>Dioclea violacea</i> 2,50mg.ml <sup>-1</sup>	2,37	2,37
Papel de Filtro + Lectina <i>Vatairea macrocarpa</i> 0,02mg.ml <sup>-1</sup>	61,00 *	61,00 *
Papel de Filtro + Lectina <i>Vatairea macrocarpa</i> 0,06mg.ml <sup>-1</sup>	2,08	2,08
Papel de Filtro + Lectina <i>Vatairea macrocarpa</i> 1,00mg.ml <sup>-1</sup>	32,33	32,33
Papel de Filtro + Lectina <i>Vatairea macrocarpa</i> 1,50mg.ml <sup>-1</sup>	42,75 *	42,75
Papel de Filtro + Lectina <i>Vatairea macrocarpa</i> 2,00mg.ml <sup>-1</sup>	1,00	1,00
Papel de Filtro + Lectina <i>Vatairea macrocarpa</i> 2,50mg.ml <sup>-1</sup>	0,67	0,67

Nota: 1 = valor tabelado utilizado no teste de Dunnett,  $D_{(58; 10; 0,995)}=3,37$   
 \*= o tratamento difere significativamente ( $p<0,01$ ) da testemunha