

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA

DEs - UFSCar  
ESTUDO DO COMPORTAMENTO MATERNAL  
DE RATAS EXPOSTAS AO HERBICIDA  
SULFENTRAZONA  
Vera Lucia S.S. CASTRO  
CNPMA - EMBRAPA  
Camila Regina DESTEFANI  
Carlos Alberto Ribeiro DINIZ  
Vera Lúcia S. S. CASTRO  
Nº 40

**RELATÓRIO TÉCNICO**

**DO**

**DEPARTAMENTO DE ESTATÍSTICA**

**DEs**

**Série B: APLICAÇÕES**

Comportamento Maternal de Ratas **ISSN 0104-7124**  
ao Herbicida Sulfentrazone

Camila Regina DESTEFANI

**ESTUDO DO COMPORTAMENTO MATERNAL  
DE RATAS EXPOSTAS AO HERBICIDA  
SULFENTRAZONA**

**Camila Regina DESTEFANI  
Carlos Alberto Ribeiro DINIZ  
Vera Lúcia S. S. CASTRO**

**Nº 40**

Os estudos sobre o efeito da sulfentrazone no antes e depois do nascimento dos filhotes de ratas expostas ao herbicida, durante períodos distintos de tempo. Na análise do comportamento materno até o nascimento dos filhotes foi utilizado o teste de Kruskal Wallis para comparar os diferentes tratamentos. E na análise do comportamento materno após o nascimento dos filhotes a técnica de modelo não-paramétrico com medidas repetidas foi utilizada para avaliar os efeitos dos fatores (fase da prenhez e dose de herbicida) e do tempo decorrido após o parto.

O Relatório Técnico do Departamento de Estatística é uma publicação sob a responsabilidade do Conselho do Departamento de Estatística - UFSCar.

Palavras-chave: Sulfentrazone, modelos não-paramétricos com medidas repetidas, teste de Kruskal Wallis.

SETEMBRO/2006

# **Estudo do Comportamento Maternal de Ratas Expostas ao Herbicida Sulfentrazone**

**Camila Regina DESTEFANI**  
**Carlos Alberto Ribeiro DINIZ**  
**DEs – UFSCar**

**Vera Lucia S.S. CASTRO**  
**CNPMA – EMBRAPA**

**RESUMO:** Foram realizados estudos sobre o efeito do sulfentrazone no comportamento maternal antes e depois do nascimento dos filhotes de ratas expostas a doses distintas do herbicida, durante períodos distintos de prenhez. Na análise do comportamento materno até o nascimento dos filhotes foi utilizado o teste de Kruskal Wallis para comparar os diferentes tratamentos. E na análise do comportamento materno após o nascimento dos filhotes a técnica de modelo não-paramétrico com medidas repetidas foi utilizada para avaliar os efeitos dos fatores (fase de prenhez e dose de herbicida) e de suas interações na resposta.

**Palavras-Chave:** Sulfentrazone, modelos não-paramétricos com medidas repetidas, teste de Kruskal Wallis.

## 1 – Introdução

Em estudos anteriores foi demonstrado que a sulfentrazone causou problemas no desenvolvimento e na reprodução de animais. Também foi observada em estudos de desenvolvimento, toxicidade para o embrião/feto em tratamentos em que a dose aplicada não foi matematicamente tóxica e os efeitos foram, primeiramente, observados na segunda geração de animais dos estudos de reprodução (EPA, 2003). As avaliações cuidadosas sobre o desenvolvimento animal frequentemente incluem, além das observações quanto ao aparecimento de sinais físicos, os aspectos referentes ao desenvolvimento neurocomportamental (Alder, 1983).

Durante as primeiras fases do desenvolvimento, o organismo em formação pode sofrer influências ambientais. Os fatores que podem atuar neste período influenciarão a evolução morfofuncional dos sistemas de modo quantitativo e qualitativo. Assim, eventos bioquímicos e estruturas do período de desenvolvimento são fundamentais na determinação bioquímica, morfológica, funcional e comportamental do organismo, em particular do sistema nervoso. Há várias evidências em relação a alterações fisiológicas no sistema nervoso de ratos expostos a poluentes ambientais demonstrando, por exemplo, retardo na ontogenia de reflexos e na evolução de padrões locomotores relacionados a interferências em algumas aminas biogênicas. Os testes de desenvolvimento neurocomportamental como a avaliação da maturação dos reflexos nos filhotes podem ser utilizados a fim de avaliar a coordenação motora além do desenvolvimento do sistema nervoso..

Para ajudar a determinar os riscos através da exposição a substâncias químicas em humanos a USEPA (U.S. Environmental Protection Agency) vem requerendo frequentemente tipos específicos de testes toxicológicos, usualmente em ratos e camundongos. O conhecimento obtido a partir dos resultados desses testes poderá levar a melhores escolhas na prevenção do risco à saúde humana e ambiental devido ao uso destes produtos.

Os animais envolvidos neste experimento foram ratas fêmeas prenhas, expostas do 1-6 dias da prenhez ou do 6-15 dias da prenhez ao herbicida sulfentrazone por via oral nas doses de 25mg ou 50 mg respectivamente.

## **2 – Objetivos**

### **2.1 – Objetivos Gerais**

Estudar os possíveis efeitos do herbicida sulfentrazone no comportamento maternal de ratas expostas a doses distintas do herbicida, em períodos distintos de prenhez.

### **2.2 – Objetivos Específicos**

Avaliar o efeito do fator fase, caracterizado pela administração de doses do herbicida nas ratas em dois períodos, denominados períodos 1 e 2, onde período 1 corresponde do 1º ao 6º dia de prenhez (início da prenhez) e o período 2 corresponde do 6º ao 15º dia de prenhez (organogênese ou final da prenhez), no comportamento maternal das ratas.

Avaliar o efeito do fator dose, caracterizado por 3 níveis, denominados doses 1, 2 e 3, onde dose 1 corresponde a salina (0,9% NaCl), a dose 2 corresponde a solução de sulfentrazone 25mg/Kg e a dose 3 corresponde a solução de sulfentrazone 50mg, no comportamento maternal das ratas.

Avaliar o efeito da interação entre os fatores fase, dose e tempo no comportamento maternal das ratas.

### 3 – Descrição do experimento

Os animais utilizados foram ratos Wistar, mantidos em condições padronizadas de luz, umidade e temperatura no biotério do CNPMA, sendo as matrizes fornecidas pelo Biotério Central da UNICAMP (Universidade de Campinas). Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno com cama de maravalha autoclavada, com temperatura controlada ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ) e ciclo de luz claro - escuro 12h/12 horas. Para o acasalamento, cada macho foi colocado em gaiolas com duas fêmeas cada. Essas fêmeas, previamente examinadas, foram selecionadas para que estivessem nas fases de proestro/estro. Estas foram separadas para o acasalamento e após a verificação da presença de espermatozoides no lavado vaginal, foi considerado como o 1º dia de prenhez. No 15º dia de prenhez as fêmeas foram acondicionadas em gaiolas individuais.

As fêmeas foram expostas durante os diferentes períodos da prenhez: do 1º ao 6º dia (pré-implantação) ou do 6º ao 15º (organogênese) ao herbicida, por via oral, nas doses de 25 e 50 mg, respectivamente.

As ratas foram mantidas separadamente nas gaiolas-moradias com suas respectivas crias. O comportamento da fêmea em relação aos seus filhotes foi observado sem qualquer manipulação na gaiola, diariamente, do nascimento até o desmame.

Os grupos testados foram:

**ConPri:** grupo controle de ratas Wistar prenas tratadas com Salina(0,9%NaCl) durante os 6 primeiros dias de prenhez.

**SulPri 25:** grupo teste de ratas Wistar prenas tratadas com solução de sulfentrazone 25 mg/kg durante os 6 primeiros dias de prenhez.

**SulPri 50:** grupo teste de ratas Wistar prenas tratadas com solução de sulfentrazone 50 mg/kg durante os 6 primeiros dias de prenhez.

**ConPrf:** grupo controle de ratas Wistar prenas tratadas com salina (0,9%NaCl) durante os dias 6-15 da prenhez.

**SulPrf 25:** grupo teste de ratas Wistar prenhes tratadas com solução de sulfentrazona 25 mg/kg durante os dias 6-15 de prenhez.

**SulPrf 50:** grupo teste de ratas Wistar prenhes tratadas com solução de sulfentrazona 50 mg/kg durante os dias 6-15 de prenhez.

Foram usadas 10 fêmeas para cada grupo experimental totalizando 60 ratas.

#### 4 – Metodologia Estatística

Os comportamentos maternos até o nascimento dos filhotes foram codificados pelos seguintes escores:

<b>Escores</b>	<b>Parâmetros</b>
0	se a rata <b>não</b> construiu previamente o ninho para o nascimento dos filhotes
1	se a rata construiu previamente o ninho para a espera do nascimento dos filhotes

E os comportamentos maternos após o nascimento dos filhotes até o desmame foram codificados de acordo com a tabela de escores abaixo:

<b>Escores</b>	<b>Parâmetros</b>
0	Ausência de ninho
1	Presença de ninho
2	Todos os filhotes no ninho
3	Todos os filhotes no ninho, com a mãe
4	Todos os filhotes no ninho, sendo amamentados

#### 4.1 – Teste de Kruskal Wallis

O teste de Kruskal Wallis é um teste extremamente útil para decidir se  $k$  ( $k \geq 3$ ) amostras independentes provêm de populações diferentes. Os valores amostrais quase que invariavelmente diferem entre si, e o problema é decidir se essas diferenças entre as amostras significam diferenças efetivas entre as populações, ou se representam apenas variações casuais, que podem ser esperadas entre amostras aleatórias de uma mesma população. A técnica de Kruskal Wallis comprova a hipótese de nulidade, de que  $k$  amostras provenham da mesma população ou de populações idênticas com relação a médias.

Esse teste é a alternativa não paramétrica para a técnica ANOVA (Análise de Variância), já que não exige homogeneidade das variâncias e erros seguindo distribuição normal. O teste supõe que a variável em estudo tenha distribuição inerente contínua, as amostras devem ser independentes e exige mensuração no mínimo ao nível ordinal, intervalar ou de razão.

Dado um conjunto de  $N$  observações pertencentes a  $k$  amostras independentes ordena-se em ordem crescente o conjunto das  $N$  observações.

Cada uma das  $N$  observações é substituída por um posto ou rank. Isto é, todos os escores de todas as  $k$  amostras combinadas são dispostos em uma única série de postos. Ao menor escore atribui-se o posto 1, ao seguinte o posto 2, ..., e ao maior o posto  $N$ . Quando houver empates cada elemento deverá receber a média aritmética dos respectivos postos.

Como o valor de  $H$  é de certo modo influenciado pelos empates, pode-se querer introduzir uma correção para empates no cálculo de  $H$ . A correção no cálculo de  $H$  é feita dividindo-se  $H$  por um fator de correção  $C$ , onde os fatores  $C$  e  $T$  são dados pelas seguintes expressões:

$$C = 1 - \frac{\sum T}{N(N+1)(N-1)} \text{ e } T = \sum T_j \text{ e } T_j = t_i^3 - t \text{ e } t_i \text{ é o número de valores}$$

em cada grupo de empate aplicando-se a correção temos,  $H = H/C$ .

O efeito da introdução da correção para empates é aumentar o valor de H, tornando, assim, o resultado mais significativo. Na maior parte dos casos, o efeito da correção é desprezível se não há mais do que 25 por cento das observações envolvidas em empates.

Após a verificação de empates determina-se o valor de R (soma dos postos) para cada um dos  $k$  grupos de postos. O teste de Kruskal Wallis determina se essas somas são tão díspares que não seja provável as amostras sejam extraídas da mesma população. E calcula-se o valor de  $(R_j)^2/n_j$ .

O teste de hipótese referente ao teste de Kruskal Wallis é:

$H_0$ : todas as amostras são iguais

versus

$H_1$ : pelo menos uma amostra é diferente

Se  $H_0$  verdadeira isto é, se as  $k$  amostras provêm da mesma população então H tem distribuição qui-quadrado com  $gl=k-1$ , desde que os tamanhos das  $k$  amostras sejam muito pequenos. Isto é

$$H = \frac{12}{N(N+1)} \sum_{j=1}^k \frac{R_j^2}{n_j} - 3(N+1),$$

onde

$k$  = número de amostras

$n_j$  = número de elementos da amostra  $j$

$N$  = total de observações do conjunto das  $k$  amostras

$R_j$  = soma dos postos ou ranks da amostra  $j$

$R_j^2$  = quadrado da soma dos postos ou ranks da amostra  $j$

$R_j^2/n_j$  = quadrado da soma dos postos ou ranks da amostra  $j$  dividido pelo respectivo número de elementos.

Quando temos mais do que três amostras ou temos um grande número de casos ( $k > 3$  ou  $n_j > 5$ ), a estatística do teste H segue distribuição  $\chi^2$  com  $k-1$  graus de liberdade. Se  $H \geq \chi^2_{\alpha, k-1}$  rejeita-se  $H_0$ .

## 4.2 - Experimentos com medidas repetidas

Experimentos com medidas repetidas envolvem um tratamento ou vários tratamentos, avaliados em diversos pontos no tempo, os efeitos dos fatores são fixados e os indivíduos constituem uma amostra aleatória.

## 4.3 - Modelo Não Paramétrico de Medidas Repetidas

O modelo não paramétrico para medidas repetidas é utilizado quando a variável resposta é ordinal.

No problema apresentado o vetor de variáveis respostas é dado por  $\mathbf{X}_{ijk} = (X_{ijk1}, X_{ijk2}, X_{ijk3}, X_{ijk4})'$  que corresponde as observações da  $i$ -ésima fase,  $i=1,2$ ,  $j$ -ésima dose,  $j=1,2,3$ ,  $k$ -ésimo indivíduo,  $k=1,2,\dots,n$ , nos dias 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 e 15 de vida dos filhotes. Nos elementos de  $\mathbf{X}_{ijk}$  para o comportamento materno após o nascimento dos filhotes são atribuídos escores de 0 a 4.

Sob a hipótese de independência entre as observações de diferentes unidades amostrais, Akritas e Brunner (1997) propuseram um modelo não paramétrico em que a função distribuição de cada elemento do vetor  $\mathbf{X}_{ijk}$  é a mesma para todas as observações obtidas da  $i$ -ésima fase e  $j$ -ésima dose para o  $t$ -ésimo dia.

No caso em que a função distribuição de  $X_{ijkt}$  não é contínua, utiliza-se a sua forma normalizada:

$$F_{ijt} = \frac{1}{2} \{F_{ijt}^+(x) + F_{ijt}^-(x)\}$$

com  $F_{ijt}^+(x) = P(X_{ijkt} \leq x)$  e  $F_{ijt}^-(x) = P(X_{ijkt} < x)$  para  $i=1,3$ ,  $j=1,2,3$ ,  $k=1,\dots,n$  e  $t=1,\dots,8$ .

O modelo não-paramétrico pode ser considerado como uma generalização do modelo clássico  $X_{ijkt} \sim F(x - \mu_{ijt})$ ,  $\mu_{ijt} = E(X_{ijkt})$ , sob a

suposição adicional que  $F$  é Normal com variância  $\sigma^2$ . Nesse contexto, as hipóteses de interesse são baseadas na comparação das médias  $\mu_{ijt}$  por meio de combinações lineares que definem os efeitos principais e suas interações.

Na análise de modelos não paramétricos substituímos as esperanças  $\mu_{ijt}$  pelas funções distribuição  $F_{ijt}(x)$ . Baseando-se no conceito de comparação estocástica entre duas ou mais variáveis aleatórias, visto em outros procedimentos não-paramétricos, como nos testes propostos por Mann and Whitney (1947) e Kruskall and Wallis (1952).

Seja  $\mathbf{F} = (F_{111}, F_{121}, \dots, F_{118}, F_{211}, \dots, F_{238})'$  o vetor cujo elemento  $F_{ijt}$  representa a função distribuição de  $X_{ijkt}$ ,  $i = 1, 2$ ,  $j = 1, 2, 3$ ,  $k = 1, \dots, n$ ,  $t = 1, \dots, 8$ . As hipóteses de interesse são formuladas como combinações lineares de  $F_{ijt}$  que podem ser expressas como  $\mathbf{CF} = 0$ , onde  $\mathbf{C}$  representa uma matriz de contrastes. As matrizes  $\mathbf{C}$  devem ter dimensão  $r \times g \cdot t$  ( $r < g \cdot t$ ,  $r$  é o número de restrições,  $g$  número de níveis do fator entre indivíduos e  $t$  número de níveis do fator intra-indivíduos) e suas linhas devem ser linearmente independentes. Para testar hipóteses do tipo  $\mathbf{CF} = 0$ , existem subrotinas em *Visual Basic* para Excel (Microsoft Excel 2000), criadas por Rosa e Singer (2001), que permitem o ajuste de modelos em dois casos: experimentos desenhados somente com fatores intra-indivíduos (ou medidas repetidas) e experimentos que também incluam fatores entre indivíduos (ou de estratificação). Nestas subrotinas a matriz  $\mathbf{C}$  deve ser especificada pelo usuário. Além disso, a matriz deve ser representada por colunas contíguas e sem a linha de rótulo, a ordem dos coeficientes associados às respectivas funções distribuição  $F_{i.}$ ,  $i = 1, 2$  deve seguir a ordem estabelecida na apresentação do conjunto de dados. Como exemplo, suponha que queremos testar a hipótese de inexistência de diferença entre as doses Sulfentrazona 25mg e Sulfentrazona 50mg para ratas-mães tratadas durante o início da prenhez no dia 1.

Então a matriz de contrastes é dada por:

0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	-1	0	0	0	0	0	0	0	0	...
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----	---	---	---	---	---	---	---	---	-----

... 0

Para se obter maiores detalhes sobre o método descrito acima, o leitor poderá consultar Rosa (2001).

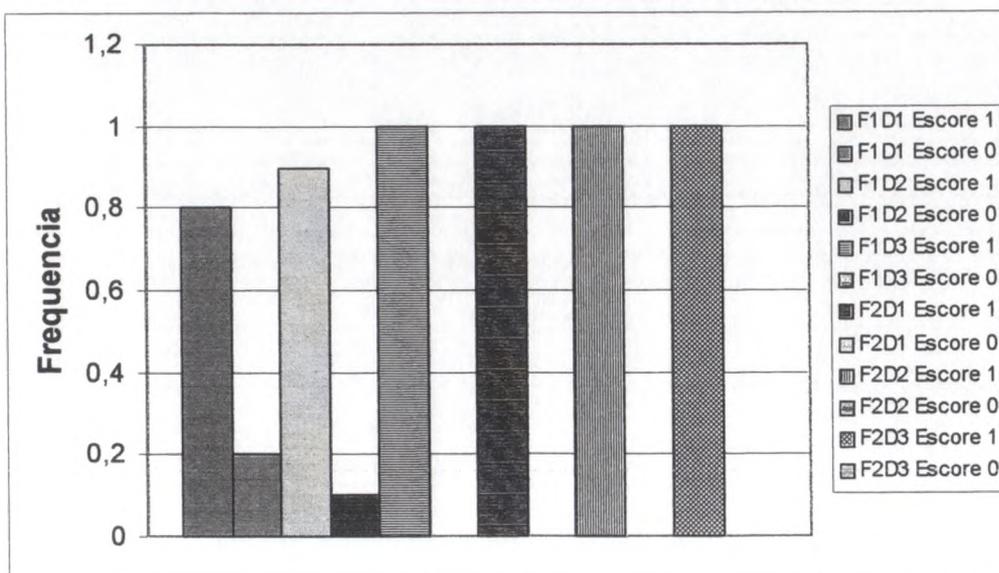
## 5 – Resultados

Apresentaremos nesta seção os resultados da análise sob modelos não paramétricos. Utilizamos o teste não-paramétrico de Kruskal Wallis no estudo do comportamento materno até o nascimento dos filhotes e o modelo não-paramétrico com medidas repetidas no tempo no estudo do comportamento materno após o nascimento dos filhotes até o desmame.

### 5.1 - Verificações Gráficas

A Figura 1 apresenta os gráficos para o comportamento materno até o momento do nascimento dos filhotes por grupo de tratamento.

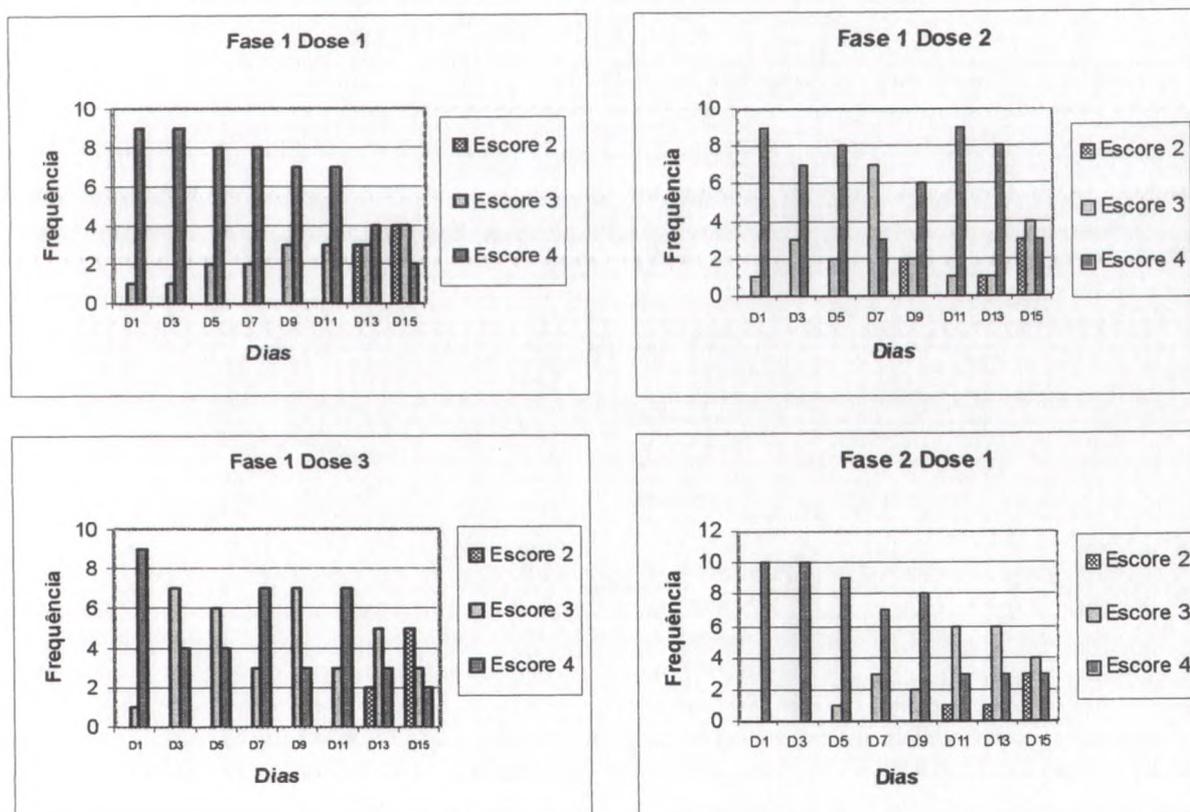
**Figura 1: Gráfico de Frequência para os escores 0 e 1 por grupo de tratamento para o comportamento materno até o nascimento dos filhotes**

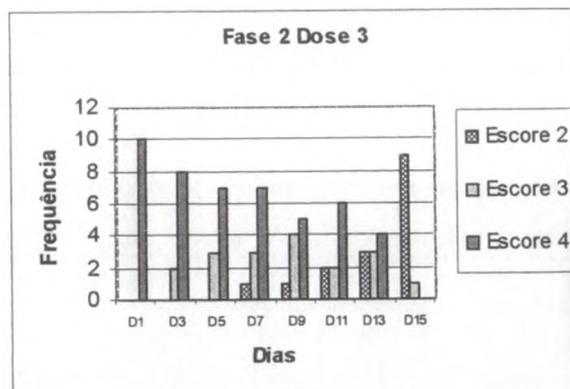
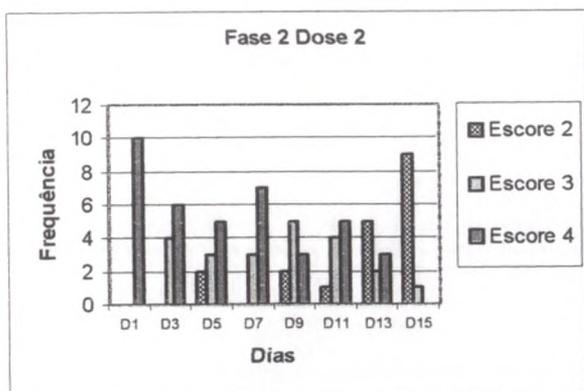


Na Figura 1, observamos que a frequência de ratas que não construíram previamente o ninho (score 0) é muito baixa, existindo somente na fase de início da prenhez nas doses de salina (0,9% NaCl) e de sulfentazona 25mg.

A Figura 2 apresenta os gráficos de frequências dos escores para o comportamento materno após o nascimento dos filhotes por tratamento.

**Figura 2: Gráficos de Frequência dos escores por tratamento do comportamento materno após o nascimento dos filhotes**





Na Figura 2, o escore 4 (todos os filhotes no ninho sendo amamentados), apresenta as maiores frequências, seguido pelo escore 3 (todos os filhotes no ninho com a mãe), e pelo escore 2 na fase final da prenhez para as doses de sulfentazona 25mg e 50mg nos dias 13 e 15.

Os escores 0 e 1, ausência de ninho e presença de ninho, respectivamente, já não existem mais após os nascimentos dos filhotes.

## 5.2 - Verificações Formais

### 5.2.1 – Teste de Kruskal Wallis

Nesta seção apresentamos os resultados do teste de Kruskal Wallis utilizado na análise do comportamento materno até o momento do nascimento dos filhotes. O interesse é verificar a inexistência de diferença entre os 6 (seis) tratamentos.

A Tabela 1 apresenta os tratamentos, os tamanhos amostrais e a soma dos postos dentro de cada tratamento.

**Tabela 1: Tamanho amostral e soma dos postos**

Tratamento	N	Soma dos postos
Fase1xDose1	10	260
Fase1xDose2	10	290
Fase1xDose3	10	320
Fase2xDose1	10	320
Fase2xDose2	10	320
Fase2xDose3	10	320

O teste de Kruskal Wallis apresentou valor para  $H = 7,246$  e valor- $p = 0,2030$ . Com base nestes valores não se rejeita a hipótese nula, ou seja, concluímos que não há diferença entre os grupos de tratamento.

### 5.2.2 – Modelo não-paramétrico com medidas repetidas

Nesta seção apresentamos os resultados dos testes de hipóteses para testar a inexistência de efeito dos fatores Fase, Dose e Tempo e da interação destes fatores, segundo o método proposto por Akristas and Brunner (1997). A Tabela 2 apresenta os resultados dos testes não paramétricos para testar os efeitos do Tratamento, do Tempo e da interação destes fatores para o comportamento materno do nascimento até o desmame dos filhotes.

O fator Tratamento é constituído por 6 (seis) grupos, determinados como: ConPri, SulPri 25, SulPri 50, ConPrf, SulPrf 25 e SulPrf 50, citados na seção 3.

**Tabela 2: Teste não-paramétrico**

Fonte de Variação	Quadrado Médio	Graus de Liberdade	Valor-p
Tratamento	20,493	5	0,001
Tempo	211,896	7	<0,0001
Tratamento * Tempo	161,115	35	<0,0001

Pelos resultados apresentados na Tabela 2, verificamos que há efeito da interação entre os fatores Tratamento e Tempo (valor  $p < 0,0001$ ).

O próximo passo da análise é verificar quais níveis de Fase e Dose foram os responsáveis pela existência dos efeitos da interação do Tratamento com o Tempo.

Utilizando a matriz de contraste discutida na seção 4.2, para testar a hipótese de inexistência de diferença entre as respostas médias das doses de Sulfentrazona 25mg e Sulfentrazona 50mg para as ratas-mães tratadas durante o início da prenhez para o dia 1. A matriz de contrastes é dada por:

0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	-1	0	0	0	0	0	0	0	0	...
...	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Foram testadas as hipóteses de igualdade entre doses, duas a duas, com fase fixada. A Tabela 3 apresenta os níveis descritivos dos testes. As expressões  $D1-D2$ ,  $D1-D3$ ,  $D2-D3$  denotam, respectivamente, as comparações:

- de ratas expostas ao tratamento com salina (0.9 % NaCl) e ratas expostas ao tratamento com solução de sulfentrazona 25 mg;
- de ratas expostas ao tratamento com salina (0.9 % NaCl) e ratas expostas ao tratamento com solução de sulfentrazona 50 mg;
- de ratas expostas ao tratamento com solução de sulfentrazona 25 mg e ratas expostas ao tratamento com solução de sulfentrazona 50 mg;

Os valores sublinhados indicam as comparações entre doses, com a fase fixada, que são estatisticamente diferentes.

**Tabela 3: Níveis Descritivos para as hipóteses de igualdade entre doses**

Dia	Fase de Início da Prenhez			Fase Final da prenhez		
	D1-D2	D1-D3	D2-D3	D1-D2	D1-D3	D2-D3
1	1,0000	1,0000	1,0000	*	**	***
3	0,2733	<u>0,0090</u>	0,1797	<u>0,0143</u>	0,1336	0,3428
5	1,0000	0,0578	0,0578	<u>0,0306</u>	0,2733	0,2523
7	<u>0,0137</u>	0,6219	0,0641	1,0000	0,5451	0,5451
9	0,4547	0,0641	0,4188	<u>0,0088</u>	0,1320	0,3463
11	0,2733	1,0000	0,2733	0,4276	0,3415	0,8467
13	0,0667	0,8461	<u>0,0275</u>	0,4955	0,9768	0,5183
15	0,5785	0,8452	0,7477	<u>0,0038</u>	0,0776	0,3466

\* No dia 1 não existe variabilidade entre as doses de salina e sulfentrazona 25mg no final da prenhez.

\*\* No dia 1 não existe variabilidade entre as doses de salina e sulfentrazona 50mg no final da prenhez

\*\*\* No dia 1 não existe variabilidade entre as doses de sulfentrazona 25 e 50mg no final da prenhez

Para evitar repetição de texto, quando for referida uma comparação entre doses ou uma comparação entre fases, estará subentendido que se refere à comparação entre as médias das respostas nas situações onde os experimentos são submetidos às doses em estudo ou entre as fases em estudo.

Pelos resultados apresentados na Tabela 3, verificamos que não há diferença na comparação das doses de salina (0,9%NaCl) e sulfentrazona 25mg para as ratas-mães tratadas no início da prenhez nos dias observados, com exceção do dia 7.

As doses de salina (0,9%NaCl) e sulfentrazona 50mg para as ratas-mães tratadas no início da prenhez são estatisticamente iguais nos dias analisados, com exceção do dia 3.

Não há diferença na comparação entre as doses de sulfentrazona 25 e 50mg para as ratas-mães tratadas no início da prenhez, nos dias analisados com exceção do dia 13. Quando comparadas nas ratas-mães tratadas no final da prenhez as doses não diferem em nenhum dia analisado. Não podemos comparar as doses de sulfentrazona 25 e 50mg no dia 1 para as ratas-mães tratadas no final da prenhez, pois não existe variabilidade entre esses tratamentos.

As doses de salina (0,9%NaCl) e sulfentrazona 25mg para as ratas-mães tratadas no final da prenhez são estatisticamente diferentes comparadas nos dias 3, 5, 9 e 15 e iguais comparadas nos dias 7, 11 e 13. Não podemos comparar essas doses nas ratas-mães tratadas no final da prenhez para o dia 1, pois não existe variabilidade entre esses tratamentos.

As doses de salina (0,9%NaCl) e sulfentrazona 50mg para as ratas-mães tratadas no final da prenhez são estatisticamente iguais nos dias analisados. Não podemos comparar essas doses nas ratas-mães tratadas no final da prenhez para o dia 1, pois não existe variabilidade entre esses tratamentos.

Também foram testadas as hipóteses de igualdade entre fases, com dose fixada. A tabela 4 apresenta os níveis descritivos dos testes das comparações de ratas expostas no início da prenhez e ratas expostas no final da prenhez. Os valores sublinhados indicam as comparações entre as fases, com dose fixada, que são estatisticamente diferentes.

**Tabela 4: Níveis Descritivos para as hipóteses de igualdade entre fases**

<b>Dia</b>	<b>Sulfentrazona 25mg</b>	<b>Sulfentrazona 50mg</b>
<b>1</b>	0,3173	0,3173
<b>3</b>	0,6547	0,0578
<b>5</b>	0,1081	0,1797
<b>7</b>	0,0641	0,5451
<b>9</b>	0,2764	0,5240
<b>11</b>	<u>0,0355</u>	0,4547
<b>13</b>	<u>0,0112</u>	0,8461
<b>15</b>	<u>0,0038</u>	0,1899

Pelos valores apresentados na Tabela 4, verificamos que não há diferença nas comparações entre as fases de início e final da prenhez sob a dose de sulfentrazona 50mg em todos os dias observados.

Há diferença na comparação entre as ratas-mães tratadas no início ou no final da prenhez sob a dose de sulfentrazona 25mg nos dias 11, 13 e 15, e para os dias 1, 3, 5, 7 e 9 as fases são iguais.

## 6 – Conclusões

Na análise do comportamento materno até o nascimento dos filhotes, utilizando o teste não-paramétrico de Kruskal Wallis para comparar os 6 (seis) grupos de tratamentos, concluímos que quantidades distintas de Sulfentrazone e a exposição ao herbicida em períodos distintos de prenhez não interferem no comportamento materno.

Na análise do comportamento materno após o nascimento dos filhotes, utilizando o modelo não paramétrico com medidas repetidas no tempo para comparar os 6 (seis) grupos de tratamentos nos dias 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 e 15, verificamos a existência da interação entre o tempo e os tratamentos. Utilizando técnicas de comparações múltiplas via matrizes de contrastes, verificamos quais combinações de níveis no tempo de fase e dose foram responsáveis pela significância da interação das mesmas.

Em praticamente todos os dias analisados, não há diferença entre as respostas médias do comportamento materno das ratas expostas no início da prenhez sob as doses de salina e sulfentrazone 25mg, sob as doses de salina e sulfentrazone 50mg ou sob as doses de sulfentrazone 25mg e 50mg.

Há diferença das respostas médias do comportamento materno das ratas expostas no final da prenhez nas doses de salina e sulfentrazone 25mg para os dias 3, 5, 9 e 15.

Não há diferença entre as respostas médias do comportamento materno das ratas expostas no final da prenhez sob as doses de salina e sulfentrazone 25mg e sob as doses de sulfentrazone 25 e 50mg, nos dias analisados.

As exposições maternas ao herbicida no início ou no final da prenhez sob a dose de sulfentrazone 50mg têm as respostas médias do comportamento materno iguais para os dias analisados.

## Referências Bibliográficas

Akritis, M.G. and Brunner, E. (1997). A unified approach to rank tests for mixed models, *Journal of Statistical Planning and Inference*, 61. 249-277.

Kruskal. W.H. and Wallis, W.A. (1952). The use of ranks on one-criterion variance analysis. *Journal of the American Association*, 47,583-621.

Mann, H.B. and Whitney, D.R. (1947). On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other. *The Annals of Mathematical Statistics*, 18, 50-60.

Rosa, P.; Singer, J.M. (2001). *Análise não-paramétrica de dados ordinais com medidas repetidas*. Tese de Mestrado do Instituto de Matemática e Estatística, Universidade de São Paulo.

Siegel, S. (1977), *Estatística: Não Paramétrica para as ciências do comportamento*, editora McGraw-Hill do Brasil LTDA, 8, p.209-217.

Singer, J.M. and Andrade, D.F. (2000). Analysis of Longitudinal Data. In *Handbook of Statistics*, volume 18: *Bio-environmental and Public Health Statistics*, eds. P.K. Sen and C.R. Rao. Amsterdam: North Holland, 115-160.

## PUBLICAÇÕES ANTERIORES

- . FERREIRA FILHO, P.; MENA, M.R.M.; ABRAMO FILHO, J. "A Decomposição da Palha, Palha + Vinhaça da Cana-de-Açúcar Após a Colheita Mecanizada". Fevereiro/95, Nº 1.
- . FERREIRA FILHO, P.; PENTEADO, M.C.; SILVA, E.; CATAI, A.M.; NAKAIE, A.S.S.F.; BELUZZO, S.S. "Estudo Sobre o Comportamento de Indivíduos Hipertensos Submetidos a Treinamento Físico". Fevereiro/95, Nº 2.
- . FERREIRA FILHO, P.; SALVINI, T.F.; MORINI, C.C. "O Efeito da Crioterapia sobre a Lesão no Músculo Soleus Produzida pelo Exercício Físico em Esteira". Junho/95, Nº 3.
- . COSTA, S.R.A.; CAMPOS, J.R.; DINIZ, C.A.R. "Adsorção do Fenol pelo Carvão Ativado Tipo TV 190-G". Julho/95, Nº 4.
- . MOURA, M.S.A.; CATURELLI, A.C.M. "Análise da Evolução da Taxa de Juros de Financiamento de Bens Duráveis - Eletrodomésticos". Março/96, Nº 5.
- . SILVA, V.; DINIZ, C.A.R. "Estudo da Viscosidade do Esmalte TV38/2". Abril/96, Nº 6.
- . TACONELI, J.P.; DINIZ, C.A.R.; SANDE, L.A.P. "Percepção de Apoios, Posições e Movimentos Corporais na Postura Sentada e Seu Registro em Vídeo". Maio/96, Nº 7.
- . MILAN, L.A.; TALAMONI, S.; ALMAS, F.; FREITAS, F. "Comparação do Uso das Distribuições Poisson e Normal na Seleção de Modelos para Explicar Número de Capturas". Junho/96, Nº 8.
- . BARRETO, M.C.; DEL PRETTE, Z.A.P.; DEL PRETTE, A. "Análise de Itens e da Estrutura Fatorial de um Inventário para Avaliação de Repertório de Habilidades Sociais". Agosto/96, Nº 9.
- . FERREIRA FILHO, P.; MORAES, J.C.; COSTA, L.C.; BASSORA, J.S.F. "Engatinhar: Um Estudo da Idade de Seu Aparecimento e Sua Correlação com a Marcha". Setembro/96, Nº 10.
- . DINIZ, C.A.R.; WATANABE, M.Y.; CURI, L.Z. "Verificação da Eficiência de Um Específico Programa de Ensino". Setembro/96, Nº 11.
- . DINIZ, C.A.R.; HIRATA, S.; ROSELLI, K.C. "Biologia de Pequenos Mamíferos em Uma Área de Cerradão". Dezembro/96, Nº 12.
- . DINIZ, C.A.R.; MAZUCHELI, J.; CARON, R.; COSTA, A.C.M. "Ecologia de Um Grupo de Micos-Leões Pretos (*L. Chrysopygus*) em Um Fragmento de Mata". Janeiro/1997, Nº 13.
- . TOMAZELLA, V.L.D.; MACHADO, H.C.; CANOTILHO, M.M. "Estudo do Efeito da Aspirina sobre o Grau de Osteopenia em Ratas Wistar Intactas e Ovariectomizadas". Abril/1997, Nº 14.
- . MILAN, L.A.; REIS, G.C.; COLNAGO, L.A.; BERNARDES FILHO, R. "Aplicação do método *stepwise* de seleção de variáveis na previsão da concentração de estruturas secundárias  $\alpha$ -hélice,  $\beta$ -folha,  $\beta$ -volta e desordenada em proteínas". Julho/1997, Nº 15.
- . TOMAZELLA, V. L. D.; ROCHA, A. S.; OTUKA, E. S.; OLIVEIRA, V. L. "Estudo dos casos de câncer de mama diagnosticados na cidade de São Carlos - SP no período de 1985-1996." Novembro/1997, nº 16.
- . FERREIRA FILHO, P.; BERETA, E. M. P.; ANDRADE, S. F.; CATAI, A. M.; SILVA, E. "Adaptações da Frequência Cardíaca e Pressão Arterial de Hipertensos Submetidos a Treinamento Físico de Baixa Intensidade e Longa Duração". Março/1998, nº 17.
- . MILAN, L.; SILVA, E.; CORDEIRO, A.; GALLO JR., L. "O Uso da Normalização da Variável Resposta e Modelos Linearizáveis para explicar a Relação entre a Frequência Cardíaca e Atividade Mioelétrica". Março/1998, nº 18.

- . FERREIRA FILHO, P.; OLIVEIRA, A. G.; MARTINS, A. R. F.; CORDEIRO NETO, J. "Impacto da ponderação das Provas no Processo Seletivo da UFSCar". – Janeiro/2006. Nº. 38
- . DESTEFANI, C. R.; DINIZ, C. A. R.; CASTRO, V. L. S. S.; "Estudo da Atividade Geral: locomoção, Levantar e Tempo de Parada Como Parâmetro de Desenvolvimento Físico de Filhotes Expostos Perinatalmente ao herbicida Sulfentrazone". – Agosto/2006. Nº. 39

