

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA

DEs - UFSCar

**ESTUDO DO DESENVOLVIMENTO DOS FILHOTES
EXPOSTOS AO HERBICIDA SULFENTRAZONA**

Vera Lúcia S.S. CASTRO

UNEMA - EMBRAPA

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

Nº 41

RELATÓRIO TÉCNICO

DO

DEPARTAMENTO DE ESTATÍSTICA

DEs

Série B: APLICAÇÕES

Estudo do Desenvolvimento Físico de Filhotes Expostos
Perinatalmente ao Herbicida Sulfentrazone

Camila Regina DESTEFANI

Carlos Alberto Ribeiro DINIZ

DEs - UFSCar

**ESTUDO DO DESENVOLVIMENTO DOS FILHOTES
EXPOSTOS AO HERBICIDA SULFENTRAZONA**

Vera Lúcia S. S. CASTRO

CNPq - EMBRAPA

Camila Regina DESTEFANI

Carlos Alberto Ribeiro DINIZ

Vera Lúcia S. S. CASTRO

Nº 41

RESUMO: Foram realizados estudos sobre o efeito do sulfentrazone no desenvolvimento físico de filhotes expostos perinatalmente a doses distintas do herbicida, durante períodos distintos de prenhez. As técnicas utilizadas para avaliar os efeitos dos filhotes (dos de prenhez a dose de herbicida) e de suas interações de resposta foram: Medição de Medidas Repetidas, LSD Plano Fatorial e Teste de Tukey para Comparação de Médias.

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

Palavras-Chave: Sulfentrazone, Experimento com Medidas Repetidas, LSD

Estudo do Desenvolvimento Físico de Filhotes Expostos Perinatalmente 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 desenvolvimento físico de filhotes expostos perinatalmente a doses distintas do herbicida, durante períodos distintos de prenhez. As técnicas utilizadas para avaliar os efeitos dos fatores (fase de prenhez e dose de herbicida) e de suas interações na resposta foram Modelo de Medidas Repetidas, LSD (Least Squares Difference) e técnicas de Comparações Múltiplas.

Palavras-Chave: Sulfentrazone, Experimento com Medidas Repetidas, LSD

1 – Introdução

Além da contaminação das pessoas envolvidas direta ou indiretamente nas atividades relacionadas à agricultura, pode ocorrer a contaminação de recém-nascidos que tem sido associada à exposição maternal ambiental e/ou ocupacional. A exposição materna a pesticidas durante a fase reprodutiva pode levar a alterações no desenvolvimento do feto. Embora o organismo materno possa alterar a química ou pelo menos reduzir sua concentração, muitas substâncias podem atravessar a placenta, tanto por simples difusão como por algum tipo de transporte ativo. As consequências da exposição durante o desenvolvimento perinatal são alvo de preocupação porque os organismos jovens são mais suscetíveis ao efeito desses produtos, (Rice e Barone Jr, 2000; Richardson e Chambers, 2005). A ocorrência de períodos críticos no desenvolvimento animal, durante a prenhez e imediatamente após o nascimento, permite o entendimento de algumas destas modificações.

A avaliação dos possíveis efeitos decorrentes da exposição aos agroquímicos é importante de ser realizada em diferentes períodos de desenvolvimento, especialmente naqueles considerados críticos devido a possível influência na morfologia e conexão sináptica nos alvos neuronais. Um importante período do desenvolvimento cerebral ocorre nas duas primeiras semanas pós-natais do rato e no terceiro trimestre da gestação e na primeira infância dos seres humanos (Costa et al. 2004).

A maior sensibilidade a possíveis efeitos tóxicos dos agroquímicos das crianças seria resultante da diferença entre a fisiologia nas diferentes fases da vida. Contudo, diferentes suscetibilidades não implicam necessariamente em maiores riscos em crianças. O efeito real vai depender dos mecanismos fisiometabólicos e das características do produto em estudo (Scheuplein et al., 2002; Zwart et al., 2004). O biomonitoramento das possíveis consequências à exposição aos agroquímicos é, portanto, importante no que se refere a efeitos no desenvolvimento animal, potencial neurotoxicidade e efeitos genotóxicos.

O Sulfentrazone é um novo herbicida pré-emergente de controle de amplo espectro em soja. Segundo Agrofitec (2002) este produto é altamente persistente no meio ambiente, e é altamente tóxico (Classe I) para organismos aquáticos (algas). Além disso, é tóxico para invertebrados estuarinos/marinhos. É proibida a aplicação deste produto em áreas alagadas ou sujeitas à inundação. O uso deste composto em áreas onde os solos são permeáveis, particularmente, onde o lençol freático é pouco profundo, pode resultar em contaminação da água subterrânea (EPA, 2003).

O herbicida é quase totalmente excretado pela urina, indicando quase que completa absorção, sendo que a maior parte é eliminada dentro de 72h. De acordo com Leung et al. (1991) em estudos a respeito do metabolismo do Sulfentrazone em cabras, galinhas e ratas usando ^{14}C em ratos por via oral foi observada a eliminação do composto original em quantidade inferior a 2% e dois metabolitos não-conjugados. Os padrões metabólicos são semelhantes na urina, fezes, leite e ovos. Os níveis de resíduos encontrados no leite e nos ovos são relativamente baixos nas condições testadas. Apesar do produto não possuir efeito carcinogênico, sob algumas condições ele pode causar efeitos tóxicos no desenvolvimento animal e na reprodução. 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).

Os animais envolvidos neste experimento foram ratas fêmeas prenhas, expostas do 1º-6º dia da prenhez ou do 6º-15º dia da prenhez ao herbicida sulfentrazone por via oral nas doses de 25 mg/kg ou 50 mg/kg respectivamente. Posteriormente, os filhotes de suas respectivas ninhadas foram avaliados quanto ao seu ganho médio de peso, nos seus 23 primeiros dias de vida. Procuramos avaliar as consequências da exposição perinatal dos filhotes à sulfentrazone no seu ganho médio de peso.

2 – Objetivos

2.1 – Objetivos Gerais

Estudar os possíveis efeitos dos sulfentrazone no desenvolvimento físico, mais especificamente no ganho médio de peso de filhotes de ratos expostos perinatalmente a doses distintas do herbicida, em períodos distintos de gestação das ratas-mães.

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 ganho médio do peso dos filhotes.

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 ganho médio do peso dos filhotes.

Avaliar o efeito da interação entre os fatores fase, dose e tempo no ganho médio do peso dos filhotes.

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 espermatozóides 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 25,0 e 50,0 mg/Kg, respectivamente.

Os grupos testados foram:

ConPri = Sal A - grupo controle de ratas Wistar prenhes tratadas com salina (0,9% NaCl) durante os 6 primeiros dias de prenhez;

SulPri 25 = Sulf A1 - grupo teste de ratas Wistar prenhes tratadas com solução de sulfentrazona 25 mg/kg durante os 6 primeiros dias de prenhez

SulPri 50 = Sulf A2 - grupo teste de ratas Wistar prenhes tratadas com solução de sulfentrazona 50 mg/kg durante os 6 primeiros dias de prenhez

ConPrf = Sal B - grupo controle de ratas Wistar prenhes tratadas com salina (0,9% NaCl) durante os dias 6-15 da prenhez;

SulPrf 25 = Sulf B1 - grupo teste de ratas Wistar prenhes tratadas com solução de sulfentrazona 25 mg/kg durante os dias 6-15 de prenhez

SulPrf 50 = Sulf B2 - 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. Os filhotes foram avaliados quanto ao seu ganho médio de peso. A transmissão do herbicida das ratas-mães para os filhotes ocorreu via placenta. Todos os filhotes foram pesados do nascimento ao 23º dia de idade. Os filhotes foram pesados individualmente, sendo calculada a média da ninhada. Foram utilizados todos os filhotes de cada ninhada.

4 – Metodologia Estatística

Foi utilizado o modelo de medidas repetidas ao longo do tempo, levando em conta dois fatores, caracterizados por fase e dose.

O fator fase caracteriza-se pelos períodos: 1-1º ao 6º dia (início da prenhez) ou do 6º ao 15º (final da prenhez). O fator dose caracteriza-se pelos níveis: 1 – tratamento com salina (0,9%), 2 – tratamento com solução de sulfentrazona 25mg e 3 - tratamento com solução de sulfentrazona 50mg. Foram levantadas 23 medidas observadas em 23 dias consecutivos.

4.1 – Experimentos com medidas repetidas

Experimentos com medidas repetidas envolvem um tratamento ou vários tratamentos, avaliado em diversos pontos no tempo; os efeitos dos fatores são fixados e os indivíduos constituem uma amostra aleatória. A Tabela 1 apresenta a descrição do experimento de medidas repetidas para este estudo.

Tabela 1: Experimento com Medidas Repetidas

Fase	Dose	Indivíduo	Dia 1	...	Dia 23
1	1	1	Y_{1111}	Y_{1111}	Y_{11123}
1	1	...	Y_{i111}	Y_{i111}	Y_{i1123}
1	1	10	Y_{10111}	Y_{10111}	Y_{101123}
1	2	1	Y_{1121}	Y_{1121}	Y_{11223}
1	2	...	Y_{i121}	Y_{i121}	Y_{i1223}
1	2	10	Y_{10121}	Y_{10121}	Y_{101223}
1	3	1	Y_{1131}	Y_{1131}	Y_{11323}
1	3	...	Y_{i131}	Y_{i131}	Y_{i1323}
1	3	10	Y_{10131}	Y_{10131}	Y_{101323}
2	1	1	Y_{1211}	Y_{1211}	Y_{12123}
2	1	...	Y_{i211}	Y_{i211}	Y_{i2123}
2	1	10	Y_{10211}	Y_{10211}	Y_{102123}
2	2	1	Y_{1221}	Y_{1221}	Y_{12223}
2	2	...	Y_{i221}	Y_{i221}	Y_{i2223}
2	2	10	Y_{10221}	Y_{10221}	Y_{102223}
2	3	1	Y_{1231}	Y_{1231}	Y_{12323}
2	3	...	Y_{i231}	Y_{i231}	Y_{i2323}
2	3	10	Y_{10231}	Y_{10231}	Y_{102323}

4.2 – O Modelo

O modelo de medidas repetidas no tempo, com dois fatores, é dado por:

$$Y_{ijkl} = \mu_{...} + \rho_i + \alpha_j + \beta_k + t_l + (\alpha\beta)_{jk} + (\alpha t)_{jl} + (\beta t)_{kl} + (\alpha\beta t)_{jkl} + \varepsilon_{(ijkl)}$$

onde

$$i = 1, \dots, n; j = 1, \dots, p; k = 1, \dots, q; l = 1, \dots, r;$$

n é o número de indivíduos em estudo;

q é o número de níveis da dose;

p é o número de períodos da fase;

r é o número de medidas repetidas no tempo;

μ é a média global;

ρ_i é o efeito do i -ésimo filhote e $\rho_i \sim N(0, \sigma^2)$;

α_j é o efeito da j -ésima fase e $\sum_j \alpha_j = 0$;

β_k é o efeito da k -ésima dose e $\sum_k \beta_k = 0$;

t_l é o efeito do l -ésimo dia e $\sum_l t_l = 0$;

$(\alpha\beta)_{jk}$ é o efeito da interação j -ésima Fase x k -ésima Dose,

$$\sum_k (\alpha\beta)_{jk} = 0, \forall j \text{ e } \sum_j (\alpha\beta)_{jk} = 0, \forall k;$$

$(\alpha t)_{jl}$ é o efeito da interação j -ésima Fase x l -ésimo Dia,

$$\sum_l (\alpha t)_{jl} = 0, \forall j \text{ e } \sum_j (\alpha t)_{jl} = 0, \forall l;$$

$(\beta t)_{kl}$ é o efeito da interação k -ésima Dose x l -ésimo Dia,

$$\sum_l (\beta t)_{kl} = 0, \forall k \text{ e } \sum_k (\beta t)_{kl} = 0, \forall l;$$

$(\alpha\beta t)_{jkl}$ é o efeito da interação k -ésima fase x j -ésima Dose x l -ésimo Dia,

$$\sum_l (\alpha\beta t)_{jkl} = 0, \forall j; \sum_k (\alpha\beta t)_{jkl} = 0, \forall k \text{ e } \sum_j (\alpha\beta t)_{jkl} = 0, \forall l;$$

$\varepsilon_{(ijkl)}$ são os erros e $\varepsilon_{(ijkl)} \sim N(0, \sigma^2)$, $\varepsilon_{(ijkl)}$ i.i.d.. E ρ_i e $\varepsilon_{(ijkl)}$ são independentes.

Assumimos que as observações Y_{ijkl} têm variância constante, quaisquer pares de observações de um mesmo indivíduo têm variância constante, quaisquer pares de observações de um mesmo indivíduo são independentes e as observações têm distribuição normal.

4.3 – Análise de Variância

A tabela 2 apresenta a análise de variância univariada (ANOVA) no experimento de medidas repetidas, com dois fatores e medidas repetidas.

Tabela 2: Análise de Variância

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma de Quadrados	Quadrado Médio
Indivíduo	$n-1$	SQI	QMI
Fase	$p-1$	SQF	QMF
Dose	$q-1$	SQD	QMD
Tempo	$r-1$	SQT	QMT
Fase x Dose	$(p-1).(q-1)$	$SQFD$	$QMFD$
Fase x Tempo	$(p-1).(r-1)$	$SQFT$	$QMFT$
Dose x tempo	$(q-1).(r-1)$	$SQDT$	$QMDT$
Fase x Dose x Tempo	$(p-1).(q-1).(r-1)$	$SQFDT$	$QMFDT$
Erro	gl	SQE	QME

onde

$$gl = (n-1) + (p-1) + (q-1) + (r-1) + (p-1)(q-1) + (p-1)(r-1) + (q-1)(r-1) + (p-1)(q-1)(r-1);$$

$$SQI = p.q.r. \sum_i (\bar{Y}_{i...} - \bar{Y}_{...})^2;$$

$$SQF = n.q.r. \sum_j (\bar{Y}_{.j..} - \bar{Y}_{...})^2;$$

$$SQD = n.p.r. \sum_k (\bar{Y}_{.k.} - \bar{Y}_{...})^2;$$

$$SQ_T = n.p.q. \sum_l (\bar{Y}_{.l} - \bar{Y}_{...})^2;$$

$$SQ_{FD} = n.r. \sum_j \sum_k (\bar{Y}_{.jk} - \bar{Y}_{.j.} - \bar{Y}_{.k.} + \bar{Y}_{...})^2;$$

$$SQ_{FT} = n.q. \sum_j \sum_l (\bar{Y}_{.jl} - \bar{Y}_{.j.} - \bar{Y}_{.l.} + \bar{Y}_{...})^2;$$

$$SQ_{DT} = n.p. \sum_k \sum_l (\bar{Y}_{.kl} - \bar{Y}_{.k.} - \bar{Y}_{.l.} + \bar{Y}_{...})^2;$$

$$SQ_{FDT} = n. \sum_j \sum_k \sum_l (\bar{Y}_{.jkl} - \bar{Y}_{.j.} - \bar{Y}_{.k.} - \bar{Y}_{.l.} + \bar{Y}_{...})^2;$$

$$SQ_E = \sum_i \sum_j \sum_k \sum_l (Y_{ijkl} - \bar{Y}_{i...} - \bar{Y}_{.jkl} - \bar{Y}_{..kl} - \bar{Y}_{.jk.} - \bar{Y}_{.jl.} + \bar{Y}_{...})^2;$$

$$Q_{MI} = \frac{SQ_I}{n-1}; \quad Q_{MF} = \frac{SQ_F}{p-1}; \quad Q_{MD} = \frac{SQ_D}{q-1}; \quad Q_{MT} = \frac{SQ_T}{r-1}; \quad Q_{MFD} = \frac{SQ_{FD}}{(p-1)(q-1)};$$

$$Q_{MFT} = \frac{SQ_{FT}}{(p-1)(r-1)}; \quad Q_{MDT} = \frac{SQ_{DT}}{(q-1)(r-1)}; \quad Q_{MFDT} = \frac{SQ_{FDT}}{(p-1)(q-1)(r-1)}; \quad Q_{ME} = \frac{SQ_E}{gl}$$

As hipóteses para testar o efeito da fase são dadas por:

H_0 : todos os α_j são iguais a zero versus H_a : nem todos os α_j são iguais a

zero. Se H_0 é verdadeira, a estatística $F^* = \frac{Q_{MF}}{Q_{ME}}$ segue a distribuição $F[1-\alpha,$

$p-1, gl]$. Assim, H_0 é rejeitada se $F^* > F[1-\alpha, p-1, gl]$.

As hipóteses para testar o efeito da dose são dadas por:

H_0 : todos os β_k são iguais a zero versus H_a : nem todos os β_j são iguais a

zero. Se H_0 é verdadeira, a estatística $F^* = \frac{Q_{MD}}{Q_{ME}}$ segue a distribuição $F[1-$

$\alpha, q-1, gl]$. Assim, H_0 é rejeitada se $F^* > F[1-\alpha, q-1, gl]$.

As hipóteses para testar o efeito do tempo são dadas por:

H_0 : todos os t_l são iguais a zero versus H_a : nem todos os t_l são iguais a zero.

Se H_0 é verdadeira, a estatística $F^* = \frac{Q_{MT}}{Q_{ME}}$ segue a distribuição $F[1-\alpha, r-1,$

$gl]$. Assim, H_0 é rejeitada se $F^* > F[1-\alpha, r-1, gl]$.

As hipóteses para testar o efeito da interação Fase x Dose são dadas por:

H_0 : todos os $(\alpha\beta)_{jk}$ são iguais a zero versus H_a : nem todos os $(\alpha\beta)_{jk}$ são iguais a zero. Se H_0 é verdadeira, a estatística $F^* = \frac{QMFD}{QME}$ segue a distribuição $F[1-\alpha, (p-1).(q-1), gl]$. Assim, H_0 é rejeitada se $F^* > F[1-\alpha, (p-1).(q-1), gl]$.

As hipóteses para testar o efeito da interação Fase x Tempo são dadas por:

H_0 : todos os $(\alpha t)_{jl}$ são iguais a zero versus H_a : nem todos os $(\alpha t)_{jl}$ são iguais a zero. Se H_0 é verdadeira, a estatística $F^* = \frac{QMFT}{QME}$ segue a distribuição $F[1-\alpha, (p-1).(r-1), gl]$. Assim, H_0 é rejeitada se $F^* > F[1-\alpha, (p-1).(r-1), gl]$.

As hipóteses para testar o efeito da interação Dose x Tempo são dadas por:

H_0 : todos os $(\beta t)_{kl}$ são iguais a zero versus H_a : nem todos os $(\beta t)_{kl}$ são iguais a zero. Se H_0 é verdadeira, a estatística $F^* = \frac{QMDT}{QME}$ segue a distribuição $F[1-\alpha, (q-1).(r-1), gl]$. Assim, H_0 é rejeitada se $F^* > F[1-\alpha, (q-1).(r-1), gl]$.

As hipóteses para testar o efeito da interação Fase x Dose x Tempo são dadas por:

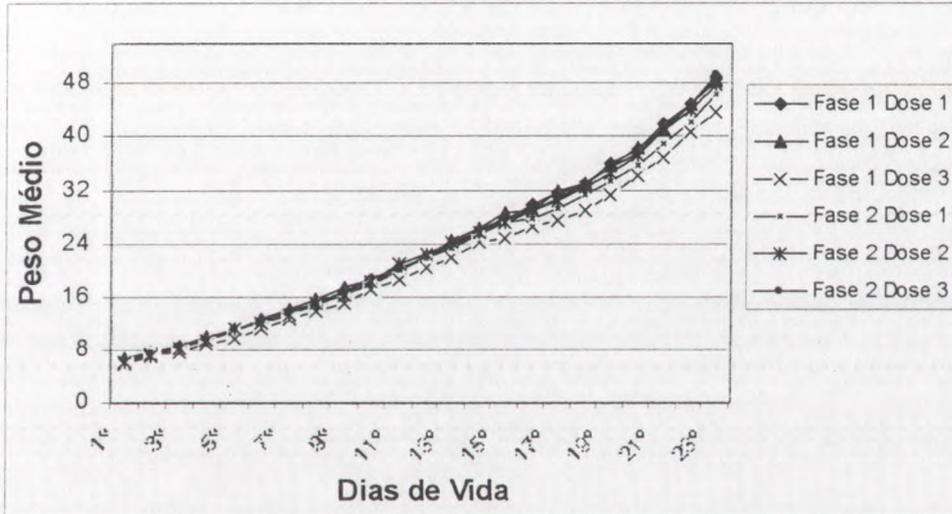
H_0 : todos os $(\alpha\beta t)_{jkl}$ são iguais a zero versus H_a : nem todos os $(\alpha\beta t)_{jkl}$ são iguais a zero. Se H_0 é verdadeira, a estatística $F^* = \frac{QMFDt}{QME}$ segue a distribuição $F[1-\alpha, (p-1).(q-1).(r-1), gl]$. Assim, H_0 é rejeitada se $F^* > F[1-\alpha, (p-1).(q-1).(r-1), gl]$.

5 – Resultados

5.1 - Verificações Gráficas

A figura 1 apresenta as curvas dos pesos médios dos filhotes, por grupo experimental.

Figura 1: Curvas dos Pesos Médios por Fase e Dose



O fator Fase caracteriza-se pelos períodos: 1- início de prenhez da mãe do roedor e 2- final de prenhez da mãe do roedor. O fator Dose caracteriza-se pelos níveis de dosagem ao qual a mãe do roedor foi exposta, sendo: 1- Tratamento de Salina (0,9%NaCl), 2- Tratamento com solução de Sulfentrazona 25mg e 3- Tratamento com solução de Sulfentrazona 50mg.

Da figura 1, observamos que há uma pequena diferença entre os tratamentos. Os menores pesos médios ocorrem no início de prenhez para a dose de sulfentrazona 50 mg.

5.2 - Verificações Formais

5.2.1 - Análise de Variância

A tabela 2 apresenta os resultados obtidos no SAS do teste de hipóteses para testar os efeitos do tempo, da interação entre dose Tempo x Fase, da interação Dose x Tempo e da interação Fase x Dose x Tempo dentro dos grupos de tratamento.

Tabela 2: Teste ANOVA para testar os efeitos dentro de grupos de tratamento

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	Valor-p
Tempo	22	960558.2518	43661.7387	8604.66	<.0001
Tempo*Fase	22	149.5393	6.7972	1.34	0.1325
Tempo*Dose	44	449.1433	10.2078	2.01	<.0001
Tempo*Fase*Dose	44	2077.7263	47.2211	9.31	<.0001
Erro(Tempo)	6402	32485.0249	5.0742		
Total	6534				

Pela tabela 2, acima observamos que o efeito da interação Fase x Dose x Tempo é significativo ($p < 0.001$), ou seja, a interação dos fatores fase, dose e tempo influenciam na mudança do peso médio das ratas. Tendo verificado que a interação é significativa, é inviável, estatisticamente, verificar os efeitos dos fatores independentemente.

Foi verificado que as suposições sobre os resíduos não foram transgredidas.

5.2.2 - Comparações Múltiplas

Tendo verificado a significância na interação Fase x Dose x Tempo, o próximo passo é tentar detectar quais combinações de níveis de tais fatores determinaram a significância desta interação. Para isto, usaremos o método LSD (Least Square Differences) o qual é determinado por:

$$\mu_{ijkl} - \mu_{ij'k'l} \leq \sqrt{\frac{2.E}{p.q.n}} \cdot t_{(\alpha/2, gl)} \text{ ou } \mu_{ijkl} - \mu_{ijk'l} \leq \sqrt{\frac{2.E}{pq.n}} \cdot t_{(\alpha/2, gl)},$$

onde E é o erro quadrático médio dos efeitos nos indivíduos;

$t_{(\alpha/2, gl)}$ é o quantil da distribuição t de Student com gl graus de liberdade;

gl é o número de graus de liberdade do Erro;

p é o número de períodos da fase;

q é o número de níveis da dose;

n é o número de ninhadas em cada grupo de tratamento.

As médias μ_{ijkl} e $\mu_{ij'k'l}$ cuja diferença é menor do que a expressão $\sqrt{\frac{2.E}{p.q.n}} \cdot t_{(\alpha/2, gl)}$, são consideradas estatisticamente similares e as médias

μ_{ijkl} e $\mu_{ijk'l}$ cuja diferença é maior do que a expressão $\sqrt{\frac{2.E}{p.q.n}} \cdot t_{(\alpha/2, gl)}$ são consideradas estatisticamente diferentes. Este método será usado em apenas alguns casos.

A tabela 3 apresenta as diferenças de médias dos pesos médios dos filhotes expostos perinatalmente a doses distintas de sulfentrazona. As expressões D1-D2, D1-D3, D2-D3 denotam, respectivamente, os valores absolutos das diferenças de médias:

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

Os valores sublinhados são aqueles cujas médias envolvidas não são estatisticamente similares, ou seja, o valor absoluto da diferença entre as mesmas é maior do que a expressão $\sqrt{\frac{2.E}{p.q.n}} \cdot t_{(\alpha/2, gl)}$.

Tabela 3: Diferenças de Médias

Fase Dia/Dose	Início da prenhez			Final da Prenhez		
	D1-D2	D1-D3	D2-D3	D1-D2	D1-D3	D2-D3
1	<u>0,000</u>	0,537	<u>0,000</u>	0,156	0,079	<u>0,001</u>
2	<u>0,008</u>	0,616	<u>0,030</u>	<u>0,012</u>	0,410	0,089
3	0,221	<u>0,011</u>	<u>0,000</u>	0,079	0,859	0,051
4	0,074	<u>0,035</u>	<u>0,000</u>	0,227	0,900	0,274
5	0,516	<u>0,000</u>	<u>0,000</u>	0,872	0,679	0,561
6	0,296	<u>0,000</u>	<u>0,000</u>	0,518	0,882	0,615
7	0,408	<u>0,002</u>	<u>0,000</u>	0,795	0,819	0,621
8	0,117	<u>0,003</u>	<u>0,000</u>	0,524	0,155	0,427
9	0,296	<u>0,002</u>	<u>0,000</u>	0,852	0,935	0,787
10	0,661	<u>0,020</u>	<u>0,006</u>	0,862	0,274	0,200
11	0,870	<u>0,009</u>	<u>0,015</u>	0,220	0,913	0,177
12	0,731	<u>0,024</u>	0,057	0,479	0,557	0,902
13	0,391	<u>0,007</u>	<u>0,000</u>	0,173	0,545	0,443
14	0,421	<u>0,032</u>	<u>0,003</u>	0,866	0,582	0,699
15	0,152	<u>0,000</u>	<u>0,000</u>	0,991	0,545	0,533
16	0,385	<u>0,000</u>	<u>0,004</u>	0,234	0,234	1,000
17	0,706	<u>0,000</u>	<u>0,000</u>	0,139	0,077	0,770
18	0,903	<u>0,000</u>	<u>0,000</u>	0,221	0,059	0,499
19	0,758	<u>0,000</u>	<u>0,000</u>	0,330	0,059	0,354
20	0,790	<u>0,000</u>	<u>0,000</u>	0,204	0,113	0,750
21	0,431	<u>0,000</u>	<u>0,000</u>	0,071	<u>0,030</u>	0,713
22	0,895	<u>0,000</u>	<u>0,000</u>	0,180	<u>0,038</u>	0,453
23	0,758	<u>0,000</u>	<u>0,000</u>	0,254	<u>0,032</u>	0,305

Observamos da Tabela 3 que as médias dos pesos dos filhotes de ratas-mães expostas no início da prenhez à doses distintas do herbicida são estatisticamente diferentes duas a duas, com exceção para comparação das médias entre a dose de controle e a dose de sulfentrazona 25mg, embora existam algumas médias similares entre D1-D3 e D2-D3.

A tabela 4 apresenta as diferenças de médias dos pesos médios dos filhotes expostos perinatalmente em fases distintas de gestação das ratas mães.

As expressões F1- F2 denotam as diferenças de médias, de ratas-mães expostas no início da prenhez e ratas-mães expostas no final da prenhez.

Os valores sublinhados são aqueles cujas médias envolvidas não são estatisticamente similares, ou seja, o valor absoluto da diferença entre as

mesmas é maior do que a expressão $\sqrt{\frac{2.E}{p.q.n}} \cdot t_{(\alpha/2, gl)}$.

Na tabela 4, abaixo, verificamos que as médias de pesos de filhotes de ratas-mães expostas à dose de sulfentrazona 50mg em fases distintas são estatisticamente diferentes duas a duas. Apesar de existirem dois valores de médias similares.

Tabela 4: Diferenças de Médias para Dose

Dose	Sulfentrazona 25mg	Sulfentrazona 50mg
Dia/Fase	F1-F2	F1-F2
1	<u>0,000</u>	<u>0,000</u>
2	<u>0,002</u>	0,422
3	0,088	<u>0,000</u>
4	0,052	<u>0,002</u>
5	0,773	<u>0,000</u>
6	<u>0,022</u>	<u>0,001</u>
7	<u>0,022</u>	<u>0,029</u>
8	0,128	<u>0,029</u>
9	0,071	<u>0,007</u>
10	0,415	0,497
11	0,216	<u>0,019</u>
12	0,406	<u>0,009</u>
13	0,813	<u>0,011</u>
14	0,306	<u>0,021</u>
15	0,069	<u>0,000</u>
16	0,909	<u>0,005</u>
17	0,109	<u>0,000</u>
18	0,596	<u>0,000</u>
19	0,287	<u>0,000</u>
20	0,239	<u>0,003</u>
21	0,957	<u>0,000</u>
22	0,397	<u>0,000</u>
23	0,615	<u>0,000</u>

6 – Conclusões

Na análise dos efeitos da sulfentrazona no desenvolvimento físico dos filhotes verificamos que há efeito do fator tempo no ganho de peso.

Verificamos que o efeito da interação entre os fatores fase, dose e tempo é significativo no desenvolvimento físico dos filhotes. Entre as combinações de níveis e períodos que causaram a significância desta interação, destacam-se diferenças entre os períodos na dose de sulfentrazona 50mg, que apresenta o menor ganho no peso médio dos filhotes ao longo dos dias para os ratos com exposição materna no início da prenhez. E a diferença dos pesos médios dos filhotes com exposição das ratas-mães no início da prenhez as diferentes dosagens, com exceção na comparação das doses de controle e de sulfentrazona 25mg que possuem o mesmo ganho de peso.

Referências Bibliográficas

MILLIKEN, G.A. & JONHSON, D.E. **Analysis of messy Data**. Van Nostrand Reinhold International Company Limited (Ed.), USA, 473 p. ; 1984.

NETER, J. ; WASSERMAN, W. & KUTTNER, M. H. **Applied Linear Statistical Models**. R. R. DONNELLEY & SONS COMPANY (Ed.), USA, 3ª ed., 1181 p. , 1990.

WINER, B.J. **Statistical Principles in Experimental Design**, McGraw-Hill, Inc. (Ed.), New York, 2ª ed., 907 p., 1971

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 α -hélice, β -folha, β -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.

- MILAN, L.; SILVA, E.; CORDEIRO, A.; GALLO JR., L. "Modelagem da Relação entre Frequência Cardíaca e Atividade Mioelétrica Utilizando Modelos Lineares". Março/1998, nº 19.
- DINIZ, C.A.R.; YOGUI, G.T.; RODRIGUES, S.A.; MONTEIRO, S.M.C. "Estudo do Desempenho de Pós-Larvas de Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) criados em redes-berçários flutuantes". Maio/1998, nº 20.
- DINIZ, C.A.R.; HUNTER, C.F.F.; PULITANO, V.M.S.E.; SUAZO, C.A.T. "Otimização do Efeito de Algumas Variáveis Sobre a Velocidade Específica de Crescimento de Microrganismo Via Metodologia de Superfície de Resposta". Maio/1998, nº 21.
- TOMAZELLA, V.L.D.; GARDELIM, R.J.B.; LOURENÇO, G.C.D.; CARVALHO, R.L. "Estudo Comparativo Referente ao Nível de Bifurcação do Nervo Tibial e sua Possível Correlação com a Síndrome do Túnel de Tarso". Julho/1998, nº 22.
- TOMAZELLA, V.L.D.; MORI, C.M.; ARAGÃO, F.J.O.S.; ARAGÃO, J.E.O.S. "Diagnóstico Sócio-Econômico, Educacional e Profissional dos Alunos Egressos do Curso de Administração de Empresas da ASSER (1976 a 1990)". Novembro/1998, nº 23.
- FOGO, J.C.; DINIZ, C.A.R.; TOMAZELLA, V.L.D.; LOUZADA-NETO, F.; GOMES, O.A. "Análise Morfoquantitativa do Plexo Mientérico do Intestino Delgado de Ratos Submetidos à Desnutrição Pré e Pós Natal e a Renutrição Pós Natal". Agosto/1999, nº 24.
- MOURA, M.S.A.; FRANCO, A.R.; CABRAL, L.F.M. "Estudo da Relação entre Poluição Atmosférica e o Número de Internações por Doenças do Aparelho Respiratório em Hospitais das Cidades da Região Canavieira de Ribeirão Preto, SP, 1998-1997". Janeiro/2000, nº 25.
- GOMES, P.L.S., DINIZ, C.A.R. "Resolução de um Problema Envolvendo Experimentos com Misturas via Pacotes Estatísticos". Novembro/2000, nº 26.
- BARRETO, M.C.M.; PIERRE, M.R.S.R.; DEL PRETTE, Z.A.P.; DEL PRETTE, A. "Habilidades Sociais entre Jovens Universitários: Um Estudo Comparativo". Novembro/2001, nº 27.
- COIMBRA, R.G.; MILAN, L.A.; PINCELLI, M.P.; UBEDA, E.M.L. "Estudo da Relação Poluição Ambiental e Mortalidade no Município de São Carlos, O efeito de curto prazo". Dezembro/2001, nº 28.
- COIMBRA, R.G.; MILAN, L.A.; PINCELLI, M.P.; UBEDA, E.M.L. "Estudo da Associação entre Mortalidade e Poluição Ambiental: efeito a longo prazo". Dezembro/2001, nº 29.
- CORDEIRO, A.M.M.; MILAN, L.A.; CATAI, A.M. "Testando o Efeito de Treinamento Físico sobre a Frequência Cardíaca Através de Métodos Não-Paramétricos". Agosto/2002, nº 30.
- MORITA, L.H.M.; DINIZ, C.A.R.; CASTRO, V.L.S.S. "Estudo da Curva de Ganho de Peso como Parâmetro do Desenvolvimento Físico de Filhotes Expostos Perinatalmente ao Fungicida Fenarimol". Março/2004, nº 31.
- SARTORELI, L.F.; RAMOS, R.; FERREIRA FILHO, P. "Índice de Bonificação de Motoristas de uma Grande Usina de Cana-de-Açúcar". Abril/2004, nº 32.
- MARTINEZ, E.Z.; DERCAIN, S.F.M.; LOUZADA-NETO, F.; SARIAN, L. O. Z.; GONTIJO, R.C.; SYRJÄNEN, K.J. "Bayesian Estimate of Cervical Cytology, Unaided Visual Inspection with Acetic Acid and Hybrid Capture II. Performance in the Detection of Cervical Carcinoma Precursor Lesions". Abril/2004, nº 33.
- MORITA, L.H.M.; DINIZ, C.A.R.; CASTRO, V.L.S.S. "Estudo de Curva de Ganho de Peso como Parâmetro do Desenvolvimento Físico de Ratas Expostas ao Fungicida Fenarimol". Junho/2004, nº 34.
- OLIVEIRA, L.A.; MATOS, A.; SILVEIRA, K.A.; NAGAI, M.; CAMARGO, P.R.; DEMÉTRIO, R.G. "Estudo Demográfico Comparativo entre Cidades do Interior do Estado de São Paulo e Minas Gerais". Junho/2004, nº 35.
- MARÃES, V.R.F.S.; DINIZ, C.A.R.; SILVA, E. "Determinação do Limiar de Anaerobiose via Métodos Estatísticos". Outubro/2004. Nº. 36
- FERREIRA FILHO, P.; MORAES D.; GOMES, T. C. F.: "Evolução do Aproveitamento nas Provas do Processo Seletivo UFSCar: 2000-2004 Uma Abordagem Multivariada" – Janeiro/2006. Nº. 37

- . 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
- . DESTEFANI, C. R.; DINIZ, C. A. R.; CASTRO, V. L. S. S.; "Estudo do Comportamento maternal de Ratas Expostas ao Herbicida Sulfentrazone". – Setembro/2006. Nº. 40

