

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA

ESTUDO DA CURVA DE GANHO DE PESO COMO  
PARÂMETRO DO DESENVOLVIMENTO FÍSICO  
DE FILHOTES EXPOSTOS PERINATALMENTE  
AO FUNGICIDA FENARIMOL

Lia Hanna Martins MORITA  
Carlos Alberto Ribeiro DINIZ  
Vera Lúcia S.S. CASTRO

Nº 31

**RELATÓRIO TÉCNICO**  
**DO**  
**DEPARTAMENTO DE ESTATÍSTICA**

**DEs**

Série B: APLICAÇÕES

**ESTUDO DA CURVA DE GANHO DE PESO COMO  
PARÂMETRO DO DESENVOLVIMENTO FÍSICO  
DE FILHOTES EXPOSTOS PERINATALMENTE  
AO FUNGICIDA FENARIMOL**

Lia Hanna Martins MORITA  
Carlos Alberto Ribeiro DINIZ  
Vera Lúcia S.S. CASTRO

Nº 31

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

MARÇO/2004

**Estudo de Curva de Ganho de Peso como Parâmetro do  
Desenvolvimento Físico de Filhotes Expostos Perinatalmente ao  
Fungicida Fenarimol**

**Lia Hanna Martins MORITA**

**Carlos Alberto Ribeiro DINIZ**

**Laboratório de Estatística Aplicada-DEs-UFScar**

**Vera Lúcia S.S. CASTRO**

**CNPA-Embrapa-Jaguariúna**

**RESUMO:** Foram realizados estudos sobre o efeito do fenarimol no ganho médio de peso de filhotes de ratos Wistar expostos perinatalmente ao fungicida. As técnicas utilizadas para avaliar os efeitos dos fatores (fase de prenhez das ratas-mães e dose do fungicida) e de suas interações na resposta foram Modelo de Medidas Repetidas, LSD (Least Squares Difference) e técnicas de comparações múltiplas.

**Palavras-Chave:** Fenarimol, Experimento com Medidas Repetidas, LSD.

## 1 – Introdução

A contaminação ambiental por agroquímicos causa efeitos negativos aos recursos naturais e à saúde humana, além de trazer problemas para a exploração agrícola; fato que leva a preocupação quanto a seu impacto na saúde humana e na qualidade ambiental. Esta avaliação é realizada quanto à saúde ambiental, identificando órgãos ou sistemas afetados que podem levar a enfermidades e desequilíbrios e estabelecendo as condições de exposição e dose ao agroquímico que levam ao dano ou enfermidade. A exposição humana aos agroquímicos, seja através de exposição ambiental ou ocupacional, pode ocasionar patologias decorrentes de exposições freqüentes, inclusive em pequenas doses.

Muitos agroquímicos afetam o sistema reprodutivo e os testes confirmam informações de seus efeitos sobre vários aspectos deste, incluindo gestação, parto, lactação, desmame, crescimento e desenvolvimento da prole (Claudio et al., 1999). Existem também evidências de que a excreção pelo leite pode alterar o desenvolvimento pós-natal, de forma tal que algumas destas alterações possam perdurar até a idade adulta (Vogel e Hagler, 1996). As avaliações cuidadosas sobre o desenvolvimento animal freqüentemente incluem, além das observações quanto ao aparecimento de sinais físicos, os aspectos referentes ao desenvolvimento neurocomportamental (Alder, 1983). Para ajudar a determinar os riscos através da exposição a substâncias químicas em humanos a USEPA (U.S. Environmental Protection Agency) vem requerendo freqüentemente tipos específicos de testes toxicológicos, usualmente em ratos e camundongos. O conhecimento obtido a partir dos resultados obtidos nesses testes poderá levar a melhores escolhas na prevenção do risco à saúde humana e ambiental devido ao uso destes produtos.

Entre as classes de agroquímicos que mais produziriam efeitos a longo prazo, incluindo o câncer, estão os fungicidas. Esses produtos apresentam aproximadamente 60% de risco estimado de oncogenese (NRC, 1987). Os fungicidas fenarimol são muito utilizados em várias culturas apesar de pouco se conhecer a respeito de seus efeitos no ambiente e na saúde animal. Os agroquímicos podem ocasionar prejuízos ao desenvolvimento embriofetal,

provocando aborto ou deficiências na formação do feto (Nelson, 1991; Nurminen, 1995); alterações fisiológicas como alterações na modulação do sistema endócrino de animais silvestres e do ser humano além de comportamentais; uma vez que ao nascer os animais não possuem todos os sistemas fisiológicos maduros (Pohl et al., 1998). Em alguns estudos foi observado que o transporte placentário de fenarimol ocorre ao redor de 0,1% da dose administrada, embora a partir do 18º dia da prenhez sua taxa de concentração seja 1.0. A sua concentração no leite materno alcança concentrações 3 a 5 vezes daquelas encontradas no plasma materno. Após a administração de [<sup>14</sup>C] fenarimol a ratas no quinto dia de lactação aparecem altas concentrações de radioatividade no hipotálamo dos neonatos que aumentam rapidamente e decrescem mais lentamente. Essas altas concentrações do fungicida coincidem com a época do desenvolvimento do comportamento sexual, o que inibiria o aumento de receptores estrogênicos nucleares no cérebro, o que normalmente ocorre no início do período pós-natal (Hirsch et al., 1987; Vinggaard et al., 2000). Tais observações em relação ao desenvolvimento ou expressão do sistema reprodutor masculino enfatizam a importância do estudo prospectivo dos efeitos desse fungicida.

A obtenção de dados de alvos biológicos significativos poderá contribuir para o aprimoramento dos instrumentos através dos quais os riscos ao ser humano, devido aos agroquímicos, possam ser minimizados. Os testes, além de sua aplicação na identificação de efeitos prejudiciais à saúde, poderão também ter aplicação no monitoramento de populações humanas expostas a agroquímicos.

Os animais envolvidos neste experimento foram ratas fêmeas prenhas, expostas durante os primeiros 6 dias da prenhez, durante os últimos 6 dias da prenhez ou os seis primeiros dias da lactação ao fungicida fenarimol por via subcutânea nas doses de 150 mg/kg ou 300 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 ao fenarimol utilizando uma curva de ganho médio de peso. O ganho de peso é

uma medida bastante utilizada, mesmo que grosseira, para avaliar a toxicidade dos xenobióticos.

## **2 – Objetivos**

### **2.1 - Objetivos Gerais**

Estudar os possíveis efeitos do fungicida fenarimol no desenvolvimento físico de organismos, mais especificamente no ganho médio de peso de filhotes de ratos expostos perinatalmente a doses distintas do fungicida, em períodos distintos de gestação e lactação das ratas-mães.

### **2.2 - Objetivos Específicos**

Avaliar o efeito do fator fase, caracterizado pela administração de doses do fungicida nas ratas-mães nos períodos: 1-início da prenhez, 2-final da prenhez e 3-lactação das ratas-mães, no ganho médio de peso dos filhotes.

Avaliar o efeito do fator dose, caracterizado pelos níveis: 1- salina (0,9% NaCl), 2- solução de fenarimol 150mg e 3-solução de fenarimol 300mg, no ganho médio de peso dos filhotes.

Avaliar o efeito da interação entre os fatores fase, dose e tempo no ganho médio de 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 que continham duas fêmeas cada. Essas fêmeas foram previamente examinadas e selecionadas para que estivessem nas fases de

proestro/estro e tivessem ciclo estral regular. A presença de espermatozoides no lavado vaginal das ratas foi considerada como indicativa do 1º dia de prenhez e no 15º dia de prenhez as fêmeas foram separadas em gaiolas individuais.

As fêmeas foram expostas durante os primeiros 6 dias da prenhez, durante os últimos 6 dias da prenhez ou os seis primeiros dias da lactação ao Fenarimol por via subcutânea nas doses de 150 mg/kg ou 300 mg/kg respectivamente.

Os grupos testados foram:

- ConPri: grupo controle de ratas Wistar prenhes tratadas com salina (0,9% NaCl) durante os 6 primeiros dias de prenhez;
- FenPri 150: grupo teste de ratas Wistar prenhes tratadas com solução de fenarimol 150mg fracionadamente durante os 6 primeiros dias de prenhez;
- FenPri 300: grupo teste de ratas Wistar prenhes tratadas com solução de fenarimol 300mg fracionadamente durante os 6 primeiros dias de prenhez;
- ConPrf: grupo controle de ratas Wistar prenhes tratadas com salina (0,9% NaCl) durante os 6 dias finais de prenhez;
- FenPrf 150: grupo teste de ratas Wistar prenhes tratadas com solução de fenarimol 150mg fracionadamente durante os 6 dias finais de prenhez;
- FenPrf 300: grupo teste de ratas Wistar prenhes tratadas com solução de fenarimol 300mg fracionadamente durante os 6 dias finais de prenhez;
- ConLac: grupo controle de ratas Wistar prenhes tratadas com salina (0,9% NaCl) durante os 6 primeiros dias de lactação;
- FenLac 150: grupo teste de ratas Wistar prenhes tratadas com solução de fenarimol 150mg fracionadamente durante os 6 primeiros dias de lactação;
- FenLac 300: grupo teste de ratas Wistar prenhes tratadas com solução de fenarimol 300mg fracionadamente durante os 6 primeiros dias de lactação.

Foram usadas 10 fêmeas para cada grupo experimental. Os filhotes foram avaliados quanto ao seu ganho médio de peso. A transmissão do fungicida das ratas-mães para os filhotes ocorreu via placenta e leite. Todos os filhotes foram pesados do nascimento ao desmame. Na medida do peso corporal médio dos filhotes foram utilizados todos os filhotes de cada ninhada.

## **4 - Metodologia Estatística**

Foi utilizado o modelo de medidas repetidas no tempo, levando em conta dois fatores, caracterizados por fase e dose.

O fator fase caracteriza-se pelos períodos: 1-início da prenhez, 2- final da prenhez e 3- lactação das ratas mães. O fator dose caracteriza-se pelos níveis: 1-tratamento com salina (0,9% NaCl), 2- tratamento com solução de fenarimol 150 mg e 3- tratamento com solução de fenarimol 300 mg. Foram levantadas 23 medidas 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 com medidas repetidas para este estudo.

Tabela 10

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	$Y_{10231}$	$Y_{10231}$	$Y_{102323}$
3	1	1	$Y_{1311}$	$Y_{1311}$	$Y_{13123}$
3	1	...	$Y_{i311}$	$Y_{i311}$	$Y_{i3123}$
3	1	10	$Y_{10311}$	$Y_{10311}$	$Y_{103123}$
3	2	1	$Y_{1321}$	$Y_{1321}$	$Y_{13223}$
3	2	...	$Y_{i321}$	$Y_{i321}$	$Y_{i3223}$
3	2	10	$Y_{10321}$	$Y_{10321}$	$Y_{103223}$
3	3	1	$Y_{1331}$	$Y_{1331}$	$Y_{13323}$
3	3	...	$Y_{i331}$	$Y_{i331}$	$Y_{i3323}$
3	3	10	$Y_{10331}$	$Y_{10331}$	$Y_{103323}$

## 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;

$\mu_{...}$  é a média global;

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

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

$\beta_k$  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,

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

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

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

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

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

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

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

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

$\rho_i$  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

As tabelas 2 e 3 apresentam a análise de variância univariada (ANOVA) no experimento com medidas repetidas, com dois fatores e medidas repetidas em ambos.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

$$QMI = \frac{SQI}{n-1}; \quad QMF = \frac{SQF}{p-1}; \quad QMD = \frac{SQD}{q-1}; \quad QMT = \frac{SQT}{r-1}; \quad QMFD = \frac{SQFD}{(p-1)(q-1)};$$

$$QMFT = \frac{SQFT}{(p-1)(r-1)}; \quad QMDT = \frac{SQDT}{(q-1)(r-1)}; \quad QMFDT = \frac{SQFDT}{(p-1)(q-1)(r-1)}; \quad QME = \frac{SQE}{gl}$$

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

$H_0$ : todos os  $\alpha_j$  são iguais a zero versus  $H_a$ : nem todos os  $\alpha_j$  são iguais a zero.

Se  $H_0$  é verdadeira, a estatística  $F^* = \frac{QMF}{QME}$  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  $\beta_k$  são iguais a zero versus  $H_a$ : nem todos os  $\beta_j$  são iguais a zero.

Se  $H_0$  é verdadeira, a estatística  $F^* = \frac{QMD}{QME}$  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  $F^* = \frac{QMT}{QME}$  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  $(\alpha t)_{j1}$  são iguais a zero versus  $H_a$ : nem todos os  $(\alpha t)_{j1}$  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

Na obtenção de verificações gráficas e formais, foram retirados dois “outliers”:

- uma ninhada do grupo de ratas tratadas com salina (0.9 % NaCl) no início da prenhez;
- uma ninhada do grupo de ratas tratadas com solução de fenarimol 150 mg no final da prenhez.

Houve um decaimento brusco dos pesos médios dos filhotes dessas ninhadas, provavelmente causado por outro fator independente do tratamento.

### 5.1 - Verificações Gráficas

As figuras 1 a 9 apresentam as curvas dos pesos médios dos filhotes, por ninhada e grupo experimental. A figura 10 apresenta as curvas dos pesos médios dos filhotes, por grupo experimental.

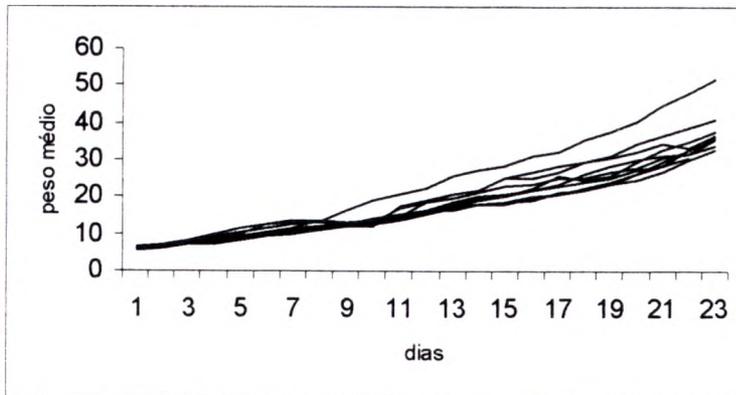


Figura 1-Tratamento com Salina (0,9% NaCl) no Início da Prenhez

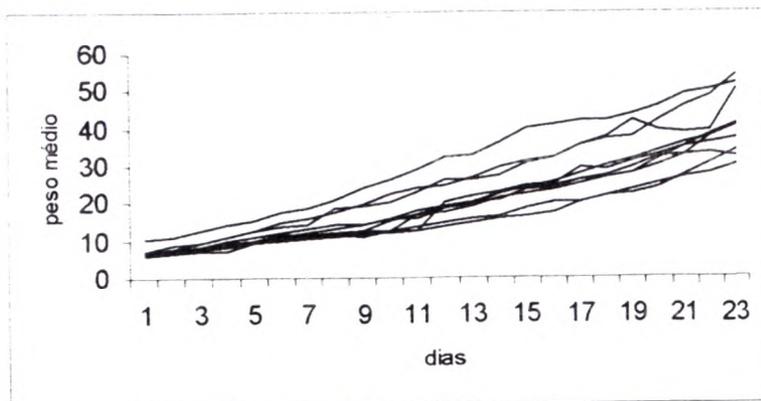


Figura 2-Tratamento com Solução de Fenarimol 150 mg no Início da Prenhez

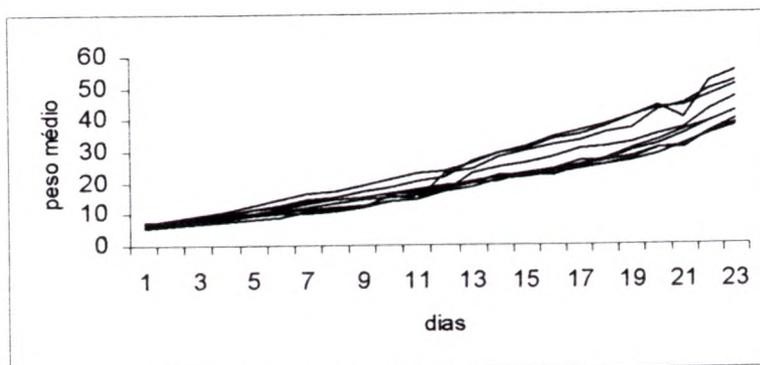


Figura 3-Tratamento com Solução de Fenarimol 300 mg no Início da Prenhez

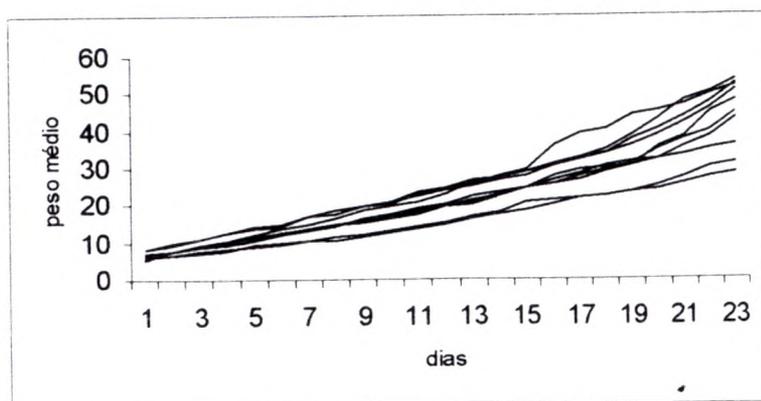


Figura 4-Tratamento com Salina (0,9% NaCl) no Final da Prenhez

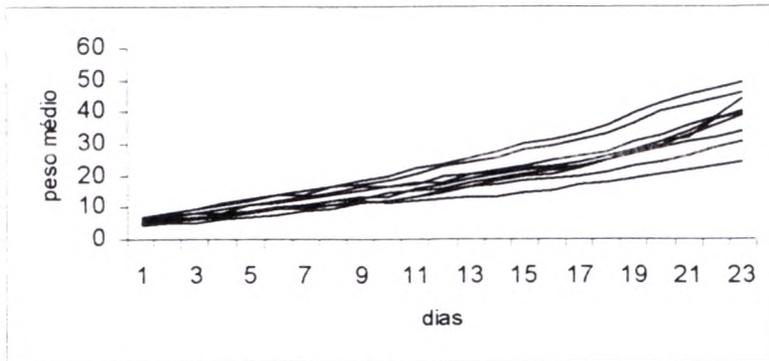


Figura 5-Tratamento com Solução de Fenarimol 150 mg no Final da Prenhez

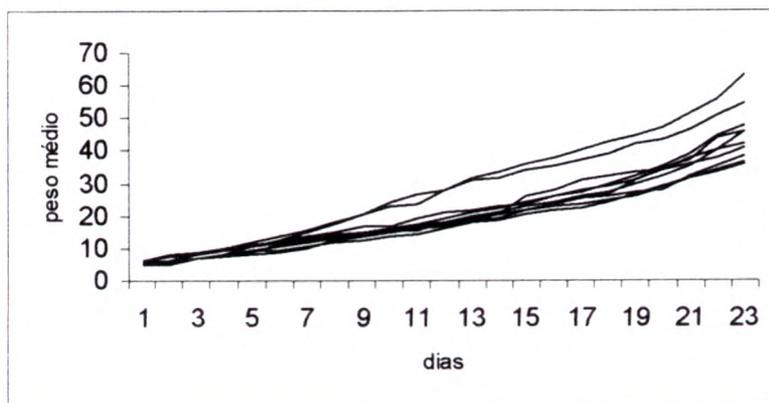


Figura 6-Tratamento com Solução de Fenarimol 300 mg no Final da Prenhez

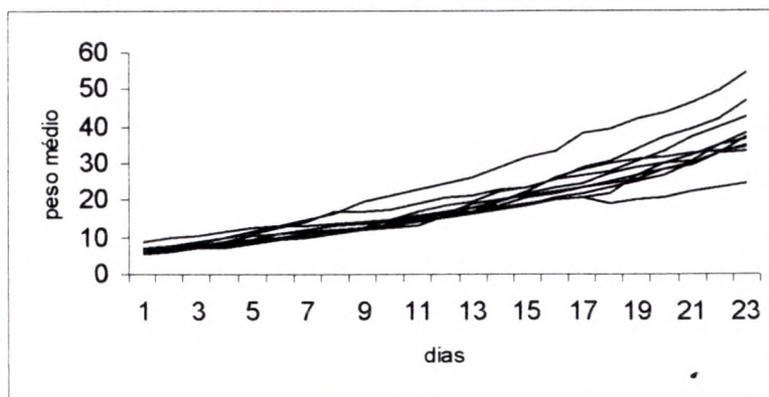


Figura 7-Tratamento com Salina (0,9% NaCl) na Lactação

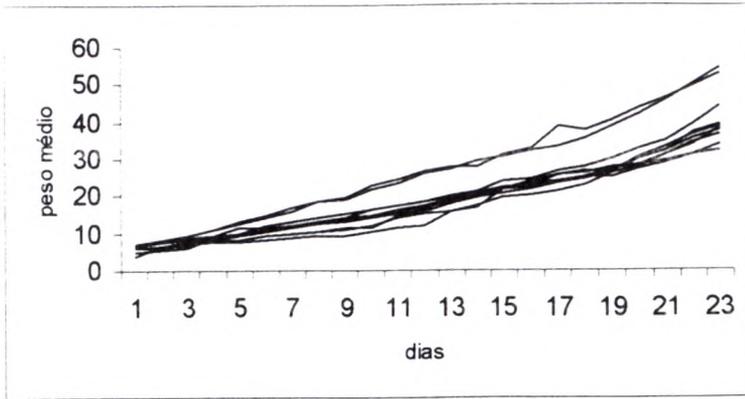


Figura 8-Tratamento com Solução de Fenarimol 150 mg na Lactação

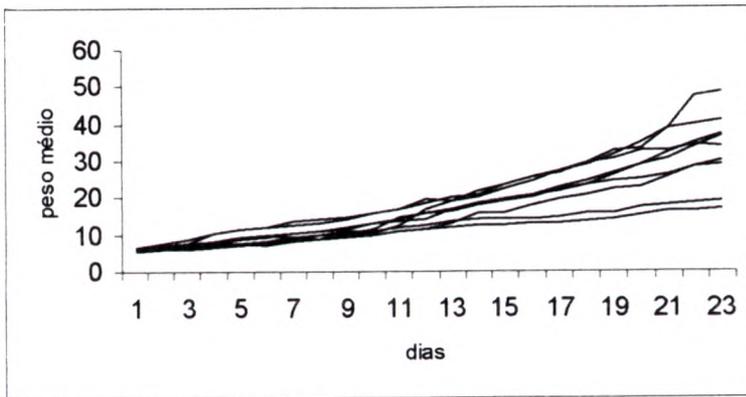


Figura 9-Tratamento com Solução de Fenarimol 300 mg na Lactação

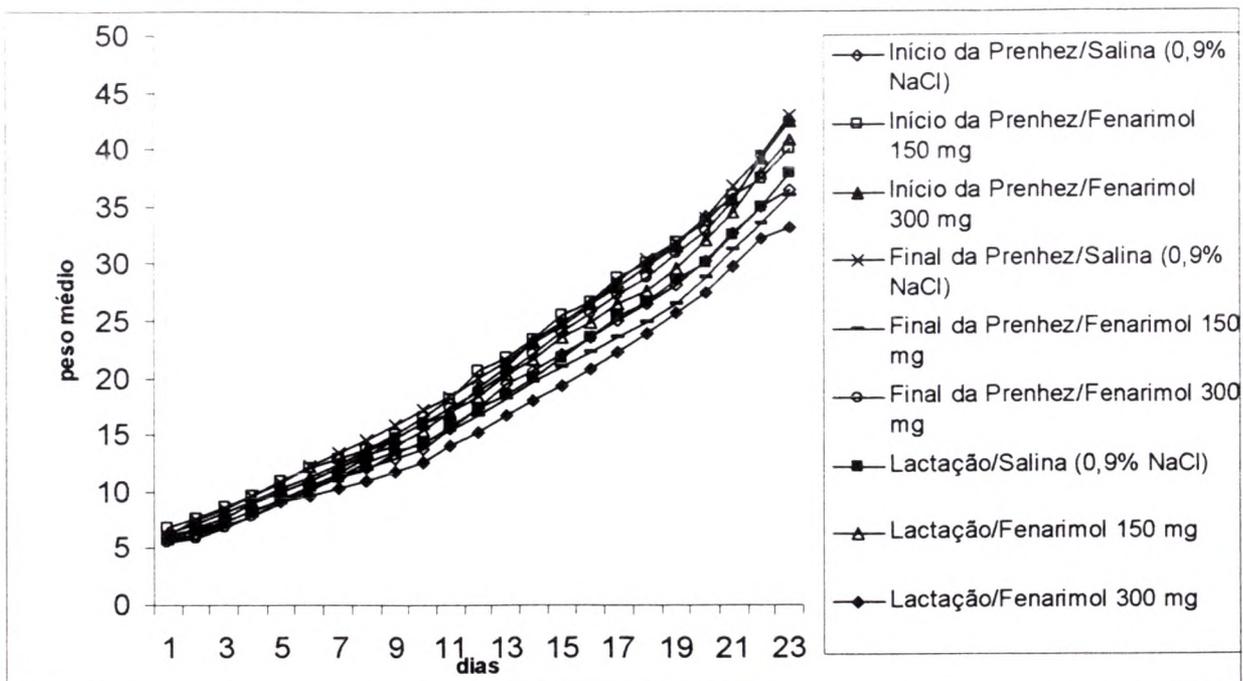


Figura 10-Curvas dos Pesos Médios

Das curvas dos pesos médios dos filhotes, percebemos claramente que o fator tempo influencia no ganho médio de peso dos filhotes durante os 23 dias de observação.

Observamos na figura 2 que a administração de solução de fenarimol 150 mg no início da prenhez das ratas-mães pode ter causado a variabilidade entre as curvas dos pesos médios dos filhotes de diferentes ninhadas.

Observamos na figura 9 que, aparentemente, o decaimento do ganho médio de peso dos filhotes ao longo dos 23 dias de observação ocorreu devido à administração de solução de fenarimol 300 mg no período de lactação das ratas-mães.

Observamos na figura 10 que os tratamentos diferem entre si. Os maiores ganhos médios de peso dos filhotes ocorreram:

- nas ninhadas de ratas-mães tratadas com solução fenarimol 300 mg no início da prenhez;
- nas ninhadas de ratas-mães tratadas com salina (0,9 % NaCl) no final da prenhez;
- nas ninhadas de ratas-mães tratadas com solução de fenarimol 300 mg no final da prenhez.

O menor ganho médio de peso de filhotes ocorreu nas ninhadas das ratas-mães tratadas com solução de fenarimol 300 mg no período de lactação.

## 5.2 - Verificações Formais

### 5.2.1 - Análise de Variância

A tabela 3 apresenta os resultados do teste de hipóteses univariado obtido via software SAS para testar o efeito do tempo, da interação Tempo x Fase, da interação Dose x Tempo e da interação Fase x Dose x Tempo dentro dos grupos de tratamento.

Tabela 3

Teste ANOVA para testar efeitos dentro dos grupos de tratamento

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F	Valor-p
Tempo	20	13359.63	6667.482	1256.74	<0.0001
Fase x Tempo	40	484.915	12.123	2.29	<0.0001
Dose x Tempo	40	50.733	1.268	0.24	1
Fase x Dose x Tempo	80	795.892	9.949	1.88	<0.0001
erro	1580	8382.525	5.305		

Pela tabela ANOVA acima observamos que o efeito da interação Fase x Dose x Tempo é significativo ( $p < 0.0001$ ), ou seja, a interação dos fatores fase, dose e tempo influencia na mudança do peso médio dos filhotes. Verificado a significância da interação Fase x Dose x Tempo, a avaliação dos efeitos das interações Fase x Tempo e Dose x Tempo é irrelevante.

### 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 Squares Difference).

Sejam  $\mu_{jkl}$  e  $\mu_{j'kl}$ , ( $j \neq j'$ ) as médias dos pesos de filhotes expostos nas fases  $j$  e  $j'$ , respectivamente, mantendo dose fixado no nível  $k$  e tempo fixado no dia  $l$ .

Sejam  $\mu_{jkl}$  e  $\mu_{jk'l}$ , ( $k \neq k'$ ) as médias dos pesos de filhotes expostos a doses  $k$  e  $k'$ , respectivamente, mantendo fase fixado no período  $j$  e tempo fixado no dia  $l$ .

O método LSD é determinado por:

$$\mu_{jkl} - \mu_{j'kl} \leq \sqrt{\frac{2.E}{p.q.n}} \cdot t_{(\alpha/2, gl)} \text{ ou } \mu_{jkl} - \mu_{jk'l} \leq \sqrt{\frac{2.E}{p.q.n}} \cdot t_{(\alpha/2, gl)},$$

onde  $j, j' = 1, \dots, p$ ;  $k, k' = 1, \dots, q$ ;  $l = 1, \dots, r$ ;

$E$  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;

$r$  é o número de medidas repetidas.

As médias  $\mu_{jkl}$  e  $\mu_{j'kl}$  cuja diferença é menor do que a expressão  $\sqrt{\frac{2.E}{p.q.n}}$ .

$t_{(\alpha/2, gl)}$  são consideradas estatisticamente similares e cuja diferença é maior

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

diferentes. O mesmo ocorre para o par de médias  $\mu_{jkl}$  e  $\mu_{jk'l}$ .

A tabela 9 apresenta as diferenças de médias dos pesos médios dos filhotes expostos perinatalmente a doses distintas de fenarimol. As expressões  $d_1 - d_2$ ,  $d_3 - d_2$ ,  $d_3 - d_1$  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 fenarimol 150 mg;
- de filhotes expostos ao tratamento com solução de fenarimol 150 mg e filhotes expostos ao tratamento com solução de fenarimol 300 mg;

- de filhotes expostos ao tratamento com salina (0.9 % NaCl) e filhotes expostos ao tratamento com solução de fenarimol 300 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  $\sqrt{\frac{2.E}{p.q.n}} \cdot t_{(\alpha/2, g1)} \cong 0.67$ .

Tabela 9  
Diferenças de Médias

Fase	Início da Prenhez			Final da Prenhez			Lactação		
	d1-d2	d2-d3	d1-d3	d1-d2	d2-d3	d1-d3	d1-d2	d2-d3	d1-d3
Dia/Dose									
1	<u>0.915</u>	0.435	0.480	0.552	0.487	<u>1.039</u>	0.557	0.292	0.265
2	<u>1.027</u>	0.367	<u>0.66</u>	<u>1.124</u>	0.337	<u>1.461</u>	0.201	0.168	0.369
3	<u>1.069</u>	0.213	<u>0.856</u>	<u>1.368</u>	0.2	<u>1.568</u>	0.173	0.379	0.552
4	<u>1.173</u>	0.225	<u>0.948</u>	<u>1.439</u>	0.047	<u>1.392</u>	0.119	<u>0.648</u>	0.529
5	<u>1.426</u>	0.275	<u>1.151</u>	<u>1.513</u>	0.126	<u>1.387</u>	0.151	<u>0.938</u>	<u>0.787</u>
6	<u>1.386</u>	0.438	<u>0.948</u>	<u>1.611</u>	0.435	<u>1.176</u>	0.041	<u>1.372</u>	<u>1.331</u>
7	<u>1.487</u>	0.076	<u>1.411</u>	<u>2.276</u>	<u>0.89</u>	<u>1.386</u>	0.389	<u>1.796</u>	<u>1.407</u>
8	<u>1.912</u>	0.335	<u>1.577</u>	<u>2.066</u>	<u>1.112</u>	<u>0.954</u>	0.292	<u>2.327</u>	<u>2.035</u>
9	<u>2.131</u>	0.191	<u>1.940</u>	<u>2.125</u>	<u>1.361</u>	<u>0.764</u>	0.285	<u>2.319</u>	<u>2.034</u>
10	<u>2.859</u>	0.017	<u>2.842</u>	<u>2.405</u>	<u>2.031</u>	0.374	<u>0.652</u>	<u>2.843</u>	<u>2.191</u>
11	<u>2.653</u>	<u>0.85</u>	<u>1.803</u>	<u>2.66</u>	<u>1.949</u>	<u>0.711</u>	<u>0.706</u>	<u>3.019</u>	<u>2.313</u>
12	<u>3.278</u>	<u>1.004</u>	<u>2.274</u>	<u>2.612</u>	<u>2.16</u>	0.452	<u>0.668</u>	<u>2.902</u>	<u>2.234</u>
13	<u>2.435</u>	0.488	<u>2.923</u>	<u>2.838</u>	<u>2.458</u>	0.38	<u>1.322</u>	<u>3.478</u>	<u>2.156</u>
14	<u>2.914</u>	<u>0.759</u>	<u>3.673</u>	<u>3.119</u>	<u>2.606</u>	0.513	<u>1.028</u>	<u>3.462</u>	<u>2.434</u>
15	<u>3.726</u>	0.175	<u>3.901</u>	<u>3.153</u>	<u>3.33</u>	0.177	<u>1.469</u>	<u>4.292</u>	<u>2.823</u>
16	<u>3.479</u>	<u>0.702</u>	<u>4.181</u>	<u>4.449</u>	<u>3.816</u>	<u>0.633</u>	<u>0.861</u>	<u>3.995</u>	<u>3.134</u>
17	<u>4.052</u>	0.282	<u>4.334</u>	<u>4.972</u>	<u>4.246</u>	<u>0.726</u>	<u>0.702</u>	<u>4.173</u>	<u>3.471</u>
18	<u>4.034</u>	0.554	<u>4.588</u>	<u>4.522</u>	<u>3.957</u>	0.565	<u>0.636</u>	<u>3.655</u>	<u>3.019</u>
19	<u>4.111</u>	<u>0.951</u>	<u>5.062</u>	<u>4.141</u>	<u>3.747</u>	0.394	0.432	<u>3.912</u>	<u>3.48</u>
20	<u>3.856</u>	<u>1.916</u>	<u>5.772</u>	<u>4.078</u>	<u>3.588</u>	0.49	<u>1.082</u>	<u>4.692</u>	<u>3.61</u>
21	<u>3.609</u>	<u>0.806</u>	<u>4.415</u>	<u>4.473</u>	<u>4.52</u>	0.047	<u>1.51</u>	<u>4.751</u>	<u>3.241</u>
22	<u>3.5</u>	<u>3.815</u>	<u>7.315</u>	<u>4.721</u>	<u>5.523</u>	<u>0.802</u>	<u>2.177</u>	<u>4.897</u>	<u>2.72</u>
23	<u>3.825</u>	<u>3.822</u>	<u>7.647</u>	<u>5.506</u>	<u>6.63</u>	<u>1.124</u>	<u>2.462</u>	<u>6.804</u>	<u>4.342</u>

Observamos na tabela 9 que as médias dos pesos médios dos filhotes tratados com doses distintas de fenarimol são estatisticamente diferentes duas a duas. Em geral, as médias se distanciam ao longo dos 23 dias de observação, embora haja diferenças de médias menores do que 0.67.

Dos valores absolutos das diferenças de médias sublinhadas, observamos que, nas ninhadas das ratas-mães tratadas no início da prenhez, há um grande distanciamento entre as médias dos pesos dos filhotes expostos

ao tratamento com solução de fenarimol 300 mg filhotes expostos ao tratamento com solução de fenarimol 150 mg;

A tabela 10 apresenta as diferenças de médias dos pesos médios dos filhotes expostos perinatalmente em fases distintas de gestação e lactação das ratas mães.

As expressões F1- F2, F3 – F2, F3 – F1 denotam, respectivamente, as diferenças de médias dos pesos médios:

- de filhotes expostos no início da prenhez e filhotes expostos no final da prenhez das ratas-mães;
- de filhotes expostos no final da prenhez e filhotes expostos no período de lactação das ratas mães;
- de filhotes expostos no início da prenhez e filhotes expostos no período de lactação das ratas-mães.

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  $\sqrt{\frac{2.E}{p.q.n}} \cdot t_{(\alpha/2, g1)} \cong 0.67$ .

Tabela 10  
Diferenças de Médias

Nível	Salina (0.9%NaCl)			Solução de Fenarimol 150 mg			Solução de Fenarimol 300 mg		
	F1-F2	F2-F3	F1-F3	F1-F2	F2-F3	F1-F3	F1-F2	F2-F3	F1-F3
1	<u>0.598</u>	<u>0.148</u>	<u>0.45</u>	<u>0.869</u>	<u>0.153</u>	<u>1.022</u>	<u>0.921</u>	<u>0.626</u>	<u>0.295</u>
2	<u>1.299</u>	<u>0.836</u>	<u>0.463</u>	<u>0.852</u>	<u>0.087</u>	<u>0.765</u>	<u>0.822</u>	<u>0.256</u>	<u>0.566</u>
3	<u>1.443</u>	<u>1.05</u>	<u>0.393</u>	<u>0.994</u>	<u>0.145</u>	<u>0.849</u>	<u>0.981</u>	<u>0.034</u>	<u>1.015</u>
4	<u>1.598</u>	<u>1.251</u>	<u>0.347</u>	<u>1.014</u>	<u>0.307</u>	<u>0.707</u>	<u>0.742</u>	<u>0.388</u>	<u>1.13</u>
5	<u>1.881</u>	<u>1.447</u>	<u>0.434</u>	<u>1.058</u>	<u>0.217</u>	<u>0.841</u>	<u>0.657</u>	<u>0.847</u>	<u>1.504</u>
6	<u>1.879</u>	<u>1.563</u>	<u>0.316</u>	<u>1.118</u>	<u>0.089</u>	<u>1.029</u>	<u>0.246</u>	<u>1.718</u>	<u>1.963</u>
7	<u>2.492</u>	<u>2.206</u>	<u>0.286</u>	<u>1.271</u>	<u>0.459</u>	<u>0.812</u>	<u>0.305</u>	<u>2.227</u>	<u>2.532</u>
8	<u>2.843</u>	<u>2.107</u>	<u>0.736</u>	<u>1.135</u>	<u>0.251</u>	<u>0.884</u>	<u>0.312</u>	<u>3.188</u>	<u>2.876</u>
9	<u>3.459</u>	<u>2.61</u>	<u>0.849</u>	<u>0.797</u>	<u>0.2</u>	<u>0.997</u>	<u>0.755</u>	<u>3.88</u>	<u>3.125</u>
10	<u>3.796</u>	<u>2.722</u>	<u>1.074</u>	<u>1.468</u>	<u>0.335</u>	<u>1.133</u>	<u>0.58</u>	<u>4.539</u>	<u>3.959</u>
11	<u>3.502</u>	<u>2.712</u>	<u>0.79</u>	<u>1.811</u>	<u>0.654</u>	<u>1.157</u>	<u>0.988</u>	<u>4.314</u>	<u>3.326</u>
12	<u>3.106</u>	<u>2.772</u>	<u>0.334</u>	<u>2.784</u>	<u>0.508</u>	<u>2.276</u>	<u>0.38</u>	<u>4.554</u>	<u>4.174</u>
13	<u>2.899</u>	<u>3.291</u>	<u>0.392</u>	<u>2.374</u>	<u>0.869</u>	<u>1.505</u>	<u>0.404</u>	<u>5.067</u>	<u>5.471</u>
14	<u>3.171</u>	<u>3.186</u>	<u>0.015</u>	<u>2.862</u>	<u>0.961</u>	<u>1.901</u>	<u>1.015</u>	<u>5.107</u>	<u>6.122</u>
15	<u>3.473</u>	<u>3.113</u>	<u>0.36</u>	<u>3.406</u>	<u>1.509</u>	<u>1.897</u>	<u>0.251</u>	<u>6.113</u>	<u>6.364</u>
16	<u>4.459</u>	<u>3.654</u>	<u>0.805</u>	<u>3.469</u>	<u>1.656</u>	<u>1.813</u>	<u>0.356</u>	<u>6.155</u>	<u>6.51</u>
17	<u>4.65</u>	<u>3.558</u>	<u>1.092</u>	<u>4.374</u>	<u>2.116</u>	<u>2.258</u>	<u>0.41</u>	<u>6.303</u>	<u>6.713</u>
18	<u>4.727</u>	<u>3.79</u>	<u>0.937</u>	<u>3.829</u>	<u>1.368</u>	<u>2.461</u>	<u>0.426</u>	<u>6.244</u>	<u>6.67</u>
19	<u>5.108</u>	<u>3.724</u>	<u>1.384</u>	<u>3.144</u>	<u>0.849</u>	<u>2.295</u>	<u>0.3482</u>	<u>6.81</u>	<u>7.158</u>
20	<u>5.325</u>	<u>4.145</u>	<u>1.18</u>	<u>2.609</u>	<u>1.015</u>	<u>1.594</u>	<u>0.937</u>	<u>7.265</u>	<u>8.202</u>
21	<u>5.551</u>	<u>4.817</u>	<u>0.734</u>	<u>2.531</u>	<u>1.166</u>	<u>1.365</u>	<u>1.183</u>	<u>8.105</u>	<u>6.922</u>
22	<u>6.303</u>	<u>5.097</u>	<u>1.206</u>	<u>1.918</u>	<u>1.8</u>	<u>0.117</u>	<u>0.21</u>	<u>8.619</u>	<u>8.829</u>
23	<u>6.735</u>	<u>5.593</u>	<u>1.142</u>	<u>2.596</u>	<u>2.375</u>	<u>0.221</u>	<u>0.212</u>	<u>11.059</u>	<u>10.847</u>

Observamos na tabela 10 que as médias dos pesos médios dos filhotes expostos em fases distintas de gestação e lactação das ratas-mães são estatisticamente diferentes duas a duas. Em geral, as médias se distanciam ao longo dos 23 dias de observação, embora haja diferenças de médias menores que 0.67.

Dos valores sublinhados, observamos que, nas ninhadas das ratas-mães tratadas com solução de fenarimol 300 mg,

- há um grande distanciamento entre as médias dos pesos dos filhotes expostos no final da prenhez e filhotes expostos no período de lactação;
- há um grande distanciamento entre as médias dos pesos dos filhotes expostos no início da prenhez e filhotes expostos no período de lactação.

## 6 - Conclusão

Na análise dos efeitos do fenarimol no desenvolvimento físico dos filhotes, observamos que a exposição das ratas-mães ao fungicida interfere no ganho médio de peso dos mesmos.

As curvas dos pesos mostram que dose elevada (300 mg) no período de lactação causou o decaimento do ganho médio de peso, provavelmente porque nesta fase a transmissão do fungicida é maior.

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 as doses no período de lactação. Provavelmente porque nesta fase a transmissão do fungicida é mais intensa em relação às outras.

O fato de ter havido diferenças nas fases do grupo controle indica que ao menos nesse caso não é possível biologicamente comparar as diferenças relativas a dose; ou seja, por exemplo não podemos comparar os resultados obtidos com a administração de 150 mg/kg de fenarimol no início e final da prenhez e lactação. A comparação entre os dias (1-23) dentro de cada grupo é obviamente diferente posto que os filhotes crescem nesse período.

Assim, o fator de comparação mais relevante no caso é a dose dentro de cada período de observação (150 mg/kg entre controle, prenhez e lactação e 300 mg/kg entre controle, prenhez e lactação), como observamos na tabela 9.

## 7 - Recomendações

Na avaliação dos pesos médios dos filhotes, foram retirados alguns outliers. Poderíamos verificar também se a variabilidade entre as curvas dos pesos médios foi causada exclusivamente pela administração de fenarimol, ou se existem outros fatores externos ao tratamento em estudo que interferem nesta variação.

### Referências Bibliográficas

ALDER, S. Behavioral teratology in ZBINDEN, Q.; RACAGNI, G.; CUOMO, V. E WEISS, B. (1983). **Application of Behavioral Pharmacology in Toxicology**, New York, Raven Press, p. 57-66.

AMES, R. G.; STEENLAND, K.; JENKINS, B.; CHRISLIP, D.; RUSSO, J. (1995). Chronic neurologic sequelae to cholinesterase inhibition among agricultural pesticide applicators. **Archives of Environmental Health**, v.50, p.440-444.

CASTRO, V.; SILVEIRA, M.; PEREZ, M. (1999). Application of clinical indicators of exposition in the evaluation of family agriculture health: the Sumaré case – Brazil. **International Journal of Sustainable and Development World Ecology**. v.6, p.172-184.

CLAUDIO, L.; BEARER, C.F.; WALLINGA, D. (1999). Assessment of the U.S. Environmental Protection Agency methods for identification of hazards to developing organisms, part I: The reproduction and fertility testing guidelines. **American Journal of Industrial Medicine**, v.35, p.543-553.

DER, G., EVERITT, B.S. (2002). **A Handbook of Statistical Analyses Using SAS**, 2nd ed. Boca Raton, Fla.: Chapman & Hall/CRC.

FLODSTROM, S.; HEMMING, H.; WARNGARD, L.; AHLBORG, U. (1990). Promotion of altered hepatic foci development in rat liver, cytochrome P450 enzyme induction and inhibition of cell-cell communication by DDT and some structurally related organohalogen pesticides. **Carcinogenesis**, v.11, p.1413 – 1417.

HIRSCH, K.; WEAVER, D.; BLACK, L.; FALCONE, J.; MACLUSKY, N. (1987). Inhibition of central nervous system aromatase activity: a mechanism for Fenarimol-induced infertility in the male rats. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v.91, p.235 – 245.

KIMMEL, C. A. & MAKRIS, S.L. (2001). Recent developments in regulatory requirements for developmental toxicology. **Toxicology Letters**, v.120, p.73-82.

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

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. (1987). **Regulating pesticides in food**. National Academy of Science Press, Washington, DC.

NELSON, B. (1991). Evidence for behavioral teratogenicity in humans. **Journal of Applied Toxicology**, v.11, p.33-3.

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

NURMINEN, T. (1995). Maternal pesticide exposure and pregnancy outcome. **Journal of Occupational Medicine**, v.37, p.935-940.

PALUT, D.; LUDWICK, J.; SZLEZAK-KOPEC, J. (1992). The influence of Fenarimol on DNA synthesis and mitotic activity in rat liver. **Journal of Applied Toxicology**, v.12, p.275 – 279.

PAOLINI, M.; MESIRCA, R.; POZZETTI, L.; MAFFEI, F.; VIGAGNI, F.; HRELIA, P.; CANTELLI-FORTI, G. (1996). Genetic and non-genetic biomarkers related to carcinogenesis in evaluating toxicological risk from Fenarimol. **Mutation Research**, v.368, p.27 - 39.

POHL, H.; SMITH-SIMON, C.; HICKS, H. (1998). Health effects classification and its role in the derivation of minimal risk levels: developmental effects. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v.28, p.55-60.

SOLCO, L.; DEFAZIO, G.; SCARSELLI, R.; ZEFFERINO, R.; LIVREA, P.; FOÁ, V. (1996). Toxicity of fungicides containing ethylene-bis-dithiocarbamate in serumless dissociated mesencephalic-striatal primary coculture. **Archives of Toxicology**, v.70, p.678 – 682.

US ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). (May,10,1999). The Office of Pesticide Program's policy on determination of the appropriate FQPA safety factor(s) for use in the tolerance-setting process.  
[http:// www.epa.gov/scipoly/sap/1999/index.htm#may](http://www.epa.gov/scipoly/sap/1999/index.htm#may).

VINGGAARD, A.; HNIDA, C.; BREINHOLT, V.; LARSEN, J. (2000). Screening of selected pesticides for inhibition of CYP19 aromatase activity in vitro, **Toxicology in Vitro**, v.14, p.227 – 234.

VOGEL, G.; HAGLER, M. (1996). Effects of neonatally administered inpridole on adult behaviors of rats. **Pharmacology Biochemistry & Behavior**, v.55, p.155 - 161.

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

## 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.; CURTI, 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.

- . 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.

