

CENTRO DE ESTATÍSTICA APLICADA – CEA
RELATÓRIO DE ANÁLISE ESTATÍSTICA – CÓDIGO RAE – CEA – 05P20

TÍTULO: “Efeito da radiação gama de ^{60}Co em *Biomphalaria tenagophila*.”

PESQUISADOR: Lenita de Freitas Tallarico

ORIENTADORES: Eliana Nakano

Toshie Kawano

INSTITUIÇÃO: Instituto Butantan – Laboratório de Parasitologia/Malacologia

FINALIDADE DO PROJETO: Publicação

RESPONSÁVEIS PELA ANÁLISE: Denise Aparecida Botter

Mônica Carneiro Sandoval

Bruno Medeiros Garibaldi Pereira

José Adolfo de Almeida Schultz

REFERÊNCIA DESTE TRABALHO: BOTTER, D. A.; SANDOVAL, M. C.; PEREIRA, B.M.G; SCHULTZ, J. A. A. Relatório de análise estatística sobre o projeto: “**Efeito da radiação gama de ^{60}Co em *Biomphalaria tenagophila***”. São Paulo, IME – USP, 2005. (RAE – CEA – 05P20)

FICHA TÉCNICA:**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:**

- PAULA, G. A. (2004). **Modelos de Regressão com apoio computacional**. Versão Preliminar. São Paulo: IME-USP. 245p.

PROGRAMAS COMPUTACIONAIS UTILIZADOS:

Excel 2000 for Windows

Word 2000 for Windows

TÉCNICAS ESTATÍSTICAS UTILIZADAS:

Análise Descritiva Unidimensional (03:010)

Análise de Regressão – Modelo Linear Generalizado (07:990)

ÁREA DE APLICAÇÃO: Ciências do ambiente e ecologia (14:060)

ÍNDICE

Resumo.....	5
1. Introdução.....	6
2. Descrição do experimento	7
3. Análise descritiva	9
3.1. Desovas	9
3.2. Embriões	12
3.3. Embriões mortos e mal formados	15
4. Análise Inferencial.....	16
4.1 Desovas.....	16
4.2 Embriões.....	18
4.3 Embriões mortos e mal formados.....	20
5. Conclusões	21
Apêndice A	23
Apêndice B	62

Resumo

Doenças como esquistossomose são comuns em nosso país devido às condições de pobreza, maus hábitos de higiene e falta de saneamento básico. Essa doença é transmitida por um parasita, cujo ciclo de desenvolvimento envolve dois outros seres, sendo um deles o caramujo, *Biomphalaria tenagophalaria*, que será estudado nesse trabalho. O objetivo desse estudo é verificar o efeito de doses progressivas da radiação gama do Co^{60} e do tipo de reprodução (fecundação cruzada e autofecundação) na produção de desovas, embriões e embriões mortos e mal formados.

A análise descritiva dos dados foi realizada por meio de gráficos de perfis de médias e gráficos de dispersão.

Na análise inferencial, foram construídos modelos em que o número de desovas, de embriões e de embriões mortos e mal formados são gerados por uma distribuição binomial negativa em que se buscou verificar o efeito do tipo de reprodução, das diferentes doses de radiação do Co^{60} ao longo de 12 semanas.

Concluiu-se que, para o número médio de desovas e para o número médio de embriões, houve efeito do tipo de reprodução, da dose de radiação aplicada e esses números mudam ao longo das 12 semanas. Em geral, animais mantidos em condições de autofecundação produzem mais desovas e embriões do que animais mantidos em condições de fecundação cruzada e essa produção diminui com o aumento da radiação. Para o número médio de embriões mortos e mal formados houve efeito da dose de radiação e, em geral, animais expostos às doses mais altas produzem 100% dos embriões mortos ou mal-formados ao longo das doze semanas.

1. Introdução

A esquistossomose, originária na África Central, disseminou-se no Brasil após a importação do trabalho escravo, a partir do século XVI. Com a dispersão dos negros escravos e as correntes migratórias internas, ocorreu a expansão da esquistossomose para vários estados brasileiros. A expansão da doença, em nosso país, ocorreu não só pela migração interna de pessoas contaminadas, mas principalmente em razão das condições de pobreza, maus hábitos de higiene, e também, pela falta de saneamento básico.

A doença é transmitida por um parasita, cujo ciclo de desenvolvimento envolve dois outros seres: um hospedeiro intermediário e um hospedeiro definitivo. Neste trabalho, será estudado o caramujo da espécie *Biomphalaria tenagophalaria* (D'Orbigny, 1835) que é o principal transmissor da esquistossomose na região Sudeste do Brasil e desempenha papel de hospedeiro intermediário. Isto significa que o parasita transmissor da esquistossomose hospeda-se no corpo desse caramujo para realizar a primeira fase de seu desenvolvimento e, em seguida, sai do corpo desse caramujo na água doce – de um rio, por exemplo. O homem em contato com esse parasita que se encontra na água passa a assumir o papel de hospedeiro definitivo. É nessa fase que o parasita causa, no ser humano, a esquistossomose, também conhecida como barriga d'água.

É conhecido que essa espécie de caramujos é muito resistente à radiação, que lhe causa, apenas, infertilidade e má formação de embriões. Em alguns estudos, aplicaram-se doses progressivas de raios gama de ^{60}Co sobre *Biomphalaria glabrata* (Carvalho, 1992) e *Biomphalaria straminea* (Melo, 1994) isolados e em colônias, verificando que os moluscos mantidos em colônias apresentaram uma maior diminuição na fecundidade e fertilidade com o aumento da dose.

Sabe-se também que, quando encontrado em uma comunidade de caramujos, a preferência desse animal é a fecundação cruzada como método de reprodução. No entanto, quando se encontra isolado, esse caramujo se reproduz através de autofecundação. Diante disso, o objetivo deste estudo é verificar a influência da

radiação gama de ^{60}Co na reprodução (fecundação cruzada e autofecundação) de caramujos da espécie *Biomphalaria tenagophila*.

2. Descrição do experimento

Foram selecionados, 100 caramujos da espécie *Biomphalaria tenagophila*. Estes animais foram distribuídos em dois grupos de 50 caramujos. O primeiro grupo foi mantido em condições necessárias à prática de autofecundação, isto é, cada animal foi isolado em um copo de vidro para que não tivesse contato com outros caramujos. O segundo grupo foi mantido em condições necessárias à prática de fecundação cruzada. Para isso, foram formados 5 grupos de 10 caramujos e cada um desses grupos foi mantido em um aquário.

Com o objetivo de determinar o efeito da radiação gama de ^{60}Co , os animais mantidos em condições de autofecundação foram subdivididos em 5 grupos, com 10 caramujos cada. Cada grupo foi exposto a uma dose de radiação – 0Gy (grupo controle), 50Gy, 70Gy, 90Gy e 110Gy. As mesmas doses foram aplicadas nos animais mantidos em condições de fecundação cruzada, sendo que cada um dos aquários foi exposto a um nível de radiação. Esse experimento foi realizado duas vezes, em 25/06/1996 – Experimento 1 – e em 18/12/1996 – Experimento 2. É interessante ressaltar que essas doses dependem do tempo de exposição e são altas, uma vez que para um ser humano, a dose máxima dessa radiação considerada segura é de 1Gy.

Após a aplicação de uma única dose de radiação, os animais foram acompanhados durante 12 semanas, sendo que, em cada uma, media-se o número de desovas (Figura 1), o número total de embriões, o número de embriões vivos, o número de embriões mortos e mal formados (Figura 2). Para os animais mantidos em condições de autofecundação, estas medidas foram obtidas para cada caramujo, enquanto que, para os animais mantidos em condições de fecundação cruzada, essas medidas foram obtidas por aquário, isto é, para grupos de 10 caramujos.

Figura 1 – Desova de *Biomphalaria tenagophila* com 19 embriões

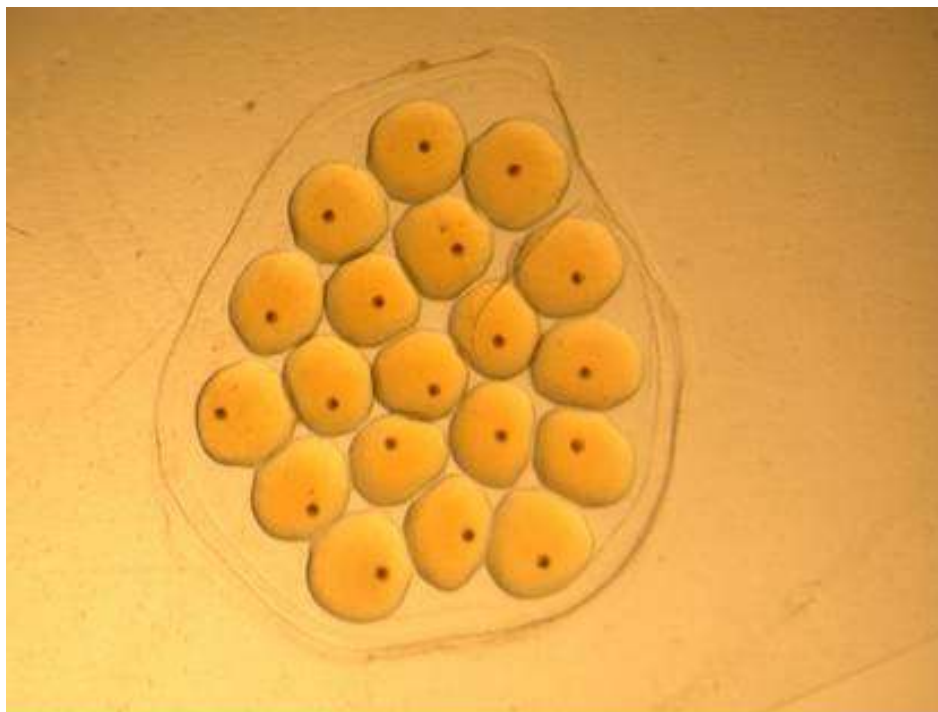
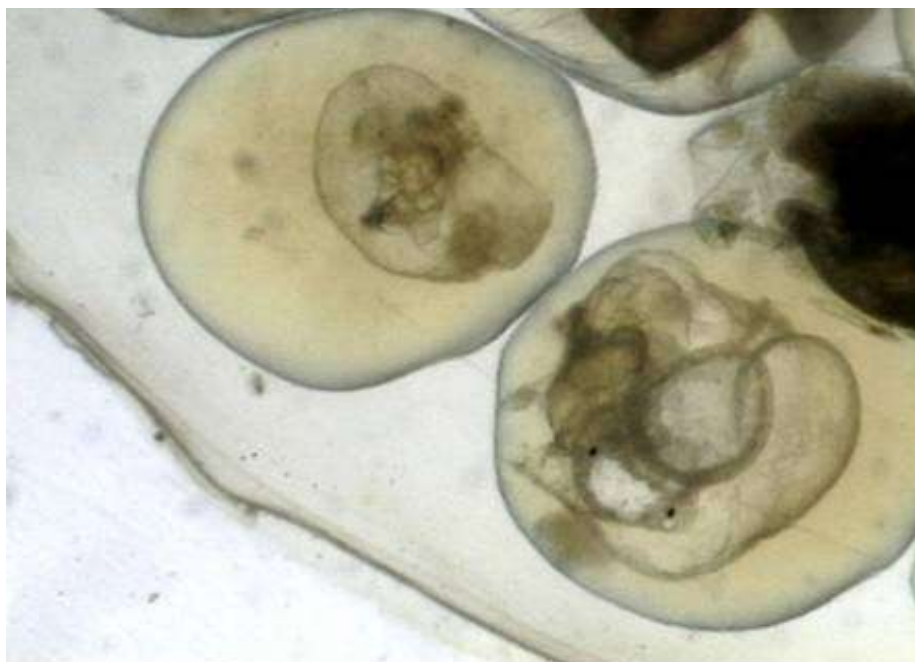


Figura 2 – Embriões mal formados



3. Análise Descritiva

Para comparar os grupos quanto à produção de desovas (e embriões), foi calculado o número médio de desovas (e embriões) produzidas em cada grupo, isto é, dividiu-se o número total de desovas (ou embriões) produzidas por um grupo pelo número de caramujos vivos no grupo (Tabela B.1, encontrada no Apêndice B). Essa média foi calculada para cada uma das 12 semanas de coleta dos dados e para cada um dos dois experimentos. Os resultados são apresentados nas Tabelas B.2 e B.3. A proporção de embriões mortos e mal formados foi calculada pela divisão do número total de embriões mortos e mal formados pelo número total de embriões produzidos em cada grupo relacionado acima em cada semana. As proporções são apresentadas na Tabela B.4.

3.1. Desovas

O Gráfico A.1 (Apêndice A) apresenta o número médio de desovas, ao longo das 12 semanas do Experimento 1, para autofecundação. Na primeira semana, observa-se que os cinco grupos apresentam produções médias de desovas próximas. Da segunda à sétima semana, o grupo controle tem o maior número médio de desovas. Quando se comparam os grupos expostos a algum nível de radiação, vê-se que o número médio de desovas cai até a terceira semana quando o grupo 50Gy já apresenta um certo aumento nesse número. Nos outros 3 níveis de radiação, o número fica baixo até a sexta semana. Depois da sétima semana, o número médio de desovas é parecido para todas as doses de radiação.

No Gráfico A.2, mostra-se o número médio de desovas para os cinco tipos de radiação ao longo do tempo considerando os animais mantidos em autofecundação no Experimento 2. Vê-se que, a partir da segunda semana, o número médio de desovas, em geral, diminui até a quinta semana em todos os grupos que tiveram aplicado algum nível de radiação. No grupo 110Gy todos os caramujos estavam mortos na quinta semana. Depois disso, o número médio de desovas aumenta e varia muito entre os grupos.

Pelo Gráfico A.3, nota-se que, nos grupos 70, 90 e 110Gy, o número médio de desovas diminui até a terceira semana e mantém um número baixo até a sétima; para os grupos 90 e 110Gy continua baixo até a nona semana. Os grupos controle e 50Gy têm um número médio de desovas superior ao dos outros 3 grupos até a sexta semana. A partir da oitava semana, com exceção dos grupos 90Gy e 110Gy, o efeito da radiação parece diminuir.

Pelo Gráfico A.4, vê-se que, com exceção do grupo 110Gy onde todos os caramujos morrem na terceira semana, nos outros grupos não parece haver efeito da radiação sobre o número médio de desovas.

O Gráfico A.5 mostra o número médio de desovas para o grupo controle no Experimento 1, sob os dois tipos de fecundação. O grupo fecundação cruzada tem um número médio de desovas maior apenas na quinta semana. Isso fica mais evidente no Gráfico A.6. Nesse gráfico, cada ponto corresponde ao par de medidas formado pelo número médio de desovas do grupo em autofecundação e pelo mesmo número do grupo em fecundação cruzada em uma semana. Os pontos marcados abaixo da reta diagonal, traçada no gráfico, correspondem às semanas em que o grupo em autofecundação produziu, em média, mais desovas do que o grupo em fecundação cruzada, enquanto que os pontos traçados acima da reta correspondem às semanas em que o grupo em fecundação cruzada produziu um número médio de desovas maior. Assim, observa-se que apenas um ponto está acima da reta diagonal, indicando que apenas em uma semana – das doze – animais em fecundação cruzada produziram mais desovas. No Experimento 2, o grupo autofecundação tem um número médio de desovas menor somente nas 3 primeiras semanas e na nona semana (Gráficos A.7 e A.8).

No Experimento 1, nota-se que, na maior parte do tempo, o grupo autofecundação apresenta um número médio de desovas maior (Gráficos A.9 e A.10) do que o grupo fecundação cruzada.

No Experimento 2, os caramujos irradiados com 50Gy têm o número médio de desovas, nos grupos autofecundação e fecundação cruzada, muito próximos até a nona semana. A partir desta semana, o grupo autofecundação apresenta um número médio maior do que o grupo fecundação cruzada (Gráfico A.11). Essa proximidade dos

números médios de desovas fica bem visível no Gráfico A.12 em que observa-se que a maioria dos pontos localizam-se próximos da reta diagonal.

Os Gráficos A.13, A.14, A.15 e A.16 mostram que, para os dois experimentos, a produção média de desovas dos animais irradiados com 70Gy é muito próxima, comparando os grupos autofecundação e fecundação cruzada.

No Experimento 1, os grupos irradiados com 90Gy (Gráfico A.17), têm uma queda no número médio de desovas até terceira semana. Esse número permanece constante até a sexta semana quando começa aumentar no grupo autofecundação. Já no grupo fecundação cruzada, esse aumento é mais demorado e começa apenas na nona semana. Essa demora no aumento fica clara pelo Gráfico A.18 onde o número de pontos abaixo da diagonal mostra que, na maioria dos tempos, a autofecundação teve um número médio de desovas maior que a fecundação cruzada.

Pelo Gráfico A.19, mostra-se que o número médio de desovas, no grupo 90Gy – experimento2 – cai até a terceira semana permanece baixo até a quinta quando começa a aumentar, a fecundação cruzada apresenta uma variabilidade maior a partir desse ponto, isso pode ser visto pelo Gráfico A.20, pois os pontos estão variando mais no eixo da fecundação cruzada.

No grupo irradiado com 110Gy no experimento 1 (Gráfico A.21), nota-se uma queda no número médio de desovas até a terceira semana. Para autofecundação, esse número permanece constante até a sexta semana e aumenta até o final do estudo. Para fecundação cruzada, esse número continua constante até a nona semana quando tem um pequeno aumento e depois uma queda no fim do estudo. Pelo Gráfico A.22, vê-se que o grupo autofecundação apresenta um número médio de desovas superior a fecundação cruzada, pois observa-se que um número grande de pontos encontra-se abaixo da diagonal.

Os Gráficos A.23 e A.24 mostram que, no experimento 2, com uma radiação de 110Gy, não houve desovas, pois os caramujos morreram depois da quarta semana.

3.2. Embriões

O Gráfico A.25 mostra a evolução, ao longo do tempo, do número médio de embriões dos grupos mantidos em condições de autofecundação no Experimento 1. É visível que os animais do grupo controle – que não foram expostos à radiação – apresentam uma maior produção de embriões, desde a segunda semana de observação até o final do experimento, quando comparados aos grupos expostos a algum nível de radiação. Apenas a partir da oitava semana, pode-se perceber a diferença entre a produção média de embriões dos grupos expostos à radiação, pois todos esses grupos começam a apresentar um aumento na produção de embriões, sendo esse aumento maior nos grupos expostos a 50, 70 e 110Gy. À primeira vista, o fato de o grupo exposto a 110Gy ter um aumento no número médio de embriões superior ao aumento demonstrado no grupo exposto a 90Gy pode parecer incoerente, no entanto, deve-se observar, na Tabela B.1, que esses dois grupos a partir da oitava semana contam com um número bastante inferior de animais vivos e que o grupo exposto a 90Gy encerra o experimento com apenas 4 animais vivos. Antes da oitava semana, observa-se que os quatro grupos expostos à radiação, iniciam o experimento com produção média de embriões próxima à produção do grupo controle, reduzem essa produção nas 3 primeiras semanas e mantêm essa produção praticamente nula da terceira até a sétima semana. A partir da oitava semana, começam a se recuperar.

O Gráfico A.26 mostra a evolução, ao longo das 12 semanas de observação, dos 5 grupos mantidos em condições de autofecundação no Experimento 2. Deve-se observar neste gráfico que, na primeira semana de observação, os cinco grupos, inclusive o grupo controle, já apresentam número médio de embriões bem inferior ao número observado no Experimento 1. A partir da terceira semana, o grupo controle apresenta uma produção média de embriões superior aos demais grupos, que passam a apresentar uma produção praticamente nula de embriões e não há indicação de aumento dessa produção depois de algum tempo, ao contrário do Experimento 1. É interessante consultar a Tabela B.1 para verificar que a partir da quinta semana, todos os caramujos expostos a 110Gy já estão mortos.

O Gráfico A.27 apresenta a evolução dos 5 grupos mantidos em condições de fecundação cruzada no Experimento 1, ao longo das 12 semanas de observação. Nas duas primeiras semanas, o número médio de embriões é muito próximo para os 5 grupos, porém é bastante inferior ao número médio de embriões para os grupos mantidos em autofecundação no mesmo experimento. A partir da terceira semana, o grupo controle oferece medidas que variam bastante ao longo das semanas, chegando na semana 7 a não produzir nenhum embrião. No entanto, exceto nessa semana, o número médio de embriões é maior do que o número médio de embriões dos grupos expostos à radiação. Os grupos expostos à 90Gy e 110Gy de radiação, praticamente não produzem mais embriões até o final do experimento. O grupo exposto a 50Gy mostra uma tendência decrescente do número de embriões nas 6 primeiras semanas, esse número é nulo da sexta à oitava semana e volta a crescer a partir da nona. O número médio de embriões do grupo exposto a 70Gy apresenta uma tendência decrescente nas 3 primeiras semanas, é nulo entre a terceira e a nona semana e volta a aumentar a partir da décima semana. Observa-se ainda que os animais mantidos em autofecundação no Experimento 1 apresentam uma recuperação na produção de embriões um pouco antes do que os animais mantidos em fecundação cruzada.

No Gráfico A.28 é acompanhado, ao longo do tempo, o número médio de embriões produzidos pelos animais mantidos em condições de fecundação cruzada no Experimento 2. Pode-se perceber que os grupos expostos a 50 e 70Gy praticamente não produzem embriões, da terceira à sexta semana, e, no entanto, a partir da sétima apresentam uma produção de embriões muito próxima da produção do grupo controle – em alguns momentos chegam a produzir, em média, mais embriões do que o grupo controle. O número médio de embriões do grupo controle varia bastante ao longo do tempo. Os caramujos expostos a 90Gy de radiação não produzem embriões da terceira à sétima semana, recuperam esta produção na oitava semana, porém a partir da nona semana voltam a produzir, em média, cada vez menos embriões. Os animais expostos a 90Gy apresentam, nas 7 primeiras semanas, um número médio de embriões muito próximo ao do grupo 110Gy. A partir da oitava semana, não há mais animais vivos neste grupo.

O Gráfico A.29 apresenta a evolução dos grupos expostos a 0Gy no Experimento 1, mostrando a existência de uma grande variação do número médio de embriões para os dois grupos, ao longo do tempo. Além disso, é possível observar que, na maior parte do tempo, a produção média de embriões é maior para o grupo exposto a condições de autofecundação do que para o grupo exposto a condições de fecundação cruzada.

No Gráfico A.30, pode-se observar a evolução dos grupos não expostos à radiação no Experimento 2. Assim como no Experimento 1, observa-se uma grande variação no número médio de embriões ao longo do tempo, no entanto, a produção média de embriões é maior para o grupo mantido em condições de fecundação cruzada, na maior parte do tempo.

Os Gráficos A.31 e A.32 apresentam a evolução dos grupos expostos a 50Gy nos dois experimentos, ao longo do tempo. Pode-se notar que, comparando autofecundação e fecundação cruzada, os números médios de embriões são muito próximos até a sétima semana nos dois experimentos. A partir da oitava semana, a produção média de embriões do grupo autofecundação é maior que a do grupo fecundação cruzada no Experimento 1. No entanto, no Experimento 2, ocorre o contrário. Esse mesmo comportamento pode ser observado nos Gráficos A.33 e A.34 para os grupos expostos a 70Gy,

No Gráfico A.35, observa-se que os grupos expostos a 90Gy, no Experimento 1, a partir da terceira semana praticamente não produzem embriões, tanto os mantidos em condições de autofecundação, quanto os mantidos em condições de fecundação cruzada. Observa-se também que nas semanas em que existe alguma produção, ela é, em média, maior para o grupo autofecundação. No Experimento 2, observa-se que a produção dos dois grupos expostos a 90Gy é baixa durante as 12 semanas, isso pode ser observado no Gráfico A.36.

O Gráfico A.37 mostra que os animais expostos a 110Gy de radiação no Experimento 1, mantidos em autofecundação, não produzem embriões da terceira até a sétima semana e depois apresentam um aumento no número médio de embriões. Os animais mantidos em condições de fecundação cruzada não produzem mais embriões a partir da terceira semana até o final do experimento. Além disso, na maior parte das

semanas, o número médio de embriões é maior para os animais mantidos em condições de autofecundação.

Para os animais expostos a 110Gy, no Experimento 2, não há mais animais vivos a partir da oitava semana. Observa-se que, tanto para fecundação cruzada quanto para autofecundação, praticamente não há produção de embriões. Isso pode ser observado no Gráfico A.38.

3.3. Embriões mortos e mal formados

Os Gráficos A.39, A.40, A.41 e A.42 apresentam a evolução, ao longo das doze semanas de observação, da proporção de embriões mortos e mal formados. Pode-se observar que, para os dois tipos de reprodução nos dois experimentos, os grupos não-expostos à radiação apresentam uma grande variação desta proporção, sendo que, na maior parte do tempo, essa proporção fica inferior a 60%. Para os grupos expostos à radiação de 50 e 70Gy, vê-se que essa proporção é 100% até a sétima semana, a partir daí, há uma recuperação. Já para os grupos 90 e 110Gy, a proporção é de 100% na maior parte do tempo, porém observando a Tabela B.3, percebe-se que, as semanas em que a proporção de embriões mortos e mal formados é menor que 100% correspondem às semanas em que houve maior produção de embriões nestes grupos.

Os Gráficos A.43 a A.52 mostram que as proporções de embriões mortos e mal formados dos grupos autofecundação e fecundação cruzada são muito próximas, na maior parte do tempo para todas as doses de radiação. Geralmente, há diferenças maiores quando um dos grupos apresenta uma alta produção média de embriões na semana e o outro grupo não.

4. Análise Inferencial

Devido ao grande número de mortes das unidades experimentais no experimento 2, a análise inferencial considerará apenas o experimento 1.

4.1. Desovas

Para verificar o efeito do tipo de reprodução, dos níveis de radiação e do tempo no número médio de desovas, ajustou-se um modelo que considera que o número de desovas comporta-se segundo uma distribuição binomial negativa (Paula, 2004). Assume-se que a média do modelo tem a seguinte estrutura:

$$\log(\mu_{ijt}) = \beta_0 + \beta_1 \times R_i + \beta_2 \times j + \beta_3 \times t + \beta_4 \times t^2 + \beta_5 \times R_i \times j + \beta_6 \times R_i \times t + \beta_7 \times R_i \times t^2 + \beta_8 \times j \times t + \beta_9 \times j \times t^2 + \beta_{10} \times R_i \times t^2$$

onde:

- μ_{ijt} : número médio de desovas para um grupo de 10 animais mantidos em condições de reprodução R_i expostos a radiação j Gy na semana t .
- R_i : tipo de reprodução ($R_i = 1$ se Fecundação Cruzada e 0 se Autofecundação)
- $\beta_0, \beta_1, \beta_2, \dots, \beta_{10}$ são parâmetros a serem estimados.

Os Gráficos A.53 e A.54 indicam que o modelo acima está bem ajustado aos dados, isto é, não existem grandes violações das suposições associadas a este modelo. Alguns parâmetros não são significativamente diferentes de zero, de forma que o modelo pode ser resumido a:

$$\log(\mu_{ijt}) = 3,964 - 0,58 \times R_i + 0,002 \times j - 0,009 \times t + 0,004 \times t^2 - 0,006 \times jt + 0,001 \times jt^2$$

A Tabela B.5 apresenta os parâmetros estimados no modelo acima com seu erro padrão e significância. Essa tabela mostra que há efeito de Reprodução (p-valor <

0,001), indicando que a produção média de desovas para um grupo de dez animais difere entre os dois tipos de reprodução. Calculando a razão entre o número esperado de desovas do grupo fecundação cruzada e autofecundação, para radiação e semana fixadas, obtém-se o valor 0,55 indicando que, em média, espera-se que o grupo fecundação cruzada produza 55% das desovas produzidas pelo grupo autofecundação. Um intervalo com 95% de confiança para a razão entre as médias é (44%, 71%), ou seja, com 95% de confiança espera-se que o grupo fecundação cruzada produza, em média, entre 44% e 71% do número de desovas do grupo autofecundação.

Percebe-se que o efeito de interação entre Radiação e o tempo (Semana e Semana²) é altamente significativo ($p\text{-valor} < 0,01$). Isto significa que o efeito da Radiação no número de Desovas não é o mesmo para todos os tempos. Como não há interação entre reprodução e radiação, espera-se que o efeito da radiação seja o mesmo nos tipos de reprodução. O Gráfico B.55 apresenta a variação percentual (e seu intervalo com 95% de confiança) esperada no número médio de desovas quando se aumenta em 1Gy a radiação. Nas semanas em que o intervalo contém o valor 100%, não há efeito da radiação. Quando o intervalo contém apenas números menores do que 100%, espera-se que o aumento de 1Gy na radiação reduza a produção de desovas no grupo. Por exemplo, na semana 5, a variação percentual esperada é de 98,5%. Se compararmos dois grupos de animais mantidos em mesma condição de reprodução, mas com diferença de 1Gy na radiação a que foram expostos, a produção média de desovas do grupo exposto à maior radiação corresponde a 98,5% da produção de desovas do outro grupo. Nesta mesma semana, se o interesse é comparar dois grupos cuja diferença entre a radiação a que foram expostos é 50Gy, a variação percentual esperada é de $(98,5\%)^{50}$, ou seja, 36,4%. Isto significa que um aumento de 50Gy na radiação reduz em 63,6% a produção de desovas de um grupo na quinta semana.

O Gráfico A.55 mostra também, que, para os dois tipos de reprodução, a radiação não afeta o número de desovas na primeira semana, reduz a produção média de desovas da segunda até a décima semana e perde o efeito a partir da décima primeira semana.

Os Gráficos A.56 e A.57 mostram o número esperado de desovas por animal, ao longo das semanas, de acordo com o modelo proposto. Nota-se que, para os grupos

não expostos à radiação, espera-se que a produção se mantenha constante ao longo das 12 semanas enquanto, para os demais grupos, espera-se que haja uma redução até a quinta semana, seguida de um aumento a partir da sétima.

4.2. Embriões

Para verificar o efeito do tipo de reprodução, dos níveis de radiação e das semanas sobre o número médio de embriões, foi ajustado um modelo que considera que o número de embriões comporta-se segundo uma distribuição binomial negativa. Assume-se que a média do modelo tem a seguinte estrutura:

$$\log(\mu_{ijt}) = \beta_0 + \beta_1 \times R_i + \beta_2 \times j + \beta_3 \times t + \beta_4 \times t^2 + \beta_5 \times R_i \times j + \beta_6 \times R_i \times t + \beta_7 \times R_i \times t^2 + \beta_8 \times j \times t + \beta_9 \times j \times t^2 + \beta_{10} \times R_i \times t^2$$

em que:

- μ_{ijt} : número médio de embriões para um grupo de 10 animais mantidos em condições de reprodução R_i expostos a radiação j Gy na semana t .
- R_i : tipo de reprodução ($R_i = 1$ se Fecundação Cruzada e 0 se Autofecundação)
- $\beta_0, \beta_1, \beta_2, \dots, \beta_{10}$ são parâmetros a serem estimados.

Os Gráficos A.58 e A.59 indicam que o modelo acima está bem ajustado aos dados, isto é, não existem grandes violações das suposições associadas a este modelo. Alguns parâmetros não são significativamente diferentes de zero, de forma que o modelo pode ser resumido a:

$$\log(\mu_{ijt}) = 5,167 + 2,834 \times R_i + 0,022 \times j + 0,15 \times t - 0,001 \times t^2 - 0,022 \times R_i j - 0,869 \times R_i t + 0,061 \times R_i t^2 - 0,015 \times jt + 0,001 \times jt^2$$

A Tabela B.6 apresenta os parâmetros estimados no modelo acima com seu erro padrão e significância. Observa-se que os efeitos das interações entre reprodução e

radiação e entre reprodução e tempo são altamente significativas (p -valores < 0.01). Isto significa que as diferenças entre as reproduções variam com o tempo e com intensidade da radiação. Os Gráficos A.60 a A.64 apresentam as estimativas das razões entre a produção média de embriões do grupo fecundação cruzada e a produção média de embriões do grupo autofecundação ao longo do tempo para todos os níveis de radiação:

- O Gráfico A.60 mostra que, para radiação de 0Gy, não existe diferença entre a produção média de embriões nos dois tipos de reprodução a partir da segunda semana.
- Segundo os Gráfico A.61, para as radiações de 50Gy, espera-se que o grupo fecundação cruzada produza, em média, menos embriões que o grupo autofecundação da quarta até a décima primeira semana. Nas demais semanas não foi detectada diferença entre os dois grupos.
- Segundo o Gráfico A.62, para a radiação de 70Gy, espera-se que o grupo fecundação cruzada produza, em média, menos embriões que o grupo autofecundação da terceira até a décima primeira semana. Nas demais semanas não foi detectada diferença entre os dois tipos de reprodução.
- Os Gráficos A.63 e A.64 mostram que, a partir da terceira semana, o grupo fecundação cruzada produz, em média, menos embriões que o grupo autofecundação, tanto para o grupo exposto a 90Gy quanto para o exposto a 110Gy.

Percebe-se que o efeito de interação entre Radiação e o tempo (Semana e Semana²) é altamente significativo (p -valor $< 0,01$). Isto significa que o efeito da Radiação no número de Desovas não é o mesmo para todos os tempos. Os Gráficos A.65 e A.66 apresentam a variação percentual (e seu intervalo com 95% de confiança) esperada no número médio de embriões quando se aumenta em 1Gy a radiação. Para o grupo fecundação cruzada nota-se que, da segunda semana em diante, a exposição à radiação diminui a produção média de embriões. Para o grupo autofecundação, esta redução ocorre apenas da terceira até a décima semana.

O Gráfico A.67 mostra o número esperado de embriões por animal de acordo com o modelo proposto para o grupo autofecundação. Nota-se que, para o grupo não

exposto à radiação, a produção se mantém constante ao longo das 12 semanas enquanto, para os demais grupos, há uma redução até a quinta semana, seguida de um aumento a partir da sétima. E, no Gráfico A.68, nota-se que todos os grupos tem uma redução até a quinta semana e voltam a aumentar a produção a partir da nona semana.

4.3. Embriões Mortos e mal-formados

Para verificar o efeito do tipo de reprodução, dos níveis de radiação e das semanas sobre o número médio de embriões mortos e mal-formados, foi ajustado um modelo que considera que o número de embriões mortos e mal-formados comporta-se segundo uma distribuição binomial negativa. Incluiu-se no modelo o número de embriões para padronizar as futuras comparações, permitindo que se compare, quanto à produção média de embriões mortos e mal formados, grupos que diferem quanto à produção total de embriões. Assume-se que a média do modelo tem a seguinte forma:

$$\log(\mu_{ijt}) = \beta_0 + \beta_1 \times R_i + \beta_2 \times j + \beta_3 \times t + \beta_4 \times t^2 + \beta_5 \times R_i \times j + \beta_6 \times R_i \times t + \beta_7 \times R_i \times t^2 + \beta_8 \times j \times t + \beta_9 \times j \times t^2 + \beta_{10} \times R_i \times t^2 + \beta_{10} \times \log(y_{ijt})$$

em que:

- μ_{ijt} : número médio de embriões mortos e mal-formados para um grupo de 10 animais mantidos em condições de reprodução R_i expostos a radiação j Gy e que produziram y_{ijt} embriões na semana t .
- R_i : tipo de reprodução ($R_i = 1$ se Fecundação Cruzada e 0 se Autofecundação)
- $\beta_0, \beta_1, \beta_2, \dots, \beta_{10}$ são parâmetros a serem estimados.

Os Gráficos A.69 e A.70 indicam que o modelo acima está bem ajustado aos dados, isto é, não existem grandes violações das suposições associadas a este modelo. Alguns parâmetros não são significativamente diferentes de zero, de forma que o modelo pode ser resumido a:

$$\log(\mu_{ijt}) = -1,837 + 1,036 \times \log(y_{ijt}) + 0,021 \times j - 0,041 \times t - 0,001 \times jt$$

A Tabela B.7 apresenta os parâmetros estimados no modelo acima com seu erro padrão e significância. Nota-se que não há efeito do tipo de reprodução no número de embriões mortos e mal-formados.

Percebe-se que o efeito de interação entre Radiação e o tempo é altamente significativo (p-valor = 0,013). Isto significa que o efeito da Radiação no número de Desovas não é o mesmo para todos os tempos. O Gráfico A.71 apresenta a variação percentual (e seu intervalo com 95% de confiança) esperada no número de embriões mortos e mal formados quando se aumenta em 1Gy a radiação. Observa-se que, em todas as semanas do experimento, a exposição a radiação causa um aumento no número de embriões mortos e mal formados.

5. Conclusões

O número médio de desovas produzido pelo grupo autofecundação é superior ao número médio de desovas produzido pelo grupo fecundação cruzada, ao longo das doze semanas de observação, para todos os níveis de radiação. Notou-se, também, que a produção média de desovas diminui com o aumento da radiação.

Para radiação de 0Gy, não existe diferença entre a produção média de embriões nos dois tipos de reprodução a partir da segunda semana. Para a radiação de 50Gy, espera-se que o grupo fecundação cruzada produza, em média, menos embriões que o grupo autofecundação da quarta até a décima primeira semana. Nas demais semanas não foi detectada diferença entre os dois grupos. Para a radiação de 70Gy, espera-se que o grupo fecundação cruzada produza, em média, menos embriões que o grupo autofecundação da terceira até a décima primeira semana. Nas demais semanas não foi detectada diferença entre os dois tipos de reprodução. Tanto para o grupo exposto a 90Gy quanto para o exposto a 110Gy, a partir da terceira semana, o grupo fecundação cruzada produz, em média, menos embriões que o grupo autofecundação. Além disso, conforme aumenta a dose de radiação, a produção média de embriões diminui.

Observou-se que não existe influência do tipo de reprodução no número médio de embriões mortos e mal formado, no entanto, verificou-se que, à medida que aumenta a radiação, aumenta o número médio de embriões mortos e mal formados, ao longo das doze semanas de observação.

Apêndice A