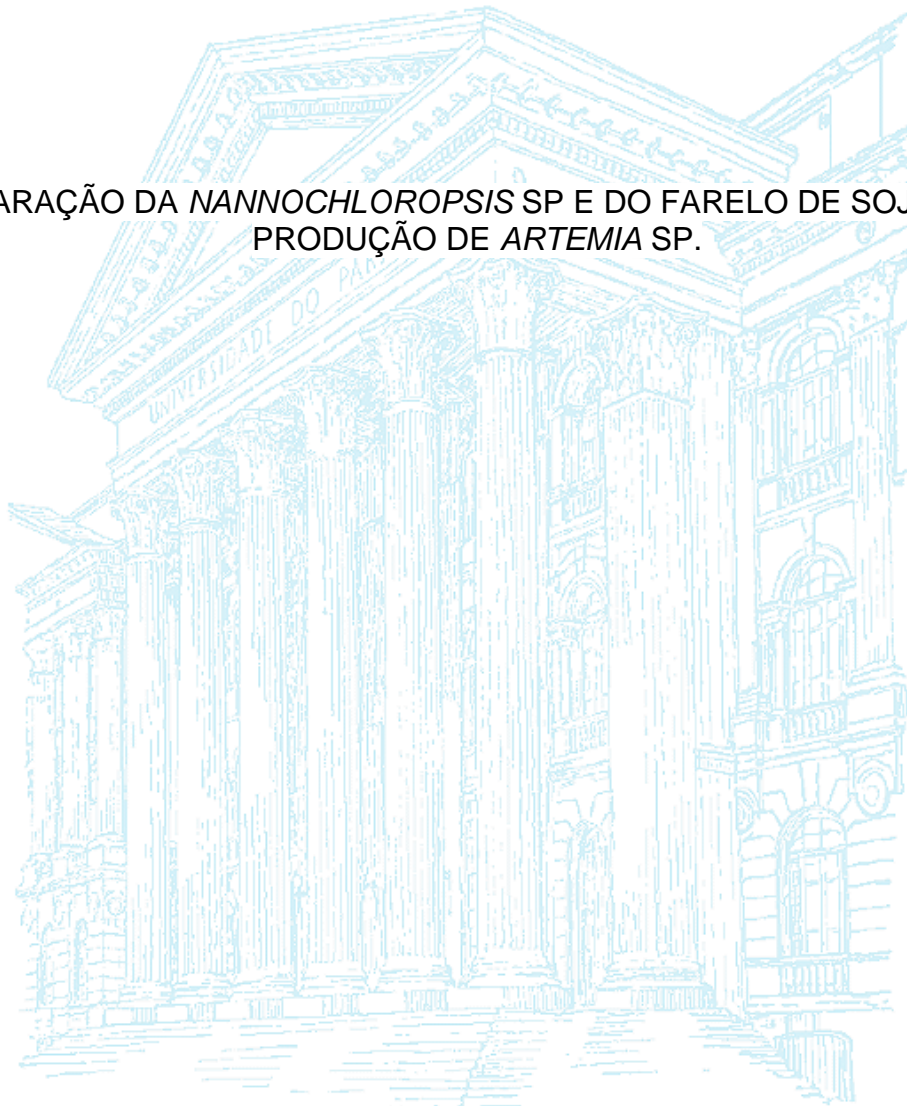


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

GERSON HENRIQUE EGGRES TORRES

COMPARAÇÃO DA *NANNOCHLOROPSIS* SP E DO FARELO DE SOJA PARA A
PRODUÇÃO DE *ARTEMIA* SP.



PONTAL DO PARANÁ

2017

GERSON HENRIQUE EGGRES TORRES

COMPARAÇÃO DA *NANNOCHLOROPSIS* SP E DO FARELO DE SOJA PARA A
PRODUÇÃO DE *ARTEMIA* SP.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso como requisito parcial à conclusão do curso superior de Tecnologia em Aquicultura, Setor de Ciências da Terra, Centro de Estudos do Mar, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Sachsida Garcia

Co-orientadora: Dra. Daphne Spier Moreira Alves

PONTAL DO PARANÁ

2017

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado o dom da vida.

A meus pais Oscar e Marlene, pelo apoio incondicional durante todo o tempo de estudo na faculdade e por estarem comigo nos momentos bons e difíceis que a vida nos proporciona, sem o apoio de vocês eu não teria conseguido.

Ao meu Orientador Prof. Dr. Alexandre Sachsida Garcia, pelos conselhos dados no decorrer do experimento, por ter me recebido no seu laboratório e dado total apoio na realização deste trabalho.

A Dra. Daphne Spier Moreira Alves, sua ajuda foi de vital importância para a realização deste trabalho, reconheço que sem seus conselhos teria sido ainda mais difícil a conclusão do mesmo.

A família Caires, Junior, Adriana e Nicolas, por ter me recebido em sua casa e me tratado como membro da família no primeiro ano da faculdade, são amigos que valem ouro. Vocês tem um espaço mais que especial no meu coração.

A minha namorada Ludmila, pelo apoio no decorrer do curso, e paciência pra aguentar o stress de final de curso!

A todos os professores do curso, por passarem para nos os alunos o máximo de conhecimento e experiência possível.

Aos companheiros de curso das antigas Junior, Paty, Jácomo e Pedro, pela amizade, risadas, churrascos e troca de experiências, sucesso para todos em qualquer área em que formos seguir a vida. Vou sentir uma imensa saudade de vocês.

Aos companheiros mais novos Ivan, Gio, Ivana, Gabriel e Ivo, pela amizade e risadas, continuem ate que vocês alcancem seus objetivos.

Ao CAMAR, por ter facilitado equipamentos para a realização deste experimento.

E a equipe do Laboratório, valeu rapaziada!!!

MUITO OBRIGADO!!!

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 <i>Artemia</i> sp. adulta. Fonte: br.pinterest.com	7
Figura 2 Fases de vida da <i>Artemia</i> sp. Fonte: www.zootecniadomestica.com	9
Figura 3 <i>Nannochloropsis oculata</i> . (Fonte: RCC, 2009 apud SOARES, 2010).	11
Figura 4 Cistos de <i>Artemia</i> sp.....	13
Figura 5 Galões usados para eclodir os cistos de <i>Artemia</i> sp.	13
Figura 6 1-Dieta MIX 2-Dieta <i>Nannochloropsis</i> sp. 3- Soja.....	15
Figura 7 Crescimento da <i>Artemia</i> sp alimentada com diferentes dietas ao longo de 16 dias.....	19
Figura 8 Crescimento em tamanho (mm) de <i>Artemia</i> sp durante os três experimentos.	20
Figura 9 Boxplot dos valores de comprimento em mm das três dietas. N=15 por tratamento.	21
Figura 10 Teste post-hoc de Tukey para diferenças entre médias finais de comprimento entre as três dietas.	21
Figura 11 Média Biomassa final dos três tratamentos.	22

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 Composição da microalga <i>Nannochloropsis oculata</i>	10
Tabela 2 Parâmetros físico químicos do tratamento soja.	17
Tabela 3 Parâmetros físico químicos do tratamento Mix (50%soja e 50%Nanno)...	17
Tabela 4 Parâmetros físico químico do tratamento de <i>Nannochloropsis</i> sp.	17

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	3
RESUMO	4
1. INTRODUÇÃO	5
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	7
2.1 <i>Artemia</i> spp.	7
2.1.1 Distribuição Geografica	8
2.1.2 Cistos de <i>Artemia</i>	8
2.1.3 Utilização da <i>Artemia</i> sp.	9
2.2 <i>Nannochloropsis</i> sp.	9
2.3 Soja	11
3. OBJETIVOS	12
3.1 Objetivos gerais	12
3.2 Objetivos específicos	12
4. MATERIAIS E MÉTODOS	12
4.1 Material Biológico	12
4.2 Método utilizado para a eclosão:	13
4.3 Desenho experimental	14
4.4 Povoamento das caixas do experimento	14
4.5 Alimentação	14
4.6 Troca da água	15
4.7 Análises Estatísticas	16
4.8 Parâmetros	16
5. RESULTADOS	17
5.1 Parâmetros ambientais	17
5.2 Sobrevivência	18
5.3 Crescimento em comprimento	18
5.4 Biomassa Final	22
6. DISCUSSÃO	22
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	24
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
9. ANEXOS	29

RESUMO

A *Artemia* sp. tem uma função muito importante na Aquicultura, ela serve de primeiro alimento para larvas de peixes e crustáceos, e na sua forma adulta, de alimento para varias espécies de peixes. A obtenção da *Artemia* sp. é relativamente fácil de ser adquirida o que a torna ainda mais atrativa para a Aquicultura. Outro fator muito importante é que ela pode ser enriquecida de acordo com a necessidade do animal que se alimentara dela. Para a realização do enriquecimento são utilizados varias dietas, entre elas microalgas, farelo de arroz, farelo de soja, farinha de peixe, farinha de camarão, farinha de pena e produtos industrializados já produzidos para esse fim. Neste experimento testamos 3 dietas por 22 dias para o enriquecimento da *Artemia* sp. que foram: microalga *Nannochloropsis* sp., farelo de Soja e um mix de 50% de farelo de Soja e 50% de *Nannochloropsis* sp. No decorrer do experimento foi acompanhado o crescimento das *Artemias* sp. e no final pesada à biomassa gerada para analisarmos qual dieta teve o melhor resultado. O melhor resultado em relação à biomassa e comprimento foi o da dieta a base da microalga *Nannochloropsis* sp., seguido da dieta mix com valores intermediários e apresentando o pior resultado a dieta a base de farelo de soja.

Palavras-chave: micro-alga, soja, dieta, cultivo, *Artemia*

1. INTRODUÇÃO

Muitos organismos aquáticos, como os peixes, os moluscos e os crustáceos, apresentam desenvolvimento indireto, isto é, eclodem do ovo na forma de uma larva que, geralmente, é bastante diferente do organismo adulto. Na Aquicultura, a fase do cultivo direcionada a criação das larvas é um período que demanda bastante atenção e cuidado, já que várias espécies podem apresentar elevada mortalidade durante este período, em especial os peixes marinhos. Entre as dificuldades inerentes ao cultivo das larvas, um dos principais obstáculos a serem transpostos é alimentar as larvas com um alimento que seja nutricionalmente adequado, de fácil digestão, atrativo para as larvas e que tenha tamanho apropriado. Neste sentido, o uso de micro-organismos como alternativa de alimento-vivo é amplamente difundido no cultivo de diferentes espécies (Lavens & Sorgeloos, 1996).

Os crustáceos Branchiopoda do gênero *Artemia* são muitas vezes a escolha preferencial, pois são de fácil cultivo, tem protocolo de produção bem definido, além de desenvolvimento indireto, o que significa dizer que possuem larva que aumenta de tamanho conforme cresce, e podem ser facilmente obtidos “direto da prateleira” através da utilização de cistos (ovos dormentes que podem ser eclodidos em 24 h) comercialmente disponíveis (Duerr et al., 1998).

Desde o desenvolvimento da indústria de cultivo de peixes, em especial do cultivo de espécies marinhas, no final da década de 1970, a demanda por alimento vivo para o cultivo de larvas tem aumentado exponencialmente. Anualmente, mais de 1.500 toneladas métricas de cistos desidratados de *Artemia* sp. são comercializados ao redor do mundo para serem utilizados nos cultivos de peixes, moluscos e crustáceos (Dhont e Sorgeloos, 2002). Estima-se que só a carcinocultura consuma entre 80 e 85% do total de cistos comercializados, principalmente na China e no Sudeste da Ásia, e também em outras localidades do mundo, como Equador e América Latina.

Atualmente, também são utilizados outros organismos como alimento-vivo, como os rotíferos e os copépodes, porém a *Artemia* sp., em muitos casos, é o único alimento vivo fornecido para larvas de peixes e crustáceos. A *Artemia* sp. pode ser fornecida em diferentes estágios de desenvolvimento, desde a primeira forma larval, denominada náuplio, até organismos juvenis e adultos. O náuplio

de *Artemia* sp. possui um valor nutricional muito elevado, que tende a se perder caso este náuplio não seja adequadamente alimentado (Torrentera & Tacón, 1989). Por isso, a definição de qual alimento será utilizado para a produção destes náuplios é também de grande importância (Duerr et al., 1998; Lavens & Sorgeloos, 1996). Por outro lado, o uso de *Artemia* sp. adulta apresenta numerosas vantagens, já que possuem 60% de proteína, excelente balanço de aminoácidos, é rica em ácidos graxos poli-insaturados e só possuem um 10% de cinzas (Versichele et al. 1991). Além disso, a *Artemia* sp. pode ter seu valor nutricional potencialmente enriquecido através de dietas naturais ou artificiais, através de um processo denominado enriquecimento (Agh & Sorgeloos, 2005).

Diferentes autores têm sugerido que *Artemia* sp. pode ser cultivada com diferentes dietas de alimentos inertes ou não, e que a produção controlada dos adultos é economicamente viável, pois além de diminuir significativamente os custos, simplifica bastante a obtenção de biomassa (Tizol, 1994). A *Artemia* sp. é uma filtradora não seletiva a qual é possível fornecer várias dietas inertes, porém as partículas devem ter um tamanho de até 50 micras, e possuir boa digestibilidade e solubilidade. Entre as microalgas que são utilizadas como alimento para o cultivo de *Artemia* sp. estão espécies dos gêneros *Nannochloropsis*, *Dunaliella*, *Chaetoceros*, *Phaeodactylum*, *Tetraselmis* e *Isochrysis*. As proteínas são os componentes essenciais das microalgas e seu valor nutricional está determinado pelo conteúdo e disponibilidade dos aminoácidos que as constituem. Os lipídios típicos das algas são ésteres de glicerol e ácidos graxos que contenham um range de carbono entre C12 e C20 (Romero, 1999).

A partir destas informações, foram utilizadas duas dietas, já sugeridas na literatura: a soja (farelo de soja) e a microalga *Nannochloropsis* sp (Cisneros, 2002). A escolha das duas dietas deve-se a fácil obtenção delas na região onde será realizado o experimento, e a rusticidade da microalga no cultivo, podendo ser cultivada com adubos de fácil obtenção e sua simples administração ao cultivo.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 *Artemia* spp.

A *Artemia* sp. é um microcrustáceo da classe Branchiopoda distribuído por todo o mundo, e bastante usado na Aquicultura como alimento nas larviculturas de peixes e crustáceos. A *Artemia* sp. adulta (Figura 1) chega a medir aproximadamente de 10 a 20 mm de comprimento dependendo do seu tipo de reprodução. Em populações em que há macho e fêmea, o tamanho é de aproximadamente 10mm. Já nas populações partenogenéticas, onde os filhos são cópias idênticas das mães, o tamanho dos adultos é de aproximadamente 20mm.



Figura 1 *Artemia* sp. adulta. Fonte: br.pinterest.com

A classificação taxonômica segundo Worms (2017), é a seguinte:

Reino: Animalia

Filo: Arthropoda

Subfilo: Crustacea

Classe: Branchiopoda

Ordem: Anostraca

Família: Artemiidae

Gênero: *Artemia*, Leach 1819

Na Classe Branchiopoda estão os crustáceos mais primitivos. São caracterizados por um grande número de pequenos segmentos pelo corpo, e

possuem vários apêndices similares com pequenas funções. O sistema nervoso é bastante primitivo. Os apêndices possuem uma boa movimentação e são planos, com suas bordas rodeadas de brânquias, cobertos por uma cutícula delicada e suficientemente flexível para permitir a liberdade de movimentos (Cisneros 2002). Os adultos se caracterizam por um corpo comprido com dois olhos complexos pedunculados, um aparelho digestivo linear, antênulas sensoriais e 11 pares de toracópodes (apêndices localizados na região anterior do corpo) funcionais. O macho possui um par de presas bem acentuadas na região cefálica, e na parte posterior do tórax pode-se observar um par de pênis (Sorgeloos et al., 1986). A fêmea não possui apêndices diferenciados na região cefálica, porém podem ser facilmente reconhecidas pela presença da bolsa incubadora (útero externo) situada atrás do 11º par de toracópodos. Os óvulos se desenvolvem em dois ovários tubulares no abdome e, quando amadurecem, tornam-se esféricos e migram através de duas tubas uterinas para o útero (Van Stappen, 1996).

2.1.1 Distribuição Geografica

Foram identificados mais de 300 biótopos naturais de *Artemia* sp. (Vanhaeck et al.1987, *apud* Vinatea 1995), dispersos nos cinco continentes. Entre as principais regiões do globo com ocorrência de *Artemia* sp. e produção de cistos estão o estado de Utah nos EUA (Great Salt Lake), e na Ásia, em países como China e Vietnã.

No Brasil, a *Artemia* sp. pode ser encontrada em salinas do Estado do Rio Grande do Norte, localizadas nos estuários dos municípios de Apodi, Mossoró, Piranhas, Assu, Galinhos, Guamaré e seus entornos (Câmara, 2004).

2.1.2 Cistos de Artemia

Uma característica importante da *Artemia* sp. é a formação do cisto. Este é um ovo muito resistente que serve de proteção para o náuplio e ajuda a preservar a espécie em tempos difíceis, quando as condições ambientais não são favoráveis para a reprodução da espécie. Os cistos ficam em um estado de dormência até que as condições ambientais sejam favoráveis para a sua eclosão.

O cisto de *Artemia* sp. é formado por três estruturas:

- Corion – É a parte externa do cisto, tem como função proteger a parte interna. É uma capa dura formada por lipoproteínas de quitina e hematina.
- Membrana externa – Funciona como se fosse um filtro com várias camadas, impedindo que moléculas maiores que o CO₂ passem.
- Membrana embrionária – É uma capa transparente e bem elástica que separa o embrião da membrana externa.

2.1.3 Utilização da *Artemia* sp.

Náuplios recém eclodidos são ofertados no início da fase de mysis, ou durante a segunda fase de zoea durante o cultivo de larvas de crustáceos (Van Stappen, 1996), e nas fases iniciais das larvas de peixes marinhos. A suplementação de ácidos graxos altamente insaturados (HUFA) na alimentação da *Artemia* sp. tem um efeito positivo na alimentação de peixes marinhos, resultando na diminuição da mortalidade e redução da variabilidade na produção piscícola (Van Stappen, 1996).

Mas não é apenas na fase de náuplio que se pode usar a *Artemia* sp. como alimento, no decorrer de sua vida a *Artemia* sp. passa por 7 fases (Vinatea, 1994) que são: 1) náuplio; 2) metanáuplio (I-IV); 3) juvenil e 4) adulto. (Figura 2)



Figura 2 Fases de vida da *Artemia* sp. Fonte: www.zootecniadomestica.com

2.2 *Nannochloropsis* sp.

Nas últimas décadas, centenas de espécies de microalgas foram testadas como alimento para larvas de peixes e crustáceos. Entretanto, não mais do que

vinte espécies tiveram seu uso disseminado na Aquicultura (Brown, 2002). Dentre os principais gêneros fornecidos direta e/ou indiretamente como alimento estão *Chaetoceros*, *Thalassiosira*, *Tetraselmis*, *Isochrysis* e *Nannochloropsis* (Duerr et al, 1998).

As *Nannochloropsis* sp. que normalmente possuem diâmetro de 2 a 4 µm, são amplamente distribuídas nos oceanos e se destacam por serem produtoras de um ácido graxo poli-insaturado essencial para muitas espécies marinhas, o ácido eicopentanóico (EPA) (Brown et al., 1997; Zittelli et al., 1999, Zou et al., 2000; Lourenço, 2006). Além disso, trata-se de um micro-organismo de fácil cultivo, com valores de produção acima da média obtida com outras espécies. Informações sobre sua composição bioquímica aproximada, provenientes de diferentes autores, podem ser vistas na Tabela 1.

Tabela 1 Composição da microalga *Nannochloropsis oculata*.

% em relação ao peso seco de biomassa			
Lipídios	Proteínas	Carboidratos	Fonte
16,2	-	-	Borges, 2005.
3,4	21,3	11,0	Campos, Barbarino e Lourenço, 2010.
22,7-29,7	-	-	Sheng-yi et al., 2009.
18,0	35,0	7,8	Lourenço, 2006.

A microalga *Nannochloropsis oculata* pertence a divisão *Ochrophyta*, da classe *Eustigmatophyceae*, na qual fazem parte oito gêneros e quinze espécies, todas unicelulares cocóides ou coloniais, com células esféricas ou ligeiramente ovóides, não possuem flagelos, com distribuição na água doce, solo úmido e no mar. Possui parede celular rígida e composta por polissacarídeos. Apenas a reprodução assexuada foi constatada nessa classe e não há conhecimento sobre efeitos nocivos dessa classe na natureza.

Por sua facilidade no cultivo, pequeno tamanho, crescimento acelerado e alto teor de ácidos graxos poli-insaturados essas microalgas são bastante utilizadas na aquicultura, principalmente a *Nannochloropsis oculata* (Figura 3) por acumular uma grande quantidade de EPA. Também é utilizada como alimento para rotíferos e na técnica de água verde em tanque de larvas.

(Lourenço, 2006; Murakami & Hashimoto, 2009 apud Soares, 2010; Zittelli, Rodolfi & Tredici, 2004).

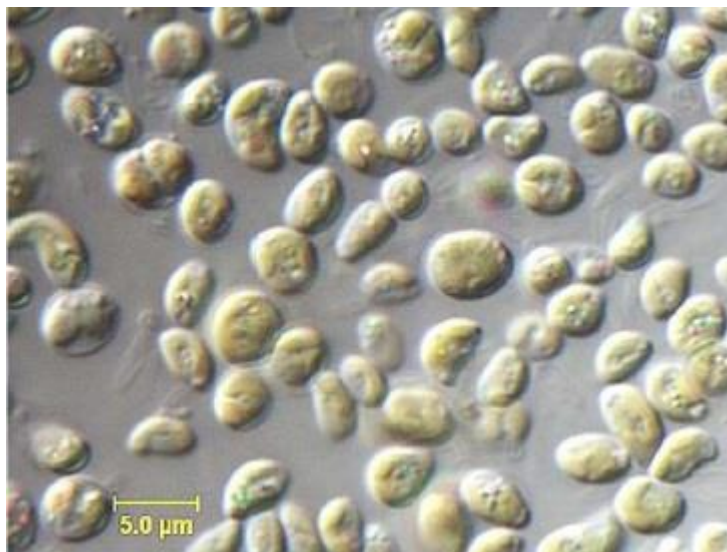


Figura 3 *Nannochloropsis oculata*. (Fonte: RCC, 2009 apud SOARES, 2010).

2.3 Soja

A soja (*Glycine max. L*), uma espécie da família das leguminosas, é utilizada em todo o mundo como fonte de alimento, devido ao seu valor bem balanceado de aminoácidos (Smith & Circle, 1972). É considerada uma excelente fonte de proteína para uso animal e humano (Gitzelmann & Auricchio, 1965). O grão da soja apresenta características similares as dos produtos proteicos de alto valor nutritivo, pelo fato de conter quantidade suficiente de quase todos os aminoácidos essenciais em suas proteínas (Costa & Mya, 1972). A soja apresenta de 30 a 45% de proteínas, de 15 a 25% de óleo, de 20 a 35% de carboidratos e cerca de 5% de cinzas (Moreira, 1999). A soja é considerada um alimento funcional porque além de funções nutricionais básicas, produz efeitos benéficos à saúde, reduzindo riscos de algumas doenças crônicas e degenerativas. É rica em proteínas de boa qualidade, possui ácidos graxos poli-insaturados e compostos fitoquímicos como: isoflavonas, saponinas, fitatos, dentre outros. Também é uma excelente fonte de minerais como cobre, ferro, fósforo, potássio, manganês, manganésio e vitamina do complexo B (EMBRAPA, 2007).

O óleo extraído da soja é destinado principalmente para o consumo humano (Lima, 1999), sendo utilizado para a produção de margarina, óleo de cozinha, agentes emulsificantes e diversos produtos. A forma pela qual a soja é mais utilizada na produção animal é como farelo de soja, que é o resultante da extração de óleo, o qual também é largamente empregado pelas indústrias de ração (Lima, 1999).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivos gerais

Produzir *Artemia* sp. com dois tipos de alimentos (inerte e vivo) em três dietas diferentes: farinha de soja, a microalga *Nannochloropsis* sp. e um MIX das duas dietas sendo 50% de cada.

3.2 Objetivos específicos

Avaliar o efeito das diferentes dietas sobre a sobrevivência da *Artemia* sp.;

Avaliar o efeito das diferentes dietas sobre o crescimento da *Artemia* sp.

Identificar qual alimento fornecido a *Artemia* sp. gera maior biomassa.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado no campus de Aquicultura em Praia de Leste da Universidade Federal do Paraná, no Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPIS UFPR). O experimento teve início no dia 25 de novembro de 2016 e término no dia 16 de dezembro de 2016.

4.1 Material Biológico

Os cistos (Figura 4) foram adquiridos de uma cepa do Rio Grande do Norte com especificações de densidade de 280.000 cistos por grama e uma taxa de eclosão de 95%. Para confirmar os valores de densidade informados pelo rótulo do produto, realizamos uma contagem de 0,01g (1% de 1g) e estimamos um valor de 2.860 cistos em 0,01g dando um total de 286.000 em 1g. Porém, a taxa

de eclosão não se confirmou. Em teste realizado no laboratório, constatamos que a taxa de eclosão era de 70% e não de 95% conforme as especificações. A densidade definida para a realização do experimento foi de 5 náuplios por ml. Sabendo disso, foram utilizadas 25g de cisto.

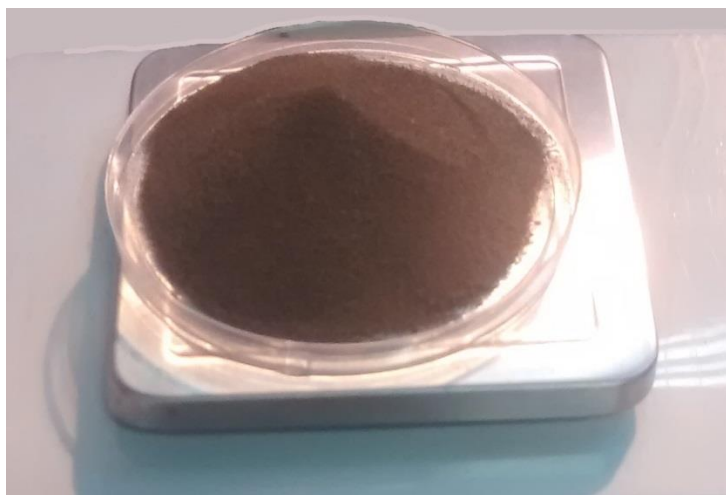


Figura 4 Cistos de *Artemia* sp.

4.2 Método utilizado para a eclosão:

Foram utilizados três galões de plástico de 20L (Figura 5), cortados no fundo e com torneiras acopladas na saída para facilitar o manejo na hora da eclosão. Cada galão foi abastecido com 15 litros de água do mar com salinidade de 33 ppm cada um, com aeração e aquecimento constantes.



Figura 5 Galões usados para eclodir os cistos de *Artemia* sp.

Cada galão recebeu 8,3g de cistos que equivale a uma densidade de 156 cistos por ml aproximadamente, com água pré-aquecida a 27°C e pH 8. A eclosão começou a ocorrer a partir de 24h e chegando ao auge em 26h.

4.3 Desenho experimental

Três dietas experimentais foram testadas em um experimento inteiramente casualizado, em três réplicas (3 caixas de 250 L cada dieta). Durante 21 dias, as artêmias foram alimentadas com as diferentes dietas desde o estágio náuplio até atingir o estágio adulto, utilizando água com salinidade 33ppm, temperatura de $25,1 \pm 1$ °C em tanques circulares de 250 litros (200 litros de volume útil) porém só foram abastecidos com 100 litros.

4.4 Povoamento das caixas do experimento

Depois de separados os náuplios das cascas dos ovos eclodidos, eles foram concentrados em 9L de água e uma alíquota de 10 ml foi retirada. Foi estimada a densidade de náuplios por ml em relação aos 9L, o resultado é que seria necessário 1L para cada caixa para atingirmos o objetivo de 5 náuplios por ml.

Para receber os náuplios, as 9 caixas já estavam abastecidas com água do mar filtrada por uma peneira de 30 um, a aeração nas caixas era constante afim de manter o nível de oxigênio ideal para o cultivo. Os náuplios foram transferidos para as caixas e logo depois já foi ministrada a primeira alimentação.

4.5 Alimentação

A alimentação foi fornecida três vezes ao dia, pois é o mais adequado para crustáceos (Zimmermann *et al.*, 1989), os horários foram aproximadamente os seguintes: 09:00, 13:00 e 17:00.

Para a dieta a base de soja, foi fornecida 1g de farelo de soja (com tamanho de 50 micras) ao dia por caixa dividida pelos três horários anteriores. O

farelo de soja foi colocado em um béquer de capacidade de 1L com água do mar previamente filtrada a 30 um e com a ajuda de um mix foi misturada na água até que a solução ficasse totalmente homogênea. Após isso, foi ministrado ao cultivo 333 ml dessa mistura a cada horário de alimentação.

No cultivo a base de microalga, a cada hora de alimentação era fornecido 333 ml do cultivo da microalga que possuía uma densidade de 900×10^3 cel/ml.

A dieta mix que seria 50% de *Nannochloropsis* spp. e 50% de farelo de soja, foi produzida da seguinte maneira: em um béquer de 1L colocava-se 500 ml do cultivo de microalga e 0,5g de farelo de soja, homogeneizava-se a mistura com mais 500ml de água do mar previamente filtrada e após isso era fornecido 333 ml a cada alimentação.

Na figura 6 pode-se observar as dietas já preparadas.

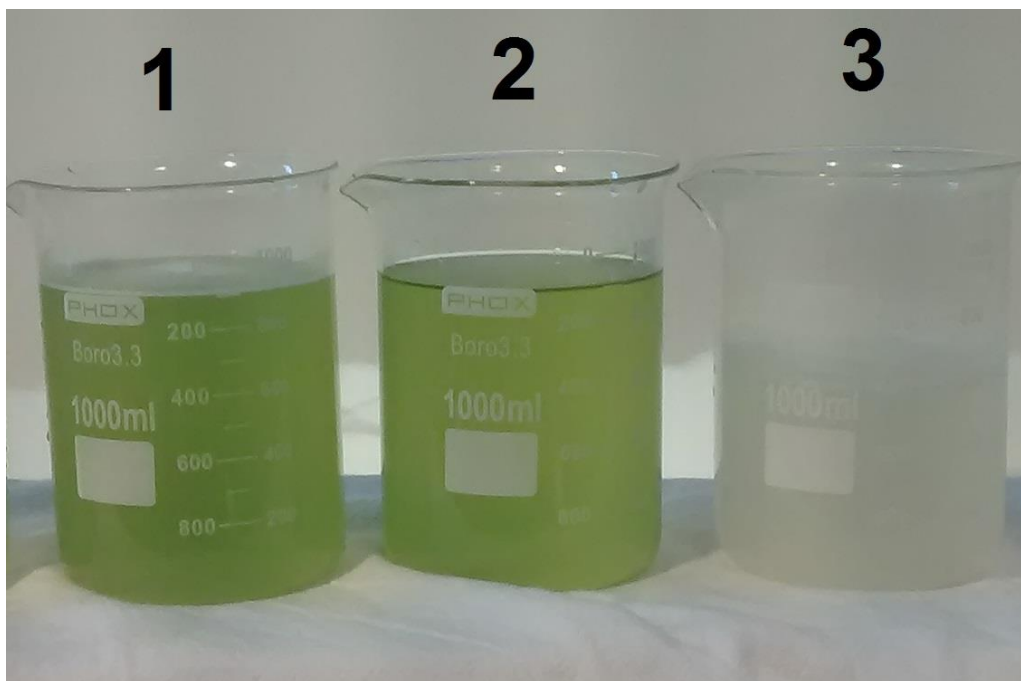


Figura 6 1-Dieta MIX 2-Dieta *Nannochloropsis* sp. 3- Soja

4.6 Troca da água

A água inicialmente seria trocada a cada dois dias, pois seria o tempo necessário para o acúmulo de matéria orgânica a uma quantidade não prejudicial ao crescimento da *Artemia* sp. Porém, no decorrer do experimento a troca da água foi mais constante nas réplicas dos tratamentos de farelo de soja,

devido ao aumento dos níveis de amônia no cultivo e o acúmulo de matéria orgânica no fundo da caixa.

4.7 Análises Estatísticas

O experimento começou no dia 25/11/2016. Depois de cinco dias, a partir do dia 1º de dezembro, foi medido o comprimento de cinco indivíduos por caixa, a cada quatro dias aproximadamente. Ao final do experimento a biomassa de cada caixa foi pesada.

Os dados de comprimento foram plotados em gráficos de dispersão, definindo-se os coeficientes de correlação de Pearson (r), os coeficientes de determinação (r^2), assim como as equações das retas de regressão linear. Para cada um dos tratamentos foi aplicado o teste “t” de correlação de Pearson, para verificar a significância dos coeficientes de correlação. Finalmente, foi aplicado o teste “t” de comparação de coeficientes angulares buscando-se verificar diferenças na taxa de crescimento das espécies.

Também foram realizadas análises de variância (ANOVA) e testes a posteriori (Teste de Tukey), para avaliar as diferenças significativas entre as médias finais de comprimento nas diferentes dietas, com os dados transformados em log a fim de se cumprir os pressupostos de normalidade e homocedasticidade.

Para os dados de biomassa foram apresentadas as medidas de peso total de cada caixa.

O grau de confiança para todos os testes de significância foi estipulado em 95% ($p = 0.05$) (ZAR, 1996). Todas as análises foram realizadas no software R (R Core Team, 2017) e os scripts encontram-se em anexo.

4.8 Parâmetros

Para medir a salinidade da água foi utilizado um refratômetro portátil manual da marca Vodex. A amônia foi medida através de um kit colorimétrico para água salgada da marca Labcon Test. O pH e a temperatura foram medidos pelo medidor INS-90 Instrusul. O oxigênio foi medido pelo medidor de oxigênio dissolvido da marca YSI modelo 550A.

5. RESULTADOS

5.1 Parâmetros ambientais

Durante os 21 dias do experimento, os parâmetros físico químicos, não tiveram grandes diferenças entre os tratamentos com a exceção da amônia, que nos tratamentos a base de soja teve valores mais elevados.

Tabela 2 Parâmetros físico químicos do tratamento soja.

Tratamento	Parâmetros	Médias \pm DP
Soja	Amônia	0,5 \pm 0,6 mg/l
	Oxigênio Dissolvido	4,9 \pm 0,05 mg/l
	pH	8,1 \pm 0,2
	Salinidade	33 \pm 1ppm
	Temperatura	25,1 \pm 1 °C

Tabela 3 Parâmetros físico químicos do tratamento Mix (50%soja e 50%Nanno).

Tratamento	Parâmetros	Médias \pm DP
Mix	Amônia	0,2 \pm 0,1 mg/l
	Oxigênio Dissolvido	5 \pm 0,1 mg/l
	pH	8,2 \pm 0,1
	Salinidade	33 \pm 1ppm
	Temperatura	25,2 \pm 1 °C

Tabela 4 Parâmetros físico químico do tratamento de *Nannochloropsis* sp.

Tratamento	Parâmetros	Médias \pm DP
<i>Nannochloropsis</i> sp	Amônia	0,08 \pm 0,1 mg/l
	Oxigênio Dissolvido	5,2 \pm 0,08 mg/l
	pH	8,2 \pm 0,1
	Salinidade	33 \pm 1ppm
	Temperatura	25,2 \pm 1 °C

A salinidade, temperatura e pH se mantiveram constantes nos três tratamentos (33 ± 1 ppm, $25,2 \pm 1$ °C e $8,2 \pm 0,1$, respectivamente) e oxigênio dissolvido teve pouca variação, com a média mais baixa de 4,9 mg/l e a maior 5,2 mg/l.

Fato interessante ocorreu com a amônia, atingiu seus valores mais altos na dieta a base de farelo de soja, com valores de 0,25 a 3 mg/l. Por esse motivo, a troca da água era realizada sempre que os valores de amônia ultrapassassem 0,25 mg/l, porém tivemos alguns picos de amônia inesperados no decorrer do experimento onde a amônia subia de 0,25 mg/l para 1 ou 3 mg/l em um dia.

5.2. Sobrevivência

Pode-se observar mortalidade total em duas caixas, uma do tratamento Nanno e outra da Mix. Nos outros tratamentos a sobrevivência final variou entre 70 e 90%

5.3 Crescimento em comprimento

Das três dietas testadas a que apresentou o maior crescimento em relação ao comprimento médio final foi da dieta a base apenas da microalga *Nannochloropsis* sp, com um tamanho final médio ao 21° dia de 5,67 mm. O organismo que atingiu o maior tamanho no final do experimento teve um comprimento de 8 mm e o que atingiu o menor tamanho ficou com 3,6 mm. O tamanho final médio das *Artemias* sp. alimentadas com a dieta MIX foi de 5,11 mm. O organismo alimentado com esta dieta que teve o maior tamanho no final do experimento chegou a 7,2 mm e o que menos cresceu ficou com 2,3 mm. A soja teve o pior rendimento entre as três dietas, a média de crescimento final ficou em 3,03 mm. O organismo que mais cresceu chegou a 4,5 mm, o que menos cresceu chegou a 2 mm (Figura 7).

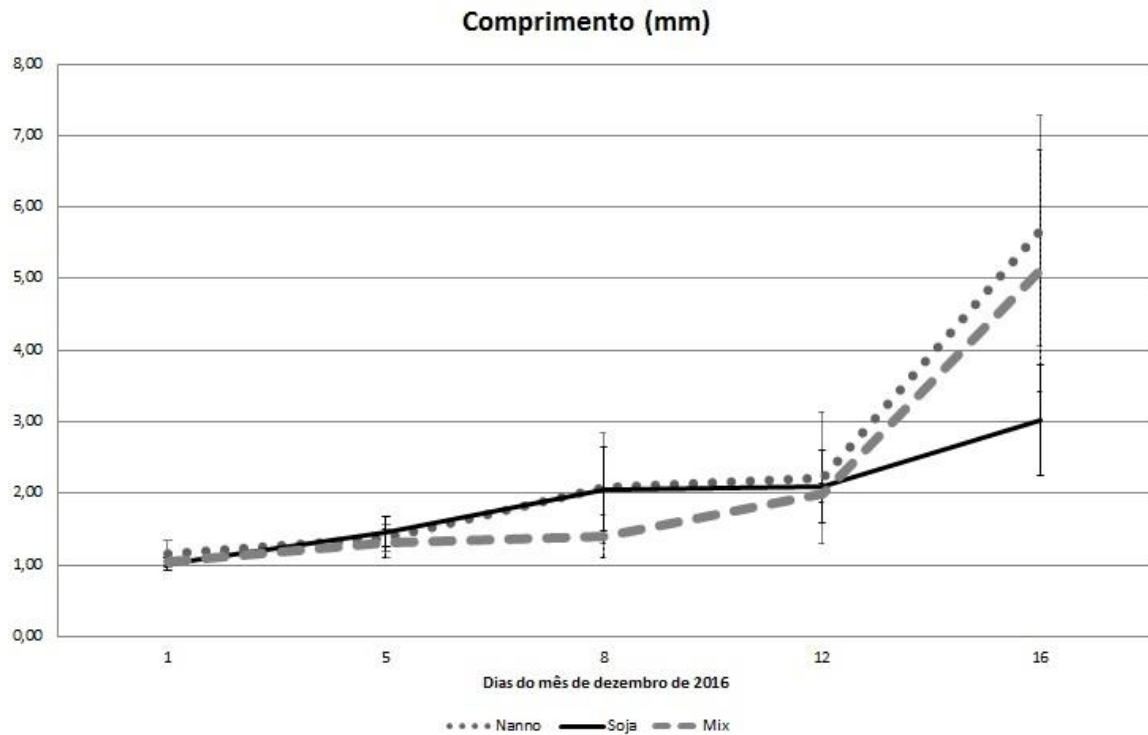


Figura 7 Crescimento da *Artemia sp* alimentada com diferentes dietas ao longo de 16 dias

Através dos coeficientes de determinação, pode-se observar que os dias explicam 58% da variação do crescimento da dieta Nanno, 54% da MIX e 63 % da soja (Figura 8). Os testes t entre os coeficientes angulares foram significativos entre as dietas Nanno-Soja e Mix-Soja, porém para MIX e Nanno, não houve diferença ($p=0.14$).

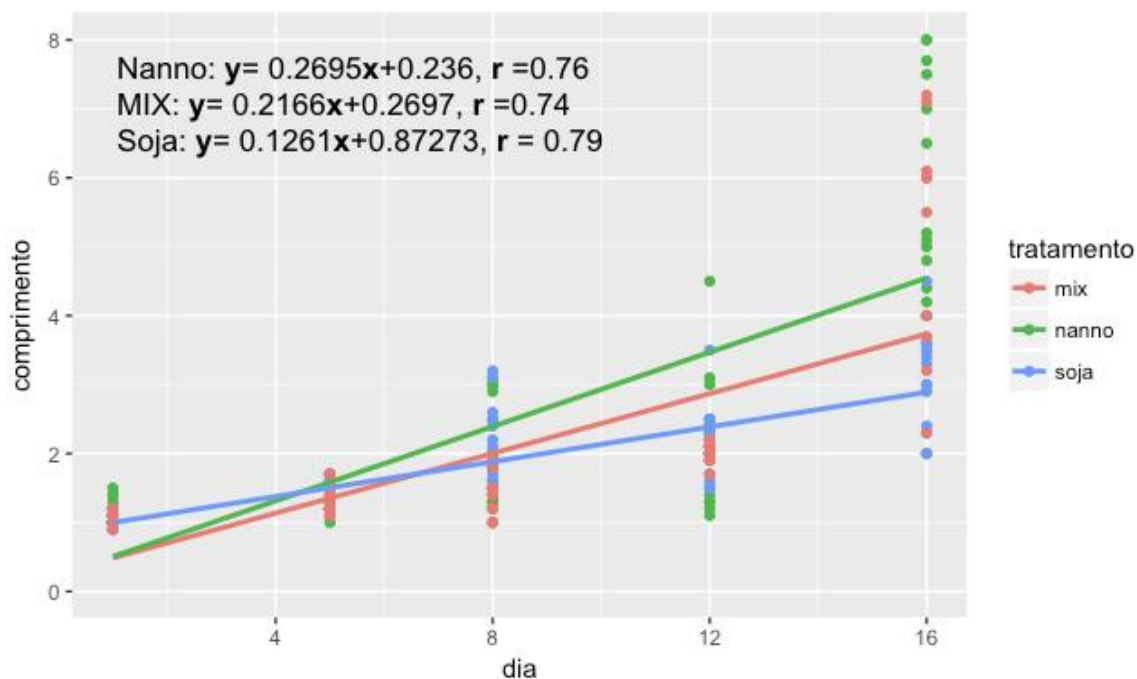


Figura 8 Crescimento em tamanho (mm) de *Artemia* sp durante os três experimentos.

A figura 9 mostra as medianas de comprimento dos três tratamentos, assim como seu valor máximo e mínimo. A análise de variância evidenciou uma diferença significativa em relação ao comprimento entre os tratamentos (p valor < 0,001, $F = 14,93$). O teste postHoc de Tukey indicou diferenças entre os comprimentos médios finais para os tratamentos, com exceção de nanno e mix (Figura 10).

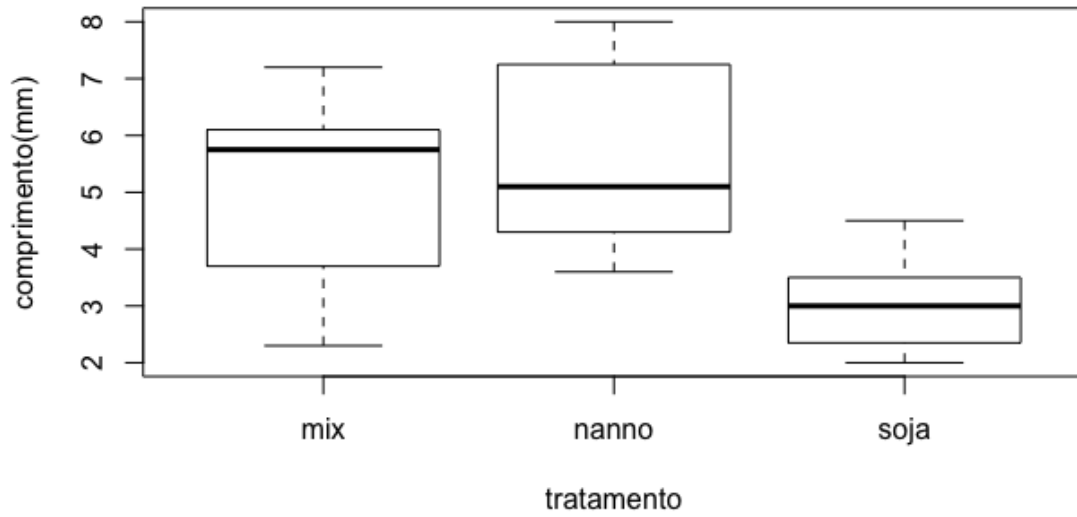


Figura 9 Boxplot dos valores de comprimento em mm das três dietas. N=15 por tratamento.

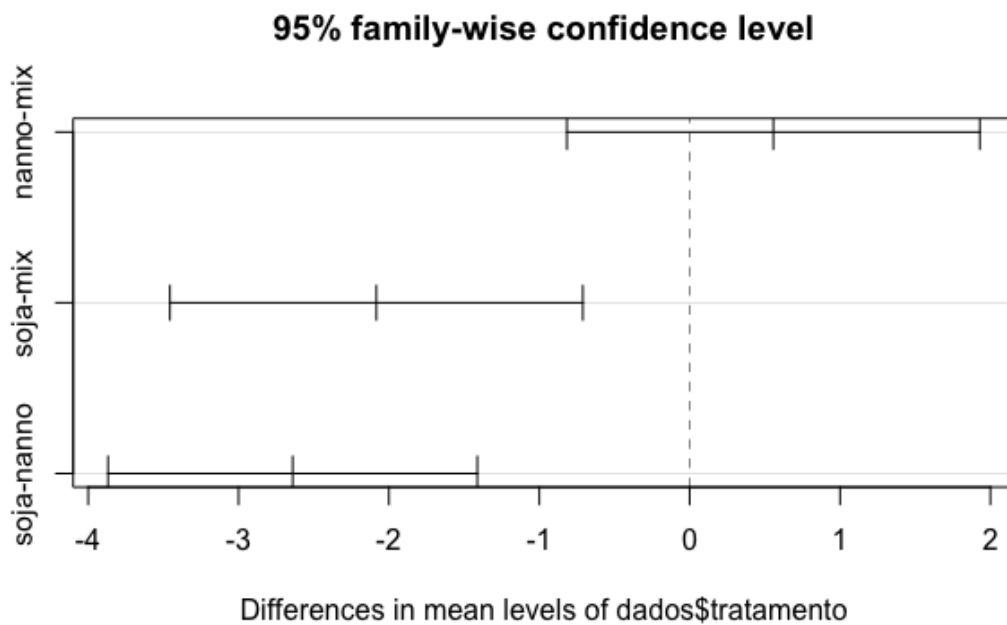


Figura 10 Teste post-hoc de Tukey para diferenças entre médias finais de comprimento entre as três dietas.

5.4 Biomassa Final

A biomassa final foi obtida tirando uma média das repetições de cada tratamento, no gráfico a seguir (Figura 11) pode-se observar melhor o resultado de cada tratamento em relação à biomassa.

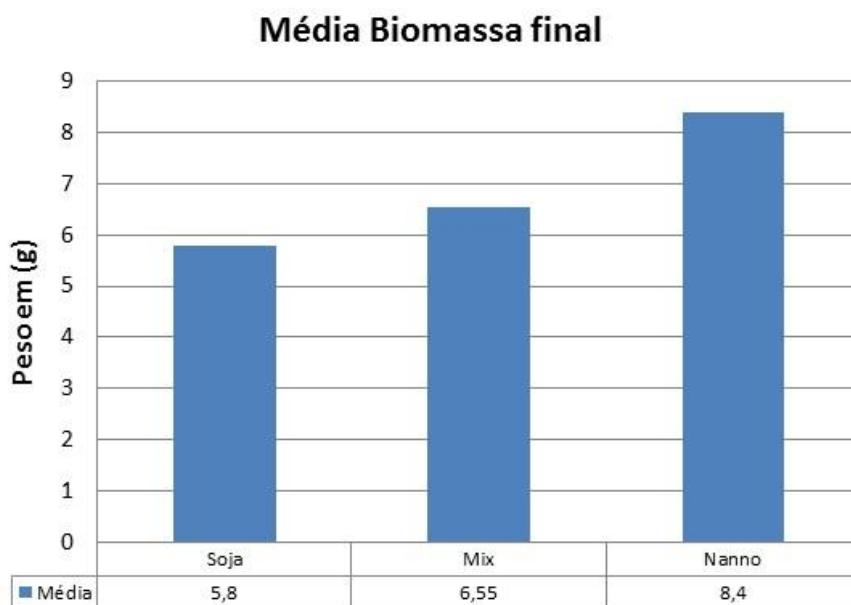


Figura 11 Média Biomassa final dos três tratamentos.

Como é possível observar no gráfico acima, a dieta que resultou em menor ganho em biomassa foi a soja com uma média de 5,8g, seguida pela dieta Mix, 50% de soja e 50% de *Nannochloropsis* sp., com uma média de 6,55g. O melhor resultado foi obtido com a dieta a base de *Nannochloropsis* sp., com média de 8,4g.

6. DISCUSSÃO

A dieta que teve o melhor resultado em relação a média final de tamanho e peso foi a de *Nannochloropsis* sp., apesar da correlação entre tempo e crescimento ter sido maior para a soja. Os coeficientes de determinação indicam quanto do crescimento é explicado pelo tempo, porém outros fatores também influenciam no crescimento. Os resultados gerados neste trabalho mostram que

o alimento vivo é o mais eficaz, em relação as três dietas testadas, tanto para crescimento quanto para a biomassa. Tendo em vista que a temperatura, o oxigênio e a salinidade mantiveram-se próximos em todos os tratamentos, esses fatores não influenciaram no resultado do experimento. A eclosão foi realizada ao mesmo tempo seguindo um protocolo padrão de eclosão, e os náuplios eclodidos foram todos misturados tornando impossível dizer que a eclosão pode ter beneficiado alguma dieta.

Já que a temperatura e a salinidade não variaram de maneira expressiva entre os tratamentos, que se fosse o caso poderia ser um fator limitante no crescimento das artêmias (Lavens e Sorgeloos, 1996), e observando que até o 12º dia de cultivo o crescimento do tratamento a base de soja estava praticamente igual ao do tratamento a base de microalga *Nannochloropsis* sp., um fator que pode ter melhorado o crescimento no cultivo a base de microalga foi a superioridade da mesma em reserva de ácido eicosapentaenóico EPA (Lourenço, 2006; Murakami & Hashimoto, 2009 apud Soares, 2010; Zittelli, Rodolfi & Tredici, 2004).

É provável que a soja não tenha os valores nutricionais para que *Artemia* sp. continue se desenvolvendo até a fase adulta, já que não foram encontrados adultos nessa dieta. Por outro lado, nos cultivos a base de microalga, o nível de amônia sempre manteve-se baixo com média de $0,08 \pm 0,1$ mg/l e isso é muito importante para o cultivo, já que valores elevados de amônia afetam o desenvolvimento dos animais e causam mortalidades. Se compararmos este experimento com o trabalho do Takata (2007) vemos que no tratamento a base de soja a mortalidade das artêmias foi de 100%. O aumento repentino do nível da amônia no cultivo a base de soja pode justificar o crescimento inferior das artêmias nos tanques com essa dieta, onde o nível de amônia chegou a média de $0,5 \pm 0,6$ mg/l. Segundo Borgo (2011), que realizou o cultivo de artêmias com três diferentes dietas de microalgas, e onde os níveis de amônia permaneceram baixos $0,25$ mg/l, o crescimento das artêmias passaram de 6mm em todas as dietas, o que também pode ser justificado pelo valor nutricional das microalgas, que comparados com o farelo de soja são mais ricos sob o ponto de vista do valor nutricional.

Portanto, somente a dieta inerte não é viável para o cultivo de *Artemia*. A soja é muito rica em proteína 30 a 45% (Moreira, 1999) e em aminoácidos

essenciais, fator que ajuda no crescimento dos crustáceos, porém possui fatores antinutricionais como inibidores de tripsina, ácido fítico e oligossacarídeos de rafinose (Trugo et al., 1994) que podem prejudicar o crescimento dos animais. Esse fator pode ter influenciado negativamente no crescimento das artêmias que foram alimentadas na dieta a base de soja. Porém, pode-se dizer que a mistura da soja ao alimento vivo é viável como complemento alimentar, pois não compromete significativamente o crescimento das artêmias.

Outro fator que deve ser considerado a respeito da soja é o quão trabalhoso se torna fabricar o farelo de soja para micragem ideal de alimentar as artêmias, entendo que em uma escala maior de produção de biomassa de *Artemia* sp. o farelo de soja já deve chegar ao produtor com a micragem ideal, porém no laboratório tivemos que levar o farelo de soja a um tamanho de 50 micras, através de liquidificadores e peneiras, levou aproximadamente 8h para conseguirmos uma quantidade razoável para começar o experimento. Além disso a soja no decorrer do experimento afetava negativamente a qualidade da água, nos tratamentos alimentados com farelo de soja a troca da água era mais constante devido ao aumento dos níveis de amônia, fato que não ocorria no tratamento apenas de microalga.

Ao avaliar a sobrevivência, pode-se observar que nos dois tratamentos que continham alimento vivo, houve mortalidade total de uma caixa, algo que pode justificar essa mortalidade pode ser a contaminação bacteriana através do cultivo de microalgas. Já no tratamento apenas de farelo de soja não houve mortalidade de 100%, fato extremamente positivo se pensarmos na sobrevivência do cultivo. Portanto, a soja parece uma boa opção para garantir o fornecimento de alimento quando existir perda do cultivo de microalgas, corroborando com o trabalho de Cisneros (2002), que testaram dietas a base de farinha de peixe, farinha de crustáceos, pó de arroz e farinha de soja, todos misturados ao alimento vivo (microalga *Isochrysis*), e encontraram o melhor resultado na dieta a base de soja.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- A dieta a base da microalga *Nannochloropsis* sp. resulta no melhor desempenho para o cultivo de *Artemia*, porém estatisticamente não houve

diferença significativa entre o tratamento a base de *Nannochloropsis* sp. e o tratamento Mix.

- Utilizar só a soja para o cultivo da *Artemia* não é uma boa opção, já que não apresenta bons resultados de biomassa e crescimento.
- Misturar a soja com a microalga *Nannochloropsis* sp. para servir de alimento para a *Artemia* é uma alternativa viável.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGH, N.; SORGELOOS, P. Handbook of protocols and guidelines for culture and enrichment of live food for use in larviculture. Urmialran: Ediciones Artemia & Aquatic Animals Research Center, Urmia University, Urmia – Iran. p. 25-41, 2005.

BORGES, L do V. Caracterização do potencial de absorção de dióxido de carbono atmosférico por microalgas utilizadas na aquicultura para geração de um mecanismo de desenvolvimento limpo (MDL). 57f. Dissertação de Mestrado. Departamento de Oceanografia, FURG, Rio Grande, RS, Brasil, 2005.

BROWN, R.; JEFFREY, S. W.; VOLKMAN, J.K.; DUNSTAN, G.A. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture*. Australia, 51, 315-331, 1997.

CÂMARA, M. R. Biomassa de Artêmia na carcinicultura: repercussões ambientais, econômicas e sociais. *Panorama da Aquicultura*. 14(82): 40-45, 2004.

CAMPOS, V. B.; BARBARINO, E.; LOURENÇO, S. de O. Crescimento e composição química de dez espécies de microalgas marinhas em cultivos estanques. *Ciência Rural*. Brasil, 40, nº 2, 339-347, 2010.

CISNEROS, R. E. B., de Producción semi-intensiva de biomassa de *Artemia franciscana* Kellogg 1906 (cepa Virrilá, Perú) utilizando diferentes dietas, 2002.

COSTA, S.J.; MYA, E. Composição química e qualidade organoléptica das principais variedades de soja cultivadas no Brasil. Divulgando a pesquisa, v.1. p. 1-3, 1972.

DHERT, P.H., BOMBEO, R.B., SORGELOOS, P. Use of ongrown *Artemia* in nursery culturing of the tiger shrimp. *Aquacult. Int.* 1, 170-177, 1993.

DHONT, J., VAN STAPPEN, G. Biology, Tank Production and Nutritional Value of *Artemia*. In: Støttrup, J.G., McEvoy, L.A., (Eds.). *Live feeds in marine aquaculture*. 2003.

Duerr, E. O. et al., Cultured microalgae as aquaculture feeds. *Journal of Marine Biotechnology*, 6 : (2), 65-70, 1998.

EMBRAPA (www.cnpq.embrapa.br), acessado em 30 de maio de 2007.

GILTZELMANN, R; AURICCHIO S. The handling of soy α - galactosidase by a normal and galactosemic child. *Pediatrics*, v.36, p. 231-232, 1965.

LAVENS, P. e P. SORGELOOS. *Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture*. FAO Fisheries Technical Paper 361, 295 pp., 1996.

LIMA, G.J.M.M. Importance of the nutritional quality of soybeans and their products in the feed market: actual situation and future trends. *Anais Congresso Brasileiro de Soja*, Londrina, PR EMBRAPA – SPI. p. 165-175, 1999.

LOURENÇO, S de O. *Cultivo de Microalgas Marinhas: Princípios e Aplicações*, Brasil: RiMa, 2006.

MOREIRA, M.A. Programa de melhoramento genético de qualidade de óleo e proteína da soja desenvolvido na UFV. In: *Anais Congresso Brasileiro de Soja*, Londrina, P.R. EMBRAPA- SPI. P. 99-104, 1999.

R Core Team/ R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2017. URL: <https://www.R-project.org/>

SOARES, D. Avaliação do crescimento celular e da produtividade de lipídios de microalgas marinhas em diferentes regimes de cultivo. 107f. Dissertação de Mestrado, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, UFPR, Curitiba, PR, Brasil, 2010.

ROMERO, L. T. Aspectos generales del cultivo de microalgas y su vinculación con la nutrición animal(I). I Curso Internacional de Alimentación y Nutrición em Acuicultura, 14 al 25 de junio de 1999, La Habana, Cuba. Centro de Investigaciones Pesqueras., 1999.

SAKAMOTO, M.;HOLLAND,D.L.;JONES,D.A., Modification of the nutritional composition of *Artemia* by incorporation of polyunsaturated fatty acids using micro-encapsulated diets. *Aquaculture*, Amsterdam 25 (1):77-87 , july, 1982.

SHENG-YI, C.; CHIEN-YA, K.; MING-TA, T.; SEOW-CHIN, O.; CHIUN-HSUN, C.; CHIH-SHENG, L Lipid accumulation and CO₂ aeration. *Bioresource Technology*. Taiwan, 100, 833-838, 2009.

SMITH, A.K; CIRCLE, S.J. Chemical composition of the seed. In: A.K Smith and S.J. Circle (ed); soybeans: Chemistry na Technology, Westport: The AVI Perblishing, V.1, p 61-92, 1972.

SORGELOOS, P., DHERT, P., CANDREVA, P., Use of the brine shrimp, *Artemia* spp., in marine fish larviculture. *Aquaculture* 200, 147-159, 2001.

SORGELOOS,P.,LAVENS,P.,LÉGER,P.,TACKAERT,W.,VERSICHELE,D. Manual for the culture and use of Brine shrimp *Artemia* in Aquaculture. *Artemia Ref. Center (ed)*, 319 pp., 1986.

TAKATA, RODRIGO T136p Produção de juvenis de *Artemia franciscana* e análise da utilização de dietas vivas e inertes na larvicultura intensiva do pintado *Pseudoplatystoma coruscans* / Rodrigo Takata. — Jaboticabal, 2007.

TIZOL C. R., Uso de la levadura torula (*Torulopsis utilis*) em la obtención de biomassa de *Artemia*. An. Inst. Invest. Mar. Punta Betín, 23: 165-171. Santa Marta Colombia, 1994.

TORRENTERA L. y A. TACON. La producción de alimento vivo y su importância em acuicultura. Documento de campo N° 12, Proyecto Aquila, FAO. 89 pp., 1989.

VAN STAPPEN, G., *Artemia*. Manual on the production and use of live food for aquaculture. P. Lavens and P. Sorgeloos editors. FAO Fisheries technical paper: 79-264, 1996.

VERSICHELE, D., P. LEGER, P. LAVENS Y P. SORGELOOS. El uso de *Artemia*. Acuicultura, Gilbert Barnabé. Ediciones Omega, S.A. Barcelona: 200-215, 1991.

VINATEA A., L. Biología, cultivo y uso em Acuicultura del Camarón de Salmuera, *Artemia* sp. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Escuela de Post-Grado. 39 pp., 1995.

WORMS, World Register of Marine Species. Disponível em: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=480245> acessado 19/05/2017).

ZAR, J. H. 1996. Biostatistical analysis. Third editions Prentice-Hall International Editions, New Jersey.

ZIMMERMANN S., E. MAGALHAES, S. DE SOUZA & A. PENZ. Effects of three different protein sources in growout feeds for fresh water prawns *Macrobrachium rosebergii* (de Man) reared in nursery. III Simpósio Brasileiro sobre cultivo de camarão. Joao Pessoa, Paraiba, Brasil 15 a 20 de outubro de 1989. Anais Volume II: 257-287, 1989.

ZITTELLI, G. C.; RODOLFI, L.; TREDICI, M. R. Industrial production of microalgal cellmas and secondary products – species of high potential. Mass cultivation of *Nannochloropsis* in closed systems. In RICHMOND, A. Handbook

of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology. Oxford: Blackwell Publishing, P.298-303, 2004.

ZITTELLI, G. C.; LAVISTA, F.; BASTIANINI, A.; RODOLFI, N.; VINCENZINI, M.; TREDICI, M. R. Production of eicosapentaenoic acid by *Nannochloropsis* sp. Cultures in outdoor tubular photobioreactors. Journal of Biotechnology. Italy, 70, 299-312, 1999.

ZOU, N.; ZHANG, C.; COHEN, Z.; RICHMOND, A. Production of cell mass and eicosapentaenoic acid (EPA) in ultrahigh cell density cultures of *Nannochloropsis* sp. (*Eustigmatophyceae*). European Journal of Phycology. 35: 2, 127-133, 2000.

9. ANEXOS

Anexo 1. Script das análises no software R

```
library(vegan)
```

```
library(car)
```

```
data<-read.csv2("geron2.csv")
```

```
soja<-subset(data, tratamento=="soja")
```

```
nanno<-subset(data, tratamento=="nanno")
```

```
mix<-subset(data, tratamento=="mix")
```

```
data_fim<-subset(data, dia=="16")
```

#boxplot

```
plot(data_fim$comprimento ~ data_fim$tratamento, ylab="comprimento(mm)",  
xlab="tratamento")
```

regressão soja

```
plot(soja$comprimento~ soja$dia, xlab="dias do mês de dezembro",
```

```
ylab="comprimento(mm)", main="Dieta soja")
```

```
regressao_soja=lm(soja$comprimento~soja$dia)
```

```
abline(regressao_soja)
```



```
cor_soja=cor(soja$comprimento,soja$dia)
summary(regressao_soja)
cor_soja
cor_soja^2
regressao_soja
```

regressão nanno

```
plot(nanno$comprimento~ nanno$dia, xlab="dias do mês de dezembro",
      ylab="comprimento(mm)", main="Dieta nanno")
regressao_nanno=lm(nanno$comprimento~nanno$dia)
abline(regressao_nanno)
cor_nanno=cor(nanno$comprimento,nanno$dia)
regressao_nanno
cor_nanno
cor_nanno^2
```

regressão mix

```
plot(mix$comprimento~ mix$dia, xlab="dias do mês de dezembro",
      ylab="comprimento(mm)", main="Dieta mix")
regressao_mix=lm(mix$comprimento~mix$dia)
abline(regressao_mix)
cor_mix=cor(mix$comprimento,mix$dia)
regressao_mix
cor_mix
cor_mix^2
```

#####Plotar as regressões no mesmo gráfico

```
library(ggplot2)
```

```
ggplot(data, aes(dia, comprimento, group=tratamento)) +
geom_point(aes(col=tratamento)) + geom_smooth(method="lm", fill=NA,size = 1,
aes(col=tratamento))
?geom_smooth
```

#####comparando coeficientes angulares

```
df1 <- data.frame(soja$dia, soja$comprimento)
df2 <- data.frame(nanno$dia, nanno$comprimento)
df3<-data.frame(mix$dia, mix$comprimento)
```

```
fit1 <- lm(soja$comprimento~soja$dia)
fit2 <- lm(nanno$comprimento~nanno$dia)
fit3 <- lm(mix$comprimento~mix$dia)
s1 <- summary(fit1)$coefficients
s2 <- summary(fit2)$coefficients
s3 <- summary(fit3)$coefficients
```

#comparando soja e nanno

```
db <- (s2[2,1]-s1[2,1])
sd <- sqrt(s2[2,2]^2+s1[2,2]^2)
df <- (fit1$df.residual+fit2$df.residual)
td <- db/sd
2*pt(-abs(td), df)
```

#comparando soja e mix

```
db <- (s3[2,1]-s1[2,1])
sd <- sqrt(s3[2,2]^2+s1[2,2]^2)
df <- (fit1$df.residual+fit3$df.residual)
td <- db/sd
2*pt(-abs(td), df)
```

#comparando mix e nanno

```
db <- (s2[2,1]-s3[2,1])
sd <- sqrt(s2[2,2]^2+s3[2,2]^2)
df <- (fit3$df.residual+fit2$df.residual)
td <- db/sd
2*pt(-abs(td), df)
```

```

#anova tamanho
dados<-read.csv2("gerson_anova.csv")
hist(log(dados$tamanho), xlab="comprimento (mm)",
ylab="Frequência",main="Histograma")
shapiro.test(log(dados$tamanho)) #test normality p>0.05 é normal
leveneTest(log(dados$tamanho)~dados$tratamento)# teste
heterocedasticidade
anova<-aov(log(dados$tamanho)~dados$tratamento)
summary(anova)
shapiro.test(resid(anova))
posthoc<-TukeyHSD(anova)
plot(posthoc)

```

Anexo 2 – Dados Brutos

	trata mento	caixa	dia	compri mento
o	nann	10	1	1,1
o	nann	10	1	1,2
o	nann	10	1	1,1
o	nann	10	1	1,2
o	nann	10	1	1
o	nann	12	1	1,1
o	nann	12	1	1
o	nann	12	1	1
o	nann	12	1	0,9
o	nann	12	1	1,2
o	nann	14	1	1,4

o	nann	14	1	1,4
o	nann	14	1	1
o	nann	14	1	1,3
o	nann	14	1	1,5
o	nann	10	5	1,5
o	nann	10	5	1,5
o	nann	10	5	1,2
o	nann	10	5	1,4
o	nann	10	5	1,5
o	nann	12	5	1,3
o	nann	12	5	1
o	nann	12	5	1,2
o	nann	12	5	1,2
o	nann	12	5	1,3
o	nann	14	5	1,6
o	nann	14	5	1,3
o	nann	14	5	1,7
o	nann	14	5	1,3
o	nann	14	5	1,6
o	nann	10	8	3
o	nann	10	8	3
o	nann	10	8	3,1
o	nann	10	8	2,9
o	nann	10	8	3

o	nann			
o	nann	12	8	1,2
o	nann	12	8	1,3
o	nann	12	8	1
o	nann	12	8	1,3
o	nann	12	8	1,3
o	nann	14	8	2
o	nann	14	8	2,5
o	nann	14	8	1,8
o	nann	14	8	1,8
o	nann	14	8	2
o	nann	10	12	2,3
o	nann	10	12	2,4
o	nann	10	12	4,5
o	nann	10	12	2,5
o	nann	10	12	2,3
o	nann	12	12	1,2
o	nann	12	12	1,4
o	nann	12	12	1,3
o	nann	12	12	1,1
o	nann	12	12	1,3
o	nann	14	12	3,1
o	nann	14	12	2,5
o	nann	14	12	2,4

o	nann	14	12	2
o	nann	14	12	3
o	nann	10	16	5
o	nann	10	16	5,1
o	nann	10	16	3,6
o	nann	10	16	4
o	nann	10	16	5,2
o	nann	12	16	8
o	nann	12	16	7,5
o	nann	12	16	7
o	nann	12	16	7,7
o	nann	12	16	8
o	nann	14	16	4
o	nann	14	16	4,2
o	nann	14	16	4,8
o	nann	14	16	4,4
o	nann	14	16	6,5
	soja	1	1	1,2
	soja	1	1	1,1
	soja	1	1	0,9
	soja	1	1	1
	soja	1	1	1
	soja	6	1	0,9
	soja	6	1	1
	soja	6	1	1
	soja	6	1	0,9
	soja	6	1	1
	soja	9	1	1,1
	soja	9	1	1

soja	9	1	0,9
soja	9	1	1,1
soja	9	1	1
soja	1	5	1,7
soja	1	5	1,6
soja	1	5	1,5
soja	1	5	1,6
soja	1	5	1,7
soja	6	5	1,2
soja	6	5	1,3
soja	6	5	1,1
soja	6	5	1,2
soja	6	5	1,3
soja	9	5	1,7
soja	9	5	1,4
soja	9	5	1,5
soja	9	5	1,5
soja	9	5	1,7
soja	1	8	2,1
soja	1	8	1,9
soja	1	8	1,6
soja	1	8	1,7
soja	1	8	2,2
soja	6	8	1,5
soja	6	8	1,6
soja	6	8	1,6
soja	6	8	1,4
soja	6	8	1,5
soja	9	8	3,2
soja	9	8	2,4
soja	9	8	3,1
soja	9	8	2,6
soja	9	8	2,5
soja	1	12	2,1
soja	1	12	1,7
soja	1	12	2,1
soja	1	12	1,6
soja	1	12	2
soja	6	12	2,2
soja	6	12	2,1
soja	6	12	1,5
soja	6	12	1,7
soja	6	12	1,5

soja	9	12	2,5
soja	9	12	2,2
soja	9	12	3,5
soja	9	12	2,3
soja	9	12	2,5
soja	1	16	3,5
soja	1	16	3
soja	1	16	3,4
soja	1	16	3,3
soja	1	16	4,5
soja	6	16	2
soja	6	16	2
soja	6	16	2,3
soja	6	16	2,4
soja	6	16	2
soja	9	16	3,5
soja	9	16	2,9
soja	9	16	3,6
soja	9	16	4
soja	9	16	3
mix	8	1	1,1
mix	8	1	1
mix	8	1	1
mix	8	1	1,1
mix	8	1	1,2
mix	11	1	1,1
mix	11	1	1,1
mix	11	1	1,1
mix	11	1	0,9
mix	11	1	1
mix	15	1	1
mix	15	1	1
mix	15	1	1
mix	15	1	1
mix	15	1	1
mix	8	5	1,7
mix	8	5	1,2
mix	8	5	1,5
mix	8	5	1,3
mix	8	5	1,7
mix	11	5	1,5
mix	11	5	1,2
mix	11	5	1,4

mix	11	5	1,2
mix	11	5	1,5
mix	15	5	1,3
mix	15	5	1,1
mix	15	5	1,1
mix	15	5	1,2
mix	15	5	1,3
mix	8	8	1,8
mix	8	8	1,5
mix	8	8	1,4
mix	8	8	1,9
mix	8	8	1,9
mix	11	8	1
mix	11	8	1,2
mix	11	8	1,2
mix	11	8	1
mix	11	8	1
mix	15	8	1,5
mix	15	8	1,4
mix	15	8	1,4
mix	15	8	1,4
mix	15	8	1,5
mix	8	12	1,9
mix	8	12	2
mix	8	12	2
mix	8	12	2,1
mix	8	12	1,9
mix	11	12	1,9
mix	11	12	2,1
mix	11	12	2
mix	11	12	2,1
mix	11	12	2
mix	15	12	2,2
mix	15	12	1,7
mix	15	12	1,9
mix	15	12	2
mix	15	12	2,2
mix	8	16	7,2
mix	8	16	6,1
mix	8	16	5,5
mix	8	16	6
mix	8	16	2,3
mix	15	16	7,1

mix	15	16	4
mix	15	16	3,7
mix	15	16	3,2
mix	15	16	6

tratamento	biomassa
soja	5
mix	5,8
soja	6,1
nanno	7,8
nanno	9
mix	7,3
soja	6,3
