

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

GABRIEL DA COSTA CANTOS JERÔNIMO

**MODELOS NÃO LINEARES APLICADOS AO CRESCIMENTO DA
MACRÓFITA *LEMNA MINOR***

Poços de Caldas/MG

2015

GABRIEL DA COSTA CANTOS JERÔNIMO

**MODELOS NÃO LINEARES APLICADOS AO CRESCIMENTO DA
MACRÓFITA *LEMNA MINOR***

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Monitoramento Ambiental
Orientadora: Dra. Patrícia Neves Mendes.

Poços de Caldas/MG

2015

J56s

Jerônimo, Gabriel da Costa Cantos

Modelos não lineares aplicados ao crescimento da macrófita *Lemna minor* / Gabriel da Costa Cantos Jerônimo. – Poços de Caldas, 2015.

70 f. -

Orientadora: Patrícia Neves Mendes

Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, MG, 2015.
Bibliografia.

1. Curvas de crescimento. 2. Autocorrelação (Estatística). 3. Modelo logístico. 4. Avaliadores de qualidade. 5. Software R. I. Mendes, Patrícia Neves. II. Título.

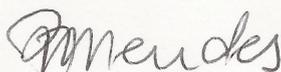
CDD: 628

GABRIEL DA COSTA CANTOS JERÔNIMO

**MODELOS NÃO LINEARES APLICADOS AO CRESCIMENTO DA
MACRÓFITA *LEMNA MINOR***

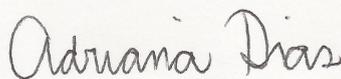
A banca examinadora abaixo-assinada, aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Ciência e Engenharia Ambiental, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Alfenas.

Aprovada em: 28 de janeiro de 2015.



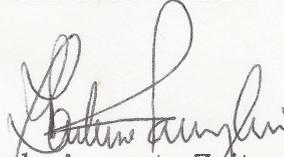
Profa. Dra. Patrícia Neves Mendes

Instituição: Universidade Federal de Alfenas- MG



Profa. Dra. Adriana Dias

Instituição: Universidade Federal de Alfenas- MG



Prof. Dr. Paulo Augusto Zaitune Pamplin

Instituição: Universidade Federal de Alfenas- MG

*Dedico este trabalho à minha família e aos
meus amigos, que são a minha força motora.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e pelo livre arbítrio.

Aos meus pais, Carlos e Dorcas, pelo apoio incondicional em todos os momentos de minha vida, sem eles não teria vencido mais essa etapa e tampouco qualquer outro desafio por qual já tenha passado.

À minha irmã, Polyana, por sempre acreditar em mim e torcer por mim.

Ao meu avô, Sebastião e à minha avó Elza (*in memoriam*), que sempre me tiveram como um bom neto e que sempre me ajudaram em tudo, inclusive financeiramente, mesmo em suas condições humildes.

Aos demais familiares que me apoiaram de alguma forma ou outra.

À minha orientadora, Patrícia, pela paciência, pela real orientação e pela amizade.

Aos meus colegas e amigos da UNIFAL-MG, que me acompanharam nessa jornada e hoje fazem parte da minha vida.

Aos professores da UNIFAL-MG e da Escola Profissional Dom Bosco, nos quais me espelhei durante a minha caminhada acadêmica.

Aos técnicos da UNIFAL-MG, em especial à técnica e amiga de mestrado, Aline Godoy, que sempre me ajudaram nas minhas pesquisas.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia Ambiental-PPGCEA, pela oportunidade.

À minha segunda família, que fiz na Alemanha, pelo convívio, apoio, risadas e experiências de vida indescritíveis.

Aos amigos do INSS e AGU, que sempre apostaram em mim.

A todos que, direta ou indiretamente, ajudaram na realização desse trabalho.

RESUMO

O estudo de plantas aquáticas (macrófitas) tem sido considerado relevante por elas apresentarem potencial de utilização em estudos de ecotoxicologia, como bioindicadoras ou até mesmo no tratamento de águas residuárias. A modelagem do crescimento dessas plantas, especificamente a *Lemna minor*, se mostra interessante do ponto de vista da otimização dessas aplicações e, portanto, vê-se necessário estabelecer o melhor modelo de crescimento dessa espécie. As curvas de crescimento são a base em que são aplicados os modelos não lineares e elas são obtidas pela coleta de dados de crescimento, em uma determinada amostra, ao longo do tempo. É possível que a hipótese de independência dos erros, geralmente assumida nos modelos básicos de regressão, não seja apropriada, uma vez que pode haver correlação entre o erro relativo a um período e o erro da observação anterior, portanto, há que se verificar a existência de correlação entre os erros. O objetivo deste trabalho foi determinar qual o modelo não linear que melhor descreve o crescimento da macrófita *Lemna minor* cultivada em solução aquosa de meio Steinberg. Aos dados médios de crescimento das frondes foram ajustados cinco modelos não lineares, utilizando o método de mínimos quadrados ordinários e o processo iterativo de Gauss-Newton. As análises foram realizadas no software R, utilizando-se o pacote *nlme* e a função *gnls*. O teste de Durbin-Watson, que identifica autocorrelação residual, apontou para a existência de erros autocorrelacionados apenas no modelo de von Bertalanffy. Após o ajuste e a comparação dos modelos por meio dos avaliadores da qualidade de ajuste, concluiu-se que o modelo não linear que melhor descreve o crescimento de *Lemna minor* é o modelo Logístico.

Palavras-chave: Curvas de crescimento. Autocorrelação. Modelo Logístico. Avaliadores de qualidade. Software R.

ABSTRACT

The study of aquatic plants (macrophytes) has been considered relevant because these plants present the potential of being used in ecotoxicology studies, as bioindicators and even in wastewater treatment. The growth modeling of such plants, specifically *Lemna minor*, proved to be relevant for optimizing the above-mentioned applications. It is therefore, necessary to establish the best growth model of such specie. Since growth curves are the basis on which nonlinear models are applied and they are obtained by collecting growth data of a determined sample over time, the hypothesis of independent residuals, which is very often assumed in the basic models of regression, may not be appropriate in this case. Once there can be a correlation between the residual of an observation over a period of time and the residual of previous observations, the most advisable course of action is to check the correlation between residuals. The objective of this paper was to determine the nonlinear model that best describes the growth of the macrophyte *Lemna minor* grown in a Steinberg medium. Five nonlinear models were fitted to the growth data using the Gauss-Newton algorithm for the ordinary minimum square method. The Durbin-Watson test, which identifies the residual autocorrelation, has been used and the results pointed to the existence of autocorrelated residuals in the von Bertalanffy model. After the adjustment of the parameters of autocorrelation for each of the tested models, it was concluded that the model that best describes the growth of the *Lemna minor* is the Logistic model.

Key words: Growth curves. Autocorrelation. Logistic model. Quality evaluators. R software.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Modelos não lineares e suas equações	30
Tabela 2 - Estimativas dos parâmetros, erros padrões e valores-p para o teste t referentes ao modelo de Gompertz ajustado aos dados médios de crescimento de frondes da macrófita <i>Lemna minor</i> ..	41
Tabela 3 - Estimativas dos parâmetros, erros padrões e valores-p para o teste t referentes ao modelo Logístico ajustado aos dados médios de crescimento de frondes da macrófita <i>Lemna minor</i>	43
Tabela 4 - Estimativas dos parâmetros, erros padrões e valores-p para o teste t referentes ao modelo de MMF ajustado aos dados médios de crescimento de frondes da macrófita <i>Lemna minor</i>	46
Tabela 5 - Estimativas dos parâmetros, erros padrões e valores-p para o teste t referentes ao modelo de Bridges ajustado aos dados médios de crescimento de frondes da macrófita <i>Lemna minor</i>	48
Tabela 6 - Estimativas dos parâmetros, erros padrões e valores-p para o teste t referentes ao modelo de von Bertalanffy ajustado aos dados médios de crescimento de frondes da macrófita <i>Lemna minor</i> .. (Erros independentes)	50
Tabela 7 - Estimativas dos parâmetros, erros padrões e valores-p para o teste t referentes ao modelo de von Bertalanffy ajustado aos dados médios de crescimento de frondes da macrófita <i>Lemna minor</i> (Erros autocorrelacionados de primeira ordem).....	52
Tabela 8 - Avaliadores de qualidade de ajuste para os modelos	54
Tabela 9 - Meio Steinberg com pH estabilizado	68
Tabela 10 - Soluções-estoque de macronutrientes.....	69
Tabela 11 - Soluções-estoque de micronutrientes.....	69

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação de uma função sigmoideal, sua derivada e do ponto de inflexão, ponto em que taxa de variação da função é a maior	19
Figura 2 - <i>Lemna minor</i> encontrada em um ambiente natural	23
Figura 3 - <i>Lemna minor</i> (destaque para seu tamanho em relação ao dedo da pessoa).....	24
Figura 4 - Exemplos de curva dose-resposta.....	28
Figura 5 - Curva de crescimento de <i>Lemna minor</i>	36
Figura 6 - Curva de crescimento de <i>Lemna minor</i> com os dados utilizados	38
Figura 7 - Gráficos de Resíduos. (a) Modelo de Gompertz; (b) Modelo Logístico; (c) Modelo MMF; (d) Modelo de Bridges; (e) Modelo de von Bertalanffy EI e (f) Modelo de von Bertalanffy com AR1.....	40
Figura 8 - Modelo de Gompertz ajustado aos dados médios de crescimento de frondes da macrófita <i>Lemna minor</i>	42
Figura 9 - Modelo Logístico ajustado aos dados médios de crescimento de frondes da macrófita <i>Lemna minor</i>	45
Figura 10 - Modelo MMF ajustado aos dados médios de crescimento de frondes da macrófita <i>Lemna minor</i>	47
Figura 11 - Modelo de Bridges ajustado aos dados médios de crescimento de frondes da macrófita <i>Lemna minor</i>	49
Figura 12 - Modelo de von Bertalanffy ajustado aos dados médios de crescimento de frondes da macrófita <i>Lemna minor</i> (EI- Erros Independentes)	51

Figura 13 - Modelo de von Bertalanffy ajustado aos dados médios de crescimento de frondes da macrófita <i>Lemna minor</i> (AR1- Auto Correlação de ordem 1).....	53
Figura 14 - Curvas de crescimento de todos os modelos ajustados.....	55
Figura 15- Aparato experimental de contagem.....	64
Figura 16- <i>Lemna minor</i> na lupa de bancada	65
Figura 17- Recipiente de cultivo	66

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	12
2	OBJETIVOS	13
2.1	OBJETIVO GERAL	13
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
3.1	PLANEJAMENTO DE EXPERIMENTOS.....	14
3.2	MODELOS DE REGRESSÃO	16
3.3	REGRESSÃO NÃO LINEAR.....	17
3.4	AUTOCORRELAÇÃO	20
3.5	AVALIADORES DA QUALIDADE DE AJUSTE	21
3.6	CARACTERIZAÇÃO DA MACRÓFITA <i>LEMNA MINOR</i>	22
3.7	UTILIZAÇÃO DE MACRÓFITAS EM SISTEMAS BIOLÓGICOS DE TRATAMENTO.....	24
3.8	BIOINDICAÇÃO.....	26
3.9	ECOTOXICOLOGIA	27
4	METODOLOGIA	29
4.1	O EXPERIMENTO.....	29
4.2	MODELOS NÃO LINEARES	30
4.3	ESTIMAÇÃO DOS PARÂMETROS	31
4.4	RECURSOS COMPUTACIONAIS	32
4.5	TESTE DE DURBIN-WATSON PARA AUTOCORRELAÇÃO RESIDUAL	33
4.6	COMPARAÇÃO DA QUALIDADE DE AJUSTE DOS MODELOS.....	33
4.6.1	Coeficiente de determinação ajustado- R_a^2	34

4.6.2	Critério de informação de Akaike- AIC	34
4.6.3	Critério de informação Bayesiano- BIC	35
4.6.4	Desvio padrão residual- DPR	35
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1	ANÁLISE DE RESÍDUOS	39
5.2	MODELO DE GOMPERTZ	41
5.3	MODELO LOGÍSTICO.....	43
5.4	MODELO MMF.....	46
5.5	MODELO DE BRIDGES.....	48
5.6	MODELO DE VON BERTALANFFY	50
5.7	AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE AJUSTE DOS MODELOS	54
6	CONCLUSÃO	57
	REFERÊNCIAS	58
	APÊNDICES	64
	ANEXO	68

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Atualmente, o estudo do crescimento de macrófitas tem sido considerado muito importante, uma vez que estas plantas desempenham um papel fundamental nos ecossistemas aquáticos, quer seja como produtoras de gás oxigênio, quer seja como habitat para diversos organismos. Outra razão para o estudo de macrófitas é sua potencialidade de utilização no tratamento de águas residuárias (ARROYAVE, 2004; OZENGİN; ELMACI, 2007) e, desta maneira, destaca-se a importância de trabalhos que modelem o crescimento desse tipo de planta.

Dentre as macrófitas encontra-se a *Lemna minor* também conhecida como lentilha d'água, que é uma angiosperma, monocotiledônea que reconhecidamente apresenta alta capacidade adsorptiva (ARROYAVE, 2004) e, portanto, apresenta o potencial supracitado.

A utilização de modelos não lineares é muito eficaz para a modelagem de crescimento populacional, uma vez que estes apresentam parâmetros com interpretação biológica e, portanto, são passíveis de análises mais adequadas e precisas.

As curvas de crescimento são a base em que são aplicados os modelos não lineares e elas são obtidas pela coleta de dados de crescimento, em uma determinada amostra, ao longo do tempo. É possível que a hipótese de independência dos erros, geralmente assumida nos modelos básicos de regressão, não seja apropriada, pois pode haver correlação entre o erro relativo a um período e o erro da observação anterior, portanto, há que se verificar a existência de autocorrelação residual.

Além de complementar os conhecimentos sobre a biologia e ecologia dessa macrófita, a determinação do melhor modelo de crescimento para a *Lemna minor* pode servir de base para estudos que visem a sua aplicação no tratamento de águas residuárias bem como qualquer outro estudo correlato.

2 OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho, geral e específicos, são apresentados a seguir.

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho é determinar qual o modelo não linear que melhor descreve o crescimento da macrófita *Lemna minor* cultivada em solução aquosa de meio Steinberg.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar cultivo de *Lemna minor* em diferentes concentrações;
- Ajustar modelos não lineares aos dados médios de crescimento das frondes da macrófita *Lemna minor*;
- Comparar os modelos por meio dos avaliadores da qualidade de ajuste.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A revisão bibliográfica deste trabalho apresentará os assuntos pertinentes ao tema pesquisado e abordará o planejamento experimental e suas técnicas, os tipos de modelos de regressão usados nas áreas como Engenharia e Ciências, a vantagem da utilização de modelos não lineares para modelar crescimento de espécies, a importância da verificação de existência de autocorrelação residual em ajuste de modelos não lineares, a vantagem da utilização de avaliadores de qualidade de ajuste de modelos e, por fim, a caracterização da macrófita *Lemna minor* e suas áreas de potencial utilização.

3.1 PLANEJAMENTO DE EXPERIMENTOS

Um experimento é um procedimento no qual variáveis respostas são obtidas por alterações em um sistema ou processo. Essas alterações propositais são denominadas variáveis de entrada. Em outras palavras, um experimento visa a obtenção de variáveis respostas, ou efeitos, mediante a inserção de variáveis de entrada, ou causas.

Um processo pode ser definido como um conjunto de causas ou fatores, tais como: insumos, equipamentos, informações do processo ou medidas, condições ambientais, pessoas e métodos ou procedimentos; que tem como objetivo produzir um determinado efeito que apresenta uma ou mais respostas observáveis. Neste processo, encontram-se fatores controláveis e não-controláveis.

Para descobrir os principais fatores que influenciam um processo, os experimentos planejados são muito úteis, uma vez que, depois de identificados os fatores é necessário modelar a relação existente entre estes fatores e as

características da qualidade do produto do processo. Na construção de tais modelos, uma técnica estatística muito utilizada é a análise de regressão.

O termo “planejamento estatístico de experimentos” se refere ao procedimento de planejar um experimento de forma que os dados sejam coletados em tempo e custo mínimos. As técnicas estatísticas, utilizadas na análise de dados deste tipo, são consideradas como a única abordagem objetiva de análise, uma vez que o problema envolve dados que estão sujeitos a erros experimentais. Sendo assim, há dois aspectos em qualquer estudo experimental: o planejamento do experimento e a análise estatística dos dados. Ambos estão intimamente relacionados, uma vez que a técnica de análise depende diretamente do planejamento utilizado (WERKEMA; AGUIAR, 1996).

As técnicas estatísticas são particularmente úteis na engenharia e ciências, no intuito de melhorar e desenvolver os processos de fabricação. Métodos de planejamento de experimentos são úteis também em atividades de projeto de engenharia, em que novos produtos sejam desenvolvidos e produtos já existentes sejam melhorados. Algumas aplicações típicas de experimentos planejados estatisticamente incluem: avaliação e comparação de configurações básicas de projeto; avaliação de materiais diferentes e seleção de parâmetros de projeto de modo que o produto trabalhe bem sob várias condições ambientais (MONTGOMERY; RUNGER, 2003).

A utilização de planejamento de experimentos no projeto de engenharia pode resultar em produtos que se desempenhem melhor no campo, em produtos mais fáceis de fabricar e melhor confiabilidade em produtos que possam ser projetados, desenvolvidos e produzidos em menos tempo (MONTGOMERY; RUNGER, 2003).

Na área ambiental o planejamento experimental visa também que o experimento seja desenvolvido a fim de minimizar os custos e obter, ao mesmo tempo, resultados que expressem as informações buscadas de maneira satisfatória. Muitas vezes os experimentos podem estar diretamente ligados com a utilização de seres vivos, como colônias de bactérias, plantas e animais e, por essa razão, o planejamento experimental também deve levar em conta o local de onde essas espécies serão retiradas, a maneira como serão manuseadas e a sua destinação final. Este planejamento muitas vezes

necessita a autorização de órgãos ambientais para a realização de testes com algumas espécies (ALVES; COLLI, 2006).

3.2 MODELOS DE REGRESSÃO

Segundo Draper e Smith (1998), uma atividade muito comum em análises estatísticas é a avaliação da relação entre uma variável dependente e uma ou mais variáveis independentes. Essa análise pode ser feita por meio dos modelos de regressão, os quais se dividem em três classes distintas: os lineares, os linearizáveis e os não lineares.

Draper e Smith (1998) classificam os modelos como:

A) modelos lineares: aqueles que são lineares em relação aos parâmetros, isto é, as derivadas parciais não dependem de parâmetros, logo:

$$\frac{\partial}{\partial \gamma_j} f_i(X, \gamma) = g(X)$$

com $i=1, 2, \dots, n$ e $j=1, 2, \dots, p$;

em que n é o número de observações e p o número de parâmetros do modelo.

B) modelos linearizáveis: aqueles que podem ser transformados em lineares por meio de transformações biunívocas. Para o modelo

$$Y = a^x \cdot e$$

no qual o erro é dito multiplicativo, aplicando-se logaritmo à igualdade, tem-se:

$$\ln Y = \ln(a^x \cdot e)$$

$$\ln Y = \ln a^x + \ln e$$

$$\ln Y = x \ln a + \ln e$$

sendo

$$Z = \ln Y;$$

$$b = \ln a;$$

$$e^* = \ln e$$

o modelo fica

$$Z = bx + e^*$$

que é linear.

C) modelos não lineares: aqueles que não se enquadram nos casos A e B

$$Y = a^x + e$$

nos quais o erro é dito aditivo e não existe transformação capaz de tornar o modelo linear, e as derivadas parciais dependem de pelo menos um dos parâmetros:

$$\frac{\partial Y}{\partial a} = xa^{x-1}$$

portanto, o modelo é dito não linear.

No ajuste de um modelo, seja ele linear ou não linear, a um conjunto de dados, deseja-se um dos propósitos: 1) obter um “bom ajuste” para fins de representação, 2) predizer os valores da variável resposta Y para valores fixos da variável independente X e estabelecer intervalos de confiança ou 3) comparar os resultados de diferentes condições experimentais usando, e/ou interpretando, os parâmetros (TORNERO, 1996).

Em um modelo linear, a estimação dos parâmetros pode ser feita pelo método dos mínimos quadrados, cujo objetivo é tomar como valores dos parâmetros aqueles que tornam mínima a soma dos quadrados dos desvios entre cada valor observado de Y e sua estimativa.

3.3 REGRESSÃO NÃO LINEAR

Regazzi (2003) descreve em seu trabalho as áreas em que os modelos não lineares são mais utilizados e ele destaca a aplicação na área de crescimento biológico, uma vez que este crescimento se dá de forma não linear.

Ele ressalta também que em muitas situações, não se busca o melhor modelo para o caso, mas sim aplica-se um modelo que é, de certa forma, “consagrado no meio”, o que pode induzir a falsas impressões e interpretações.

Segundo Tornero (1996), os modelos intrinsecamente não lineares - os quais nenhuma transformação é capaz de tornar lineares - trazem dificuldades por necessitar do método de mínimos quadrados iterativo para a estimação dos parâmetros; mesmo assim, em média, estima-os por excesso ou por falta, isto é, com vício.

Nos modelos não lineares, as qualidades existentes nos estimadores lineares são alcançadas assintoticamente, isto é, com o aumento do tamanho da amostra. Para amostras finitas, o emprego do método dos mínimos quadrados gera estimadores dos parâmetros que não são combinações lineares da variável dependente (Y), tendenciosos, sem variância mínima e apresentam propriedades desconhecidas. Mesmo que os erros no modelo tenham distribuição normal, os estimadores, que nesse caso também são de máxima verossimilhança, não têm distribuição normal. A teoria assintótica demonstra que os estimadores de máxima verossimilhança tornam-se menos tendenciosos e aproximam-se da distribuição normal com variância mínima à medida que a amostra aumenta.

Os modelos não lineares possuem uma grande vantagem: geralmente seus parâmetros têm significado biológico. Esta é uma maneira de conferir a adequação dos valores iniciais propostos, ou seja, analisando o significado biológico desses parâmetros pode-se eliminar uma proposta de valor inicial.

Muitos autores utilizaram, nas mais diversas áreas, os modelos não lineares. Entre eles encontram-se o estudo de Araújo et al. (2009) que usaram modelos não lineares para modelar o crescimento de búfalas da raça Murrah criadas em terras baixas no estado do Rio Grande do Sul; Freitas e Barioni Junior (2005) também utilizaram modelos não lineares no ajuste de curvas de crescimento de bovinos de corte; Mendes (2011) analisou o crescimento de tomates também por meio de ajuste de modelos não lineares; Oliveira, Lôbo e Pereira (2000) modelaram o crescimento de fêmeas bovinas da raça Guzerá e

Liu et al. (2011), o crescimento de minks¹. Malhado et al. (2009) utilizaram também de modelos não lineares para estudar o crescimento de bovinos da raça Nelore. Puiatti et al. (2013) estudaram o acúmulo de matéria seca em plantas de alho e Dias (2014) estudou o crescimento e acúmulo de nutrientes em frutos de mangueira, ambos por meio de modelos não lineares.

A Figura 1 representa uma função sigmoidal, que é a maneira como se comportam os modelos não lineares. Destaque para o ponto de inflexão da função, que representa o ponto em que ocorre a maior taxa de variação da função, uma vez que antes dele a curva apresenta concavidade para cima (derivada segunda é positiva) e depois dele, a função apresenta concavidade para baixo (derivada segunda negativa).

As curvas de crescimento são a base em que são aplicados os modelos não lineares e elas são obtidas pela coleta de dados de crescimento, em uma determinada amostra, ao longo do tempo. É possível que a hipótese de independência dos erros, geralmente assumida nos modelos básicos de regressão, não seja apropriada, pois pode haver correlação entre o erro relativo a um período e o erro da observação anterior, portanto, há que se verificar a existência de autocorrelação residual.

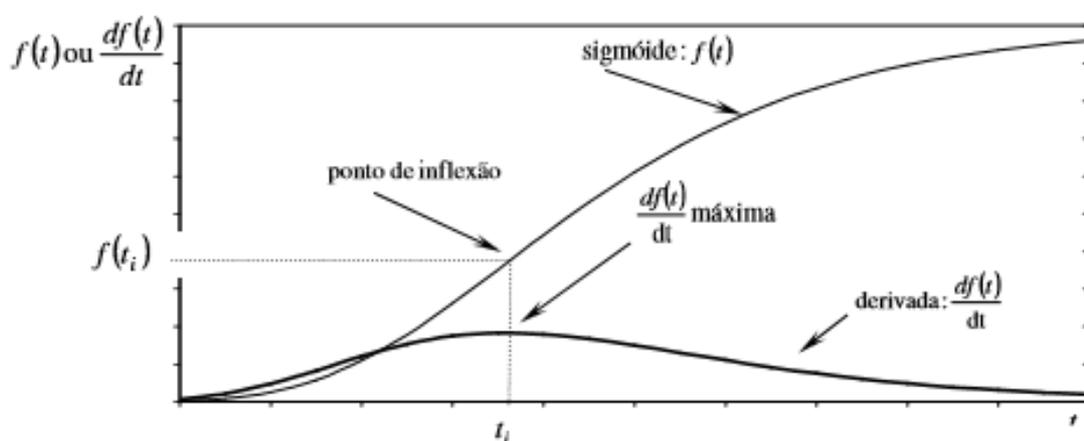


Figura 1 - Representação de uma função sigmoidal, sua derivada e do ponto de inflexão, ponto em que taxa de variação da função é a maior
Fonte: FLORENTINO, BISCARO e PASSOS (2010, p.144)

¹ Mink ou vison (*Neovison vison*) é um animal carnívoro semi-aquático originário da América do Norte (LIU et al., 2011).

3.4 AUTOCORRELAÇÃO

A autocorrelação caracteriza a dependência de um resíduo no tempo t com o(s) resíduo(s) no(s) tempo(s) anterior(es). Essa dependência pode ser causada por mudanças que afetem o comportamento da função por mais de um período de tempo. Os modelos abaixo representam funções com parâmetros de erros autocorrelacionados.

$$Y = a^x + e$$

seja e o erro no tempo t . Em caso de autocorrelação de primeira ordem, e é dado por

$$e = \varphi_1 \cdot e_{t-1}$$

em que φ_1 é um coeficiente de autocorrelação de primeira ordem e e_{t-1} é o erro no tempo $t-1$.

O modelo genérico do erro é dado por

$$e = \varphi_1 \cdot e_{t-1} + \varphi_2 \cdot e_{t-2} + \dots + \varphi_p \cdot e_{t-p}$$

em que p é a ordem do erro autocorrelacionado.

No campo da Economia, que faz uso constante de séries temporais para prever o comportamento de bolsas de valores e outros índices, um exemplo de mudança que pode afetar o decorrer da série temporal e gerar autocorrelação de ordens por volta de quatro é uma greve de funcionários (CABRAL; LINS, 2011).

No caso de modelos de crescimento populacional, variáveis como peso e altura não são tão passíveis de autocorrelações de ordem tão elevada como as observadas na Economia, uma vez que essas variáveis não sofrem alterações tão bruscas a ponto de gerar dependência de resíduos por longos períodos, como visto no trabalho de Mendes (2007).

De acordo com Soares (2008), um dos testes para verificação de existência de autocorrelação é o teste de Durbin-Watson (DURBIN; WATSON, 1951), que leva em conta somente a independência dos erros de primeira ordem. Já para autocorrelações de ordens superiores a um, pode-se usar o teste de Breusch-Godfrey (GODFREY, 1978; BREUSCH, 1979), que leva em

consideração a existência de erros independentes até a defasagem p , sendo p um número inteiro e pré-especificado.

3.5 AVALIADORES DA QUALIDADE DE AJUSTE

De acordo com Dias (2014), os avaliadores da qualidade de ajuste de modelos são ferramentas utilizadas para comparar os vários modelos de regressão não linear existentes e indicar um melhor modelo, desde que tenham sido ajustados aos mesmos dados.

Burnham e Anderson (2004) destacam a importância da utilização de vários avaliadores na escolha de um modelo não linear, uma vez que quanto maior o número de avaliadores analisados, mais adequada e precisa é a escolha do melhor deles.

Dionello et al. (2009) utilizaram como avaliadores para as curvas de secagem de abacaxis o coeficiente de determinação, o desvio padrão residual e o erro percentual absoluto médio. Maia et al. (2009) utilizaram os avaliadores quadrado médio de resíduo, porcentagem de convergência, critério de informação Bayesiano e coeficiente de determinação para descrever o crescimento de bananeiras. Prado, Savian e Muniz (2013) utilizaram o coeficiente de determinação ajustado, o critério de informação de Akaike e o desvio padrão residual para estudar o crescimento de frutos de coqueiro anão. Vargas et al. (2000) trabalharam com curvas de lactação de vacas leiteiras e utilizaram como avaliadores o coeficiente de determinação ajustado, o coeficiente de Durbin-Watson, o desvio padrão residual e o desvio médio absoluto dos resíduos.

A utilização de vários avaliadores de qualidade de ajuste transforma a escolha dos modelos em um processo minucioso, já que cada avaliador leva em conta determinadas características do modelo, tais como o número de

parâmetros e os resíduos. Há também que se considerar que diferentes populações podem alterar os resultados dos avaliadores (DIAS, 2014).

3.6 CARACTERIZAÇÃO DA MACRÓFITA *LEMNA MINOR*

As plantas aquáticas (macrófitas) têm funções importantes nos ecossistemas aquáticos, seja por servir de alimento para outros seres, seja como habitat para outros organismos ou até mesmo como “limpantes” de certos poluentes da água (ARROYAVE, 2004). De acordo com Teixeira (2012), do ponto de vista de acumulação de materiais suspensos e remoção de substâncias tóxicas por acumulação ou degradação, as macrófitas são vistas como um grupo de plantas promissoras.

Neste contexto está a macrófitas *Lemna minor* (Figura 2 e 3), uma angiosperma pertencente à família Lemnaceae (MALTBY et al., 2010). Sua morfologia é caracterizada por uma fronde² verde, que raramente excede os 5 mm de comprimento e uma única raiz branca (ARROYAVE, 2004). Possui uma rápida taxa de crescimento além de ser resistente a variações de temperatura e a estresses causados por falta de nutrientes, pragas e enfermidades (WANG, 1990).

Estudos de ecotoxicologia, que é a ciência que trata dos efeitos causados nos organismos por substâncias ou condições físico-químicas e que alteram seu crescimento, reprodução, comportamento ou sobrevivência, também são conduzidos por intermédio da utilização de *Lemna minor*, uma vez citada sua capacidade de reprodução vegetativa, rápida taxa de crescimento e tamanho diminuto (TEIXEIRA, 2012).

² Fronde é o nome que designa a folha da *Lemna minor*

Outro aspecto destacado por Palafox et al. (2005) é a elevada capacidade adsortiva³ de *Lemna minor*, que por ser uma macrófita flutuante, adsorve consideráveis quantidades de nutrientes e/ou metais pesados presentes na água e isso faz com que seus valores nutricionais atinjam níveis que permitem seu uso na alimentação de animais domésticos tais como patos (ARROYAVE, 2004).

Khellaf e Zerdaoui (2009), em seu estudo sobre a resposta do crescimento de *Lemna minor* sob condições de alta concentração de metais pesados, descrevem sua capacidade adsortiva como potencial hiperacumulador, o que também se vê no estudo de Jain et al. (1988), versado em acumulação de níquel- Ni, cobre- Cu e manganês- Mn.



Figura 2 - *Lemna minor* encontrada em um ambiente natural
Fonte: www.commanster.eu

³ Adsorção é a acumulação de uma substância em uma interface, ou seja, é um fenômeno de superfície que depende de forças físicas e/ou químicas (LINHARES et al., 2009).



Figura 3 - *Lemna minor* (destaque para seu tamanho em relação ao dedo da pessoa)

Fonte: florawww.eeb.uconn.edu

3.7 UTILIZAÇÃO DE MACRÓFITAS EM SISTEMAS BIOLÓGICOS DE TRATAMENTO

O aumento constante da população mundial traz consigo novas, e cada vez mais relevantes, preocupações no que se diz respeito ao meio ambiente e seu desfrute. Esta preocupação tem ganhado espaço nas legislações ambientais da grande maioria dos países e também no Brasil. Tal preocupação pode ser verificada em nosso ordenamento jurídico desde a Constituição Federal de 1988, que tem um capítulo sobre a temática Meio Ambiente, até a criação da Lei 6.938/81 que cria a Política Nacional do Meio Ambiente-PNMA, que objetiva a preservação, melhoria e recuperação da qualidade ambiental

propícia à vida. Nesse âmbito encontra-se então o respaldo legal para estudos e práticas que sirvam como potencial na busca da melhora da qualidade ambiental (BRASIL, 1988; BRASIL, 1981).

De acordo com von Sperling (2005), o tratamento de efluentes funciona como um minimizador de impactos ambientais por se tratar de um conjunto de operações e processos que alteram as características físico-químicas do resíduo gerado, seja industrial ou doméstico, a fim de que sua capacidade poluidora seja diminuída, atendendo às normas ambientais de despejo desse efluente de volta em corpos hídricos.

Uma alternativa que tem sido estudada e aplicada no tratamento de efluentes é a utilização de plantas aquáticas, que necessitam de altas concentrações de nutrientes para seu desenvolvimento e possuem raízes que retêm grandes quantidades de substâncias tóxicas e conseguem reter grande parte das partículas finas em suspensão na água (LEITÃO JÚNIOR et al., 2005).

O estudo de Roldán e Álvarez (2002 apud ARROYAVE, 2004), que aborda o tratamento de água residuária industrial com a utilização da macrófita *Eichhornia crassipes*, chega a atingir 97% de eficiência na remoção de metais pesados e 98% na remoção de sólidos suspensos. Outros estudos também versam sobre as características e vantagens de utilização de macrófitas no sistema biológico de tratamento, dentre os quais o estudo de Olguín e Hernández (1998), que caracteriza as macrófitas como limpadores em potencial; o de Chará (1998), que cita um estudo de caso em Valle del Cauca que mostra uma diminuição da Demanda Bioquímica de Oxigênio-DBO e na concentração de sólidos suspensos; o de Obek e Hasar (2002), que mostra a eficiência de remoção de ortofosfatos da água pela *Lemna minor* e o de Zayed (1998), que destacou a eficiência da *Lemna minor* em adsorver cádmio, cobre e selênio da água.

3.8 BIOINDICAÇÃO

De acordo com Wolterbeek (2002), define-se biomonitoramento como a avaliação de plantas ou animais que possam demonstrar, de alguma forma, mudanças nas variáveis físico-químicas do meio em que se encontram. A utilização de metodologias de bioindicação é uma maneira de se caracterizar a poluição de um local, principalmente se esta poluição for causada por elementos-traço⁴, uma vez que sua presença em concentrações anômalas pode ser facilmente detectada.

Organismos bentônicos⁵ são os mais frequentemente utilizados como bioindicadores, uma vez que possuem características como constante contato com o substrato, alta diversidade e abundância, mobilidade restrita, ciclo de vida relativamente longo e diferentes graus de tolerância a estresses ambientais. Cada grupo de bentos responde a estes estresses de alguma maneira, quer seja na alteração de seu processo reprodutivo, na deformação de sua anatomia ou em disfunções na sua fisiologia (ROSENBERG; RESH, 1993; KAPUSTA, 2008; PAMPLIN, 2004).

Plantas também são utilizadas como bioindicadores, pois possuem a capacidade de acumular elementos-traço principalmente em suas folhas. Dmuchowski, Gosdowski e Baczewsca (2011) realizaram um estudo de bioindicação usando quatro espécies de bioindicadores para verificar a magnitude da poluição por cádmio- Cd e chumbo- Pb causada pelo complexo metalúrgico de Boleslaw na cidade de Olkusz, na Polônia e, o resultado da análise indicou concentrações de até 400 mg de Pb por quilo de bioindicador, sendo que o esperado seria de 1 mg de Pb por quilo de bioindicador.

⁴ Elementos-traço são aqueles encontrados em baixas concentrações em seres vivos e solos. Alguns deles são essenciais à vida, como é o caso de Cr- cromo, Fe- ferro, Ni- níquel, Se- selênio e Zn- zinco, mas em concentrações elevadas causam impactos negativos a ecossistemas e à saúde humana. (PIERZYNSKI; SIMS; VANCE, 1994; SPARKS, 1995; VALLE, 2012).

⁵ Organismos bentônicos são os que vivem próximos, sobre ou dentro de substratos no fundo de ambientes aquáticos. Fazem parte desse grupo algumas espécies de moluscos, crustáceos, insetos e anelídeos (KAPUSTA, 2008).

A utilização de macrófitas como bioindicadores se dá no campo da eutrofização. A eutrofização é um processo natural caracterizado pelo aumento da quantidade de nutrientes inorgânicos e matéria orgânica em corpos hídricos. Wetzel (1993) descreve esse aumento como um dos estados de sucessão natural de um ecossistema aquático e que, conforme há o aumento da concentração de nutrientes, há também aumento na florescência de algas. Esse processo, quando ocorrido naturalmente e lento e gradual, atividades antrópicas podem, no entanto, acelerar esse processo e causar um desequilíbrio ecológico naquele corpo hídrico, que fica impossibilitado de absorver essa brusca variação, caracterizando então um impacto ambiental chamado eutrofização artificial, ou cultural (SOUZA, 1993).

3.9 ECOTOXICOLOGIA

A definição de ecotoxicologia foi proposta por Truhaut em 1969 (TRUHAUT, 1977) como “o ramo da toxicologia que estuda os efeitos tóxicos das substâncias, naturais e artificiais, sobre os organismos vivos, animais ou vegetais, aquáticos ou terrestres, que constituem a biosfera”.

De acordo com Radic (2011), os rejeitos de processos industriais e vindos da agricultura podem aumentar significativamente as concentrações de contaminantes em águas superficiais e em sedimentos de corpos hídricos e esse aumento pode acarretar em problemas de saúde da biota daquele local e também da comunidade que utilizará aquela água. Análises químicas não geram, por si só, resultados significativos sobre a toxicidade dessas substâncias, portanto, é fundamental testar as concentrações destas em organismos vivos e assim, inferir a sua toxidade.

Segundo Christoffoleti (2002), os estudos de ecotoxicologia vêm sendo conduzidos com a ajuda das curvas de dose-resposta, que são as curvas que

relacionam a concentração de uma substância e a intensidade do efeito por ela produzido. A Figura 4, a seguir, exemplifica as curvas de dose-resposta.

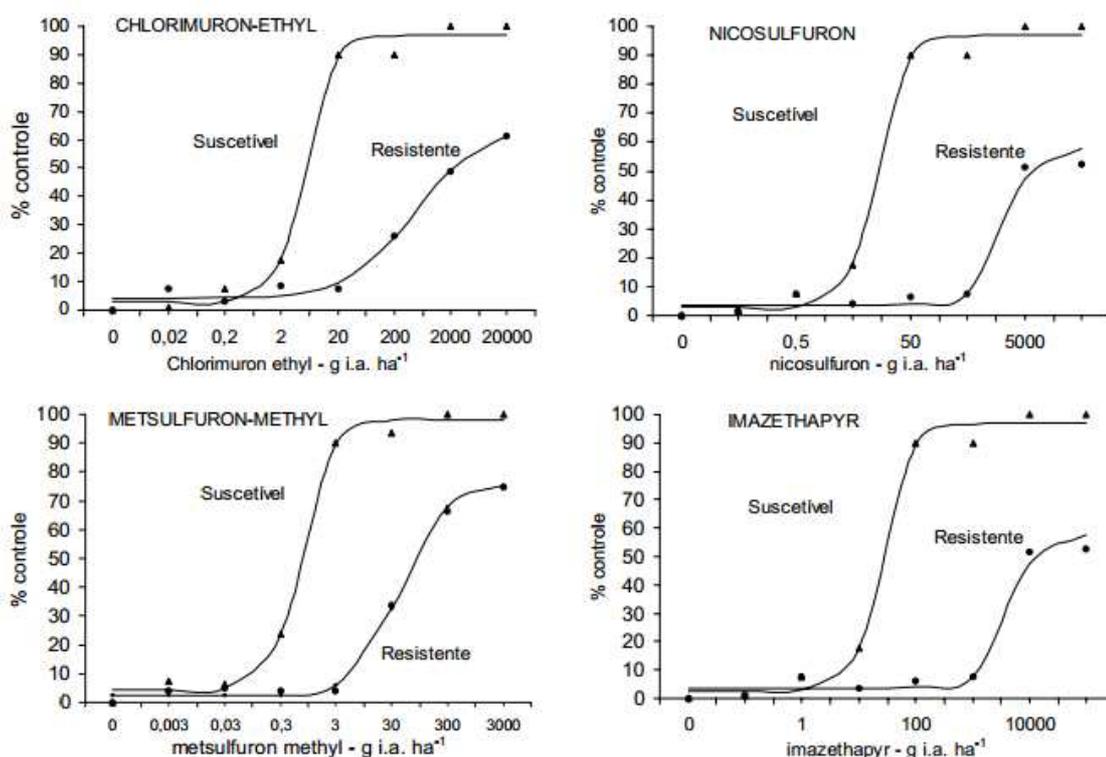


Figura 4 - Exemplos de curva dose-resposta
Fonte: CHRISTOFFOLETI (2002, p. 518)

A utilização de macrófitas nesse campo já é há muito tempo estabelecida, como bem cita Fiskesjö (1985), que aponta como justificativa para isso, a sensibilidade das plantas aos poluentes ambientais e sua capacidade de acumulação, principalmente no que se refere aos metais pesados. No caso da macrófita *Lemna minor*, ela ganha destaque nos estudos de ecotoxicologia por ser seletiva na acumulação de certas espécies químicas, por causa do seu tamanho diminuto e por ter propriedades fisiológicas bem conhecidas, conforme ressalta Radic (2011).

4 METODOLOGIA

A metodologia seguida neste trabalho é apresentada nos tópicos a seguir.

4.1 O EXPERIMENTO

Para o início do cultivo da macrófita foi necessária a preparação das soluções estoque que constituem o meio Steinberg, o qual propicia o melhor crescimento de *Lemna minor*. As concentrações e metodologias de padronização foram devidamente normalizadas conforme proposto por Steinberg (1946). O protocolo de preparação do meio se encontra no Anexo A.

As proporções escolhidas para elaboração do meio experimental foram A:50/150, B:20/180 e C:1/199, seguindo a relação M/A em que M é a quantidade em mL de solução Steinberg e A é a quantidade, também em mL, de água deionizada. Para cada proporção escolhida foram utilizados três recipientes, afim de se obter um valor médio do número de frondes dos três recipientes do mesmo meio. Em cada um dos recipientes foram colocados o número inicial de cinco frondes e o tempo de duração do experimento foi de 38 dias. Na tentativa de expor as macrófitas às condições luminosas mais próximas o possível da realidade, não foi utilizada câmara de fotoperíodo, o que indica que as plantas passaram por horas com incidência direta de luz solar e horas com incidência indireta de luz solar (efeito de nuvens ou reflexos).

4.2 MODELOS NÃO LINEARES

Na Tabela 1 estão apresentados os modelos não lineares aos quais foram ajustados os dados médios de crescimento de frondes de *Lemna minor* e suas respectivas equações.

Tabela 1 - Modelos não lineares e suas equações

Modelos	Equações
von Bertalanffy	$A(1-Be^{-kt})^3$
Logístico	$A(1+Be^{-kt})^{-1}$
Gompertz	$A\exp(-Be^{-kt})$
Morgan-Mercer-Flodin (MMF)	$(Bk+At^d)/(k+t^d)$
Bridges	$N_0+A(1-\exp(M*t^d))$

Fonte: Mattos (2013) e Liu et al. (2011)

Em todos os modelos o parâmetro A é o valor assintótico, ou seja, onde o crescimento se estabiliza; o parâmetro B é uma constante de integração e não tem interpretação biológica; o parâmetro k, exceto para o modelo de MMF, é a taxa de crescimento, isto é, o quão rápido ou devagar a planta vai atingir seu valor assintótico; os parâmetros d e M, presentes apenas nos modelos MMF e de Bridges são utilizados para aumentar a flexibilidade de alguns modelos e apresentam relação com o ponto de inflexão da curva e o parâmetro N_0 , presente apenas no modelo de Bridges é o número inicial de indivíduos no experimento.

4.3 ESTIMAÇÃO DOS PARÂMETROS

Gallant (1987) afirma que o método dos quadrados mínimos é utilizado na estimação dos parâmetros em modelos não lineares da mesma maneira que em modelos lineares. Seja uma equação de regressão não linear

$$Y_i = f(X_i, \gamma) + e_i$$

em que $i = 1, 2, 3, \dots, n$.

Assumindo-se que $E(e_i) = 0$, $\text{Var}(e_i) = \sigma^2$ e $e_i \sim N(0, \sigma^2)$, esta função pode ser reescrita na forma matricial

$$Y = f(\gamma) + e$$

em que

$$Y = \begin{bmatrix} Y_1 \\ Y_2 \\ \cdot \\ \cdot \\ Y_n \end{bmatrix}; f(\gamma) = \begin{bmatrix} f(X_1, \gamma) \\ f(X_2, \gamma) \\ \cdot \\ \cdot \\ f(X_n, \gamma) \end{bmatrix}; e = \begin{bmatrix} e_1 \\ e_2 \\ \cdot \\ \cdot \\ e_n \end{bmatrix}$$

A estimativa para γ é dada pelo vetor $\hat{\gamma}$ que minimiza a soma de quadrados do resíduo,

$$S(\gamma) = \sum_{i=1}^n [Y_i - f(X_i, \gamma)]^2$$

Escrevendo-se $S(\gamma)$ na forma matricial, tem-se

$$S(\gamma) = [Y - f(\gamma)]^T [Y - f(\gamma)]$$

Derivando a $S(\gamma)$ em relação a γ , tem-se

$$\frac{\partial S(\gamma)}{\partial \gamma'} = \frac{\partial}{\partial \gamma'} [Y - f(\gamma)]^T [Y - f(\gamma)]$$

Fazendo

$$\frac{\partial}{\partial \gamma'} f(\gamma) = F(\gamma)$$

tem-se

$$\frac{\partial S(\gamma)}{\partial \gamma'} = -2[Y - f(\gamma)]^T F(\gamma)$$

Igualando-se a equação acima a zero, obtém-se

$$-2[Y - f(\hat{\gamma})]^T F(\hat{\gamma}) = 0$$

$$[Y - f(\hat{\gamma})]^T F(\hat{\gamma}) = 0$$

que é um sistema de equações normais não linear.

Substituindo-se $F(\hat{\gamma})$ por X , a equação fica

$$[Y - f(\hat{\gamma})]^T X = 0$$

$$X^T Y - X^T f(\hat{\gamma}) = 0$$

$$X^T Y = X^T f(\hat{\gamma})$$

Fazendo-se

$$[Y - f(\hat{\gamma})] = \hat{e}$$

tem-se

$$X^T \hat{e} = 0$$

Não existe uma solução explícita para o sistema de equações normais não linear e, portanto as soluções são obtidas por métodos iterativos. Neste trabalho o método utilizado é o de mínimos quadrados ordinários com o algoritmo de Gauss-Newton.

4.4 RECURSOS COMPUTACIONAIS

As rotinas deste trabalho foram implementadas com a utilização dos pacotes *nlme* e *car* do software R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2013). A função *gnls*, contida no pacote *nlme*, foi utilizada para estimação dos parâmetros dos modelos não lineares.

4.5 TESTE DE DURBIN-WATSON PARA AUTOCORRELAÇÃO RESIDUAL

O teste de Durbin –Watson (DURBIN; WATSON, 1951) testa a hipótese nula de que os erros dos modelos são independentes, contra a hipótese de que estes erros apresentam uma autocorrelação de primeira ordem e a estatística do teste é dada por:

$$DW = \frac{\sum_{t=2}^n (e_t - e_{t-1})^2}{\sum_{t=1}^n e_t^2} \quad (1)$$

sendo

e_t o resíduo no tempo t e

e_{t-1} o resíduo no tempo $t - 1$.

4.6 COMPARAÇÃO DA QUALIDADE DE AJUSTE DOS MODELOS

A comparação da qualidade dos ajustes dos modelos não lineares foi realizada por meio da utilização dos seguintes avaliadores de qualidade de ajuste: coeficiente de determinação ajustado (R^2_a), critério de informação de Akaike (AIC), critério de informação bayesiano (BIC) e o Desvio Padrão Residual (DPR).

4.6.1 Coeficiente de determinação ajustado- R_a^2

O coeficiente de determinação ajustado é representado por:

$$R_a^2 = 1 - \frac{n-1}{n-(p+1)} (1 - R^2) \quad (2)$$

em que

$$R^2 = 1 - \frac{SQR}{SQT};$$

SQR é a soma de quadrados do resíduo;

SQT é a soma de quadrados total;

n é o número de observações utilizadas para ajustar a curva e

p é o número de parâmetros na função, incluindo o intercepto.

4.6.2 Critério de informação de Akaike- AIC

O critério de informação de Akaike- AIC, (AKAIKE, 1974) é representado pela seguinte expressão:

$$AIC = -2 \ln L(\hat{\gamma}) + 2(p) \quad (3)$$

em que

p é o número de parâmetros a serem estimados no modelo e

$L(\hat{\gamma})$ é o máximo da função de verossimilhança.

O AIC é usado para comparar modelos não-encaixados ou quando estão sendo comparados três ou mais modelos e, quanto menor o seu valor, melhor o modelo.

4.6.3 Critério de informação Bayesiano- BIC

O critério de informação Bayesiano- BIC, (SCHWARZ, 1978) pode ser representado pela seguinte expressão:

$$BIC = -2 \ln L(\hat{\gamma}) + p \ln(n) \quad (4)$$

em que

$L(\hat{\gamma})$ é o máximo da função de verossimilhança;

p é o número de parâmetros a serem estimados e

n é o número de observações da amostra.

O BIC também deve ser usado na comparação de modelos não aninhados (nota de rodapé). Quanto menor o valor de BIC, melhor o modelo.

4.6.4 Desvio padrão residual- DPR

A estimativa do desvio padrão residual foi obtida pela expressão:

$$DPR = \sqrt{\frac{QMR}{n-p}} \quad (5)$$

em que

QMR é o quadrado médio do resíduo;

n é o número de observações;

p é o número de parâmetros do modelo.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 5 apresenta a curva do crescimento do número médio de frondes de *Lemna minor* em função do tempo e em diferentes concentrações de cultivo.

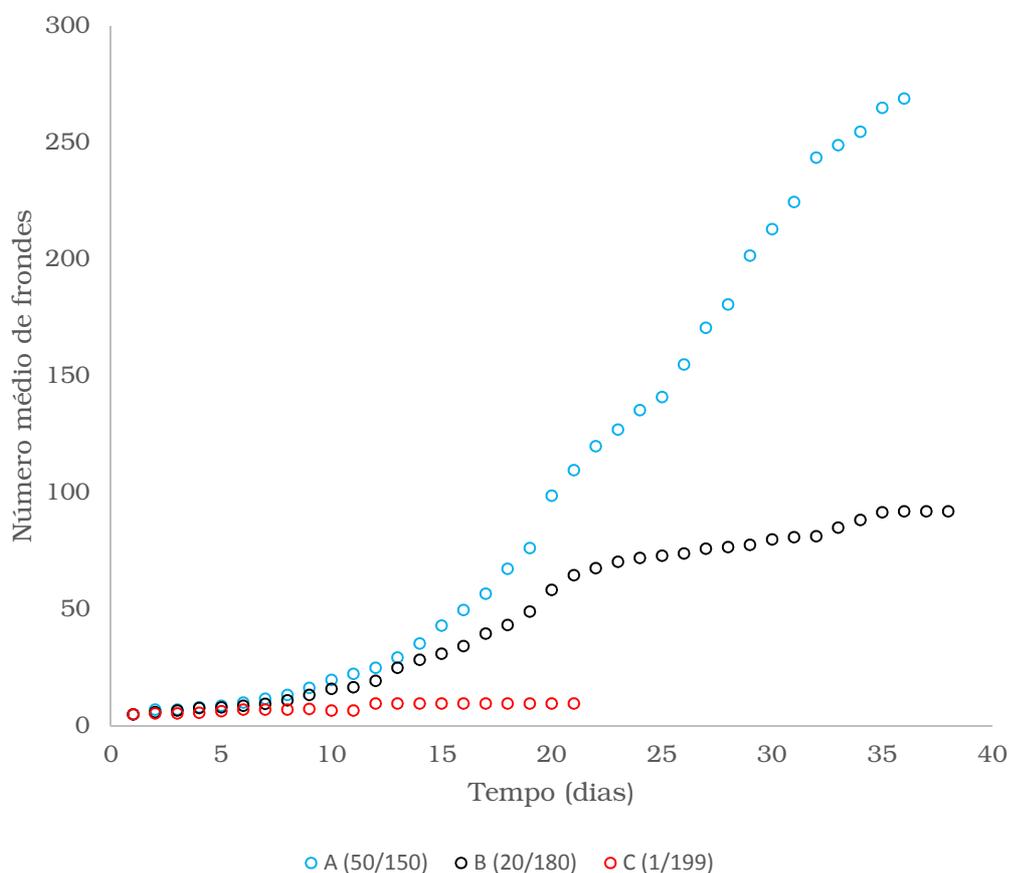


Figura 5 - Curva de crescimento de *Lemna minor*
Fonte: Próprio autor

Como pode-se verificar na Figura 5, o crescimento das espécies cultivadas no tratamento A apresenta uma curva mais acentuada, o que é esperado, uma vez que maior relação M/A significa maior quantidade de

nutrientes para a planta e portanto, maior crescimento. O tratamento B possui um crescimento menor do que o A. Já o crescimento dos indivíduos do tratamento C não foi satisfatório, uma vez que não houve fase de crescimento exponencial e a assíntota da curva foi atingida num intervalo de tempo muito rápido. Esse fato deve-se à baixa quantidade de nutrientes do meio.

Como os dados devem possuir um crescimento sigmoidal para que seja possível um ajuste por meio de modelos não lineares, o ajuste dos modelos foi realizado apenas para o crescimento da planta no tratamento B, uma vez que este foi o único a atingir a assíntota de crescimento no tempo estipulado.

Apesar da contagem de frondes ter sido feita diariamente durante 38 dias de experimento, não foram usados todos os dados obtidos na modelagem do crescimento. É vasta a literatura que aborda a temática de ajuste de modelos não lineares a crescimento das mais diferentes espécies animais e vegetais e não é comum encontrar-se medições diárias de variáveis como peso de animais ou comprimento de frutos. A estatística ajuda justamente a estimar os dados que se encontram entre os dados medidos. No estudo feito por Mendes et al. (2009), os dados de massa de fêmeas Hereford foram medidos de 15 em 15 dias. Liu et al. (2011) realizaram em seu estudo uma pesagem semanal de minks (*Neovison vison*). Malhado et al. (2009) realizaram pesagem de bovinos da raça Nelore espaçadas de 90 dias. Oliveira, Lôbo e Pereira (2000) realizavam pesagens de fêmeas da raça Guzerá na primeira semana de meses pares. Puiatti et al. (2013) estudaram dados de medida dos parâmetros para descrever acúmulo de matéria seca em plantas de alho nos tempos 60, 90, 120 e 150 dias após o plantio.

Os dados utilizados na modelagem são apresentados na Figura 6.

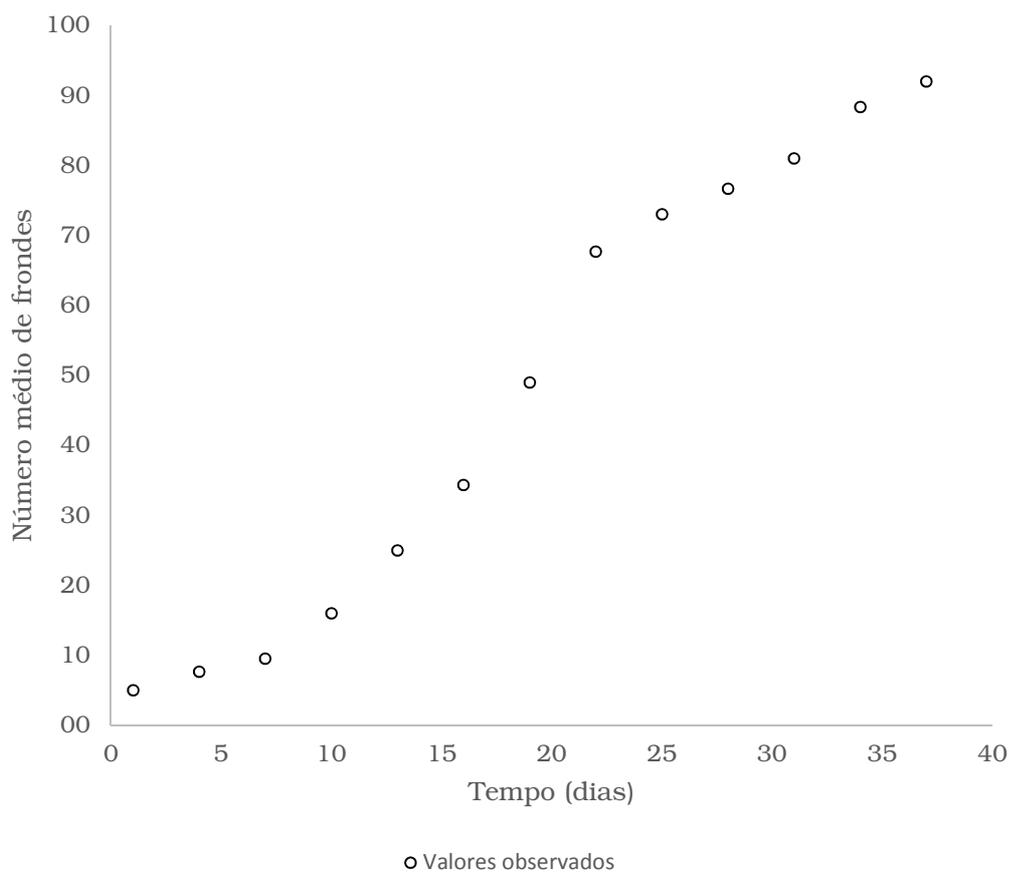


Figura 6 - Curva de crescimento de *Lemna minor* com os dados utilizados
Fonte: Próprio autor

Foi realizado o teste DW para todos os modelos ajustados afim de detectar uma possível existência de autocorrelação nos resíduos. Neste teste, a hipótese nula de que os resíduos não são autocorrelacionados é testada contra a hipótese de que os resíduos seguem um processo autorregressivo de primeira ordem conforme Draper e Smith (1998). Os resultados obtidos confirmam a presença de resíduos autocorrelacionados apenas no modelo de von Bertalanffy.

5.1 ANÁLISE DE RESÍDUOS

Os gráficos de resíduos são usados para que a aleatoriedade dos resíduos de cada modelo seja percebida visualmente. Quanto mais dispersos e aleatórios os pontos, melhor, e quanto mais tendenciosos e organizados, pior.

Os resíduos do modelo de Gompertz e von Bertalanffy (tanto o modelo com erros independentes- EI como o com parâmetros de autocorrelação de primeira ordem- AR1) não estão completamente aleatorizados e possuem uma tendência que pode ser facilmente observada. Todavia esta tendência não foi suficientemente forte para que o teste de DW detectasse autocorrelação residual nos modelos.

No que se refere aos resíduos do modelo Logístico, MMF e Bridges, diferentemente dos modelos acima descritos, há maior aleatoriedade dos resíduos, o que também foi detectado pelo teste de DW, que acusou inexistência de erros autocorrelacionados.

Na análise geral dos gráficos de resíduos, percebeu-se que o resíduo da oitava observação se apresentou discrepante dos demais, para a maioria dos modelos. Ressalta-se que a oitava observação é aquela que se situa logo após o ponto de inflexão das curvas de todos os modelos. Em se tratando de organismos vivos distintos, em que cada fronde é um indivíduo e tem as suas características de crescimento independentes, ou seja, cada uma pode atingir a sua taxa máxima de crescimento em um momento, o ponto de inflexão de uma fronde pode não coincidir com o das demais, o que gera o resíduo maior nesse momento do experimento.

Os gráficos de resíduos de todos os modelos são mostrados na Figura 7.

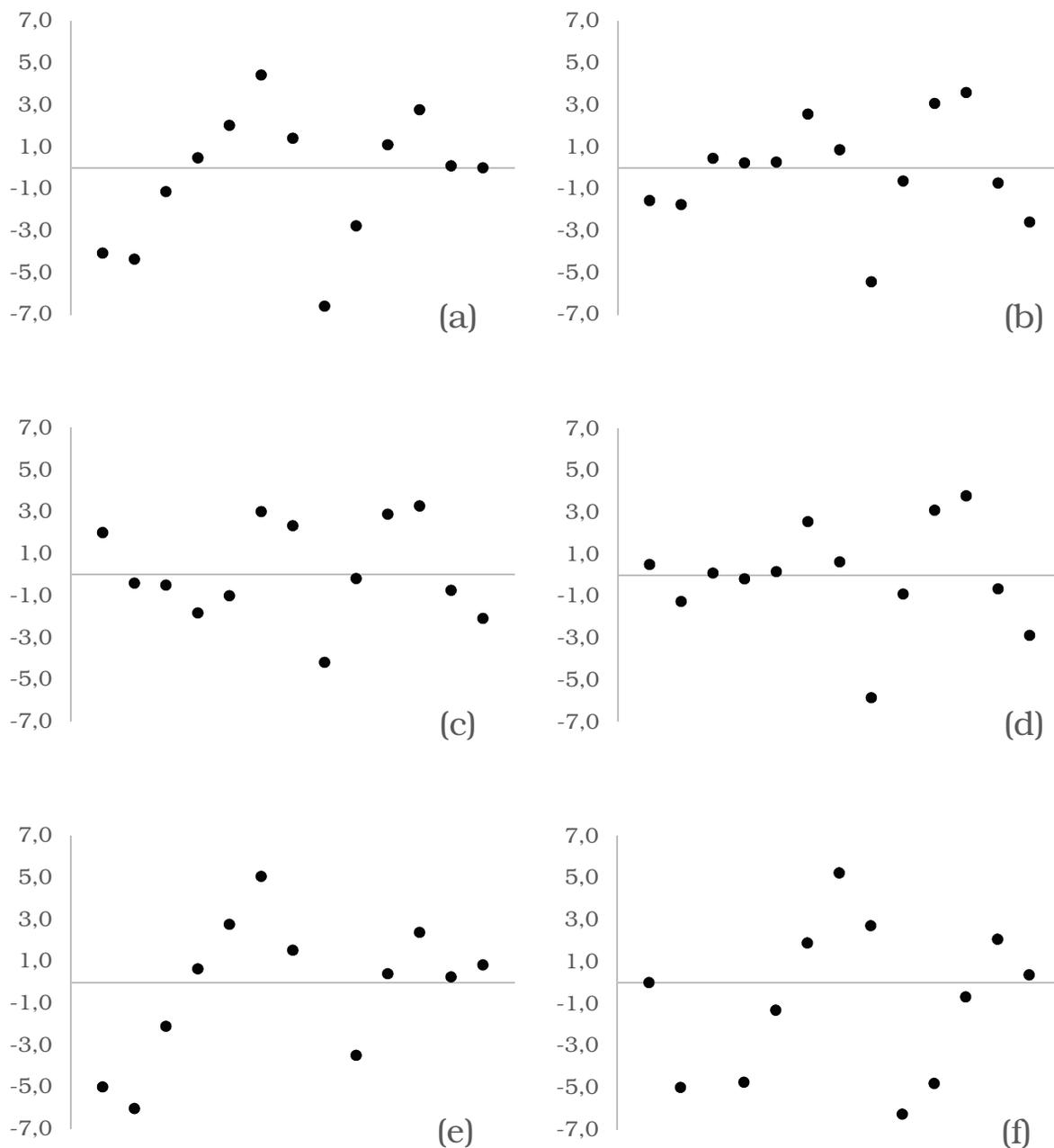


Figura 7 - Gráficos de Resíduos. (a) Modelo de Gompertz; (b) Modelo Logístico; (c) Modelo MMF; (d) Modelo de Bridges; (e) Modelo de von Bertalanffy EI e (f) Modelo de von Bertalanffy com AR1

Fonte: Próprio autor

Deste ponto de vista, o modelo Logístico se mostra como o melhor modelo para o crescimento de *Lemna minor*, o que se confirma com o exposto por

Puiatti et al. (2013), que traz o modelo Logístico como um dos mais utilizados para descrever o crescimento de plantas.

As seções a seguir apresentam as tabelas com as estimativas dos parâmetros, erros padrões e valores-p para o teste t de cada um dos modelos testados, bem como os gráficos das funções ajustadas para cada modelo. O nível de significância (α) utilizado para todas as análises foi de 5%.

5.2 MODELO DE GOMPERTZ

A Tabela 2 apresenta as estimativas dos parâmetros, erros padrões e valores-p para o teste t do modelo de Gompertz ajustado aos dados médios de crescimento de frondes da macrófita *Lemna minor*.

Tabela 2 - Estimativas dos parâmetros, erros padrões e valores-p para o teste t referentes ao modelo de Gompertz ajustado aos dados médios de crescimento de frondes da macrófita *Lemna minor*

Parâmetros	Estimativas	Erros padrões	Valor-p (teste t)
A	102,32079	5,739010	10 ⁻⁴
B	5,23399	0,781955	10 ⁻⁴
k	0,10528	0,012432	10 ⁻⁴

Fonte: Próprio autor

Percebe-se, ao analisar os resultados da Tabela 2, que todos os parâmetros do modelo foram significativos, de acordo com o valor-p encontrado para cada um deles. Pela estimativa do parâmetro A, nota-se que o número médio de frondes foi superestimado nesse modelo, uma vez que o valor observado experimentalmente foi 92,0 frondes. Araújo et al. (2009) e

Freitas e Barioni Junior (2005) também encontraram, em seus estudos, parâmetros assintóticos superestimados com este modelo.

O valor de k indica a taxa de crescimento da espécie. Valores maiores de k indicam velocidade de crescimento mais rápida, ou seja, que a planta vai atingir a sua assíntota de crescimento de maneira mais rápida do que aquelas espécies que possuem valor menor para este parâmetro. Mendes (2011) relatou valor de k semelhante ao analisar o crescimento de tomates também com o modelo de Gompertz.

A Figura 8 apresenta a curva de crescimento para o modelo de Gompertz ajustado.

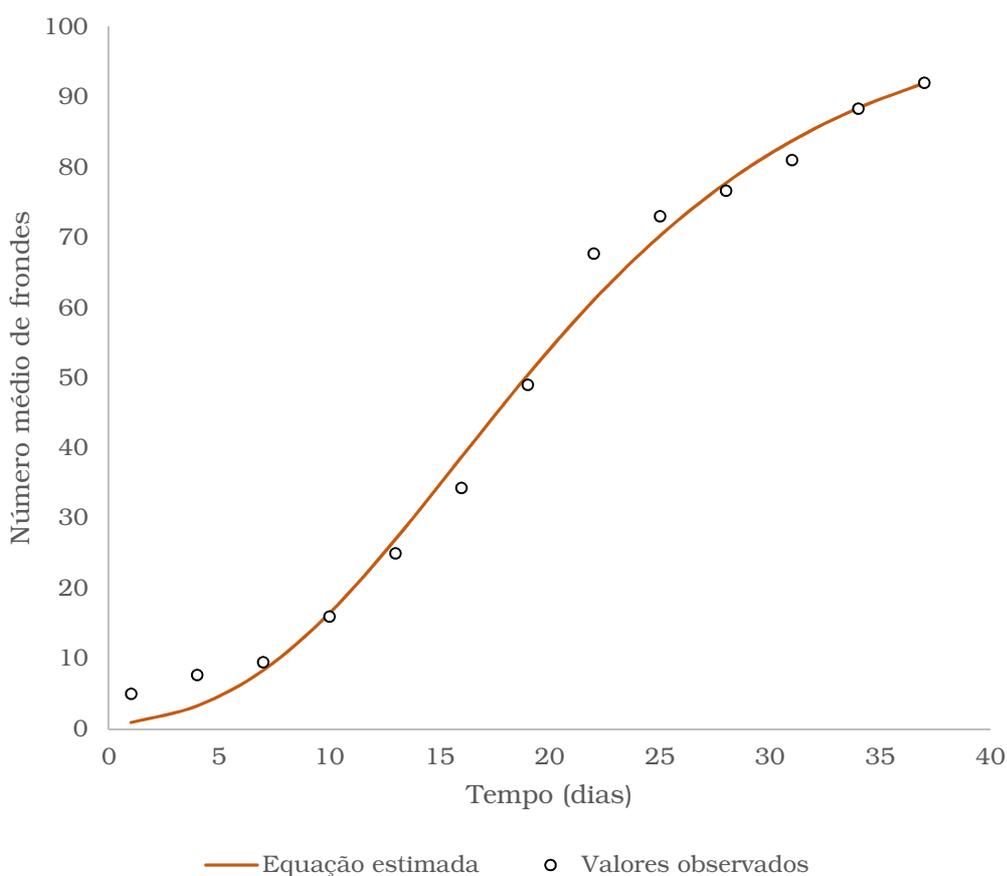


Figura 8 - Modelo de Gompertz ajustado aos dados médios de crescimento de frondes da macrófita *Lemna minor*

Fonte: Próprio autor

A análise da curva da Figura 8 aponta a subestimação do número médio de frondes nos sete primeiros dias de cultivo da planta. Oliveira, Lôbo e Pereira (2000) observaram que o modelo de Gompertz gerou valores superestimados do peso ao nascimento de fêmeas bovinas da raça Guzerá.

O modelo de Gompertz não possui parâmetro que indica o ponto de inflexão da curva, mas visualmente percebe-se que a curva muda sua inclinação por volta do vigésimo primeiro dia de cultivo, o que indica que, a partir daí, a taxa de crescimento diminui.

Ainda que o parâmetro A tenha sido superestimado por este modelo, a função gera boa estimativa para o valor assintótico, ou seja, isoladamente o parâmetro A está superestimado, mas em conjunto com os outros parâmetros da função, o valor assintótico gerado pelo modelo se aproxima do observado na prática.

5.3 MODELO LOGÍSTICO

A Tabela 3 apresenta as estimativas dos parâmetros, erros padrões e valores-p para o teste t do modelo Logístico ajustado aos dados médios de crescimento de frondes da macrófita *Lemna minor*.

Tabela 3 - Estimativas dos parâmetros, erros padrões e valores-p para o teste t referentes ao modelo Logístico ajustado aos dados médios de crescimento de frondes da macrófita *Lemna minor*

Parâmetros	Estimativas	Erros padrões	Valor-p (teste t)
A	91,87129	2,370694	10 ⁻⁴
B	31,17971	6,356084	6.10 ⁻⁴
k	0,19003	0,013408	10 ⁻⁴

Fonte: Próprio autor

Nota-se na Tabela 3, que todos os parâmetros foram considerados significativos pelo teste t e que o parâmetro A possui uma estimativa condizente com a realidade da espécie, que é cerca de 92,0 frondes. Araújo et al. (2009) e Oliveira, Lôbo e Pereira (2000), no entanto, relataram a subestimação deste parâmetro com o modelo Logístico em seus estudos.

Observa-se ainda na Tabela 3 que a taxa de crescimento k do modelo Logístico é praticamente o dobro da taxa de crescimento do modelo de Gompertz. Isso indica que no modelo Logístico atinge mais rapidamente a sua estabilidade se comparado ao modelo de Gompertz. Isto pode ser comprovado pelo próprio valor estimado do parâmetro A, quando comparado ao mesmo parâmetro do modelo de Gompertz, que possui menor k e, por isso, atinge a assíntota em um momento posterior.

A Figura 9 apresenta a curva de crescimento para o modelo Logístico ajustado.

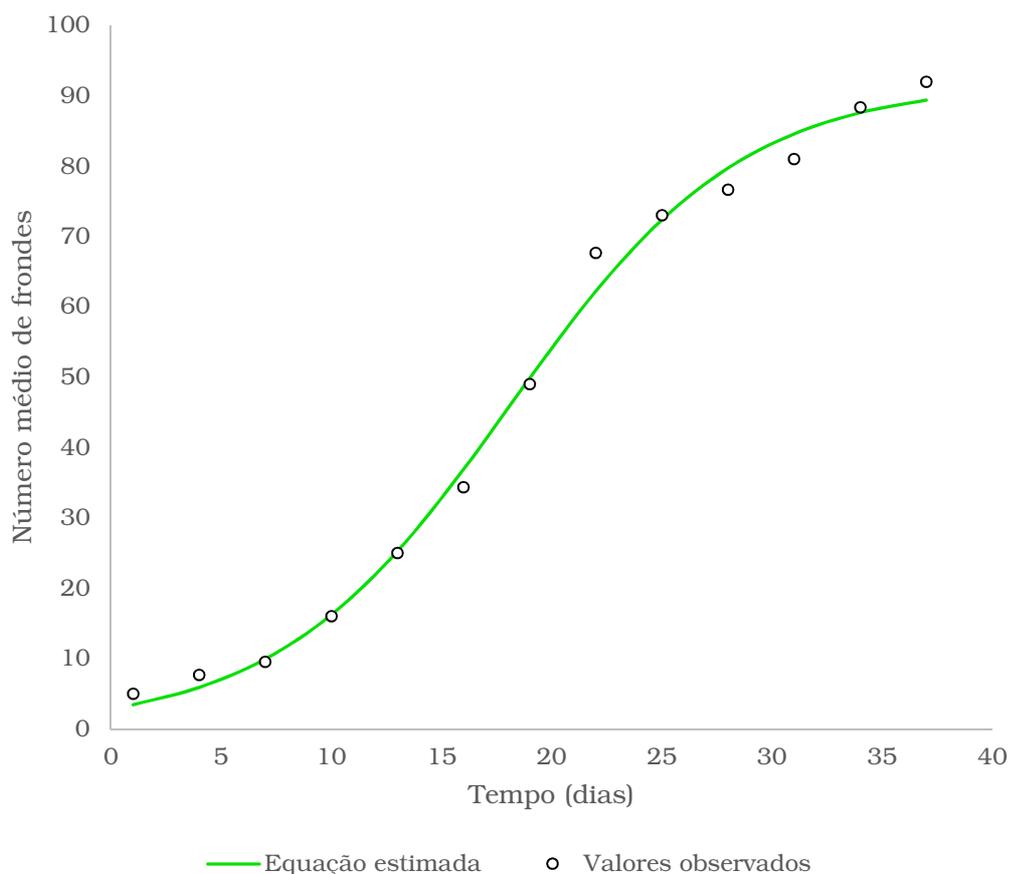


Figura 9 - Modelo Logístico ajustado aos dados médios de crescimento de frondes da macrófita *Lemna minor*

Fonte: Próprio autor

Nota-se que a curva da Figura 9 apresenta comportamento semelhante em toda a sua extensão e não há subestimação ou superestimação excessiva do número médio de frondes. Oliveira, Lôbo e Pereira (2000) relataram valores superestimados no início da curva ajustada pelo modelo Logístico para o crescimento de fêmeas bovinas da raça Guzerá.

Assim como o modelo de Gompertz, o modelo Logístico não possui parâmetro referente ao ponto de inflexão, o que não impede sua avaliação visual. A curva sugere um ponto de inflexão em torno do vigésimo primeiro dia de cultivo. Apesar de também não possuir parâmetro que considere o número inicial de frondes, o modelo Logístico não subestimou esse valor, diferentemente do modelo de Gompertz.

5.4 MODELO MMF

A Tabela 4 apresenta as estimativas dos parâmetros, erros padrões e valores-p para o teste t do modelo MMF ajustado aos dados médios de crescimento de frondes da macrófita *Lemna minor*.

Tabela 4 - Estimativas dos parâmetros, erros padrões e valores-p para o teste t referentes ao modelo de MMF ajustado aos dados médios de crescimento de frondes da macrófita *Lemna minor*

Parâmetros	Estimativas	Erros padrões	Valor-p (teste t)
A	98,86	4,70	10 ⁻⁴
B	6,71	1,67	0,0031
k	39.296,02	44.530,65	0,4005
d	3,56	0,41	10 ⁻⁴

Fonte: Próprio autor

Os resultados da Tabela 4 mostram que o parâmetro A também foi superestimado nesse modelo, porém não tanto quanto no modelo de Gompertz. Mas mesmo superestimado o parâmetro A, os valores gerados pela função como um todo resultam em valores compatíveis com os dados tomados no experimento.

Atenta-se para o valor do parâmetro k, que neste modelo não está relacionado à taxa de crescimento da planta. Outro fato notável é que a estimativa desse parâmetro foi considerada não significativa pelo teste t, enquanto os demais parâmetros foram todos significativos.

A Figura 10 apresenta curva de crescimento para o modelo MMF ajustado.

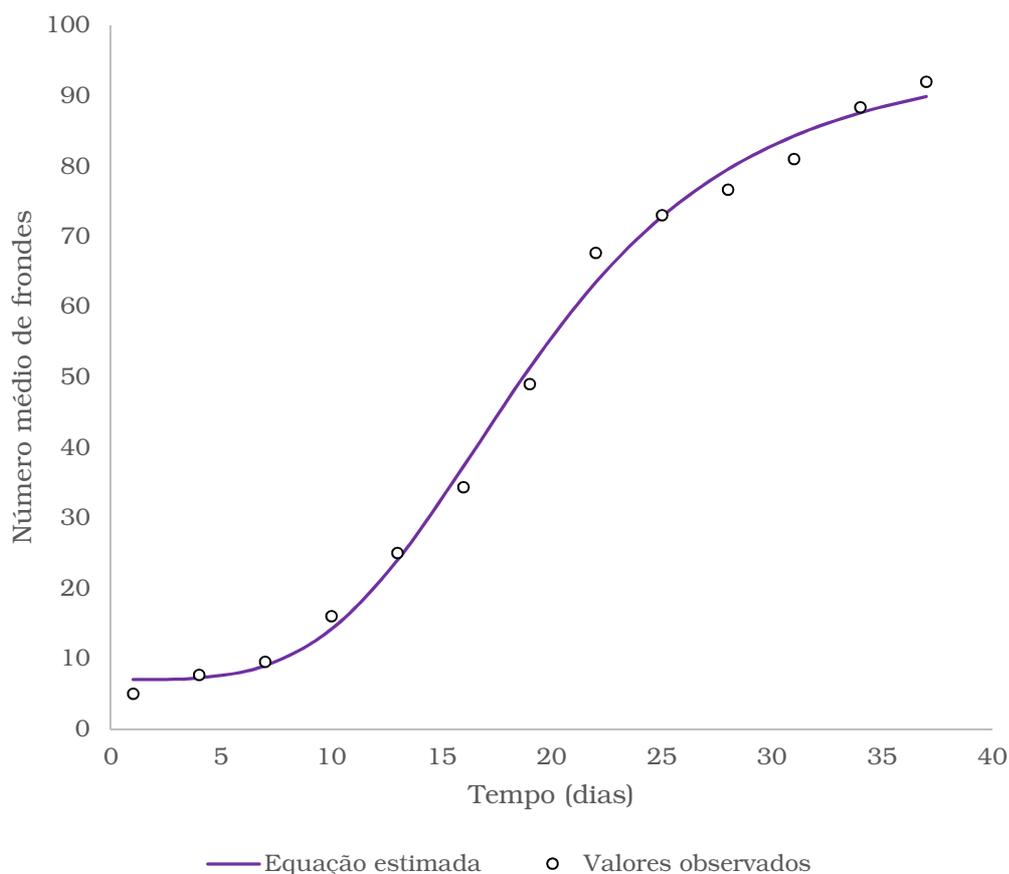


Figura 10 - Modelo MMF ajustado aos dados médios de crescimento de frondes da macrófita *Lemna minor*

Fonte: Próprio autor

A curva gerada pelo modelo MMF observada na Figura 10 não superestima nem subestima bruscamente os valores iniciais da função e tampouco possui assíntota muito distante do valor observado ao fim do experimento.

O modelo MMF possui o parâmetro d que flexibiliza o ajuste do modelo e se relaciona com o ponto de inflexão do mesmo. Assim como nos outros modelos ajustados, este ponto é observado nas proximidades do vigésimo primeiro dia de cultivo.

O número médio de frondes dos primeiros dias é melhor estimado por este modelo do que pelo modelo de Gompertz.

5.5 MODELO DE BRIDGES

A Tabela 5 apresenta as estimativas dos parâmetros, erros padrões e valores-p para o teste t do modelo de Bridges ajustado aos dados médios de crescimento de frondes da macrófita *Lemna minor*.

Tabela 5 - Estimativas dos parâmetros, erros padrões e valores-p para o teste t referentes ao modelo de Bridges ajustado aos dados médios de crescimento de frondes da macrófita *Lemna minor*

Parâmetros	Estimativas	Erros padrões	Valor-p (teste t)
A	84,61786	3,828603	10 ⁻⁴
d	2,70015	0,271069	10 ⁻⁴
M	-0,00026	0,000208	0,2418
N₀	5,49230	1,959745	0,0206

Fonte: Próprio autor

A análise dos resultados da Tabela 5 indica que o parâmetro A foi consideravelmente subestimado nesse modelo e, diferentemente dos modelos de Gompertz e MMF que superestimaram esse parâmetro, a função não foi eficiente na aproximação da parte assintotal da curva aos dados observados no cultivo.

Quanto ao parâmetro M, que serve para flexibilizar o modelo, nota-se que, de acordo com o teste t, não houve significância deste. Ressalta-se que os demais parâmetros foram todos considerados significativos.

O parâmetro N₀ indica o número médio de frondes utilizado no início do cultivo, e o valor encontrado na função se aproxima bastante do número real utilizado, que foi 5,0.

A Figura 11 apresenta a curva de crescimento para o modelo de Bridges ajustado.

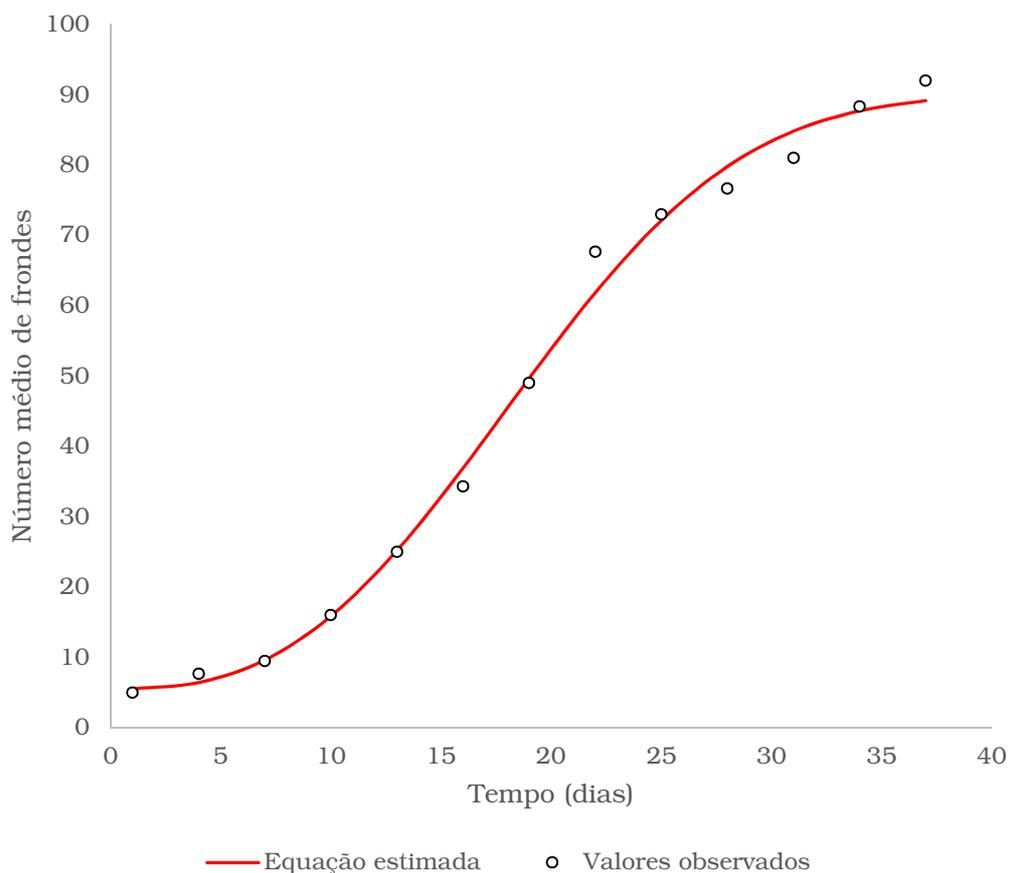


Figura 11 - Modelo de Bridges ajustado aos dados médios de crescimento de frondes da macrófita *Lemna minor*

Fonte: Próprio autor

Analisando a curva da Figura 11, percebe-se que o modelo de Bridges também não subestima ou superestima bruscamente nenhuma parte da curva, apenas subestima um pouco a assíntota de crescimento, o que está de acordo com a estimativa do parâmetro A.

Confirmando a tendência de todos os modelos deste trabalho, o ponto de inflexão do modelo de Bridges é observado nos entornos do vigésimo primeiro dia de cultivo.

5.6 MODELO DE VON BERTALANFFY

A Tabela 6 apresenta as estimativas dos parâmetros, erros padrões e valores-p para o teste t do modelo de von Bertalanffy ajustado aos dados médios de crescimento de frondes da macrófita *Lemna minor*, com erros independentes.

Tabela 6 - Estimativas dos parâmetros, erros padrões e valores-p para o teste t referentes ao modelo de von Bertalanffy ajustado aos dados médios de crescimento de frondes da macrófita *Lemna minor*.. (Erros independentes)

Parâmetros	Estimativas	Erros padrões	Valor-p (teste t)
A	109,73101	9,486626	10 ⁻⁴
B	1,03623	0,146350	10 ⁻⁴
k	0,07974	0,013223	10 ⁻⁴

Fonte: Próprio autor

As estimativas dos parâmetros da Tabela 6 foram todas consideradas significativas e o parâmetro A foi superestimado nesse modelo, assim como nos modelos de Gompertz e MMF. Araújo et al. (2009) também relataram superestimação da assíntota de crescimento de búfalas da raça Murrah no modelo de von Bertalanffy.

O modelo de von Bertalanffy não apresenta boa estimação para o número inicial de frondes do experimento e, assim como os outros modelos, possui ponto de inflexão em torno do vigésimo primeiro dia.

O parâmetro k deste modelo é bem menor que o k do modelo Logístico e se aproxima do valor do mesmo parâmetro do modelo de Gompertz, o que indica que, dentre os três modelos, este é o que atinge a sua assíntota mais

lentamente. O valor do parâmetro A corrobora com o exposto, uma vez que valores menores de k geram valores maiores de A.

A Figura 12 apresenta a curva de crescimento para o modelo de von Bertalanffy ajustado.

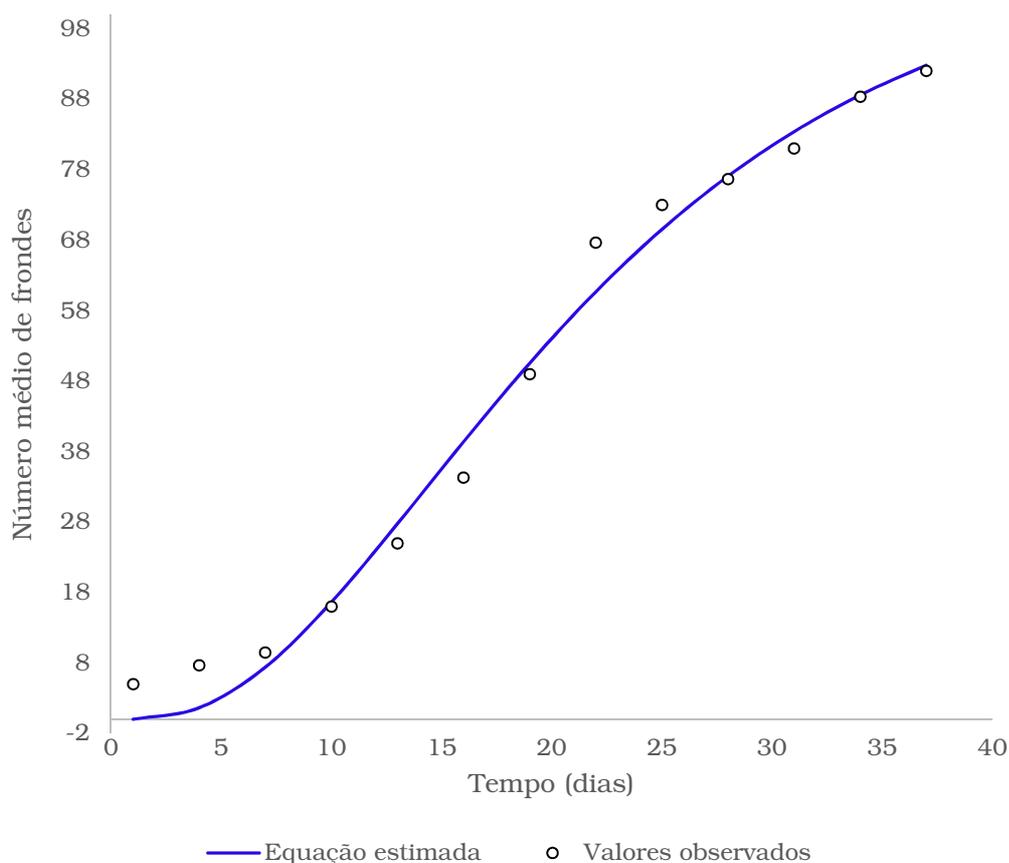


Figura 12 - Modelo de von Bertalanffy ajustado aos dados médios de crescimento de frondes da macrófita *Lemna minor* (EI- Erros Independentes)

Fonte: Próprio autor

Pela curva de crescimento do modelo da Figura 12 percebe-se que há uma tendência de subestimação dos valores nos dez primeiros dias de cultivo, mas esta tendência deixa de existir a partir daí. O estudo de Oliveira, Lôbo e

Pereira (2000), por sua vez, traz valores superestimados de peso ao nascimento das espécies tratadas.

A Tabela 7 apresenta as estimativas dos parâmetros, erros padrões e valores-p para o teste t do modelo de von Bertalanffy ajustado aos dados médios de crescimento de frondes da macrófita *Lemna minor*, com estimativa do parâmetro de erro autocorrelacionado de primeira ordem.

Tabela 7 - Estimativas dos parâmetros, erros padrões e valores-p para o teste t referentes ao modelo de von Bertalanffy ajustado aos dados médios de crescimento de frondes da macrófita *Lemna minor* (Erros autocorrelacionados de primeira ordem)

Parâmetros	Estimativas	Erros padrões	Valor-p (teste t)
A	107,29332	10,856954	10^{-4}
B	1,09213	0,218549	$5 \cdot 10^{-4}$
k	0,08385	0,017509	$7 \cdot 10^{-4}$
Φ_1	0,2285903		

Fonte: Próprio autor

Percebe-se que todos os parâmetros do modelo foram considerados significativos pelo teste t. O parâmetro A, embora também superestimado nesse modelo, possui melhor aproximação com a assíntota observada no experimento.

O parâmetro k é um pouco maior do que o do modelo com erros independentes, mas ainda assim menor do que os dos modelos de Gompertz e Logístico.

O parâmetro Φ_1 é o parâmetro de autocorrelação de primeira ordem que, multiplicado pelo erro no tempo t-1, melhora o ajuste da função. Ele foi gerado pela função *corARMA*, dentro da função *gnls*, no software R.

A Figura 13 apresenta a curva de crescimento para o modelo de von Bertalanffy ajustado com parâmetro de erro autocorrelacionado de primeira ordem.

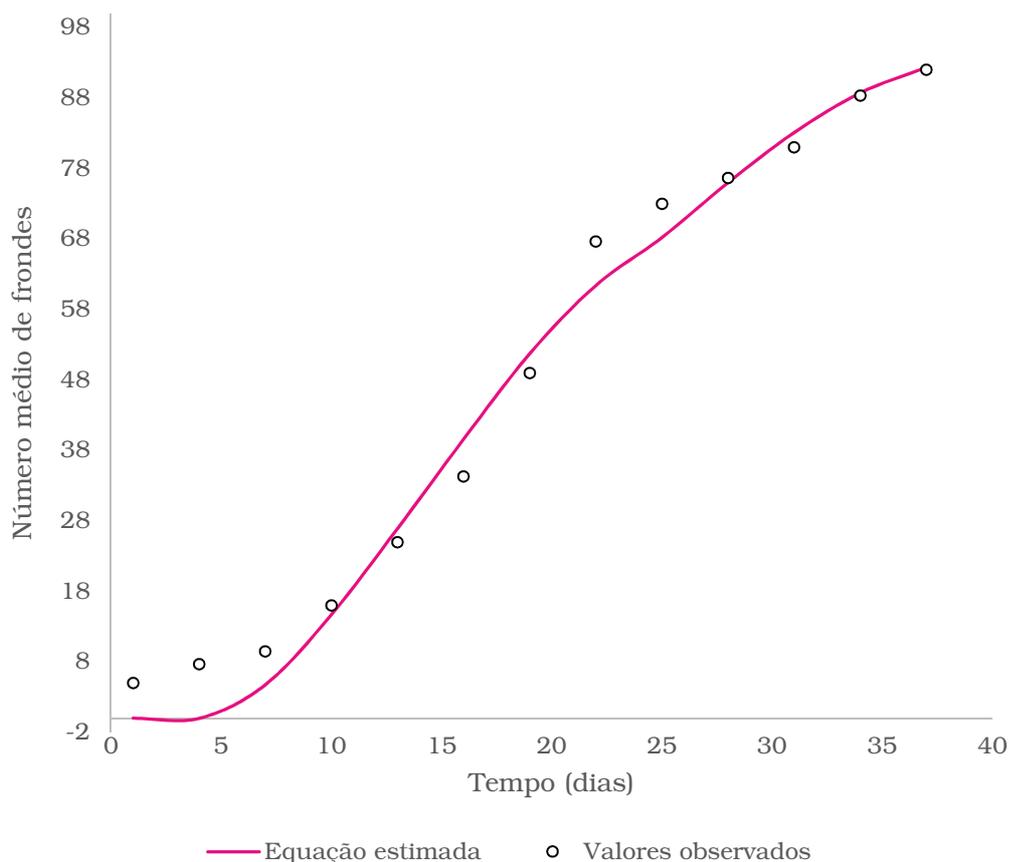


Figura 13 - Modelo de von Bertalanffy ajustado aos dados médios de crescimento de frondes da macrófita *Lemna minor* (AR1- Auto Correlação de ordem 1)

Fonte: Próprio autor

Assim como a curva do modelo de von Bertalanffy com erros independentes, o modelo com AR1, observado na curva da Figura 13, também subestima o número médio de frondes do início do experimento. Nota-se também que ainda com o parâmetro A superestimado, o valor gerado pela função se aproxima do valor da assíntota observada experimentalmente.

5.7 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE AJUSTE DOS MODELOS

A Tabela 8 apresenta o resultado dos avaliadores de cada um dos modelos, em que DW é o teste de Durbin-Watson, AIC é o Critério de Informação de Akaike, BIC é o critério de informação Bayesiano, R_a^2 é o coeficiente de determinação ajustado e DPR é o desvio padrão residual.

Tabela 8 - Avaliadores de qualidade de ajuste para os modelos

Modelo	Nº de parâmetros	Valor-p (DW)	BIC	AIC	R_a^2	DPR
von Bertalanffy EI	3	0,044	80,61591	78,35612	0,9852	4,1299
von Bertalanffy AR1	4	0,448	79,33313	75,94343	0,9819	4,0644
Logístico	3	0,402	69,59807	67,33827	0,9927	2,7033
Gompertz	3	0,080	76,46671	74,20692	0,9887	3,5207
MMF	4	0,728	70,14715	67,32241	0,9927	2,6370
Bridges	4	0,492	72,79062	69,96587	0,9913	2,9192

Fonte: Próprio autor

O teste de DW foi utilizado como um avaliador da qualidade do ajuste por entender-se que um modelo que não possui erros autocorrelacionados é melhor do que um modelo cujos erros são autocorrelacionados.

De acordo com os resultados do AIC o modelo MMF é apontado como o mais adequado. Quando se analisa porém o valor de BIC, percebe-se que o modelo Logístico é mais adequado. Os demais modelos apresentam valores de AIC e BIC maiores do que os para os modelos Logístico e MMF e também

possuem valores de R^2_a menores, o que não é desejável, pois quanto maior o R^2_a , melhor o modelo.

Quanto ao número de parâmetros dos dois modelos pré-selecionados como os melhores (Logístico e MMF), ressalta-se que o modelo Logístico possui um parâmetro a menos que o modelo MMF, ou seja, mais simples de convergir a um resultado e, ainda assim, possui dois parâmetros passíveis de interpretação biológica enquanto o modelo MMF possui apenas um.

O DPR, que indica a variabilidade dos dados, sugere novamente os modelos Logístico e MMF como os melhores para o caso, uma vez que quanto menor o valor do erro padrão, melhor o modelo.

A Figura 14 apresenta as curvas de crescimento de todos os modelos no mesmo gráfico.

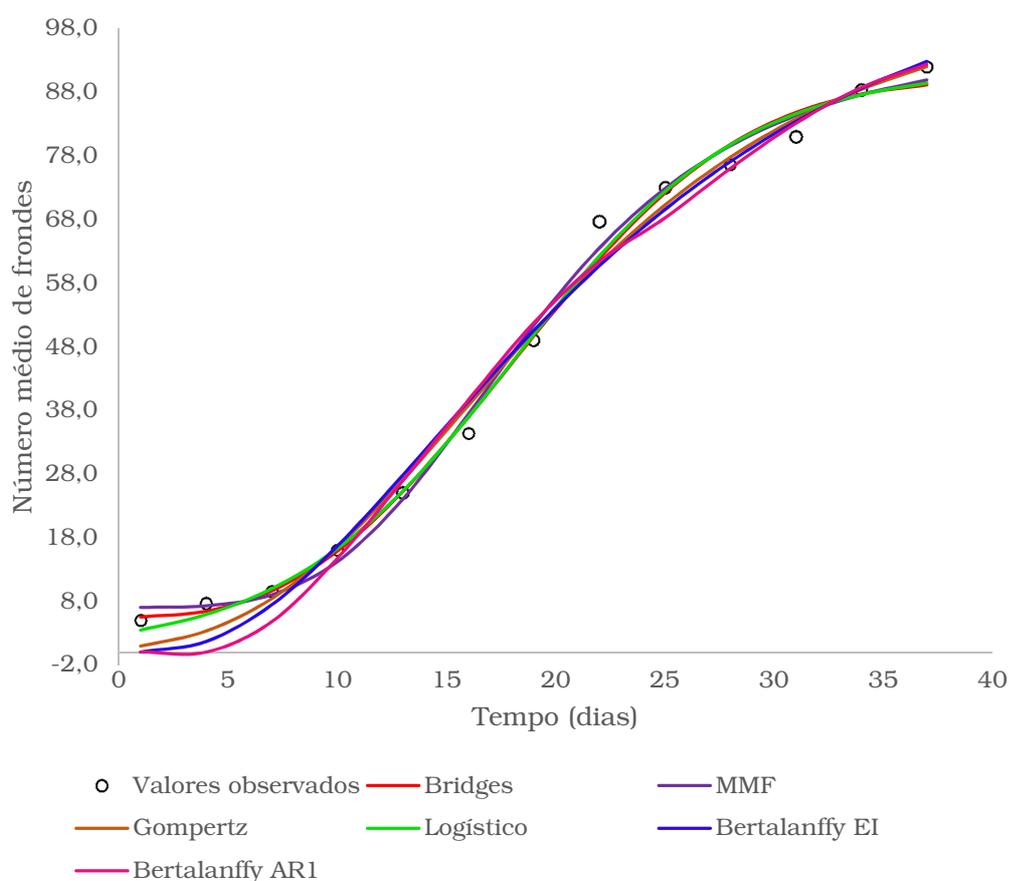


Figura 14 - Curvas de crescimento de todos os modelos ajustados
Fonte: Próprio autor

O gráfico da Figura 14 corrobora com a análise individual dos modelos. Nota-se que no décimo dia de cultivo, os valores de quase todas as funções se cruzam em um único ponto, assim como no vigésimo primeiro e trigésimo terceiro dias.

Devido ao fato dos avaliadores de qualidade apresentarem valores bem próximos para os modelos Logístico e MMF, foi necessário analisar outros quesitos para enfim escolher um dos dois modelos como o melhor. O modelo escolhido foi o Logístico e o critério dessa decisão foi baseado em fatos como o número de parâmetros com significado biológico, o fato de o modelo MMF apresentar um parâmetro não significativo pelo teste t e o fato de o parâmetro A ter sido melhor estimado pelo modelo Logístico.

Áreas como bioindicação, ecotoxicologia e de tratamento de águas residuárias podem se beneficiar desse resultado uma vez que, estabelecido o melhor modelo de crescimento para a espécie, pode-se então estabelecer parâmetros que permitam realizar o controle da qualidade da água e assim propor medidas corretivas ou preventivas para que a qualidade da água seja mantida em boas condições.

Futuros estudos podem até mesmo gerar parâmetros de avaliação de qualidade de água que utilizem o crescimento de *Lemna minor* e que, se propostos ao Conselho Nacional de Meio Ambiente- CONAMA como um dos requisitos a serem atendidos por empresas na liberação de efluentes líquidos em corpos hídricos, podem funcionar como mais uma ferramenta na preservação do meio ambiente.

6 CONCLUSÃO

O modelo Logístico é, portanto, o que melhor descreve o crescimento de *Lemna minor*.

O cultivo dessa macrófita em diferentes concentrações mostrou-se ineficiente em baixa concentração, devido à falta de nutrientes, e eficiente em concentrações maiores.

O ajuste de cada um dos modelos aos dados de crescimento mostrou-se satisfatório de acordo com os avaliadores de qualidade.

REFERÊNCIAS

- AKAIKE, H. A new look at the statistical model identification. **IEEE Transactions on Automatic Control.**, Boston, v. 19, n. 6, p. 716-723, dez. 1974.
- ALVES, M. J. M.; COLLI, W. Experimentação com animais: uma polêmica sobre o trabalho científico. **Ciência Hoje**, v. 39, n. 231, p. 24-29, 2006.
- ARAÚJO, R. O. et al. Ajuste de modelos não-lineares aos dados de crescimento de búfalas da raça Murrah criadas em terras baixas no estado do Rio Grande do Sul. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, Águas de Lindóia. **Anais... Águas de Lindóia: Sociedade Brasileira de Zootecnia.** 2009.
- ARROYAVE, M. P. La lenteja de agua (*Lemna minor* L.): una planta acuática promisoría. **Revista EIA**, n. 1, p. 33-38, 2004.
- BRASIL. **Constituição da República Federativa do Brasil.** Brasília: Senado Federal, 1988.
- _____. LPNMA. Lei 6.938. **Coleção de Leis da República Federativa do Brasil.** Brasília: Congresso Federal e Senado Federal, 1981.
- BREUSCH, T. S. Testing for Autocorrelation in Dynamic Linear Models. **Australian Economic Papers**, v. 17, p. 334-355, 1979.
- BURNHAM, K. P.; ANDERSON, D. R. Multimodel inference: understanding AIC and BIC in model selection. **Sociological methods and research**, v. 33, p. 261-304, 2004.
- CABRAL; A. M. R.; LINS, I. D. Aplicação de bootstrap para teste de Durbin-Watson – uma contribuição para cenários na economia. **Economia política do desenvolvimento**, v. 4, n. 12, p. 69-90, 2011.
- CHARÁ, J. El potencial de las excretas porcinas para uso múltiple y los sistemas de descontaminación productiva. **CIPAV.** 1998. Disponível em: <www.cipav.org.co/cipav/confr/chara1.html>. Acesso em: 14 set. 2012.
- CHRISTOFFOLETI, P. J. Curvas de dose-resposta de biótipos resistente e suscetível de *Bidens pilosa* L. aos herbicidas inibidores da ALS. **Scientia Agricola**, v.59, n.3, p.513-519, 2002.

DIAS, A. **Seleção multivariada e identidade de modelos não lineares para o crescimento e acúmulo de nutrientes em frutos de mangueira.** 2014. 139 fl. Tese (Doutorado em Estatística e Experimentação agropecuária) - UFLA, Lavras, 2014.

DIONELLO, R. G. et al. Secagem de fatias de abacaxi *in natura* e pré-desidratadas por imersão-impregnação: cinética e avaliação de modelos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, p. 232-240, 2009.

DMUCHOWSKI, W.; GOZDOWSKI, D.; BACZEWSKA, A. H. Comparison of four bioindication methods for assessing the degree of environmental lead and cadmium pollution. **Journal of Hazardous Materials**, v. 197, p. 109-118, 2011.

DRAPER, N. R.; SMITH, H. **Applied regression analysis.** 3. ed. New York: John Wiley, 1998.

DURBIN, J.; WATSON, G. S. Testing for Serial Correlation in Least Squares Regression, II, **Biometrika**, v. 38, n.1-2, p. 159-179, jun. 1951.

FISKESJÖ, G. The Allium test as a standart in environmental monitoring. **Hereditas**, v.102, p.99-112, 1985.

FLORENTINO, H. O.; BISCARO, A. F. V.; PASSOS, J. R. S. Funções sigmoidais aplicadas na determinação da atividade metanogênica específica - AME. **Rev. Bras. Biom.**, v.28, n.1, p.141-150, 2010.

FREITAS, A. R.; BARIONI JUNIOR, W. Aplicação de curvas de crescimento em bovinos de corte. In: SIMPÓSIO DE ESTATÍSTICA APLICADA À EXPERIMENTAÇÃO AGRONÔMICA (SEAGRO) 11.; REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA 50., 2005, Londrina. **Programa e resumos...** Londrina: UEL/Departamento de Estatística e Matemática aplicada: IBS, 2005.

GALLANT, A. R. **Nonlinear statistical models.** New York: John Wiley, 1987.

GODFREY, L. G. Testing Against General Autoregressive and Moving Average Error Models when the Regressors Include Lagged Dependent Variables. **Econometrica**, v. 46, p. 1293-1302, 1978.

JAIN, S. K. et al. Heavy metal uptake by *Pleurotus sajor-caju* from metal enriched duckweed substrate. **Biol.Wastes**, v. 24, p. 275-282, 1988.

KAPUSTA, S. C. **Bioindicação ambiental.** Porto Alegre: Escola Técnica da UFRGS, 2008.

KHELLAF, N., ZERDAOUI, M. Growth response of the duckweed *Lemna minor* to heavy metal pollution. **Iran Journal of Environment, Health, Science and Engeneering**, v. 6, n. 3, p. 161-166, 2009.

LEITÃO JÚNIOR, A. M. et al. Sistema de tratamento alternativo de efluentes utilizando macrófitas aquáticas: um estudo de caso do tratamento de efluentes frigoríficos por *Pistia stratiotes* e *Eichhornia crassipes*. **Caminhos de Geografia**, Uberlândia, v. 8, n. 23, p. 8-19, 2005.

LINHARES, L. A. et al. Adsorção de cádmio e chumbo em solos tropicais altamente intemperizados. **Pesq. agropec. bras.**, v. 44, p. 291-299, 2009.

LIU, Z. et al. Modelling growth of five different colour types of mink. **South African Journal of Animal Science**, v. 41, n. 2, p. 116-125, 2011.

MAIA, E. et al. Método de comparação de modelos de regressão não-lineares em bananeiras. **Ciência rural**, v. 39, p. 1380-1386, 2009.

MALHADO, C. H. M. et al. Modelos não lineares utilizados para descrever o crescimento de bovinos da raça Nelore no estado da Bahia: 1. Efeito ambiental. *Rev. Bras. Saúde Prod. An.*, v.10, n.4, p.821-829 out/dez. 2009.

MALTBY, L. et al. Aquatic Macrophyte Risk Assessment for pesticides. **Society of Environment, Toxicology and Chemistry**, p. 135, 2010.

MATTOS, T. B. **Modelos não lineares e suas aplicações**. 2013. 58 fl. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Estatística) – UFJF, Juiz de Fora, 2013.

MENDES, P. N. **Curvas de crescimento difásicas de fêmeas Hereford com erros auto-regressivos e heterogeneidade de variâncias**. 2007. 84 fl. Dissertação (Mestrado em Estatística e Experimentação agropecuária) - UFLA, Lavras, 2007.

_____. **Ajuste dos modelos Gompertz e Logístico na descrição das curvas de crescimento de tomates: uma abordagem Bayeasiana**. 2011. 82 fl. Tese (Doutorado em Estatística e Experimentação agropecuária) - UFLA, Lavras, 2011.

_____. et al. Análise da curva de crescimento difásica de fêmeas Hereford por meio da função não linear de Gompertz. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 2, p. 454-461, 2009.

MONTGOMERY, D. C., RUNGER, G. C. **Estatística aplicada e probabilidade para engenheiros**. Rio de Janeiro: LTC, 2003.

MOTULSKY, H.; CHRISTOPOULOS, A. **Fitting models to biological data using linear and nonlinear regression: a practical guide to curve fitting**. San Diego: GraphPad Software, 2003.

OBEK, E.; HASAR, H. Role of duckweed (*Lemna minor* L.) harvesting in biological phosphate removal from secondary treatment effluents. **Fresenius Environmental Bulletin**, v. 11, p. 27-29, 2002.

OLGUÍN, E.; HERNÁNDEZ, E. **Use of aquatic plants for recovery of nutrients and heavy metals from wastewater.** 1998. Institute of Ecology, Environmental Biotechnology. Vancouver. Disponível em: <www.idrc.ca/industry/Canada>. Acesso em: 14 set. 2012.

OECD. **Guidelines for the testing of chemicals: Test N° 221: Lemna sp. Growth Inhibition Test.** 2006. Disponível em: <http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-221-lemna-sp-growth-inhibition-test_9789264016194-en>. Acesso em: 24 abr. 2014.

OLIVEIRA, H. N.; LÔBO, R. B.; PEREIRA, C. S. Comparação de modelos não-lineares para descrever o crescimento de fêmeas da raça Guzerá. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.35, n.9, p.1843-1851, set. 2000.

OZENGİN, N.; ELMACI, A. Performance of Duckweed (*Lemna minor* L.) on different types of wastewater treatment. **Journal of Environmental Biology**, v. 28, p. 307-314, 2007.

PALAFIX, P. et al. Perspectivas de la Lemna sp. para alimentación de peces. **Revista electrónica de veterinária**, v. 6, n. 3, 2005.

PAMPLIN; P. A. Z. **Estudo comparativo da estrutura da comunidade bentônica de duas represas com diferenças no grau de eutrofização.** 2004. 113 fl. Tese (Doutorado em Ecologia) – UFSCar, São Carlos, 2004.

PIERZYNSKI, G. M.; SIMS, J. T.; VANCE, G. F. **Soils and environmental quality.** Boca Raton: Lewis, 1994.

PRADO, T. K. L.; SAVIAN, T. V.; MUNIZ, J. A. Ajuste dos modelos Gompertz e logístico aos dados de crescimento de frutos de coqueiro anão verde. **Ciência rural**, v. 43, p. 803-809, 2013.

PUIATTI, G. A. et al. Análise de agrupamento em seleção de modelos de regressão não lineares para descrever o acúmulo de matéria seca em plantas de alho. **Rev. Bras. Biom.**, São Paulo, v.31, n.3, p.337-351, 2013.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing.** R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>. 2013.

RADIC; S. et al. Duckweed *Lemna minor* as a tool for testing toxicity and genotoxicity of surface waters. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.74, p.182-187, 2011.

REGAZZI, A. J. Teste para verificar a igualdade de parâmetros e a identidade de modelos de regressão não linear. **Revista Ceres**, v.50, n.287, p.9-26, 2003.

ROSENBERG, D. M.; RESH, V. H. **Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates**. New York: Chapman & Hall, 1993.

SCHWARZ, G. Estimating the dimensional of a model. **Annals of Statistics**, Hayward, v.6, n.2, p.461-464, mar. 1978.

SOARES, I. G. **Econometria I: Notas de Aula** – Correlação. Fundação Getúlio Vargas. 2008. Disponível em:
<<http://epge.fgv.br/we/MFEE/Econometria/2008?action=AttachFile&do=get&target=autocorr.pdf>> Acesso em: 22 out. 2014.

SOUZA, D. A. **Bacia do Riberão e Represa do Lobo: Bases Ecológicas para o Planejamento Regional, Manejo e Conservação**. 1993. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – UFSCar, São Carlos, 1993.

SPARKS, D. L. **Environmental soil chemistry**. San Diego: Academic, 1995.

STEINBERG, R. A. Mineral requirements of *Lemna minor*. **Plant Physiol.**, v. 21, p. 42-48, 1946.

TEIXEIRA, R. M. O. **Biorremediação de um efluente mineiro por Lemna minor**. 2012. 71 fl. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, 2012.

TORNERO, M. T. T. **Utilização de modelos assintóticos - sigmóides de crescimento multifásico com sazonalidade em estudos zootécnicos**. 1996. 131 fl. Tese (Doutorado em Zootecnia/ Nutrição e Produção Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, Botucatu. 1996.

TRUHAUT, R. Ecotoxicology: objectives, principles and perspectives. **Ecotoxicol Environ Saf.**, v. 1, p. 151-173, 1977.

VALLE, L. A. R. **Avaliação de elementos-traço em fertilizantes e corretivos**. 2012. 75 fl. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - UFPA, Lavras, 2012.

VARGAS, D. W. et al. Modeling extended lactations of dairy cows. **Journal of dairy Science**, v. 83, p. 1371-1380, 2000.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. Belo Horizonte: UFMG, 2005.

WANG, W. Literature review on duckweed toxicity testing. **Environmental Research**, v. 52, p. 7-22, 1990.

WERKEMA, M. C. C.; AGUIAR, S. **Planejamento e Análise de experimentos: como identificar e avaliar as principais variáveis**

influentes em um processo. 8^a. edição. Série: Ferramentas da Qualidade. Fundação Christiano Ottoni. Escola de Engenharia da UFMG, 1996.

WETZEL, R. G. **Limnologia.** Fundação Calouste Gulbenkian. 1011 p. 1993.

WOLTERBEEK, B. Biomonitoring of trace element air pollution: principles, possibilities and perspectives. **Environ. Pollut.**, v. 120, p. 11-21, 2002.

ZAYED, A. Phytoaccumulation of trace elements by wetlands. **Journal of Environmental Quality**, v. 27, n. 3, p. 715-721, 1998.

APÊNDICE A – Montagem do aparato experimental de contagem

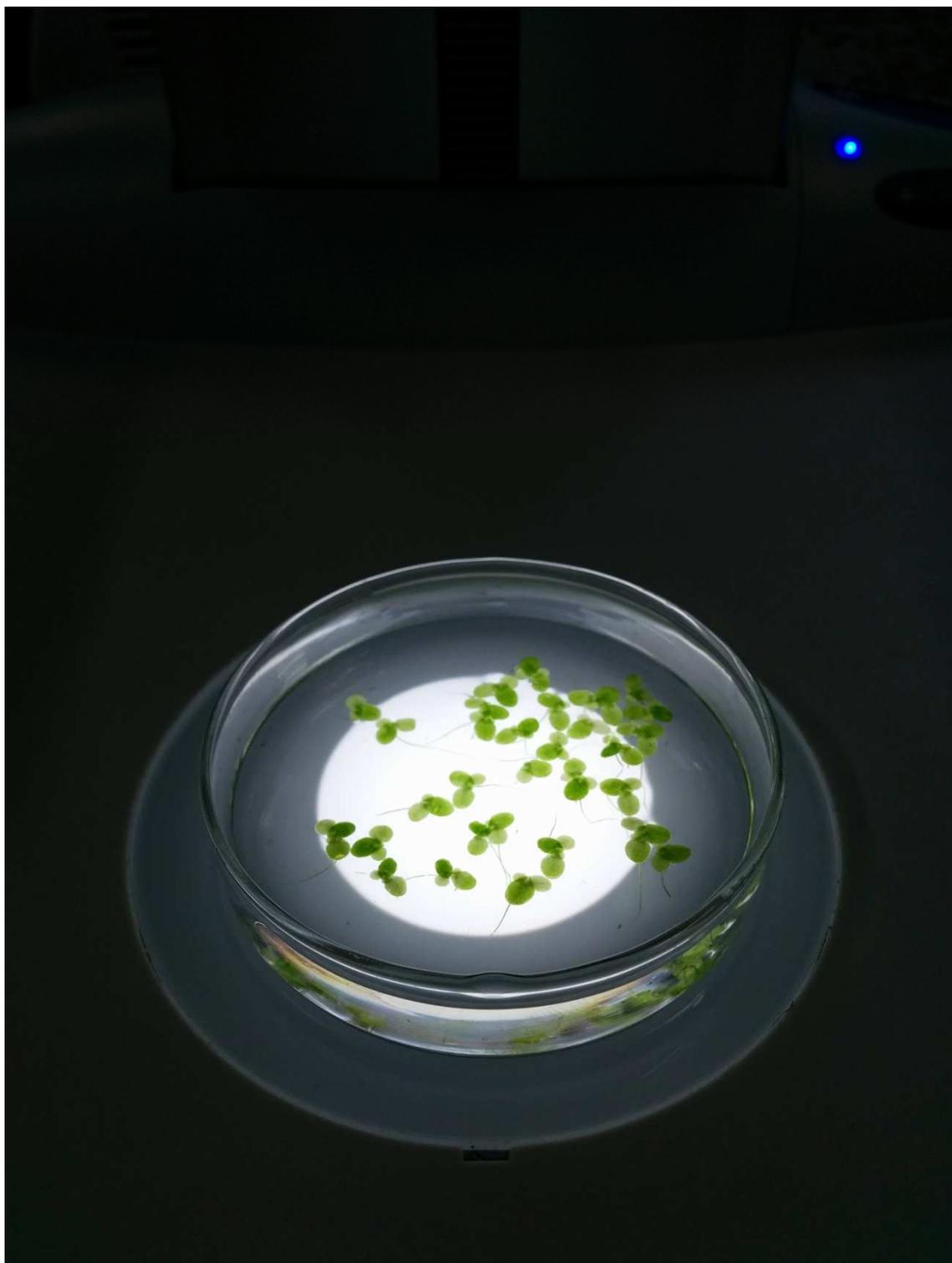


Figura 15- Aparato experimental de contagem.

APÊNDICE B – *Lemna minor* na lupaFigura 16- *Lemna minor* na lupa de bancada

APÊNDICE C – Recipiente de cultivo



Figura 17- Recipiente de cultivo

APÊNDICE D – Rotina implementada no Software R para o modelo Logístico

```

#para iniciar o programa e inserir as bibliotecas e dados
#####
require(nlme)
require(car)
dias<-c(#dias do experimento#)
frondes<-c(#dados do experimento#)
dados<-data.frame(dias,frondes)
#####

#inserir a funcao original com erros independentes, AIC, BIC e DPR
#####
funcao<-frondes~A*(1+B*exp(-k*dias))^-1
logistica0<-gnls(funcao,dados,start=c(A=10,B=1,k=0.1))
summary(logistica0)
#####

#para plotar os dados
#####
plot(dados,xlab="Tempo (dias)",ylab="Número de frondes",main="Crescimento
de Lemna minor Logístico",bty="l",xlim=c(0,40),ylim=c(0,95))
#####

#coletar resíduos independentes e calcular DW
#####
r0 <- residuals(logistica0)
m0 <- lm(r0~1)
durbinWatsonTest(m0)
#####

#para plotar a curva com erros independentes
#####
curve(91.87129*(1+31.17971*exp(-0.19003*x))^-1,1,38,add=T,col=4)
#####

```

ANEXO A – Protocolo de preparação do meio Steinberg (OECD, 2006)

Concentrações e soluções estoque

- O meio modificado de Steinberg é usado apenas para testes com *Lemna minor*;
- O meio deve ser preparado sempre com água deionizada;
- O preparo do meio deve ser a partir de soluções-estoque, que são descritas a seguir:

Tabela 9 - Meio Steinberg com pH estabilizado

Substância		Meio nutritivo	
Macronutrientes	Peso molar	mg/L	mmol/L
KNO ₃	101,12	350,00	3,46
Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	236,15	295,00	1,25
KH ₂ PO ₄	136,09	90,00	0,66
K ₂ HPO ₄	174,18	12,60	0,072
MgSO ₄ · 7H ₂ O	246,37	100,00	0,41
Micronutrientes	Peso molar	mg/L	mmol/L
H ₃ BO ₃	61,83	120,00	1,94
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	287,43	180,00	0,63
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	241,92	44,00	0,18
MnCl ₂ · 4H ₂ O	197,84	180,00	0,91
FeCl ₃ · 6H ₂ O	270,21	760,00	2,81
EDTA diidratado	372,24	1500,00	4,03

Fonte: OECD (2006)

Tabela 10 - Soluções-estoque de macronutrientes

Macronutrientes	g/L
<u>Solução-estoque 1:</u>	
KNO ₃	17,50
KH ₂ PO ₄	4,5
K ₂ HPO ₄	0,63
<u>Solução-estoque 2:</u>	
MgSO ₄ · 7H ₂ O	5,00
<u>Solução-estoque 3:</u>	
Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	14,75

Fonte: OECD (2006)

Tabela 11 - Soluções-estoque de micronutrientes

Micronutrientes	g/L
<u>Solução-estoque 4:</u>	
H ₃ BO ₃	120,0
<u>Solução-estoque 5:</u>	
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	180,0
<u>Solução-estoque 6:</u>	
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	44,0
<u>Solução-estoque 7:</u>	
MnCl ₂ · 4H ₂ O	180,0
<u>Solução-estoque 8:</u>	
FeCl ₃ · 6H ₂ O	760,00
EDTA diidratado	1500,00

Fonte: OECD (2006)

- As soluções devem ser autoclavadas a 121° C por 20 minutos ou filtradas em malha 0,2 micra. Para a solução 8 recomenda-se a filtração.

Preparação da concentração final do meio Steinberg

- Adicionar 20 mL das soluções-estoque 1, 2 e 3 em aproximadamente 900 mL de água deionizada para evitar precipitação;

- Adicionar 1 mL das soluções-estoque 4, 5, 6, 7 e 8;
- Ajustar o pH para $5,5 \pm 0,2$, usando como corretores HCl e/ou NaOH;
- Completar com água até 1000 mL;
- Se a esterilização foi devidamente conduzida e a água utilizada foi tão somente a deionizada, esterilizações posteriores não serão necessárias.