



Evento: XXVI Jornada de Pesquisa

## MODELAGEM MATEMÁTICA DE RELAÇÕES ALOMÉTRICAS E BIOMÉTRICAS DE MINHOCAS *Eisenia andrei* UTILIZADAS EM EXPERIMENTAÇÃO: ESTUDO PILOTO<sup>1</sup>

MATHEMATICAL MODELING OF ALLOMETRIC AND BIOMETRIC RELATIONSHIPS OF *Eisenia andrei* EARTHWORMS USED IN EXPERIMENTATION: PILOT STUDY<sup>1</sup>

Diovana Gelati de Batista<sup>2</sup>, Geovane Barbosa dos Santos<sup>3</sup>, Antônio Azambuja Miragem<sup>4</sup>, Thiago Gomes Heck<sup>5</sup>, Maurício de Campos<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Trabalho da disciplina de Modelagem Matemática do PPG em Modelagem Matemática e Computacional (PPGMMC) com dados de Projetos de Pesquisa desenvolvidos no Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPeF - UNIJUI) e no Grupo de Pesquisa em Resposta Celular ao Estresse (GPreCE - IFFAR).

<sup>2</sup> Bolsista CAPES, doutoranda em Modelagem Matemática e Computacional (PPGMMC), Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPeF - UNIJUI)

<sup>3</sup> Grupo de Pesquisa em Resposta Celular ao Estresse (GPreCE - IFFAR)

<sup>4</sup> Professor do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, Grupo de Pesquisa em Resposta Celular ao Estresse (GPreCE - IFFAR)

<sup>5</sup> Professor do PPG em Modelagem Matemática e Computacional (PPGMMC) e do PPG em Atenção Integral à Saúde (PPGAIS), Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPeF - UNIJUI)

<sup>6</sup> Professor do PPG em Modelagem Matemática e Computacional (PPGMMC) - UNIJUI

### RESUMO

As minhocas são importantes organismos do ambiente edáfico, utilizados em estudos de biodiversidade e ecotoxicológicos. Dentre as variáveis analisadas, as medidas biométricas estão relacionadas com seu padrão de utilização do solo e são sensíveis a contaminantes. Algumas medidas como comprimento e área corporal demandam tempo e maior número de animais, mas apresentam relações que podem ser utilizadas para a elaboração de modelos matemáticos. Equações alométricas são funções potência que explicam como diferentes variáveis biológicas variam em relação ao tamanho corporal. Por isso, neste trabalho, descrevemos as relações alométricas e biométricas em minhocas utilizadas em experimentação e testamos se modelos de regressão linear, polinomial e função potência, podem ser utilizados para estimar as medidas biométricas. Observamos que, embora o comprimento corporal *ex-vivo* e a área corporal não apresentem relação alométrica significativa com a massa corporal, o comprimento corporal *in vivo* apresenta relação hipoalométrica, e pode ser estimado por modelos de regressão linear e polinomial de 2ª ordem. Também mostramos que a área corporal está correlacionada com a massa corporal *in vivo*, e que também pode ser estimada a partir desta pelos modelos de regressão.

**Palavras-chave:** Oligoqueta. Alometria. Modelo Matemático.



## ABSTRACT

Earthworms are important organisms in the edaphic environment, used in biodiversity and ecotoxicological studies. Among the variables analyzed, biometric measures are related to their land use pattern and are sensitive to contaminants. Some measures such as length and body area require time and a larger number of animals, but they have relationships that can be used to develop mathematical models. Allometric equations are power functions that explain how different biological variables vary in relation to body size. Therefore, in this work, we describe the allometric and biometric relationships in earthworms used in experiments and we test whether linear, polynomial and power function regression models can be used to estimate the biometric measures. We observed that, although *ex-vivo* body length and body area do not show a significant allometric relationship with body mass, *in vivo* body length shows a hypoallometric relationship and can be estimated by linear and second-order polynomial regression models. We also show that body area is correlated with body mass *in vivo*, and that it can also be estimated by regression models.

**Keywords:** Oligochaete. Allometry. Mathematical Model.

## INTRODUÇÃO

As minhocas são animais invertebrados pertencentes ao filo *Annelida*, classe *Clitellata*, subclasse *Oligochaeta*. Elas são importantes organismos do solo, pois desempenham a função ecológica de “engenheiras do ecossistema” (LAVELLE, 2006). Organismos engenheiros do ecossistema são aqueles capazes de modular, manter e criar habitats, modificando os fatores bióticos e abióticos do meio, principalmente por modular a disponibilidade de recursos às outras espécies (JONES et al., 2012). Nesse sentido, as minhocas modulam a disponibilidade de nutrientes e aumentam a aeração e retenção de água no solo, o que as torna organismos chave nesse ambiente (JONES et al., 2012; LIU et al., 2019).

O padrão morfológico das minhocas, que possuem corpo fusiforme e esqueleto hidrostático, é fundamental para seu papel ecológico, e está relacionado ao local e forma de utilização do solo e matéria orgânica (BAROIS et al., 1999). Medidas biométricas como a massa corporal e o comprimento diferem entre as espécies, pois são formas de adaptação ao tipo de ambiente e capacidade de escavação do solo (KURTH; KIER, 2014).

Medidas biométricas são variáveis amplamente utilizadas em estudos de biodiversidade de minhocas, para entender padrões morfológicos e de utilização do ambiente (DEBBARMA; CHAUDHURI, 2020), e em estudos ecotoxicológicos, uma vez que a



morfologia destes animais é sensível a contaminantes do solo (BUCH et al., 2013; POCHRON et al., 2019). Por isso, o desenvolvimento de modelos matemáticos que permitam entender as relações entre as variáveis biométricas de minhocas pode colaborar para os estudos com estes animais.

Equações alométricas são funções potência que explicam como diferentes variáveis biológicas variam em relação ao tamanho corporal, que geralmente é representado pela massa corporal (PETERS, 1983). Relações alométricas entre medidas biométricas de minhocas já foram estabelecidas para diversas espécies, como a relação entre o diâmetro pré-clitelar e a massa corporal (JIMÉNEZ; MAMOLAR; LAVELLE, 2000) e entre o comprimento e a massa corporal (GREINER; COSTELLO; TIEGS, 2010). No entanto, a maioria dos modelos existentes considera apenas a massa seca sem cinzas (*ash-free dry mass*), cuja obtenção demanda tempo (aproximadamente 30 horas) e implica na perda dos tecidos corporais para possíveis análises bioquímicas. Outra variável biométrica que demanda tempo para ser mensurada e que impede a utilização dos tecidos para outras análises é a área corporal das minhocas, cujas relações alométricas e com outras variáveis ainda precisam ser elucidadas. Nesse sentido, desenvolver modelos matemáticos que permitam estimar, por exemplo, a área corporal das minhocas, poderá contribuir também para redução no número de minhocas utilizadas em estudos experimentais.

Por isso, o objetivo deste trabalho é descrever as relações alométricas e biométricas em minhocas utilizadas em experimentação e testar se modelos de regressão linear, polinomial e função potência, podem ser utilizados para estimar as medidas biométricas.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Animais e Delineamento Experimental

Foram utilizadas 15 minhocas adultas da espécie *Eisenia andrei*, com clitelo aparente, provenientes de vermicomposteiras permanentes do Laboratório de Análises Biológicas do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Farroupilha (IFFAR) – Campus Santa Rosa. Os animais foram coletados das vermicomposteiras e submetidos a um teste de toxicidade aguda de 14 dias, contudo sem contaminantes, de modo a simular o estresse de manipulação e



adaptação a um ambiente experimental. Durante esse período, as minhocas foram mantidas em potes plásticos contendo 950 g de solo e 50 g de erva-mate, com umidade ajustada para 60% com água da torneira, à temperatura ambiente e ciclo claro-escuro natural. Foram colocados 5 animais por pote.

### Medidas Biométricas

Após o período experimental, as minhocas foram coletadas manualmente, pesadas em balança analítica e fotografadas sob uma malha quadriculada (1 cm x 1 cm), para mensurar o comprimento corporal *in vivo*. Em seguida, foram eutanasiadas em etanol 50% (- 8°C). Após a eutanásia, as minhocas foram novamente fotografadas sob a malha quadriculada, para posteriormente mensurarmos o comprimento corporal *ex-vivo*.

Para mensurar a área corporal, cada minhoca foi colocada sobre uma placa de vidro acima de uma malha quadriculada, e dissecada longitudinalmente. Os órgãos internos foram removidos para expor o tecido muscular que reveste a cavidade celômica. Em seguida, foi adicionada uma outra placa de vidro, colocada sobre o animal, fazendo uma prensa, a partir da qual foi registrada uma imagem da superfície corporal do animal.

Todas as imagens registradas foram carregadas para o software Autodesk AutoCAD® 2013, onde a escala foi ajustada para 1 cm, conforme a malha quadriculada utilizada nos procedimentos anteriores. Para mensurar o comprimento corporal (*in vivo* ou *ex-vivo*), foi traçada uma linha no centro da superfície do animal, com a ferramenta “<spinline>”. Para traçar a área superficial do animal, foi realizado o delineamento do perímetro tecidual visível e utilizado o comando “<area>” para quantificar a superfície corporal.

### Equações Alométricas

As equações alométricas possuem como fórmula geral uma função potência (1),

$$y = ax^b \quad (1)$$

em que o coeficiente  $b$  é chamado de coeficiente alométrico.

A forma mais comumente apresentada, no entanto, é a forma linear da equação, após transformação logarítmica dos dados (2),

$$\log y = \log (ax^b) \quad (2)$$





Que pode ser escrita ainda da seguinte forma (3):

$$\log y = \log a + b \log x \quad (3)$$

E ainda, substituindo  $\log y$  por  $y$  e  $\log x$  por  $x$  para representar as variáveis, temos que:

$$y = \log a + bx \quad (4)$$

Assim, na forma linear (4), o coeficiente alométrico é o coeficiente angular da reta ( $b$ ). Quando o coeficiente alométrico é menor que 1, a relação é de hipoalometria, o que significa que  $y$  cresce a uma taxa menor do que  $x$ . Por outro lado, quando o coeficiente alométrico é maior do que 1, há relação de hiperalometria, e  $y$  cresce a uma taxa maior que  $x$ . A isometria ocorre quando o coeficiente alométrico é igual a 1 (PETERS, 1983).

Para verificar as relações alométricas entre as medidas biométricas das minhocas, consideramos como variável  $x$  a massa corporal. Calculamos a relação alométrica entre 1) a massa corporal e o comprimento corporal *in vivo*; 2) a massa corporal e o comprimento corporal *ex-vivo*; e 3) a massa corporal e a área corporal. Todos os dados foram transformados nos seus logaritmos naturais de base 10 correspondentes antes de plotarmos os gráficos e gerarmos as equações alométricas. Foi utilizado o modelo linear, conforme equação (4). Os dados foram transformados no software Microsoft Excel e plotados no software GraphPad Prism 7, sendo analisado também o grau de correlação entre cada conjunto de dados e a significância dos parâmetros do modelo. Foi considerado significativo o modelo em que o valor de  $P$  para coeficiente alométrico (angular) foi menor que 0.05.

### **Teste de ajuste dos dados nos modelos: função potência, linear e polinomial**

Para verificar se e qual dos referidos modelos podem ser utilizados para estimar as variáveis biométricas das minhocas, os valores reais (não transformados em logaritmos) dos conjuntos de dados de cada variável biométrica foram plotados. Utilizamos o Microsoft Excel para gerar os modelos com função potência e para calcular a validação dos modelos, e o GraphPad Prism para gerar os modelos de regressão linear e polinomial de 2ª ordem. O GraphPad Prism permite calcular a efetividade do modelo a partir do coeficiente de determinação ( $R^2$ ), do teste  $F$ , do Erro padrão da estimativa ( $Sy.x$ ) e da Soma absoluta dos quadrados devido ao erro (SSE). O Microsoft Excel fornece apenas o  $R^2$ , por isso, para a função potência, apenas este parâmetro é apresentado.



Foram plotadas as variáveis: 1) massa corporal e comprimento corporal *in vivo*; 2) massa corporal e área corporal; 3) massa corporal e comprimento corporal *ex-vivo*; 4) comprimento corporal *ex-vivo* e área corporal; e 5) comprimento corporal *in vivo* e área corporal.

Para validar os modelos em que os parâmetros foram significativos, utilizamos dados reais de cada variável, que não foram utilizados para construir os respectivos modelos. Estimamos valores em  $y$  correspondentes e então calculamos o erro absoluto (%) entre os valores reais e os valores estimados pelos modelos. Os resultados destas validações estão apresentados em média do erro absoluto ( $MD_{EA}$ ) calculado a partir das estimativas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

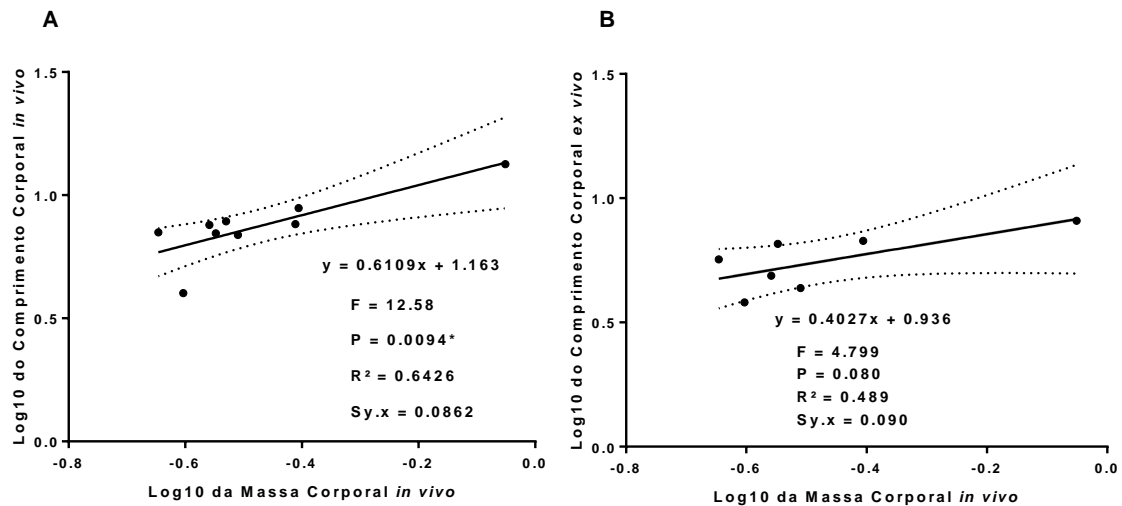
A Tabela 1 apresenta os resultados gerais para cada variável mensurada. O comprimento corporal *ex-vivo* foi ligeiramente menor do que o comprimento corporal *in vivo*, provavelmente pelos movimentos de contração da musculatura circular nas minhocas vivas, que propulsionam o corpo para frente durante a locomoção (KURTH; KIER, 2015).

**Tabela 1:** Estatística descritiva das variáveis.

	Massa <i>in vivo</i>	Comprimento <i>in vivo</i>	Comprimento <i>ex-vivo</i>	Área
<b>MD ± DP</b>	0.345 ± 1.180	7.197 ± 2.410	5.423 ± 1.418	6.914 ± 1.439
<b>Min - Max</b>	0.211 – 0.889	4.003 – 13.350	2.983 – 8.107	4.739 – 9.427
<b>CV (%)</b>	52.23%	33.50%	26.15%	20.81%
<b>IC (95%)</b>	0.230 – 0.459	5.665 – 8.728	4.522 – 6.325	5.947 – 7.881

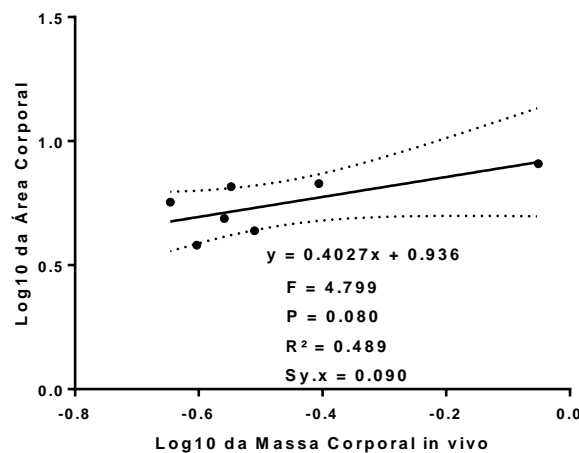
MD ± DP = média ± desvio padrão; Min-Max = amplitude dos dados; CV (%) = coeficiente de variação; IC (95%) = intervalo de confiança de 95%.

Verificamos que o comprimento corporal possui relação hipalométrica com a massa corporal. No entanto, essa relação foi significativa apenas para o comprimento corporal *in vivo* ( $P=0.009$ ) (Figura 1A).



**Figura 1:** Relações alométricas entre a massa corporal e o comprimento de minhocas *E. andrei* utilizadas em experimentação. **A)** comprimento corporal *in vivo* em função da massa corporal, n=9. **B)** comprimento corporal *ex vivo* em função da massa corporal, n=7. As linhas pontilhadas indicam o intervalo de confiança de 95%.

A equação alométrica da área corporal em função da massa corporal também demonstra relação hipoalométrica (coeficiente alométrico = 0.403), contudo não significativa (P = 0.080) (Figura 2).



**Figura 2:** Relação alométrica entre a massa corporal e a área corporal de minhocas *E. andrei* utilizadas em experimentação, n=7. As linhas pontilhadas indicam o intervalo de confiança de 95%.

Em minhocas do gênero *Eisenia sp.*, equações alométricas em que o comprimento corporal *ex-vivo* foi utilizado como variável x demonstram relação hiperalométrica para a massa corporal seca e livre de cinzas (y), ou seja, a taxa de crescimento da massa corporal é maior do



que a do comprimento (GREINER; COSTELLO; TIEGS, 2010). Em nossos resultados observamos que a taxa de crescimento do comprimento corporal *in vivo* é menor do que a da massa corporal *in vivo* (relação hipoalométrica), o que biologicamente está de acordo com Greiner, Costello e Tiegs, 2010.

Não observamos uma relação alométrica entre a massa corporal e o comprimento corporal *ex-vivo*, como demonstra a literatura (GREINER; COSTELLO; TIEGS, 2010; JIMÉNEZ, MAMOLAR; LAVELLE, 2000). Contudo, sabemos que a massa corporal é fortemente correlacionada com o comprimento corporal *in vivo* (BATISTA, 2021). Em estudos experimentais com minhocas, medidas biométricas como comprimento e área corporal demandam tempo e maior número de animais, no entanto, são indicadores importantes de saúde metabólica e são variáveis sensíveis a contaminantes. Pensando nisso, testamos, por fim, modelos matemáticos para estimar o comprimento (*in vivo* e *ex-vivo*) e a área corporal a partir de medidas biométricas mais simples de se obter, como a massa corporal.

Testamos os modelos: função potência, regressão linear e regressão polinomial de 2ª ordem, que geralmente são os mais utilizados para relações entre variáveis biométricas em minhocas (GREINER; COSTELLO; TIEGS, 2010; JIMÉNEZ, MAMOLAR; LAVELLE, 2000). Vale ressaltar que a função potência é o modelo alométrico sem a transformação dos dados em seus logaritmos correspondentes. De maneira geral, os modelos com função potência foram os que apresentaram menor coeficiente de determinação ( $R^2$ ) (Tabela 2).

Dentre os modelos lineares, foram significativos apenas os gerados para estimar o comprimento corporal *in vivo* em função da massa corporal e para estimar a área corporal em função da massa corporal (Tabela 2, linhas *a* e *b*, respectivamente). Por isso, calculamos a validação dos modelos apenas para estas relações.





**Tabela 2:** Modelos matemáticos de relações alométricas e biométricas de minhocas *Eisenia andrei* utilizadas em experimentação.

Relações e Parâmetros	Função Potência	Modelo Linear	Modelo Polinomial
<b>a) Massa Corporal <i>in vivo</i> x Comprimento Corporal <i>in vivo</i></b>			
r (Pearson)		0.901	
Valor de P		<b>0.0009*</b>	
Equação	$y = 14.554x^{0.6109}$	$y = 10.903x + 3.7902$	$y = -6.1423x^2 + 17.93x + 2.2628$
F <sup>a</sup> ou SSE <sup>b</sup>	-	30.370	8.804
P	-	0.0009	-
R <sup>2</sup>	0.642	0.813	0.818
Sy.x	-	1.139	1.211
MD <sub>EA</sub> (%)	11.582	13.101	12.904
<b>b) Massa Corporal <i>in vivo</i> x Área Corporal</b>			
r (Pearson)		0.746	
Valor de P		<b>0.020*</b>	
Equação	$y = 10.952x^{0.4136}$	$y = 5.5694x + 5.0615$	$y = -21.171x^2 + 29.494x - 0.0538$
F ou SSE	-	8.801	4.212
R <sup>2</sup>	0.594	0.557	0.777
Sy.x	-	1.095	0.8378
MD <sub>EA</sub> (%)	4.941	7.266	7.684
<b>c) Massa Corporal <i>in vivo</i> x Comprimento Corporal <i>ex vivo</i></b>			
r (Pearson)		0.754	
Valor de P		0.050	
Equação	$y = 8.63x^{0.4027}$	$y = 4.8905x + 3.8937$	$y = -7.9347x^2 + 13.979x + 1.9696$
F ou SSE	-	6.586	5.598
R <sup>2</sup>	0.489	0.568	0.591
Sy.x	-	1.087	1.183
<b>d) Comprimento Corporal <i>ex vivo</i> x Área Corporal</b>			
r (Pearson)		0.791	
Valor de P		0.060	
Equação	$y = 2.0016x^{0.6918}$	$y = 0.9465x + 1.3041$	$y = 0.3395x^2 - 3.0788x + 12.587$
F ou SSE	-	8.387	3.501
R <sup>2</sup>	0.4864	0.626	0.786
Sy.x	-	1.107	1.08
<b>e) Comprimento Corporal <i>in vivo</i> x Área Corporal</b>			
r (Pearson)		0.616	
Valor de P		0.077	
Equação	$y = 3.8474x^{0.298}$	$y = 0.3403x + 4.5026$	$y = 0.0367x^2 - 0.2855x + 6.8587$
F ou SSE	-	4.279	11.030
R <sup>2</sup>	0.2345	0.379	0.429
Sy.x	-	1.310	1.356



<sup>a</sup>F = Valor de F calculado para a inclinação na regressão linear. <sup>b</sup>SSE = Soma absoluta dos quadrados devido ao erro (informado apenas nos modelos polinomiais).  $S_{y.x}$  = Erro padrão da estimativa.

Os modelos de função potência foram capazes de estimar as variáveis independentes com menor erro absoluto médio ( $MD_{EA}$ ) do que os modelos lineares e polinomiais, mas apresentaram valores de  $R^2$  menores do que os demais modelos.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em nosso trabalho, mostramos que minhocas *Eisenia andrei* utilizadas em experimentação apresentam relação hipoalométrica entre o comprimento corporal *in vivo* e a massa corporal *in vivo*. O comprimento corporal *in vivo* pode ser estimado a partir da massa corporal por meio de um modelo de regressão linear ou polinomial. Embora as relações alométricas do comprimento *ex-vivo* e da área corporal com a massa corporal *in vivo* não tenham sido significativas, mostramos que a área corporal está correlacionada com a massa corporal *in vivo*, e que pode ser estimada a partir da massa corporal utilizando-se modelo de regressão linear ou polinomial. Assim, nosso trabalho indica que medidas biométricas difíceis de se obter, como a área corporal, podem ser estimadas a partir de medidas mais simples, como a massa corporal, devido à relação alométrica natural entre as variáveis. Como perspectiva, continuaremos trabalhando para melhorar a eficácia dos modelos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAROIS, I. et al. Ecology of Earthworm Species with Large Environmental Tolerance and/or Extended Distributions. In: Earthworm Management in Tropical Agroecosystems. **CAB International**, 1999.

BATISTA, D. G. **Efeitos de herbicida à base de glifosato em organismos de diferentes níveis filogenéticos**. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós Graduação Stricto Sensu em Atenção Integral à Saúde (PPGAIS). Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUI), RS, 2021.



BUCH, A. C. et al. Toxicity of three pesticides commonly used in Brazil to *Pontoscolex corethrurus* (Müller, 1857) and *Eisenia andrei* (Bouché, 1972). **Applied Soil Ecology**, v. 69, n. July 2013, p. 32-38, 2013.

DEBBARMA, B.; CHAUDHURI, P. Earthworm casting activity and their nutrient contribution to the soils of Pasture, Natural Forest and Rubber Plantation in Tripura India. **Uttar Pradesh Journal Of Zoology**, v. 41, n. 21, p. 11-22, 2020.  
<https://mbimph.com/index.php/UPJOZ/article/view/1744>

GREINER, H. G.; COSTELLO, D. M.; TIEGS, S. D. Allometric estimation of earthworm ash-free dry mass from diameters and lengths of select megascolecid and lumbricid species. **Pedobiologia**, v. 53, n. 4, p. 247-252, 2010.

JIMÉNEZ, J. J.; MAMOLAR, E.; LAVELLE, P. Biometric relationships in earthworms (*Oligochaeta*)., v. 36, n **European Journal of Soil Biology**. 1, p. 45–50, 2000.

JONES, C. G. et al. Organisms as ecosystem Organisms engineers. **Wiley-Blackwell**, v. 69, n. 3, p. 373–386, 2012.

KURTH, J. A.; KIER, W. M. Scaling of the hydrostatic skeleton in the earthworm *Lumbricus terrestris*. **J Exp Biol**, v.217, n.11, p. 1860–1867, 2014.doi:<https://doi.org/10.1242/jeb.098137>

LAVELLE, P. et al. Soil invertebrates and ecosystem services. **European Journal of Soil Biology**, v. 42, n. SUPPL. 1, 2006.

LIU, T. et al. Earthworms Coordinate Soil Biota to Improve Multiple Ecosystem Functions. **Current Biology**, v. 29, Issue 20, p. 3420 - 3429.e5, 2019.  
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.08.045>

PETERS, R. A mathematical primer: Logarithms, power curves, and correlations. In: *The Ecological Implications of Body Size* (Cambridge Studies in Ecology, pp. 10-23). Cambridge: **Cambridge University Press**, 1983b. doi:10.1017/CBO9780511608551.003

PETERS, R. Allometric simulation models. In: *The Ecological Implications of Body Size* (Cambridge Studies in Ecology, pp. 197-212). Cambridge: **Cambridge University Press**, 1983a. doi:10.1017/CBO9780511608551.013

POCHRON, S. et al. Temperature and body mass drive earthworm (*Eisenia fetida*) sensitivity to a popular glyphosate-based herbicide. **Applied Soil Ecology**, v. 139, n. April, p. 32–39, 2019.