

Genótipos do fungo *Batrachochytrium dendrobatidis* em comunidades de anuros da Mata Atlântica

Introdução

Ao longo de uma vida humana, as populações de anfíbios têm sido globalmente dizimadas pelo surgimento de novos patógenos (Scheele et al., 2019, IUCN 2023). À medida que esses patógenos se espalharam para todos os cantos do planeta, em grande parte devido à dispersão mediada por humanos, há esperança de que seu impacto diminua à medida que os hospedeiros sobreviventes evoluam resistência, levando a um equilíbrio mais estável. No entanto, isso ignora a possibilidade distinta de uma nova onda pandêmica, impulsionada pela recombinação genética de patógenos e provavelmente acelerada pelas mudanças climáticas globais, resultando em uma "loteria evolutiva" de genótipos virulentos de patógenos recombinados.

A quitridiomíose, causada pelo fungo *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd), tem impactado significativamente as populações de anfíbios mundialmente (Scheele et al., 2019). Bd é um fungo generalista geneticamente diverso, incluindo seis linhagens e centenas de genótipos até então identificados (Fisher & Garner 2020). A linhagem altamente virulenta Bd-GPL (*Global Panzootic Lineage*) foi responsável por uma onda recente de declínios globais de anfíbios. Em contraste, as linhagens endêmicas geralmente apresentam menor virulência, provavelmente devido a uma longa história evolutiva com seus hospedeiros (Carvalho et al., 2024). Contudo, a expansão da Bd-GPL criou zonas de contato com linhagens endêmicas, facilitando a recombinação genética do patógeno e a emergência de genótipos híbridos (Schloegel et al., 2012). Alarmantemente, genótipos híbridos originados na Mata Atlântica brasileira mostraram maior virulência do que suas linhagens parentais em hospedeiros nativos (Greenspan et al., 2018). Dados não publicados de genotipagem de Bd espaço-temporal indicam que a emergência de genótipos híbridos de Bd tem

aumentado na Mata Atlântica. Este aumento na diversidade genética do patógeno representa uma grave ameaça para as comunidades de anfíbios local e mundialmente, pois esses híbridos podem se espalhar globalmente, espelhando a trajetória da Bd-GPL em um mundo cada vez mais interconectado.

A Mata Atlântica se destaca como uma região que sofreu declínios históricos de anfíbios ligados à quitridiomiose e por taxas alarmantemente altas de recombinação genética do patógeno Bd — representando uma ameaça significativa de desencadear uma próxima onda pandêmica do fungo. Criticamente, ainda não sabemos por que essa região apresenta tamanha diversidade de genótipos de Bd, nem se as mudanças climáticas podem ser responsáveis pelas altas taxas de recombinação na região. Este trabalho buscará preencher essas lacunas de conhecimento, oferecendo insights valiosos para esforços de conservação e prevenção de surtos futuros.

Objetivos

- Investigar a distribuição e a diversidade genética dos genótipos do fungo *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) na Mata Atlântica.
- Mapear a distribuição das linhagens do fungo Bd, com foco nos genótipos híbridos, e suas implicações para a conservação das populações de anfíbios na região da Mata Atlântica.
- Identificar áreas prioritárias para intervenções e monitoramento contínuo das populações de anfíbios em relação a cepas mais virulentas do fungo Bd.

Métodos

Para este estudo, realizaremos amostragens de girinos e adultos em várias regiões da Mata Atlântica para diagnosticar e identificar os genótipos do fungo Bd. Nos girinos, o fungo infecta a

região queratinizada da boca, resultando na despigmentação da bainha da mandíbula e das fileiras dentárias. Após a coleta dos espécimes, realizada com o auxílio de peneiras, a boca dos girinos será rapidamente investigada com o auxílio de uma lupa de mão. Não haverá instalação de armadilhas. Aqueles com boca preta serão imediatamente devolvidos ao mesmo local, enquanto alguns girinos com boca branca serão imersos imediatamente em uma solução de MS-222 a 5 g/L para eutanásia. Após a eutanásia, o transporte dos girinos será realizado de forma refrigerada para o laboratório, onde procederemos com o isolamento do patógeno fúngico Bd.

Para a amostragem dos indivíduos adultos, faremos busca ativa nos ambientes de reprodução das espécies (riachos, lagoas, poças, serrapilheira), e não haverá instalação de armadilhas. Nos adultos, o Bd infecta a pele; portanto, utilizaremos esfregaço de pele (*swab*), um método não invasivo, para a coleta de amostras. Este método é amplamente reconhecido e utilizado para diagnóstico, visto que o fungo apresenta alta afinidade por tecidos cutâneos em estágios adultos. Após a coleta do *swab* na pele dos adultos, os indivíduos serão soltos no mesmo lugar da captura, portando, não haverá eutanásia de animais adultos. Todos os indivíduos, sejam adultos ou girinos, serão manipulados com luvas descartáveis, as quais serão trocadas entre os indivíduos para evitar contaminações cruzadas. Os parques serão visitados por 3/4 dias consecutivos, uma única vez por verão (entre dezembro e março) .

No presente estudo, propomos a coleta de diferentes espécies de anuros, sem o foco em um único grupo, considerando que a inclusão de uma maior diversidade de espécies hospedeiras resultará em uma maior amplitude de nichos ecológicos e habitats para o patógeno. Esta abordagem aumenta a probabilidade de capturar genótipos distintos do patógeno, visto que diferentes hospedeiros podem representar nichos ecológicos variados, favorecendo a coexistência de genótipos por meio da partição de nicho.

Prioritariamente, serão coletadas espécies não classificadas em categorias de ameaça, excluindo espécies como *Bokermannohyla langei*, *Cycloramphus duseni*, *Melanophryniscus biancae*, *M. vilavelhensis*, *Brachycephalus pernix*, *B. curupira*, *B. brunneus*, *B. izecksohni*, *B. coloratus*, *B. leopardos* e *Ischnocnema paranaenses*, listadas como ameaçadas no estado do Paraná (Paraná 2024). No caso de captura acidental de indivíduos pertencentes a espécies ameaçadas, estes serão imediatamente identificados e liberados no mesmo local de captura. Além disso, os encontros com essas espécies ameaçadas ou espécies com dados insuficientes serão relatados ao parque, considerando a relevância de monitorar suas ocorrências. Para a identificação das espécies, utilizaremos o Guia dos anfíbios da Mata Atlântica: diversidade e biologia (Haddad et al., 2013) para indivíduos adultos e o Guia de Identificação de Girinos do Brasil (Rossa-Feres et al., 2024) para girinos.

As amostras coletadas serão analisadas geneticamente para identificar as linhagens do Bd presentes (Bd-GPL, Bd-ASIA-2/BRASIL e genótipos híbridos) e determinar a variação genética em diferentes escalas espaço-temporais. A análise se concentrará em avaliar a relação entre os genótipos de Bd, fatores climáticos regionais e dados ecológicos das comunidades de anfíbios.

Resultados esperados

Esperamos realizar um mapeamento detalhado da distribuição das diferentes linhagens do fungo Bd na Mata Atlântica. Pretendemos identificar áreas prioritárias para intervenções e monitoramento contínuo, especialmente em relação aos genótipos híbridos mais virulentos, que representam um risco elevado para as populações locais e para a saúde global dos anfíbios. Além disso, o estudo contribuirá para uma compreensão mais ampla das dinâmicas de recombinação genética do Bd em resposta a mudanças climáticas.

Referências bibliográficas

- Carvalho T, Becker CG, Toledo LF. 2017. Historical amphibian declines and extinctions in Brazil linked to chytridiomycosis. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 284.
- Carvalho T, Belasen AM, Toledo LF, James, TY. 2024. Coevolution of a generalist pathogen with many hosts: the case of the amphibian chytrid *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Current Opinion in Microbiology*, 78, 102435.
- Fisher MC & Garner TW. 2020. Chytrid fungi and global amphibian declines. *Nature Reviews Microbiology*, 18(6), 332-343.
- Greenspan SE, Lambertini C, Carvalho T, James TY, Toledo LF, Haddad CFB, Becker CG. 2018. Hybrids of amphibian chytrid show high virulence in native hosts. *Scientific Reports*, 8(1), 9600.
- Haddad, Célio FB, et al. Guia dos anfíbios da Mata Atlântica: diversidade e biologia. *Anolis Books*, 2013.
- Paraná. 2004. Decreto no 3148. Art. 8o. Atualiza a Lista de Espécies Ameaçadas de Extinção, 15 jun. 2004.
- Re:wild, Synchronicity Earth, IUCN SSC Amphibian Specialist Group. 2023. *State of the World's Amphibians: The Second Global Amphibian Assessment*. Texas, USA: Re:wild.
- Rossa-Feres, D. C. et al. (2024). *Girinos do Brasil*. São Paulo, SP: Anolis Books.
- Scheele BC, Pasmans F, Skerratt LF, Berger L, Martel A, Beukema W, Acevedo AA, Burrowes PA, Carvalho T, Catenazzi A, et al. 2019. Amphibian fungal panzootic causes catastrophic and ongoing loss of biodiversity. *Science* 363:1459–1463.
- Schloegel LM, Toledo LF, Longcore JE, Greenspan SE, Vieira CA, Lee M, Zhao S, Wangen C, Ferreira CM, Hipolito M, et al. 2012. Novel, panzootic and hybrid genotypes of amphibian chytridiomycosis associated with the bullfrog trade. *Molecular Ecology* 21:5162–5177.