XI CONGRESO LATINOAMERICANO
DE BIOLOGÍA MATEMÁTICA
SoLaBIMa 2019
Universidad Católica del Maule
22-25 de Octubre de 2019, Talca, Chile

MATEMÁTICA DA CONSERVAÇÃO: UM MODELO PARA ENTENDER O TRIÂNGULO ANUROS - AMBIENTE - Bd.

Josemeri Aparecida Jamielniak*
Universidade Estadual de Campinas, Brasil

Resumo

Batrachochytrium dendrobatidis, conhecido como Bd, é um fungo causador da pior doença em anfíbios conhecida até o momento, a quitridiomicose. Neste trabalho, propomos um modelo matemático compartimental em tempo contínuo para descrever a dinâmica Anuros - Bd - ambiente. Abordamos espécies com comportamento preferencialmente aquático onde consideramos a infecção ocorrendo devido ao encontro hospedeiro-patógeno livre em ambiente aquático. Analisamos as condições para existência e estabilidade de estados estacionários e obtivemos dois limiares: o número básico de descendentes, Q_0, e o número básico reprodutivo, R_0. Estudamos *in silico* a efetividade das principais estratégias de controle consideradas por herpetologistas: retirada de animais infectados do campo e predação de zoósporos por microorganismos. Por fim, investigamos como a chegada de zoósporos e animais infectados afetam uma população previamente suscetível. Entre as estratégias consideradas, a que mais aumentou a proporção de animais suscetíveis foi a associação da retirada de girinos infectados com o aumento da mortalidade dos zoósporos e, em relação a migração, a chegada de baixas densidades do patógeno apresentou pouco efeito na população suscetível, diferente da chegada dos girinos e adultos infectados.

Trabajo realizado en conjunto con:
Hyun Mo Yang[1], Epifisma - UNICAMP, Campinas, Brasil.
Luís Felipe Toledo[2], LaHNAB - UNICAMP, Campinas, Brasil.

*e-mail: jojamiel@gmail.com
[1]e-mail: hyunyang@ime.unicamp.br
[2]e-mail: toledosapo@gmail.com

1 Introdução

Os anuros compõem a ordem mais diversa de animais pertencentes a classe dos anfíbios. No Brasil, são encontradas mais de 1.000 espécies documentadas, sendo que mais de 67% são espécies endêmicas [1]. Nos últimos 50 anos, drásticos declínios populacionais foram observados em populações de anuros do mundo todo, cuja causa principal foi a quitridiomicose, uma doença causada pelo fungo *Batrachochytrium dendrobatidis* que se instala nas partes queratinizadas do hospedeiro, responsável pela queda populacional em mais de 500 espécies de anfíbios com 90 prováveis extinções [9]. No Brasil, seu primeiro registro ocorreu em 2006 [10] e, declínios populacionais observados na Mata Atlântica foram relacionados a quitridiomicose [4].

A quitridiomicose afeta os anuros enquanto girinos e também pós metamórficos, apresentando altas taxas de mortalidade em animais que sofreram recentemente a metamorfose. Nos girinos o fungo se instala no aparato bucal causando despigmentação e deformidade, mas não levando a morte. Em animais adultos o fungo se instala na pele, órgão usado para respiração, causando descamação, desregulando as trocas gasosas, de água e eletrólitos vitais ao animal, levando-o a morte devido a parada cardíaca em poucos dias [11].

Muitos estudos para compreensão da doença e como ela afeta os anuros têm sido realizados, porém mesmo após décadas de pesquisa, questões fundamentais permanecem sem resposta. A aplicação de modelos matemáticos é uma área de pesquisa em crescente desenvolvimento e pode ser usada para auxiliar a compreender a dinâmica da doença e na tomada de decisões.

2 Modelo Matemático

Para a formulação do modelo, consideramos a população de anuros dividida em três fases: girinos, juvenis (animais que ainda não atingiram a maturidade sexual) e adultos, denotados por g, j e a, respectivamente. A fase de ovos não foi considerada, pois não há transmissão vertical e eles não apresentam partes queratinizadas, portanto não estão suscetíveis ao Bd.

De acordo com o ciclo de vida consideramos que, após o período reprodutivo, adultos suscetíveis (a_s), infectados (a_i) e recuperados (a_r) darão origem a $\phi\Big[\theta_s(a_s+a_r)+\theta_i a_i\Big]$ girinos suscetíveis (g_s), onde ϕ é proporção de fêmeas, θ_s e θ_i o número de ovos viáveis (ovos que se desenvolverão em girinos) depositados por cada fêmea suscetível, recuperada e infectada, respectivamente. Esses girinos podem sofrer metamorfose a uma taxa m_s, morrer naturalmente a uma taxa μ_G ou tornar-se infectado (g_i) devido ao contato com zoósporo livre no meio aquático (z) a uma taxa $\beta_G g_s z$. Girinos infectados apresentaram uma taxa de metamorfose m_i e uma mortalidade adicional devido a colonização μ_{G_i}. As frações $1/m_s$ e $1/m_i$ representam o tempo médio de duração do estágio larval.

Durante a metamorfose, a queratina presente no aparato bucal dos girinos é perdida antes dela formar-se na pele ou nos membros traseiros, portanto, neste período o girino perde a infecção [5]. Assumimos que todos os girinos (suscetíveis ou infectados) tornar-se-ão juvenis suscetíveis (j_s) que iniciarão sua fase reprodutiva tornando-se adultos suscetíveis (a_s) a uma taxa d_s e apresentam uma mortalidade natural μ_J. Juvenis podem tornar-se infectados (j_i) devido ao contato com zoósporo livre (z) a uma taxa $\beta_J j_s z$. Juvenis infectados podem completar a metamorfose e tornar-se adultos infectados (a_i) a uma taxa d_i ou aumentar o seu nível de colonização, tornando-se doente (com quitridiomicose, denotado por j_q) a uma taxa ψ_J, onde $1/\psi_J$ é o tempo necessário para que um animal colonizado exiba sintomas da infecção. Neste período a quitridiomicose é letal, assim consideramos μ_{J_q} como mortalidade adicional devido a infecção.

Adultos suscetíveis (a_s) estão sujeitos a mortalidade natural, dada por μ_A, onde $1/\mu_A$ representa o tempo de vida no estágio reprodutivo, ou podem tornar-se infectados (a_i) por meio do contato com zoósporos livres dado por $\beta_A a_s z$. Uma vez infectado, apresentam uma mortalidade adicional μ_{A_i}, uma taxa de recuperação ξ, tornando-se resistentes (a_r) ou podem desenvolver a quitridiomicose (a_q) a uma taxa ψ_A, onde $1/\psi_A$ representa o tempo até exibir os primeiros sintomas, podendo então

morrer a uma taxa μ_{A_q}.

Para a população de zoósporos, consideramos que η novos zoósporos são liberados em meio aquático por girinos, juvenis e adultos infectados e com quitridiomicose, onde os subscritos G_i, J_i, J_q ,A_i, e A_q indicam o estágio de vida e o status infeccioso do animal e, caso os zoósporos não encontrem um hospedeiro, podem morrer a uma taxa μ_z, onde $1/\mu_z$ é o tempo que um zoósporo consegue permanecer fora do hospedeiro no ambiente aquático.

Assim a dinâmica de anuros e zoósporos em meio aquático representada na Figura 1 pode ser descrita pelo sistema de equações diferenciais ordinárias dado na Equação (2), cuja região factível de (2) é

$$\begin{aligned}\Omega \;=\; \Bigg\{ & (g_s, g_i, j_s, j_i, j_q, a_s, a_i, a_q, a_r) \in \mathbb{R}^9_+ \,|\, g_s + g_i \leq \frac{1}{\sigma},\; j_s + j_i + j_q \leq \frac{m}{\sigma(d+\mu_J)}, \\ & a_s + a_i + a_q + a_r \leq \frac{d\,m}{\sigma\,\mu_A\,(d+\mu_J)} \quad \text{e} \quad z \leq \frac{1}{\sigma\,\mu_z}\left(\eta_{G_i} + \frac{\eta_J\,m}{d+\mu_J} + \frac{\eta_A\,d\,m}{\mu_A\,(d+\mu_J)}\right)\Bigg\}, \quad (1)\end{aligned}$$

onde $m = \text{máx}\{m_s, m_i\}$, $d = \text{máx}\{d_s, d_i\}$, $\eta_J = \text{máx}\{\eta_{J_i}, \eta_{J_q}\}$ e $\eta_A = \text{máx}\{\eta_{A_i}, \eta_{A_q}\}$.

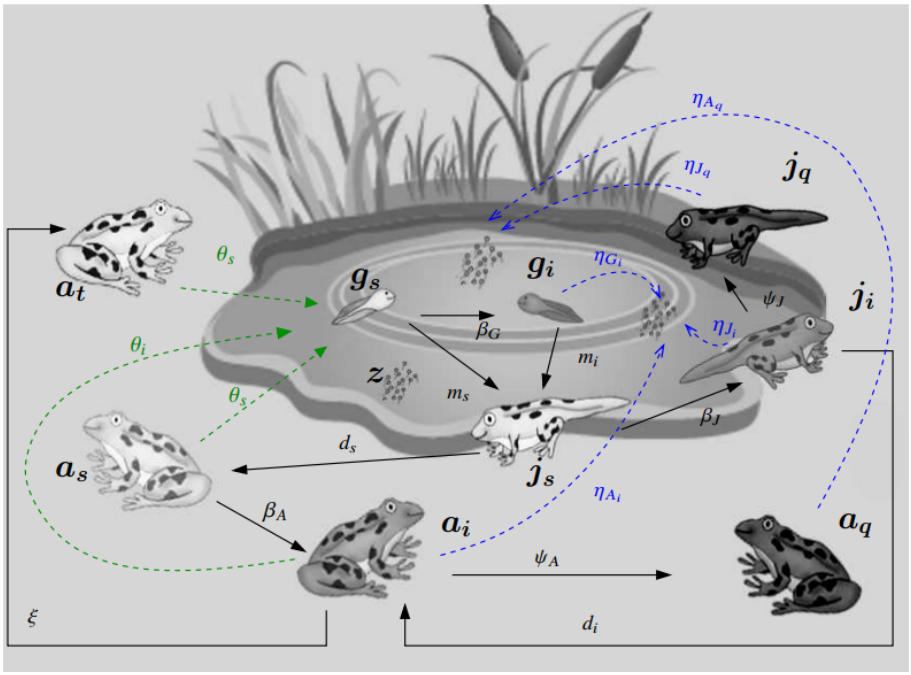


Figura 1: Dinâmica da interação anuros - ambiente e Bd considerada para a formulação do modelo.

$$
\begin{cases}
\dfrac{dg_s}{dt} = & \phi\left[1-\sigma(g_s+g_i)\right]\left[\theta_s\left(a_s+a_r\right)+\theta_i a_i\right] - \beta_G g_s z - m_s g_s - \mu_G g_s, \\
\dfrac{dg_i}{dt} = & \beta_G g_s z - \mu_G g_i - \mu_{G_i} g_i - m_i g_i \\
\dfrac{dj_s}{dt} = & m_s g_s + m_i g_i - \beta_J j_s z - d_s j_s - \mu_J j_s \\
\dfrac{dj_i}{dt} = & \beta_J j_s z - d_i j_i - \mu_J j_i - \mu_{J_i} j_i - \psi_J j_i \\
\dfrac{dj_q}{dt} = & \psi_J j_i - \mu_J j_q - \mu_{J_q} j_q \\
\dfrac{da_s}{dt} = & d_s j_s - \beta_A a_s z - \mu_A a_s \\
\dfrac{da_i}{dt} = & d_i j_i + \beta_A a_s z - \mu_A a_i - \mu_{A_i} a_i - \psi_A a_i - \xi a_i \\
\dfrac{da_q}{dt} = & \psi_A a_i - \mu_A a_q - \mu_{A_q} a_q \\
\dfrac{da_r}{dt} = & \xi a_i - \mu_A a_r \\
\dfrac{dz}{dt} = & \eta_{G_i} g_i + \eta_{J_i} j_i + \eta_{J_q} j_q + \eta_{A_i} a_i + \eta_{A_q} a_q - \mu_z z,
\end{cases}
\tag{2}
$$

3 Resultados e Discussões

O sistema de equações (2) apresenta três estados estacionários:

- Equilíbrio de extinção $P^{ex} := (0,0,0,0,0,0,0,0)$, referente à extinção de todas as populações (anuros e zoósporo) sempre existe, independente do valor dos parâmetros e é local e assintoticamente estável se $Q_0 < 1$, onde Q_0, o número básico de descendentes, dado por

$$
Q_0 = \frac{1}{\mu_A}\,\phi\,\theta_s\,\frac{m_s}{m_s+\mu_G}\,\frac{d_s}{d_s+\mu_A}, \tag{3}
$$

  e representa o número de fêmeas adultas que uma única fêmea é capaz gerar.

- Equilíbrio de fronteira (ELD), referente a extinção da doença, dado por $P^0 := (g_s^0, 0, j_s^0, 0, 0, a_s^0, 0, 0, 0, 0)$, com $g_s^0 = \frac{1}{\sigma Q_0}(Q_0-1)$, $j_s^0 = \frac{m_s}{d_s+\mu_J}\frac{1}{\sigma Q_0}(Q_0-1)$, $a_s^0 = \frac{d_s}{\mu_A}\frac{m_s}{d_s+\mu_J}\frac{1}{\sigma Q_0}(Q_0-1)$ e Q_0 dado em (3). $P^0 \in \Omega$ se, e somente se, $Q_0 > 1$ e é globalmente estável se $R_0 < 1$, onde R_0 é o número básico reprodutivo dado por

$$
R_0 = R_g + R_j + R_a \tag{4}
$$

  com

$$R_g = \frac{1}{\mu_z}\,\beta_G g_s^0\,\frac{1}{m_i+\mu_G+\mu_{G_i}}\,\eta_G, \quad R_j = \frac{1}{\mu_z}\,\beta_J j_s^0\,\frac{1}{\psi_J+d_i+\mu_J+\mu_{J_i}}\left(\eta_J+\frac{\psi_J\eta_{J_q}}{\mu_J+\mu_{J_q}}\right) \text{ e}$$

$$\begin{aligned} R_a &= \frac{1}{\mu_z}\,\beta_J j_s^0\,\frac{d_i}{\psi_J+d_i+\mu_J+\mu_{J_i}}\,\frac{1}{\xi+\psi_A+\mu_A+\mu_{A_i}}\left(\eta_A+\frac{\psi_A\eta_{A_q}}{\mu_A+\mu_{A_q}}\right)+ \\ &\quad \frac{1}{\mu_z}\,\beta_A a_s^0\,\frac{1}{\xi+\psi_A+\mu_A+\mu_{A_i}}\left(\eta_A+\frac{\psi_A\eta_{A_q}}{\mu_A+\mu_{A_q}}\right). \end{aligned}$$

Biologicamente, o R_0 definido acima caracteriza a contribuição de cada fase da vida dos anuros na produção de zoósporos, após um único zoósporo encistar em um hospedeiro suscetível. A parcial R_g representa o número médio de novos zoósporos produzidos por um zoósporo que encistou em um girino suscetível, R_j em um juvenil suscetível e R_a em um adulto suscetível.

Este limiar R_0 foi unicamente obtido por meio da análise do termo independente do polinômio característico da matriz Jacobiana avaliada em P^0, conforme descrito por [14] e por meio da teoria da matriz de próxima geração com duas construções distintas [14, 15]. A análise espectral da matriz Jacobiana foi realizada por meio da teoria da matriz M e a estabilidade global de P_0 foi obtida por meio da teoria do autovalor à esquerda [8].

- Equilíbrio interno $P^* = (g_s^*, g_i^*, j_s^*, j_i^*, j_q^*, a_s^*, a_i^*, a_q^*, a_r^*, z^*)$, que representa a coexistência de anuros e Bd e só existe se $R_0 > 1$ e, neste caso, é local e assintoticamente estável. As coordenadas g_s^*, g_i^*, j_i^*, j_q^*, a_i^*, a_q^* e a_r^* foram escritas em função de j_s^* e z^*. j_s^* dado em função de z^* e z^* as raízes da equação

$$z^*\mu_A\,(R_{ef}-1) = 0, \tag{5}$$

onde R_{ef} possui a mesma expressão do R_0 dado em (4), porém expresso em termos de g_s^*, j_s^* e a_s^*. A raiz não nula de (5) é obtida quando $R_{ef} = 1$, ou seja, quando no decorrer da epidemia, um zoósporo que efetivamente encistou em animal ainda suscetível na população coexistente produzir exatamente um novo zoósporo. Numericamente, verificamos a unicidade P^* em Ω e sua estabilidade local por meio da análise espectral da matriz Jacobiana.

3.1 Dinâmica *Rana muscosa* - Bd *in silico*

A *Rana muscosa* ("rã-de-pata-amarela-da-montanha") é uma espécie de rã endêmica das regiões montanhosas da Serra Nevada, Califórnia, que sofreu um grave declínio nas últimas 3-4 décadas, tendo sua população reduzida em 90% e perdendo mais de 50% de suas localizações históricas [2, 12]. Seu ciclo de vida e habitat tornam-na altamente suscetível ao fungo [7], sendo então espécie alvo de muitos estudos laboratoriais e de modelagem.

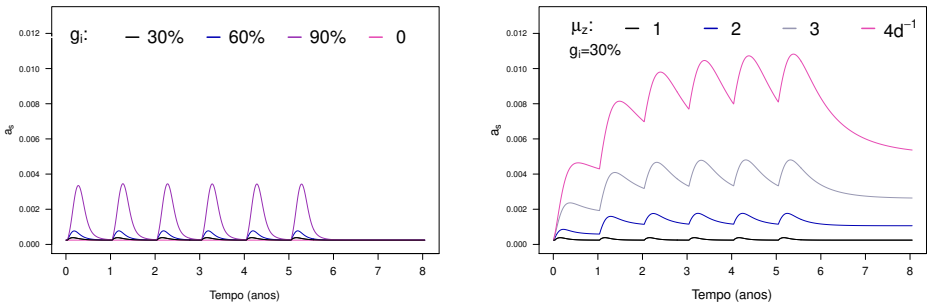
Com os parâmetros disponíveis na literatura, obtemos $Q_0 = 1900,1253$, $R_g = 16,4238$, $R_j = 0,1987$, $R_a = 2,3899$ resultando em $R_0 = 19,0123$. Ou seja, na ausência da doença, essa população encontra-se em crescimento uma vez que $Q_0 >> 1$, mas como $R_0 >> 1$, após a chegada de um único zoósporo e, ou, animal colonizado, ocorrerá o estabelecimento da doença, convergindo assintoticamente para o equilíbrio interno

$$\begin{aligned} P^* &= (g_s^* = 0,03020, g_i^* = 4,5961, j_s^* = 0,0435, j_i^* = 0,1000, j_q^* = 0,0941, a_s^* = 0,0002, \\ &\quad a_i^* = 0,0025, a_q^* = 0,0017, a_r^* = 0,0372, z^* = 1819,3867), \end{aligned}$$

que apresenta populações infectadas expressivamente maiores que suscetíveis.

Atualmente, a principal medida de controle considerada por herpetologistas consiste na retirada de animais infectados do campo para tratamento geralmente com banhos de fungicida apropriado. Avaliamos *in silico* essa estratégia, observando como se altera o número de animais suscetíveis após a retirada anual de 30, 60 e 90% dos girinos ou adultos infectados (sintomáticos ou não), considerando como condição inicial o ponto de equilíbrio interno P^*.

Observamos que, mesmo após a retirada de 99% dos adultos infectados ou com quitridiomicose, a dinâmica da doença nos girinos e juvenis permanece praticamente inalterada, mas com a retirada dos girinos infectados é observado um aumento no número de suscetíveis em todas as fases. Porém, como o fungo está bem estabelecido, a população suscetível decresce novamente, o que resulta assim em picos populacionais. Essas retiradas devem ser realizadas anualmente, caso contrário a população retorna à condição inicial, como pode ser visto na Figura 2a. O melhor cenário observado foi a associação de duas medidas de prevenção: retirada anual dos girinos infectados combinada com o aumento da mortalidade dos zoósporos. Neste caso, mesmo que a retirada dos girinos infectados cesse, o aumento da mortalidade dos zoósporos mantém a população suscetível maior que a condição inicial, como pode ser visto para a população de adultos na Figura 2b.



(a) Retirada de 30, 60 e 90% dos girinos infectados.

(b) Retirada de 30% dos girinos infectados e μ_z = 1,2,3 e $4d^{-1}$.

Figura 2: Evolução temporal da população de adultos suscetíveis com aplicação de estratégias de manejo: (a) somente a retirada anual de diferentes densidades de girinos infectados e (b) retirada de 30% dos girinos infectados associada com aumento da mortalidade dos zoósporos (μ_z) após um ano.

Analisamos também o impacto da chegada de animais colonizados, infectados e de zoósporos em uma lagoa onde todos os animais estão suscetíveis. Para isso, determinamos a proporção de animais infectados e, ou, com quitridiomicose, 120 dias (um verão) após a chegada de diferentes densidades desses animais. Na Figura 3, é possível observar que a chegada de uma baixa densidade de zoósporos tem pouco impacto na proporção de anuros infectados. Porém, para $z_{ini} > 10^3$ as fases pós metamorfose mostraram-se mais afetadas, principalmente os juvenis. Embora eles sejam mais afetados pelo fungo, sua chegada é a que menos contribui para a infecção dos outros estágios e também no reservatório ambiental de zoósporos. Para os adultos suscetíveis, a introdução de girinos infectados é mais prejudicial quando comparada à chegada do mesmo número de adultos infectados, como mostra a Figura 4.

4 Conclusões

A partir da análise de estabilidade dos pontos estacionários determinamos dois limiares: o número básico de descendentes Q_0, e um único limiar que determina a instalação da doença em uma população previamente suscetível, o número básico reprodutivo R_0.

Em relação a dinâmica *R. muscosa* - Bd, nossos achados reforçam a importância dos girinos na manutenção da doença, confirmando que esta exerce maior importância na propagação e também no controle da quitridimicose, quando comparada às outras fases. Para essa espécie, a metamorfose ocorre com cerca de dois a quatro anos após a eclosão do ovo. Durante esse período esses animais,

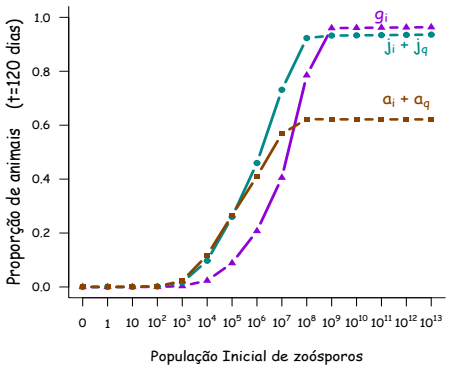


Figura 3: Proporção total de girinos infectados (▲), juvenis (■) e adultos (●) infectados ou com quitridiomicose, 120 dias após a introdução de 1 até 10^{13} zoósporos.

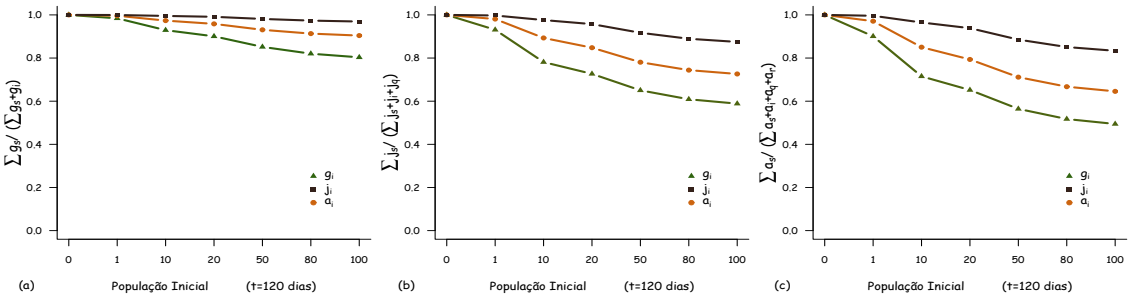


Figura 4: Proporção da população (a) g_s, (b) j_s e (c) a_s durante 120 dias após a introdução de 0, 1, 10, 20, 50, 80 e 100 girinos (▲), juvenis (■) e adultos (●) infectados.

quando infectados, atuam como reservatório para o Bd, portanto devem ser o foco em estratégias de controle. A migração de uma baixa densidade de zoósporos ($< 10^3$) não apresenta um redução no número de suscetíveis tão grande quando comparada com a migração de um girino ou um adulto. Portanto, o manejo de girinos e adultos deve ser realizado com muito cuidado.

Referências

[1] AmphibiaWeb. 2019. link: https://amphibiaweb.org University of California, Berkeley, CA, USA. Acessado em 19 de agosto 2019.

[2] Briggs, C. J. et al *Investigating the population-level effects of chytridiomycosis: an emerging infectious disease of amphibians.* Ecology, v.86, n.12, p.3149-3159, 2005.

[3] Brown, C. et al *Mountain yellow- legged frog conservation assessment for the Sierra Nevada mountains of Califorina*, USA, 2014.

[4] Carvalho, T., et al. *Historical amphibian declines and extinctions in Brazil linked to chytridiomycosis.* Proceedings of the Royal Society of London, B: Biological Sciences, v.284, n.1848, 2017.

[5] Marantelli, G. et al *Distribution of the amphibian Chytrid Batrachochytrium dendrobatidis and keratin during tadpole development.* Pacific Conservation Biology, v.10, p.173-179, 2004.

[6] Rachowicz, L. J.; Briggs, C. J. *Quantifying the disease transmission function: effects of density on Batrachochytrium dendrobatidis transmission in the mountain yellow-legged frog Rana muscosa.* Journal of Animal Ecology, v.76, n.4, p.711–721, 2007.

[7] Rollins-Smith, L. A. et al *Antimicrobial peptide defenses of the mountain yellow-legged frog (Rana muscosa).* Developmental & Comparative Immunology, v.30, n.9, p.831–842, 2006.

[8] Shuai, Z.; van den Driessche, P. *Global stability of infectious disease models using Lyapunov functions*, 2013.

[9] Scheele B. C. et al. *Amphibian fungal panzootic causes catastrophic and ongoing loss of biodiversity.* Science. 29 mar. 2019.

[10] Toledo, L. F. et al *The occurrence of Batrachochytrium dendrobatidis in Brazil and the inclusion of 17 new cases of infection.* South American Journal of Herpetology, v.1, n.3, p.185-191, 2006.

[11] Vanrooij, P. et al *Amphibian chytridiomycosis: a review with focus on fungus-host interactions.*, Veterinarian Research, v.46, n.137, 2015.

[12] Vredenburg, V. T. et al Dynamics of an emerging disease drive large-scale amphibian population extictions. Proceedings of the National Academy of Sciences, v.107, n.21, p.9689-9694, 2010.

[13] Wilber, M. Q. et al *Data from: Resistance, tolerance and enviromental transmission dynamics determine host extinction risk in a load-dependent amphibian disease.* Dryad Digital Repository, 2017.

[14] Yang, H. M. *The basic reproduction number obtained from Jacobian and next generation matrices - A case study of dengue transmission modelling*, Biosystems, v. 126, p. 52-75, 2014.

[15] Yang, H. M.; Greenhalgh, D. *Proof of conjecture in: the basic reproduction number obtained from Jacobian and next generation matrices - A case study of dengue trans- mission modelling.* Applied Mathematics and Computation, v.265, p.103-107,2015.