



ZOOLOGIA 

Epidemiologia retroativa

Estudo de girinos preservados em museus responsabiliza fungo por mortalidade registrada há quase quatro décadas

Uma ampla mortandade de sapos marcou algumas regiões brasileiras nos anos 1980, sem que ninguém descobrisse o motivo.

Espécies se tornaram raras, outras desapareceram de uma localidade ou sumiram de vez. “Estimamos que ao menos 65 espécies foram afetadas, levando a 49 extinções locais e ao desaparecimento de 15 espécies”, calcula o biólogo Luís Felipe Toledo, professor da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp). O cenário desse desastre anfibio foi principalmente o trecho da Mata Atlântica entre o Paraná e o Espírito Santo, e incluiu áreas onde a floresta está intacta – como a Estação Biológica de Boraceia e o Parque Nacional do Itatiaia, à primeira vista excluindo o vilão habitual (o desmatamento) do rol de suspeitos. Quase 40 anos depois, um trio de biólogos que inclui Toledo indica o fungo *Batrachochytrium dendrobatidis*, ou quitrídio, como assassino, em artigo publicado em fevereiro na revista *Proceedings of the Royal Society B*.

A conclusão exigiu paciência e persistência da bióloga Tamílie Carvalho durante o mestrado orientado por Toledo. Ao longo de meio ano ela percorreu 10 museus de zoologia em seis estados brasileiros, nos quais não teve tempo para turismo. “Eu praticamente dormia no museu, respirando formol”, brinca. Não é para menos: nesse período ela exa-

minou, à lupa, a boca de 33 mil girinos armazenados em frascos de formol. Ela foi aprendendo truques para agilizar o trabalho e respirar menos os gases que causam náusea: passar o girino por água e depositar sobre um papel absorvente debaixo da lupa, depois pressionar levemente a boca do animal com uma pinça de maneira a observar as estruturas ricas em queratina, a proteína que o fungo ataca. Com a prática adquirida, chegou a conseguir examinar um girino por minuto, mais ou menos. Aparentemente é essa a maneira mais rápida e barata de diagnosticar a infecção pelo quitrídio, que branqueia os denticulos normalmente pretos. “Analisar girinos de 13 famílias diferentes; então sempre precisava estudar a morfologia saudável para saber se as manchas podiam ser normais”, conta Tamílie. Nunca eram.

Concentrar os diagnósticos em girinos armazenados em museus, e não em sapos adultos, foi um dos diferenciais do estudo e permitiu chegar ao que Tamílie considera um resultado magnífico: entender o que aconteceu com os declínios enigmáticos dos anos 1980. Os adultos, nos quais estudos anteriores tinham se concentrado, morrem rapidamente quando infectados e chegam mais raramente aos museus. Isso porque os danos à queratina causam neles anomalias no balanço hídrico que levam a dificulda-



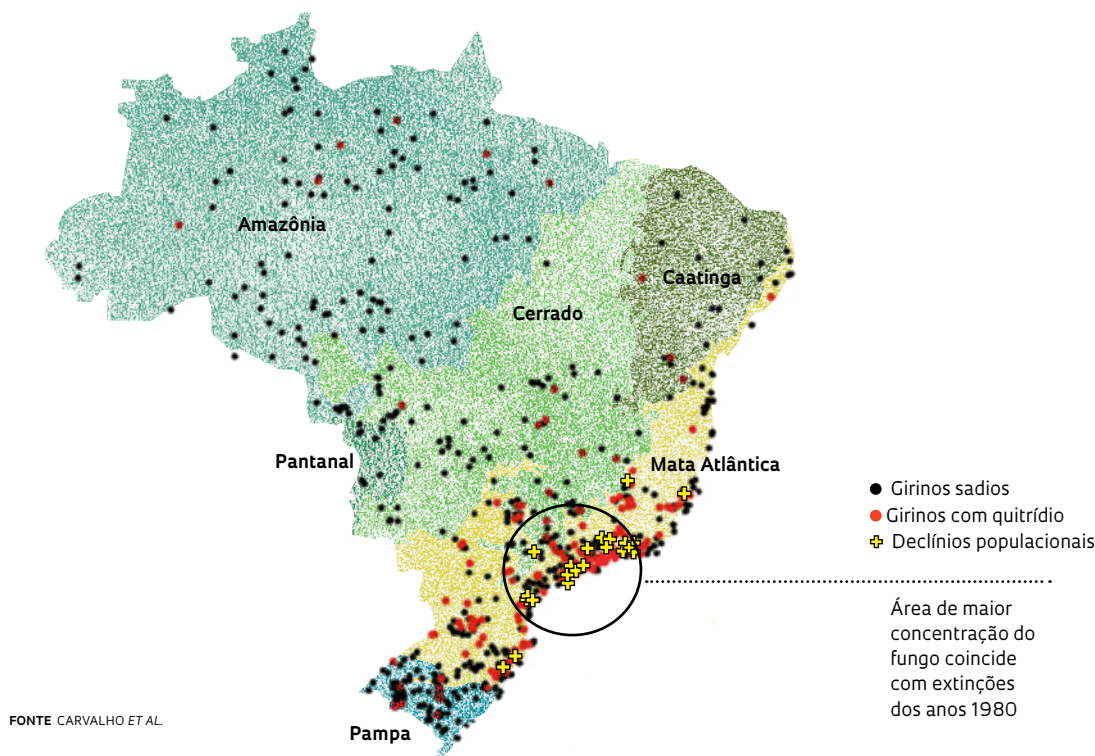
Extinto em Boraceia, *Cycloramphus boraceiensis* resiste em Ilhabela; à esquerda, espécimes na coleção da Unicamp

des respiratórias e cardíacas. Os girinos resistem mais, mas acabam comendo menos e passando pela metamorfose com um tamanho menor. O importante, para os propósitos do estudo, é que os girinos infectados foram capturados antes que o fungo os levasse à morte. E por isso estão presentes nas coleções, permitindo avaliar a taxa de infecção praticamente no país inteiro, em áreas representativas de todos os biomas (*ver mapa na página 62*).

O estudo analisou animais coletados entre 1930 e 2015, e nesse período detectou o fungo principalmente na Mata Atlântica: por volta de 17% dos girinos analisados nesse bioma estavam infectados, mas os casos se concentraram nas regiões Sudeste e Sul. Uma análise estatística que abarca tempo e espaço permitiu detectar a coincidência entre a presença do quitrídio e a maior parte dos eventos registrados de extinções ou declínios populacionais, em uma área de Mata Atlântica que vai do Rio de Janeiro ao Paraná e inclui Itatiaia, no Rio de Janeiro, e Boraceia, em São Paulo. Para o biólogo Guilherme Becker, pesquisador em estágio de pós-doutorado no *campus* de Rio Claro da Universidade Estadual Paulista (Unesp) e o autor mais envolvido na parte estatística do estudo, essa correlação forte parece indicar que o fungo pode realmente ter causado a mortandade.

Infecção no tempo e no espaço

Coincidência entre declínios populacionais e fungo, detectado em girinos coletados entre 1930 e 2015, sugere que o quitrídio foi responsável por extinções históricas



FORNE CARVALHO ET AL.

A realidade aparente nos resultados põe em dúvida um estudo anterior de Becker, que em experimentos de laboratório encontrou indícios de que a alta biodiversidade combateria a transmissão da doença (ver Pesquisa FAPESP nº 226). “Enquanto os experimentos indicam um efeito protetor da biodiversidade, estudos de campo apontam para um maior risco de doenças em áreas com vegetação natural e alta diversidade de anfíbios”, explica, ressaltando que são considerações ainda especulativas. Quanto maior a biodiversidade, mais intrincada a rede de relações ecológicas e maior a probabilidade de anfíbios que nunca chegam perto da água terem contato com espécies aquáticas, que transmitem a doença. É nos cursos d’água que mora o quitrídio.

COMPANHEIRO LETAL

O resultado também surpreendeu porque o fungo está presente nessa área há mais de um século, a ponto de ser considerado parte do ecossistema por alguns especialistas, como o zoólogo Cé-

lio Haddad, professor da Unesp em Rio Claro (ver Pesquisa FAPESP nº 220). A percepção, a partir de estudos anteriores, era de que os anfíbios brasileiros conseguiriam sobreviver à doença, ao contrário do extermínio flagrado em outros países, como a Costa Rica.

Mas o que destaca o Brasil não é apenas a suposta resistência dos anfíbios. A linhagem nacional do quitrídio, aparentemente exclusiva daqui, pode ser menos letal. Uma hipótese é que a responsável pelas extinções seja uma linhagem especialmente virulenta do quitrídio global que desembarcou no Brasil no final dos anos 1970, talvez de carona com rãs-touro importadas para criação em cativeiro. Mais do que isso, a cepa forasteira se misturou à local. “O quitrídio é assexuado no mundo todo”, conta Toledo. “Mas aqui ele aparentemente consegue passar para a reprodução sexual e formar híbridos, que podem ser mais agressivos.”

Em experimentos preliminares, Becker já indicou que essa mistura exclusiva do Brasil é mais eficaz em matar sapos.

Resta investigar se fatores como poluição ou desmatamento aumentam a vulnerabilidade dos anfíbios e, portanto, a mortalidade



Holoaden bradei, eliminado pelo quitrídio nos anos 1980, vivia apenas em Itatiaia

“Eles não têm resposta imunológica a essa variante”, explica ele. Uma limitação até agora, para diagnosticar os espécimes dos museus, é que os híbridos só foram descobertos recentemente e ainda não foi possível fazer a caracterização genética da epidemia dos anos 1980.

Segundo Haddad, que em 1979 começou a graduação e no ano seguinte a carreira com sapos, só alguns anos depois o sumiço de algumas espécies em Itatiaia virou assunto. “Quando fui lá, já não conseguia encontrá-los”, lembra. Especulações sobre as causas giravam em torno da atividade humana, como uma estrada ou poluição ligada ao Proálcool.

Mas salta aos olhos a possibilidade de um efeito mais global, já que nos anos 1980 declínios populacionais também foram observados na América Central, do Norte e na Austrália. Mudanças climáticas podem estar envolvidas nessa equação, potencializando a presença do

fungo. “O gráfico da temperatura média mundial veio numa crescente lenta até 1979, quando deu um salto grande”, observa Becker. Sua hipótese é de que sapos habitantes de zonas elevadas, os mais afetados pelo quitrídio, têm uma capacidade de adaptação pequena a mudanças de temperatura. “Esses anfíbios são adaptados a climas constantemente mais frios.” Ele agora começou experimentos com animais oriundos de diferentes altitudes para ver como respondem à infecção em diferentes temperaturas.

O estudo indica que o crucial, no Brasil, não é a presença ou não do fungo. “Nos outros países os sapos morrem quando o quitrídio chega”, diz Toledo. “Aqui, é quando aumenta a prevalência.” Ou algo muda, e por isso é necessário monitorar as áreas onde ele existe. Até certo ponto, o estudo de Tamílie, Becker e Toledo corrobora fatores de risco que já eram conhecidos para a doença: áreas de altitude com topografia complexa, chuvosas e de temperaturas frescas. Mas resta investigar se outros fatores, como poluição ou desmatamento, aumentam a vulnerabilidade dos anfíbios e, portanto, a mortalidade. “Precisamos estudar variáveis que permitam prever a

presença do quitrídio”, planeja o biólogo da Unicamp. “As implicações dos resultados são enormes para a conservação dos anfíbios brasileiros”, acrescenta Becker. “Agora sabemos que o fungo pode voltar a ameaçar a nossa biodiversidade como aconteceu nos anos 1980.”

Tamílie, que começou o doutorado na Unicamp, está tentando justamente destrinchar os fatores e mecanismos dessa vulnerabilidade ao fungo. Para ela, esse estudo vai muito além de doença e sapo. Trata-se de usar a doença para entender mecanismos ecológicos. Para confirmar as extinções, Haddad está envolvido em um projeto que pretende analisar o DNA extraído dos rios. “Pode ser que não encontremos os sapos por incompetência, mas se eles existirem, o DNA está na água”, afirma. ■

Maria Guimarães

Projeto

Comunicação e sistemas sensoriais em anuros da Mata Atlântica (nº 14/23388-7); Modalidade Auxílio à Pesquisa – Regular; Pesquisador responsável Luís Felipe Toledo (Unicamp); Investimento R\$ 139.637,65.

Artigo científico

CARVALHO, T. *et al.* Historical amphibian declines and extinctions in Brazil linked to chytridiomycosis. *Proceedings of the Royal Society B*. v. 284, n. 1848. 8 fev. 2017.