



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA - UFBA

Programa de Pós-Graduação em Ecologia: Teoria, Aplicação e Valores
Mestrado em Ecologia e Biomonitoramento

AMANDA BARRETO CAMPOS

INFECÇÕES VIRAIS E O BRANQUEAMENTO DE CORAIS

Salvador, Fevereiro de 2020

AMANDA BARRETO CAMPOS

INFECÇÕES VIRAIS E O BRANQUEAMENTO DE CORAIS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia: Teoria, Aplicação e Valores, como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Biomonitoramento.

Orientador: Dr. Pedro Milet Meirelles

Co-orientadora: Dr. Flora Souza Bacelar

Salvador, Fevereiro de 2020

“Everything is hard before it is easy.

*Be gentle to yourself,
you can’t begin as a master.”*

Johann Wolfgang von Goethe

*Dedico esse trabalho à quietude da mente,
de onde surgem as boas ideias.*

*Dedico também às pessoas que amo,
sem elas minha mente seria uma bagunça.*

Agradecimentos

Sou grata pela oportunidade de fazer ciência no Brasil.

Sou grata à minha querida família, especialmente à minha mãe, Iumara, pelo encorajamento, ao meu pai, Reinaldo, pelo amparo e ao meu irmão, Filipe, pelo companheirismo e amizade. Ainda, agradeço à minha tia Rosane, por ser uma segunda mãe, e à minha prima Letícia por me colocar no lugar de inspiração, fazendo com que eu queira ser melhor todos os dias.

Sou grata à Renata Paz e Yasmin Cardim pela amizade duradoura e verdadeira, vibrando por mim em cada conquista e aprendizado.

Sou grata à Rafael Menezes pela amizade, carinho e generosidade na vida e na academia.

Sou grata à Pedro Meirelles pela orientação acadêmica e na vida.

Sou grata à Flora Bacelar pela paciência e carinho ao me conduzir pelo mundo da modelagem durante esses dois anos.

Sou grata à todos que convivi e com quem aprendi muito no Laboratório de Bioinformática e Ecologia Microbiana: Letícia Cavalcante, Matheus Pinheiro, Gabriel Bertolino “Bertola”, Felipe Alexandre, Suzana Varjão, Biatriz Walter, Rilquer Mascarenhas, Flávia Hirata e Arthur Rios, gratidão pela troca.

Sou grata à Amanda Martins, Caroline Birrer e Ehiko Rios pela boa amizade e pela força nesses dois anos de PPG. Sigamos juntas.

Sou grata à Universidade Federal da Bahia, minha segunda casa ao longo desses dois anos, pelo esforço em democratizar-se e internacionalizar-se.

Sou grata aos órgãos de fomento à pesquisa científica no Brasil, especialmente ao CNPq pelo auxílio de pesquisa.

Sou grata ao corpo docente e técnico do Programa de Pós-Graduação em Ecologia pelo trabalho de qualidade e dedicação.

Sou grata pelas políticas públicas de reparação histórica social, racial e de gênero.

Sou grata à todas as pesquisadoras que vieram antes de mim e à todas que estão por vir.

Sou grata aos que removem as barreiras do caminho da ciência.

Ao povo nordestino, o meu muito obrigado, eu sou porque somos.

Infecções virais podem levar ao branqueamento de corais

Amanda Barreto Campos

Os corais construtores de recifes estabelecem uma relação íntima com um tipo específico de algas, as zooxantelas, nos quais os dois organismos se beneficiam. As zooxantelas são algas simbiotes, isso é, vivem dentro do tecido dos corais, e fornecem nutrientes que contribuem para a sobrevivência do coral, enquanto que o coral fornece à zooxantela compostos importantes para seu crescimento. O branqueamento de corais consiste na diminuição da população das zooxantelas no tecido transparente dos corais, levando à exposição de seu esqueleto calcário branco. A diminuição da população de zooxantelas está associada a deficiência nutricional do coral, e, portanto, à mortalidade de corais.

Existem dois mecanismos de branqueamento de corais, o branqueamento por estresse oxidativo e o branqueamento por infecção bacteriana. O branqueamento por estresse oxidativo ocorre quando há uma super-produção de compostos químicos oxidantes pelas zooxantelas, os quais se difundem para o tecido do coral. Esse processo causa um estresse oxidativo no coral, o qual expulsa a zooxantela de seu tecido. A expulsão em massa das zooxantelas leva a diminuição de sua população dentro do tecido do coral, caracterizando um episódio de branqueamento. O branqueamento bacteriano foi observado no coral *Oculina patagonica*, onde uma espécie de bactéria, *Vibrio shiloi*, é capaz de infectar a zooxantela que está dentro do tecido do coral, inibindo sua fotossíntese e causando a sua morte. A morte em massa das zooxantelas infectadas caracteriza um episódio de branqueamento.

Além desses dois mecanismos de branqueamento de coral, muitos estudos apontam que zooxantelas apresentam uma infecção viral latente, ou seja, a zooxantela infectada parece saudável e não é possível observar partículas virais dentro de sua célula. Estudos experimentais demonstraram que quando essas zooxantelas infectadas latentemente são submetidas à altas temperaturas ou alta radiação ultravioleta, essa infecção viral latente se torna ativa. Durante a infecção ativa, partículas virais são formadas e a zooxantela é rompida para liberá-las no ambiente, processo denominado de indução viral. Embora existam evidências de que infecções virais podem causar a

morte das zooxantelas, ainda não existe um mecanismo relacionando a dinâmica infecciosa viral e o branqueamento de corais.

No presente trabalho, construímos um modelo matemático com equações diferenciais ordinárias acopladas ilustrando o processo infeccioso dos vírus gigantes nas zooxantelas a fim de investigar as condições nas quais a infecção viral pode levar ao branqueamento de coral. Dessa forma, aqui propomos e investigamos uma nova hipótese para o branqueamento de corais, o Branqueamento Viral de Corais.

Encontramos que vírus gigantes e zooxantelas podem coexistir amplamente e que o estado branqueado ou saudável do coral é determinado pela estratégia de infecção viral, ou seja, se a infecção viral é latente ou ativa e se é passada adiante para as novas células de zooxantela, processo denominado de transferência vertical da infecção. Encontramos que se houver predominância de infecções virais latentes na zooxantela em conjunto com uma altas taxa de transferência vertical dessa infecção viral, o branqueamento de coral não ocorre na ausência de indução. Por outro lado, quando a maior parte dessas infecções virais estabelecidas são ativas ou quando as infecções que eram latentes se tornam ativas, o branqueamento de coral ocorre. Ainda, considerando que altas temperaturas e radiação UV influenciam a taxa de indução viral, observamos que a variação anual desses fatores pode levar ao aparecimento de ciclos anuais de branqueamento. Assim, sugerimos que o Branqueamento Viral de Corais, deve desempenhar um papel importante e anteriormente negligenciado nos eventos de branqueamento de corais. Dessa forma, sugerimos que este novo mecanismo deve ser levado em consideração na investigação de eventos de branqueamento em massa e no planejamento de estratégias de mitigação de branqueamento de corais.

Resumo

O branqueamento de corais consiste na diminuição da população de células de zooxantela no tecido do coral e está associada à mortalidade de corais em nível global. Existem dois mecanismos bem elucidados de branqueamento de corais, o branqueamento por estresse oxidativo e o branqueamento por infecção bacteriana. Além desses dois tipos de branqueamento, muitas evidências apontam uma correlação entre o branqueamento de corais e infecções virais. Nesses estudos, os vírus parecem estabelecer uma infecção viral latente em zooxantelas, as quais se tornam ativas a partir da exposição da zooxantela infectada à fatores estressantes relacionados ao branqueamento, como radiação UV intensa e altas temperaturas, levando à lise celular. Embora existam evidências de um possível papel das infecções por vírus gigantes no branqueamento de corais, ainda não existem explicações mecanicistas que vinculem infecções virais ao estado de saúde do coral. No presente trabalho, construímos um modelo matemático com equações diferenciais ordinárias acopladas para investigar o comportamento da dinâmica populacional das zooxantelas sob a influência da dinâmica infecciosa dos vírus gigantes dentro do tecido do coral. Aqui, propomos e investigamos teoricamente a Hipótese do Branqueamento Viral. Encontramos que a coexistência entre vírus gigantes e zooxantelas é amplamente estável e que o estado de saúde dos corais é determinado pela estratégia de reprodução viral. Altas taxas de infecção latente, ou seja, infecção viral onde não há produção de partículas virais, e altas taxas de transferência vertical da infecção viral, isso é, transferência entre gerações da infecção viral, estão relacionadas ao estado saudável dos corais. Por outro lado, a alta intensidade de indução viral, ou seja, uma alta taxa de mudança da estratégia reprodutiva viral de latente para a lítica, está ligada a um estado de coral branqueado. Além disso, mostramos que a sazonalidade anual da temperatura e radiação UV podem levar ao aparecimento de ciclos anuais de branqueamento. Dessa forma, indicamos que essa dinâmica única deve desempenhar um papel importante e anteriormente negligenciado nos eventos de branqueamento de corais. Assim, sugerimos que esse novo mecanismo deve ser levado em consideração na investigação de eventos de branqueamento e no planejamento de estratégias de mitigação de branqueamento de corais.

Palavras-chave: Viroma de Corais, Ciclo de Vida Viral, Vírus Gigantes, Modelagem com Equações Diferenciais.

Abstract

Coral bleaching consists in the population decrease of zooxanthellae cells within coral tissue and is associated to coral mortality events worldwide. There are two well-understood mechanisms of coral bleaching, oxidative stress bleaching and bacterial infection bleaching. However, there are evidences indicating a correlation between coral bleaching and viral infections. Several studies indicate that virus can establish a latent infection in zooxanthellae, which become active from the exposure of the infected zooxanthellae to stressors related to bleaching, such as intense UV radiation and high temperatures, leading to cell lysis. Despite there is evidence of a possible role of viral infection in coral bleaching, there are still no mechanistic explanations linking viral infections and coral health status. In the present work, we built a mathematical model with coupled ordinary differential equations to investigate the behavior of zooxanthellae population dynamics under influence of the infectious dynamics of giant viruses inside coral tissue. Here, we propose and theoretically investigate the Viral Coral Bleaching Hypothesis. We found that the coexistence between giant viruses and zooxanthellae is broadly stable and that the coral health state is determined by viral reproduction strategy. High rates of lysogenic infection, that is, a viral infection without production of new particles, alongside high rates of vertical transfer of viral infection, that is, intergenerational transfer of viral infection, are related to the healthy state of corals. On the other hand, a high intensity of viral induction, that is, a high rate of change of the viral reproductive strategy from lysogenic to lytic, is linked to coral bleaching. In addition, we show that annual seasonality of temperature and UV radiation may lead to the appearance of annual bleaching cycles. Hence, we indicate that this unique dynamics should play an important and previously neglected role in coral bleaching events. Therefore, we suggest that this new mechanism should be taken into account when investigating bleaching events and when planning coral bleaching mitigation strategies.

Keywords: Coral Virome, Viral Life Cycle, Giant Virus, Differential Equation Modeling.

Sumário

<u>Estrutura da dissertação.....</u>	<u>20</u>
<u>Introdução geral.....</u>	<u>21</u>
<u>Objetivos.....</u>	<u>31</u>
<u>Metodologia Geral.....</u>	<u>32</u>
<u>Capítulo I.....</u>	<u>51</u>
<u><i>Viral infections rule zooxanthellae population dynamics.....</i></u>	<u>51</u>
<u>Conclusão.....</u>	<u>75</u>

Estrutura da dissertação

A presente dissertação consiste em um capítulo único como segue:

Capítulo I – *Viral infections rule zooxanthellae population dynamics*

O artigo desse capítulo: *Viral infections rule zooxanthellae population dynamics*, trata da proposição de um modelo conceitual e a investigação de um modelo matemático ilustrando um possível novo mecanismo de branqueamento de coral, o branqueamento viral. Ainda nesse artigo, investigamos quais são as circunstâncias teóricas nas quais os vírus gigantes podem levar à redução da população de zooxantelas abaixo do limiar de branqueamento dentro do tecido do coral.

Introdução geral

Os recifes de corais são um dos ecossistemas mais produtivos do mundo (Odum & Odum, 1955). Este possui uma grande importância ecológica e econômica, movimentando aproximadamente 350.000 dólares internacionais (Int\$) por hectare por ano (de Groot et al., 2012). Os corais (Cnidaria, Scleractinia) zooxantelados são os principais construtores recifais e apresentam relações simbióticas com diversos organismos dos três domínios da vida, eucariotos, bactérias e arqueias, além dos vírus (Rohwer et al., 2002). Dentre essas relações, é importante destacar a associação mutualística entre o coral, o hospedeiro, e a zooxantela, alga simbiote, na qual a zooxantela pode suprir até aproximadamente 90% das necessidades nutricionais do coral (Muscatine & Marian, 1981).

A manutenção da relação simbiótica entre a alga e o coral se deve principalmente a contribuição nutricional da zooxantela através dos seus produtos fotossintéticos, sobretudo de compostos carbonados como a glicose e o glicerol (Burriesci et al., 2012; Muscatine, 1967), que são utilizados pelo coral. Em contrapartida, o coral contribui com nutrientes limitantes para o crescimento algal, como sulfato e amônia (Falkowski et al., 1993; Muscatine & Pool, 1979). Apesar de exercer uma função estimuladora, o coral também é capaz de limitar o crescimento algal através de sinalizadores moleculares denominados fatores de liberação do hospedeiro (host-release factors, ou HRF), onde o coral incentiva a liberação de compostos algais, como o glicerol, que posteriormente é englobado para as células do coral, reduzindo as taxas de conversão desse composto em triglicerol e amido pela zooxantela e por conseguinte limitando o seu crescimento populacional (Grant et al., 2006). Nessa associação, a zooxantela é tão importante para a sobrevivência do coral que estes podem viver quase que unicamente da atividade fotossintética dessa alga como fonte de nutrientes em ambientes oligotróficos (Hatcher, 1988).

Além da zooxantela o coral forma associações com diversas bactérias, arqueias, fungos e vírus, sendo considerado um holobionte (Rohwer et al., 2002). Recentemente, o microbioma associado aos corais deixou de ser pensado apenas como potenciais patógenos mas também como simbioses que auxiliam a manutenção da saúde do holobionte (Thompson et al., 2014). Bactérias e Arquéias desempenham um papel importante no estado de saúde dos ecossistemas recifais promovendo diversos serviços

ecossistêmicos (Ceh et al., 2013), incluindo proteção dos corais contra a colonização de patógenos (Krediet et al., 2013), nutrição (Rosenberg et al., 2009), auxiliando os corais na colonização do ambiente e reprodução, além de provavelmente compartilharem processos evolutivos conjuntos (Thompson et al., 2014). As bactérias simbiotes do coral podem estar associadas à papéis importantes para a manutenção do holobionte como a disponibilização de nitrogênio, serviço desempenhado principalmente por algumas cianobactérias (Lesser et al., 2007; Lesser et al., 2004), o qual é um importante nutriente para a manutenção da simbiose entre corais e zooxantelas.

Apesar de serem importantes simbiotes, as bactérias também podem causar doenças (revisado em Bourne et al., 2009). Por exemplo, algumas bactérias do gênero *Vibrio* causam a morte da zooxantela no coral e à lesões esbranquiçadas no tecido do coral, uma doença denominada de doença da banda amarela (Cervino et al., 2008). Fungos também são componentes importantes do microbioma de corais, sendo abundantes e apresentando grande diversidade filogenética e de genes envolvidos no metabolismo de nitrogênio e carbono (Wegley et al., 2007). Entretanto, mudanças no ambiente podem causar um aumento na abundância relativa dos fungos no tecido do coral, processo associado com o estado de doença (Littman et al., 2011). É importante ressaltar que mudanças na composição da comunidade microbiana ou em sua fisiologia tem sido associadas à perturbações ambientais como temperatura, poluição química, mudanças nutricionais, mudanças na salinidade e pH, dentre outros, causando impacto direto ou indireto no metabolismo do coral (Reshef et al., 2006; Thompson et al., 2014). É interessante notar que, esses mesmos fatores também estão ligados à eventos de branqueamento de corais, sugerindo uma associação entre mudanças no microbioma de corais e o branqueamento.

Branqueamento de Corais

A ruptura da relação simbiótica entre corais e zooxantelas é denominada de branqueamento de coral, e consiste na perda da zooxantela ou do seus pigmentos fotossintéticos (Baker et al., 2008). Sabendo que o coral pode abrigar até 10^7 células/cm² de zooxantelas (Fagoonee et al., 1999), é importante ressaltar que o coral é considerado branqueado mesmo quando o número de zooxantelas é diferente de zero, mas atinge níveis criticamente baixos como por exemplo 10^5 células/cm² (Fagoonee et al., 1999). A persistência do branqueamento compromete a nutrição, reprodução e o crescimento do coral, podendo levá-lo à morte (Baird & Marshall, 2002).

O branqueamento de corais é considerado uma ameaça global e suas causas e consequências têm sido investigadas desde a década de 1980 (Brown, 1997). Existem alguns gatilhos conhecidos que levam ao processo de branqueamento em corais (revisado em Lesser, 2011), os quais estão relacionados com impactos locais e globais (Wilkinson, 1999) que perpassam mudanças na salinidade (Van Woesik et al., 1995), aumento na irradiação solar (radiação ultra-violeta) e temperatura (Wooldridge, 2009), acidificação da água (Anthony et al., 2008), aumento de nutrientes (Wiedenmann et al., 2012), infecções bacterianas (Kushmaro et al., 1996) e combinações entre esses fatores (e.g. Zaneveld et al., 2016). Entretanto, dentre esses fatores, apenas o aquecimento da água do mar e o aumento da radiação UV (Wooldridge, 2009) são os gatilhos mais bem elucidados até o momento.

O aumento da temperatura e a radiação ultra-violeta podem levar à excitação dos sistemas fotossintéticos e desestabilização da cadeia transportadora de elétrons da zooxantela, levando assim a alta taxa de produção de espécies reativas de oxigênio (ROSs) (Downs et al., 2002). As ROSs então podem escapar para o tecido do coral e causar um estresse oxidativo, o que resulta na expulsão da zooxantela do tecido do coral através de exocitose (Downs et al., 2002). Além do aumento da temperatura, o aumento da radiação UV também pode levar à exocitose da zooxantela através do mesmo mecanismo (Lesser et al., 1990) ou agir de forma sinérgica com temperaturas elevadas (Lesser et al., 1990; Lesser, 1996). Esse processo leva ao branqueamento por estresse oxidativo do hospedeiro (*oxydative theory of coral bleaching*; Downs et al., 2002).

Microorganismos também podem causar o branqueamento em corais, conhecido como branqueamento infeccioso microbiano (*microbial bleaching hypothesis*; Rosenberg, 2004; Rosenberg et al., 2009). Esse mecanismo foi provado a partir de experimentos manipulativos e inoculação da bactéria *Vibrio shiloi* em corais da espécie *Oculina patagonica*. A partir dos resultados destes ensaios, foi verificado que *V. shiloi* expressa a enzima zinco-metaloprotease em tratamentos com aumento de temperatura. Esta enzima causa danos ao aparelho fotossintético e inibe a fotossíntese da zooxantela (Banin et al., 2001), levando a morte da zooxantela (Banin et al., 2001) e causando o branqueamento do coral *Oculina patagonica* (Kushmaro et al., 2001).

A partir da detecção de partículas virais em corais construtores de recifes, se iniciou um forte esforço de pesquisa para entender como os vírus podem estar relacionados ao branqueamento de coral (Benites et al., 2018; Lawrence et al., 2017; Lohr et al., 2007; Wilson et al., 2001). Por exemplo, experimentos de mesocosmos revelaram que a expressão acentuada de genes virais, como os da família Herpesviridae,

podem estar associadas à estresses ambientais bióticos e abióticos (Vega Thurber et al., 2008). Partículas virais semelhantes aos da família Phycodnaviridae, conhecidos por infectar algas de vida livre (Tomaru et al., 2008), foram observados em associação com as zooxantelas (Correa et al., 2013). Ainda, uma alta quantidade de partículas e sequências genômicas similares aos vírus gigantes da família Herpesviridae, Mimiviridae e Phycodnaviridae foram detectadas em um evento de branqueamento natural na grande barreira de corais (Correa et al., 2016). Apesar de existirem evidências de uma correlação entre a infecção viral e a diminuição da população de zooxantelas, ainda não se sabe se tem infomação mecanista sobre como ocorre esse processo e como este influenciaria o estado de saúde do coral.

Infecções virais latentes na zooxantela

Vírus são as entidades mais abundantes do planeta, chegando até à 10^{10} partículas virais por litro em águas costeiras (Wilhelm & Suttle, 1999). Vírus são parasitas obrigatórios, logo sua dinâmica infecciosa o torna um importante fator regulador da estrutura da comunidade de seus hospedeiros (Suttle, 2007). Os vírus parecem ser um importante componente do coral holobionte uma vez que já foram observados em seu muco (Nguyen-Kim et al., 2015), em seu tecido (Vega Thurber et al., 2008), associados à zooxantela (Benites et al., 2018; Lawrence, 2014) e no seu esqueleto carbonático (Vega Thurber et al., 2008).

Estudo recentes mostraram que estresses ambientais levam à expressão de partículas virais em células de zooxantelas (Correa et al., 2013; Lawrence et al., 2017; Lawrence et al., 2014; Levin et al., 2017; Lohr et al., 2007; Wilson et al., 2001). Esse fato, juntamente com a presença de partículas virais em corais estressados (Vega Thurber et al., 2008) ou branqueados (Correa et al., 2016, 2013) levantam suspeitas de que deve haver uma relação entre os eventos de branqueamento de corais e infecções virais na *zooxantela*.

Experimentos em mesocosmos com *Porites compressa* revelaram uma alta expressão de sequências relacionados aos vírus gigantes da família *Herpesviridae* frente a estresses, como a diminuição de pH e aumento da temperatura e nutrientes (Vega Thurber et al., 2008). Inúmeras partículas e sequências genômicas virais semelhantes aos vírus gigantes de grupo de Vírus de DNA Nucleocitoplasmáticos Gigantes (nucleocytoplasmic large DNA viruses – NCLDV), como os das famílias Herpesviridae, Retroviridae, Mimiviridae e Phycodnaviridae, foram encontradas no tecido dos corais, e vírus da família *Megaviridae* foram encontrados associados à zooxantela (Correa et al.,

2016) em corais do gênero *Acropora* sp. em um evento de branqueamento em massa na Grande Barreira de Corais.

Partículas virais da família Mimiviridae ainda foram observados após incidência de UV em culturas de zooxantela dos clados A e C oriundas do coral-cérebro *Mussismilia brasiliensis* da costa brasileira encontradas através de micrografias de escaneamento e de transmissão eletrônica (Benites et al., 2018). Uma abordagem integrada de DNA, RNA, observação e contagem de partículas também indicou que zooxantelas do tipo C1 oriundas de *Acropora tenuis* da Grande Barreira de Corais apresentam uma infecção latente de vírus gigantes das famílias Phycodnaviridae e Mimiviridae que são expressas após estresse por altas temperaturas (Weynberg et al., 2017). Esses vírus ainda foram encontrados em transcriptomas (Lawrence et al., 2017) e microscopia eletrônica de transmissão e citometrias de culturas de zooxantela E, A3 e C3 após estresse de radiação UV (Lawrence et al., 2014). Além disso, transcriptomas de populações termotolerantes e termossensíveis de zooxantela C1 submetidas à altas temperaturas revelaram uma grande abundância de genes NCDLV na população de zooxantelas termossensíveis, sugerindo que as infecções virais podem contribuir para a sensibilidade termal dessas algas (Levin et al., 2017). Esse padrão é condizente com a expectativa de que vírus latentes são induzidos ao ciclo lítico a partir do estresse de suas células hospedeiras (revisado em Howard-Varona et al., 2017).

Além das evidências de estudos individuais sugerindo que existe uma infecção persistente das famílias virais Mimiviridae e Phycodnaviridae em zooxantelas, um esforço de meta-análise ainda mostrou que os vírus dessas famílias parecem ser ubíquos na comunidade microbiana do coral holobionte (Wood-Charlson et al., 2015). Apesar da crescente evidência da relação entre infecções virais latentes do zooxantela como possível fator que pode comprometer a estabilidade da interação coral-zooxantela e promover o branqueamento do coral, nenhum estudo, apesar de esforços (Lawrence et al., 2014), comprovou empiricamente essa relação causal, tampouco se ateu a propor teoricamente um mecanismo elucidando essa relação.

O impacto da infecção por vírus gigantes em seus hospedeiros

A ordem Megavirales é monofilética e compreende sete famílias de vírus gigantes, Ascoviridae, Asfiviridae, Iridoviridae, Mimiviridae, Phycodnaviridae e Poxviridae, além da família proposta “Marseilleviridae” (Colson et al., 2013). Esses vírus geralmente apresentam capsídeos pseudo-icosaédricos grandes entre 200 e 400

nanômetros (nm) que são envoltos por uma camada grossa de fibras protéicas de aproximadamente 100 nm. Seu genoma é uma fita dupla de DNA de 100 kilobases à 1 megabase apresentando pelo menos 50 genes sinapomórficos (Colson et al., 2013). Dentre essas famílias virais, temos as famílias Mimiviridae que apresenta uma grande amplitude de hospedeiros, incluindo protistas e algas (Colson et al., 2013; Fischer, 2016) e Phycodnaviridae conhecida por infectar principalmente algas de vida livre como *Emiliana huxleyi* (Bratbak et al., 1993), *Phaeocystis globosa* (Brussaard et al., 2005) e *Heterosigma akashiwo* (Tarutani et al., 2000), nos quais uma alta densidade de partículas desses vírus está correlacionada com a terminação de *blooms* algais. Esforços recentes mostraram ainda que essa família viral apresenta uma infecção latente na zooxantela (Levin et al., 2017; Weynberg et al., 2017), se expressando a partir do estresse com radiação UV ou temperatura (Benites et al., 2018; Lawrence et al., 2017).

De maneira geral, famílias da ordem Megavirales se reproduzem inteira ou parcialmente no citoplasma da célula hospedeira, formando uma estrutura membranosa circular, a fábrica viral, responsável por mediar a replicação e expressão viral, além da morfogênese dos vírions (Colson et al., 2013; Kuznetsov et al., 2013), os quais são liberados para o ambiente a partir da lise do hospedeiro. Vírus gigantes tem grande impacto na abundância populacional de seus hospedeiros eucarióticos. A infecção do vírus gigante, por exemplo, leva a diminuição acentuada da população do hospedeiro, padrão observado experimentalmente (Brussaard et al., 2005; Fischer & Hackl, 2016) e através da modelagem com sistema de equações diferenciais (Yau et al., 2011). Por exemplo, a infecção lítica do vírus gigantes da família Phycodnaviridae é reconhecida com um dos fatores mais significantes na terminação de *bloom* algal (Bratbak et al., 1993; Tarutani et al., 2000), processo que, em *H. akashiwo*, é marcado por um rápido aumento na porcentagem de células infectadas, seguido pela diminuição do número de células hospedeiras e um aumento do número de partículas virais no ambiente (revisado em Tomaru et al., 2008). Notavelmente, a susceptibilidade de *H. akashiwo* a infecção viral é mediada pela temperatura e depende da combinação das linhagens de vírus e algas envolvidas.

Estratégias reprodutivas virais e seus impactos ecológicos

Vírus marinhos podem alcançar até 10^7 partículas virais/ml em águas abertas (Wigington et al., 2016) e variar entre 0,1 à 3×10^7 partículas virais/ml na camada de muco superficial de corais (Nguyen-Kim et al., 2014). Nessa camada, assim como livre

no ambiente, observa-se a presença de vírus temperados e virulentos (Nguyen-Kim et al., 2015; Suttle, 2007), duas estratégias de replicação comuns no ambiente marinho (Weinbauer, Brettar, & Höfle, 2003).

Vírus são simbioses obrigatórios e necessitam de um hospedeiro para se reproduzir. Os vírus virulentos se reproduzem apenas através do ciclo lítico, onde, após a infecção do vírus, a maquinaria de replicação do material genético e tradução protéica do hospedeiro é deslocada para produzir material genético e proteínas virais e montar a estrutura viral, chamados de vírions, levando à lise do hospedeiro e liberação das novas partículas virais que poderão infectar novas células hospedeiras (Young, 1992; Young et al., 2000).

Por outro lado, vírus temperados podem se reproduzir a partir do ciclo lítico ou lisogênico, duas estratégias de replicação distintas. De maneira geral, a lisogenia em vírus temperados normalmente ocorre através de três processos: i) o estabelecimento da infecção latente; ii) a manutenção da infecção latente e iii) a indução ao ciclo lítico, ou seja, a infecção latente se torna ativa (revisado em Howard-Varona et al., 2017). Após infectar o hospedeiro, os vírus temperados podem estabelecer uma reprodução lítica ou lisogênica, dependendo do estado fisiológico do hospedeiro, do vírus em questão, e da presença de outras infecções virais. Por exemplo, os modelos propostos por Stewart e Levin (1984) sugerem que o ciclo reprodutivo viral de lisogenia pode ser favorecido quando o hospedeiro está sob condições desfavoráveis, as quais causam uma redução na quantidade ou na atividade fisiológica do hospedeiro, ou quando o decaimento viral é alto no ambiente. É importante notar que presença de uma infecção latente no hospedeiro pode conferir imunidade a infecções subsequentes de vírus taxonomicamente relacionados, processo denominado de imunidade por superinfecção (Harrison & Brockhurst, 2017).

Quando a infecção latente é estabelecida, essa deve ser mantida no hospedeiro. A manutenção pode ser dada quando o vírus é capaz de integrar seu genoma ao genoma do hospedeiro, sendo denominado provírus (Echols, 1972; Zeng et al., 2010), ou quando consegue estabelecer outras relações simulares de carreamento em seu hospedeiro, como a pseudolisogenia (Łoś & Węgrzyn, 2012; Ripp & Miller, 1997) e a formação de episomas (revisado em Nicoll et al., 2012). Assim, o vírus tem possibilidade de se replicar verticalmente na população dos hospedeiros em conjunto com a replicação da célula infectada enquanto não inicia seu estágio de produção de partículas virais.

A última etapa da lisogenia é indução ao ciclo lítico. Apesar de induções espontâneas ocorrerem uma vez a cada 10^5 – 10^8 células em alguns vírus (Czyz et al.,

2001), estresses ambientais como aumento da radiação UV (Jiang & Paul, 1996) e temperatura (Lorenz et al., 2016), estresse oxidativo (peróxido de hidrogênio) (Łoś et al., 2010), aumento de nutrientes (Wilson et al., 1996), e gatilhos celulares do hospedeiro, como respostas ao dano no DNA (Quinones et al., 2005), são conhecidos como forças motrizes da mudança da estratégia da replicação viral de lisogênica para lítica (revisado em Howard-Varona et al., 2017), podendo ser pensada como uma tentativa viral de escapar de um hospedeiro em risco de morte (Refardt & Rainey, 2009). Além desses fatores, alguns vírus só passam do estado lisogênico para o lítico na presença de outros vírus, como no caso do bacteriófago P4 que só completa seu ciclo lítico na presença do bacteriófago P2 (Six & Klug, 1973), e do virófago Mavirus, que só é capaz de formar seus vírions com a co-infecção do vírus gigante *Cafeteria roenbergensis* no seu hospedeiro algal (Fischer & Hackl, 2016). De maneira geral, estima-se que, globalmente, 90% dos vírus são temperados, entretanto, apenas recentemente houve um aumento expressivo do esforço de pesquisa sobre a elucidação de padrões de estratégia de replicação viral de forma abrangente no ambiente marinho (Coutinho et al., 2017).

A modelagem como ferramenta para investigar dinâmicas populacionais

Modelos são representações simplificadas da realidade (Goldsmith, 1972). Os modelos matemáticos normalmente se baseiam em uma série de premissas e hipóteses que se apoiam no sistema real, as quais são representadas de forma quantitativa através de equações (Motta & Pappalardo, 2013). Após a construção e análise de um modelo pode-se extrair uma série de expectativas sobre o sistema real. Por caracterizar os sistemas de maneira mensurável, a modelagem matemática vem se mostrando uma importante ferramenta para analisar propriedades de sistemas biológicos, principalmente no que se refere a aspectos ligados à estabilidade e à sensibilidade da dinâmica à mudanças de valores de parâmetros (Gonze et al., 2018; Wang & Goldenfeld, 2010; Wodarz, 2013). Dessa forma, os modelos tem sido amplamente utilizados para investigar e prever mudanças qualitativas e quantitativas nos sistemas ecológicos, tanto em macro-organismos (Raharinirina et al., 2017; Ware et al., 1996) quanto na microbiota (Cortes et al., 2019; Knowles et al., 2016; Maslov & Sneppen, 2017; Stewart & Levin, 1984; Thingstad, 2000).

Modelos matemáticos já foram utilizados a fim de explicar ou propor, seja com enfoque mecanístico ou evolutivo, possíveis cenários de interação entre a zooxantela e o coral, ressaltando como essa relação pode se comportar ao longo do tempo. Utilizando equações diferenciais ordinárias, Ware et al. (1996), sob a ótica do branqueamento adaptativo, modelaram utilizando como diferentes clados de zooxantelas termotolerantes e termosensíveis podem competir pelo hospedeiro durante e após eventos de estresse térmico. Enquanto que, ainda com equações diferenciais ordinárias, Raharinirina et al. (2017) construíram um modelo a fim de investigar como um traço hipotético do coral hospedeiro, o investimento na simbiose com a zooxantela, poderia se adaptar ao longo do tempo evolutivo a fim do coral alcançar maior *fitness* na relação simbiótica.

Modelos matemáticos também têm se mostrado ferramentas bastante úteis para investigação de sistemas virais. A partir da modelagem com equações diferenciais ordinárias, estudadas no equilíbrio, Thingstad (2000) sugeriu que a diversidade bacteriana dos ambientes aquáticos poderia ser mantida a partir do efeito combinado da infecção específica de vírus em seus hospedeiros bacterianos e do forrageamento não-específico de protozoários em ambientes aquáticos. A partir disso, utilizando modelos estocásticos, foi sugerido que quanto mais expostas à fatores virulentos mais diversas eram as comunidades microbianas (Maslov & Sneppen, 2017). Ainda, evidências genéticas levaram a construção de um modelo com equações diferenciais ordinárias que ilustra que a quantidade de partículas virais no ambiente diminui à medida que a quantidade de hospedeiros disponíveis aumenta, sugerindo que esses vírus devem entrar no ciclo reprodutivo lisogênico (Knowles et al., 2016). De maneira contrastante, os modelos propostos por Stewart e Levin (1984) sugerem que o ciclo reprodutivo viral de lisogenia deve ser favorecido quando o hospedeiro estiver sob condições desfavoráveis, as quais causam uma redução na quantidade ou na atividade do hospedeiro, ou quando o decaimento viral é alto no ambiente. Adicionalmente, Cortes et al. (2019) concluiu, a partir de modelos com equações diferenciais ordinárias, que em uma provável competição entre hospedeiros lisogênicos, ou seja, hospedeiros que carregam genoma viral em seus genomas, e hospedeiros não-lisogênicos, valores baixos de indução espontânea do lisógeno conferiria uma vantagem competitiva para as células lisogênicas, levando ao aumento dessas células ao longo do tempo.

A lisogenia viral é extensivamente estudada para hospedeiros bacterianos (Davies et al., 2016; Lwoff, 1953; Paul, 2008), entretanto, vírus também podem se reproduzir de forma lisogênica em hospedeiros eucarióticos, com especial destaque para

vírus gigantes (Benites et al., 2018; Lawrence et al., 2017, 2014; Lohr et al., 2007). É sabido que vírus gigantes desempenham uma dinâmica importante de infecção no seu hospedeiro eucariótico, podendo afetar até a taxa de produtividade do sistema através da infecção de algas de vida livre (Yau et al., 2011). Vírus gigantes tem sido encontrados em culturas de zooxantelas (Benites et al., 2018; Lawrence et al., 2014, 2017; Lohr et al., 2007; Wilson et al., 2001) e podem estar correlacionados com a termosensibilidade do coral (Levin et al., 2017). Notavelmente, diferente da estratégia lítica adotada na infecção de outros hospedeiros eucarióticos (Fischer & Hackl, 2016), nas zooxantelas, os vírus gigantes parecem adotar a estratégia lisogênica de reprodução, entrando no estado lítico quando há estresse térmico ou de radiação UV (Lawrence et al., 2014; Lohr et al., 2007). Apesar disso, pouco ainda se sabe sobre como a lisogenia do vírus gigantes poderia influenciar a dinâmica populacional da zooxantela ao longo do tempo, ou como a intensidade e a periodicidade dos fatores abióticos que induzem o ciclo lítico nos vírus gigantes podem influenciar essa dinâmica infecciosa. Assim, é evidente a necessidade de se elucidar o papel da infecção lisogênica dos vírus na ruptura da estabilidade da simbiose coral-zooxantela e, por conseguinte, na modificação do estado de saúde do coral holobionte.

Nesse trabalho propomos que vírus gigantes desempenham um papel importante no estado de saúde do coral através da regulação da dinâmica da população de zooxantelas. Assim, investigamos as condições teóricas nas quais a infecção dos vírus gigantes poderá levar à diminuição da densidade populacional de zooxantelas abaixo do limiar de branqueamento dentro do tecido do coral a partir da construção de um modelo de equações diferenciais ordinárias, baseado na dinâmica Lotka-Volterra.

Objetivos

Objetivo Geral

O objetivo desse trabalho consiste em investigar a dinâmica populacional de zooxantela no tecido do coral em função da dinâmica infecciosa de vírus gigantes a partir da construção de um modelo matemático com equações diferenciais acopladas. Assim, contribuiremos para o avanço do conhecimento acerca dos mecanismos que governam o branqueamento de coral, outrora restritos ao branqueamento por estresse oxidativo e infecção bacteriana.

Objetivos específicos

Investigar, através da modelagem matemática, as condições teóricas nas quais: (i) os vírus gigantes e zooxantelas podem coexistir, (ii) a dinâmica infecciosa viral pode levar à diminuição da densidade populacional de zooxantelas abaixo do limiar de branqueamento no tecido do coral, (iii) como a sazonalidade da temperatura e radiação UV pode impactar a dinâmica infecciosa viral.

Metodologia Geral

Construção do modelo conceitual

Efetuamos uma extensa busca na literatura sobre impacto dos vírus na dinâmica populacional dos seus hospedeiros, especialmente hospedeiros algais. Baseado na literatura, construímos um modelo conceitual que relaciona a dinâmica populacional viral e algal (Fig. 1a). As premissas para a construção deste modelo foram: (1) os vírus gigantes são temperados e por isso podem assumir reprodução lisogênica ou lítica durante um evento infeccioso nas zooxantelas (Correa et al., 2016; Lohr et al., 2007); (2) estresses ambientais podem induzir a reprodução lítica nos vírus gigantes que se encontravam previamente em estado de latência (Lawrence et al., 2017; Wilson et al., 2001); (3) a reprodução lítica dos vírus gigantes levam a lise celular das zooxantelas (Correa et al., 2016). Supomos que: (i) a infecção do vírus gigante pode ser transmitida verticalmente para as células filhas através da divisão celular de uma célula hospedeira que apresenta um infecção latente; (ii) a zooxantela não tem custos fisiológicos durante a infecção latente; (iii) as zooxantelas são infectadas por apenas um vírus gigante latente, e (iv) não podem sofrer infecções subsequentes; (v) os vírus gigantes latentes não se deterioram durante a latência, e (iv) a lise celular dos hospedeiros ocorre imediatamente após a infecção viral se esta for lítica.

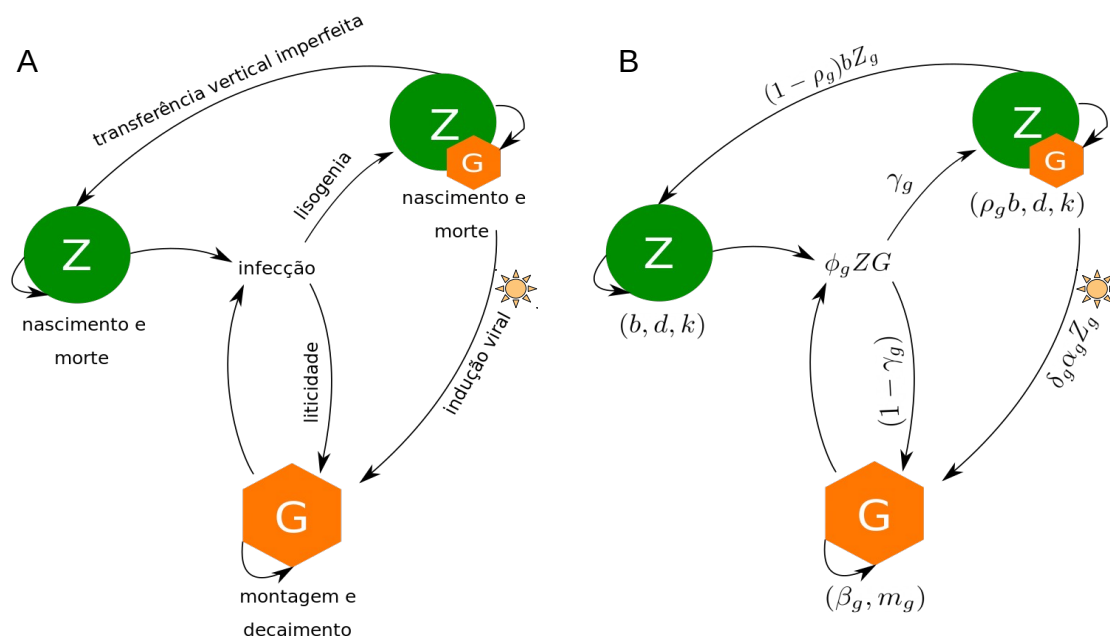


Figura 1. Representação esquemática processo de Branqueamento Viral. No modelo conceitual (a) consideramos os processos nos quais a dinâmica infecciosa viral se relaciona com a dinâmica populacional de zooxantelas a fim de investigar as condições teóricas em que o branqueamento viral pode

ocorrer. Após explicitados, esses processos foram representados por funções matemáticas **(b)**. Nesse modelo consideramos a interação entre três populações, zooxantelas suscetíveis (Z), zooxantelas que carregam uma infecção latente de vírus gigantes (Z_g), e partículas livres de vírus gigantes (G).

Construção do modelo matemático

Considerando as premissas e suposições feitas na construção do modelo conceitual, construímos um modelo matemático, que consiste em um sistema de equações diferenciais acopladas, para ilustrar a dinâmica populacional entre vírus e zooxantelas a fim de investigar as condições teóricas nas quais os vírus gigantes podem levar à diminuição da densidade populacional de zooxantelas abaixo do limiar de branqueamento dentro do tecido do coral (Fig. 1b). Conforme proposto por evidências empíricas (Benites et al., 2018; Correa et al., 2016; Lawrence et al., 2014; Lohr et al., 2007), consideramos que vírus gigantes podem estabelecer uma infecção latente nas células zooxantelas. Portanto, o sistema de equações diferenciais acopladas (Eq. 1) representa a dinâmica populacional de zooxantelas suscetíveis (Z), zooxantelas transportando uma infecção de vírus gigante latente, também chamadas de lisógenos (Z_g) e, finalmente, uma população de partículas livres de vírus gigante (G).

Nesse modelo, consideramos explicitamente três importantes traços das estratégias reprodutivas de vírus temperados: a proporção de infecções lisogênicas (γ_g), a proporção de transmissão vertical da infecção através da divisão celular do hospedeiro (ρ_g) e a intensidade da indução viral em células lisogênicas (δ_g), a fim de investigar como esses traços influenciam a dinâmica populacional das zooxantelas dentro do tecido do coral. Ainda, posteriormente investigamos o efeito da sazonalidade anual da temperatura e radiação UV na mudança do ciclo de reprodução viral de lisogênico para lítico (Eq. 2).

Modelamos explicitamente a densidade de partículas virais livres e células de zooxantela por mililitro no tecido do coral assumindo um sistema bem misturado e taxas de contato seguindo a cinética de ação em massa. O modelo construído foi baseado nos modelos cunhados independentemente por Lotka (Lotka, 1910) e Volterra (Volterra, 1926), que consiste na representação dos sistemas biológicos em equações diferenciais ordinárias acopladas, sendo denominados de modelo Lotka-Volterra. Modelos baseados nessa dinâmica têm sido amplamente utilizados para investigar a dinâmica populacional de vírus e seus hospedeiros (Cortes et al., 2019; Knowles et al., 2016; Stewart & Levin, 1984).

Parâmetros biológicos do modelo

Os parâmetros biológicos representam as características intrínsecas de cada população (i.e. taxa de nascimento e taxa de morte), bem como a mecanismo de interação entre as populações investigadas (i.e. taxa infecção viral), além de representar como fatores ambientais podem influenciar a dinâmica populacional desses organismos (i.e. temperatura e radiação ultravioleta). Comumente, em modelos matemáticos, os valores adotados para cada parâmetro biológico são baseados no campo médio, ou seja, na média de valores de cada indivíduo da população, e dessa forma não captura as particularidades de cada indivíduo, simplificando o sistema e facilitando generalizações (Fiedler-Ferrara & do Prado, 1994).

$$\begin{aligned}
 \frac{dZ}{dt} &= \overbrace{Z \left[b - d \left(1 + \frac{Z + Z_g}{k} \right) \right]}^{\text{crescimento}} + \overbrace{(1 - \rho_g)bZ_g}^{\text{transmissão vertical imperfeita}} - \overbrace{\phi_g ZG}^{\text{infecção viral}} \\
 \frac{dZ_g}{dt} &= \overbrace{Z_g \left[\rho_g b - d \left(1 + \frac{Z + Z_g}{k} \right) \right]}^{\text{transmissão vertical}} + \overbrace{\gamma_g \phi_g ZG}^{\text{lisogenia}} - \overbrace{\delta_g \alpha_g Z_g}^{\text{indução viral}} \\
 \frac{dG}{dt} &= \overbrace{\beta_g (1 - \gamma_g) \phi_g ZG}^{\text{infecção lítica}} + \overbrace{\beta_g \delta_g \alpha_g Z_g}^{\text{indução viral}} - \overbrace{m_g G}^{\text{decaimento viral}}
 \end{aligned} \tag{1}$$

$$\delta_g(t) = \frac{1}{2} + \frac{1}{2} \cos \left(\frac{2\pi}{365} t \right) \tag{2}$$

O modelo construído (Eq. 1) considera que a população de zooxantelas aumenta e diminui no tecido do coral segundo sua taxa de natalidade (b) e mortalidade (d) intrínseca. A fim de modelar explicitamente a transferência vertical da infecção viral, consideramos que a capacidade de suporte das zooxantelas no tecido do coral (k) é a densidade da zooxantela na qual sua taxa de mortalidade intra-específica por competição é igual sua taxa de mortalidade intrínseca, como em (Taylor, Cortez, & Weitz, 2014). A infecção viral na população suscetível de zooxantelas (Z) ocorre em uma taxa $\phi_g G$ e pode resultar em latência, com uma proporção γ_g , aumentando a população hospedeira infectada pelo vírus (Z_g) ou indo diretamente para o ciclo lítico ($1 - \gamma_g$), aumentando, correspondentemente, a população de vírus gigantes (G). A população de lisógenos (Z_g) também aumenta com a taxa de nascimento per capita $\rho_g b$, que é a parcela das células filhas de Z_g que nascem com uma infecção viral latente. A população de Z_g diminui à medida que o vírus latente é induzido ao ciclo lítico à uma taxa $\alpha_g \delta_g$. A população gigante de vírus (G) aumenta com a produção de novos vírus

livres, β_g , que consiste no número médio de partículas virais produzidas em um evento infeccioso. O aumento da população de vírus gigantes podem ocorrer por dois processos: quando a infecção viral da população de zooxantelas vai direto para o ciclo lítico e quando os vírus latentes nas células hospedeiras sofrem indução ao ciclo lítico. A população de vírus gigantes diminui com a taxa *per capita* de decaimento natural das partículas virais (m_g).

Os parâmetros do modelo podem ser classificados como parâmetros populacionais do hospedeiro (b , d , k), parâmetros populacionais virais (ϕ_g , β_g , m_g) e parâmetros relacionados à estratégia de reprodução viral (ρ_g , γ_g , δ_g , α_g). Obtivemos a maioria dos valores de referência dos parâmetros populacionais virais a partir dos estudos experimentais publicados, usando a família do vírus algal Phycodnaviridae como modelo. Os valores de referência da capacidade de suporte de coral para células de zooxantela e do limiar de branqueamento foram obtidos em Fagoonee et al., 1999 usando o coral *Acropora formosa* como referência. Quando os valores de referência não puderam ser obtidos a partir de estudos empíricos, os deduzimos à partir dos primeiros princípios, que consiste em compreender as propriedades físico-químicas que o processo biológico em questão deve obedecer e utilizá-las para estimar valores médios do processo biológico. Os valores de referência para os parâmetros biológicos são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1. Utilizamos a família viral Phycodnaviridae como referência para recuperar os valores dos parâmetros de infecção viral, e a espécie de coral *Acropora formosa* como referência para os valores relacionados capacidade de suporte e limiar de branqueamento do coral. Valores de referência desconhecidos foram deduzidos com base nos primeiros princípios. Por indicarem proporções e intensidade, e por serem os parâmetros estudados nesse trabalho, os parâmetros relacionados à estratégia reprodutiva viral (ρ_g , γ_g and δ_g) não possuem valor de referência.

Parametro	Definição	Valor de referência	Unidade	Referência
b	Taxa de nascimento das zooxantelas	0.043	1/dia	derivado
d	Taxa de morte das zooxantelas	0.021	1/dia	derivado
k	Capacidade de suporte do coral	10^7	hospedeiros/ml	(Fagoonee et al., 1999)
-	Limiar de branqueamento	10^5	hospedeiros/ml	(Fagoonee et al., 1999)
ϕ_g	Taxa de infecção viral	1.55×10^{-5}	ml/(partículas*dia)	derivado
β_g	Tamanho de progênie viral	300	partículas/hospedeiro	(Taylor et al., 2014)

m_g	Taxa de decaimento viral	6.3×10^{-2}	1/dia	(Taylor et al., 2014)
ρ_g	Proporção de transmissão vertical bem-sucedida	0-1	-	-
γ_g	Proporção de infecções lisogênicas	0-1	-	-
δ_g	Intensidade da indução viral	0-1	-	-
α_g	Taxa de indução viral	0.043	1/dia	derivado

Estudo analítico e numérico do modelo matemático

ESTABILIDADE DOS PONTOS FIXOS DO MODELO

Recuperamos os pontos no espaço de fase nos quais o fluxo é nulo, denominados de pontos fixos do sistema (Fiedler-Ferrara & do Prado, 1994). Nesses pontos a densidade das populações de zooxantelas e vírus gigantes não varia ao longo do tempo. Assim, investigamos quais pontos fixos podem existir qualitativamente, quais condições numéricas são necessárias para que eles existam, e, quando possível, calculamos a estabilidade desse ponto fixo.

Quando a existência de um ponto fixo está atrelada ao valor de um parâmetro, diz-se que o valor desse parâmetro ou relações entre parâmetros é uma condição de existência do ponto fixo. A estabilidade de um ponto fixo nos indica se a dinâmica do sistema é atraída para o ponto fixo ou diverge dele, caso a densidade das populações investigadas estejam nas redondezas deste ponto (Fiedler-Ferrara & do Prado, 1994). A estabilidade do ponto fixo foi avaliada a partir da construção da Matriz Jacobiana do sistema, calculada para cada ponto fixo a fim de linearizar o sistema nas redondezas desses pontos e permitir o cálculo dos autovalores (Fiedler-Ferrara & do Prado, 1994). Calculamos então os auto-valores para cada ponto fixo do sistema, e, para cada um dos auto-valores, o sinal de sua parte real reflete a estabilidade do sistema na direção indicada pelo autovetor associado. Dessa forma, se pelo menos um dos autovetores de um ponto fixo possuir um autovalor com parte real positiva, isso indica que existe pelo menos uma direção na qual a dinâmica diverge do ponto fixo (Fiedler-Ferrara & do Prado, 1994). Assim, se começarmos a dinâmica populacional das três populações com valores próximos daquele ponto fixo, a dinâmica vai divergir daquele ponto.

Os pontos fixos importantes no sistema são aqueles em que a densidade populacional de zooxantelas é diferente de zero. Sabendo que é possível o cenário em que a população de zooxantelas existe mas a população de vírus gigantes seja nula, ou ainda, que a população de vírus gigantes existe mas uma das populações de zooxantela seja nula, procuramos pelo ponto fixo onde a coexistência entre todas as três populações seja possível. Além de existir, avaliamos se o ponto fixo de coexistência é estável através do estudo numérico dos seus autovalores, para que, mesmo frente a uma pequena perturbação em suas densidades populacionais, o sistema convirja para a persistência de todas as populações.

Quando um ponto fixo se encontra com outro ponto fixo e esses trocam de estabilidade, ou seja, o ponto fixo que antes era estável se torna instável e vice-versa, dizemos que ocorreu uma bifurcação transcítica (Fiedler-Ferrara & do Prado, 1994). Procuramos pela região no espaço de parâmetros relacionados à estratégia reprodutiva viral (ρ_g , γ_g and δ_g) onde o ponto fixo de coexistência pode trocar estabilidade com outro ponto fixo, tornando-se instável. Dessa forma, podemos encontrar quais são os valores críticos de parâmetros que permitem que as populações de zooxantelas e vírus gigantes coexistam. Além dos pontos fixos, existem outros tipos de atratores, como o ciclo limite, o qual surge através da bifurcação de Hopf. No sistema estudado, oscilações foram detectadas sob condições restritas de parâmetros, entretanto não foram feitas investigações acerca do nascimento desses ciclos.

EFEITO DA ESTRATÉGIA REPRODUTIVA VIRAL SOBRE O BRANQUEAMENTO

Posteriormente investigamos quais as condições numéricas em que os parâmetros relacionados a estratégia reprodutiva viral, ou seja, a porcentagem de infecção latente (γ_g), a porcentagem de transmissão vertical bem-sucedida da infecção (ρ_g) e a intensidade da indução viral (δ_g) podem levar a diminuição da densidade populacional da zooxantela abaixo do limiar de branqueamento de 10^5 células/ml (baseado em Fagoonee et al., 1999). Por indicarem proporções e intensidade os parâmetros relacionados à estratégia reprodutiva viral (ρ_g , γ_g and δ_g) variam de 0 à 1. Posteriormente, considerando as evidências empíricas de que altas temperaturas e radiação UV podem desencadear a expressão de partículas de vírus gigantes latentes em culturas de zooxantelas (Benites et al., 2018; Correa et al., 2016; Lawrence et al., 2014; Lohr et al., 2007), investigamos o efeito da sazonalidade anual da temperatura e radiação UV sobre δ_g , dessa forma a indução viral agora obedece uma função

trigonométrica (Eq. 2). Essa função indica que no pico de inverno não há processo de indução ao ciclo lítico ($\delta_g \alpha_g = 0$), enquanto que no pico de verão o processo de indução ocorre em taxa máxima ($\delta_g \alpha_g = 1$).

Ressalvas

Nesse trabalho construímos um modelo matemático considerando as características gerais da reprodução viral sem examinar nenhuma particularidade biológica viral ou de resistência/imunidade da zooxantela ou do coral em relação à infecção viral. Por simplificação, não implementamos atrasos temporais na infecção viral, dessa forma, infecções líticas resultam imediatamente na lise da zooxantela dentro do tecido do coral. Ainda, desconsideramos um possível processo de infecção secundária na população de zooxantelas com o vírus gigante integrado, também chamada de lisógenos, onde essa poderia ser re-infectada de maneira lítica. Assim, os mecanismos de mortalidade dessa população de zooxantelas lisógenas se limitam à mortalidade intrínseca, à competição intra-específica e a indução viral. Usamos a diminuição da população de zooxantelas como um indicativo de estado branqueado dos corais, nesse sentido, para simplificação, desconsideramos quaisquer mecanismos compensatórios, como a compensação da eficiência fotossintética das zooxantelas, que poderiam manter os corais em um estado saudável, mesmo com baixas abundâncias de zooxantelas seu tecido.

Reprodutibilidade

Todos os pacotes e funções utilizadas nesse estudo foram desenvolvidas na linguagem de programação Python 3.4.1 utilizando o Jupyter Notebook. Todos os *scripts* sobre a investigação do modelo de branqueamento viral de corais e da derivação de valores de parâmetros estarão disponíveis *online* nos endereços: www.github.com/meirelleslab e www.github.com/camposamanda.

Referencias Bibliográficas

- Anthony, K. R. N., Kline, D. I., Diaz-Pulido, G., Dove, S., & Hoegh-Guldberg, O. (2008). Ocean acidification causes bleaching and productivity loss in coral reef builders. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(45), 17442–17446. <https://doi.org/10.1073/pnas.0804478105>
- Baird, A., & Marshall, P. (2002). Mortality, growth and reproduction in scleractinian corals following bleaching on the Great Barrier Reef. *Marine Ecology Progress Series*, 237, 133–141. <https://doi.org/10.3354/meps237133>
- Baker, A. C., Glynn, P. W., & Riegl, B. (2008). Climate change and coral reef bleaching: An ecological assessment of long-term impacts, recovery trends and future outlook. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 80(4), 435–471. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2008.09.003>
- Banin, E., Khare, S. K., Naider, F., & Rosenberg, E. (2001). *Proline-Rich Peptide from the Coral Pathogen*. 67(4), 1–6. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.4.1536>
- Benites, L. F., Silva-Lima, A. W., da Silva-Neto, I. D., & Salomon, P. S. (2018). Megaviridae-like particles associated with Symbiodinium spp. from the endemic coral *Mussismilia braziliensis*. *Symbiosis*, 76(3), 303–311. <https://doi.org/10.1007/s13199-018-0567-y>
- Bourne, D. G., Garren, M., Work, T. M., Rosenberg, E., Smith, G. W., & Harvell, C. D. (2009). Microbial disease and the coral holobiont. *Trends in Microbiology*, 17(12), 554–562. <https://doi.org/10.1016/J.TIM.2009.09.004>
- Bratbak, G., Egge, J., & Heldal, M. (1993). Viral mortality of the marine alga *Emiliana huxleyi* (Haptophyceae) and termination of algal blooms. *Marine Ecology Progress Series*, 93, 39–48. <https://doi.org/10.3354/meps093039>
- Brown, B. E. (1997). Coral bleaching: causes and consequences. *Coral Reefs*, 16(0), S129–S138. <https://doi.org/10.1007/s003380050249>
- Brussaard, C. P. D., Kuipers, B., & Veldhuis, M. J. W. (2005). A mesocosm study of *Phaeocystis globosa* population dynamics: I. Regulatory role of viruses in bloom control. *Harmful Algae*, 4(5), 859–874. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2004.12.015>
- Burriesci, M. S., Raab, T. K., & Pringle, J. R. (2012). Evidence that glucose is the major transferred metabolite in dinoflagellate-cnidarian symbiosis. *The Journal of Experimental Biology*, 215(Pt 19), 3467–3477. <https://doi.org/10.1242/jeb.070946>
- Ceh, J., van Keulen, M., & Bourne, D. G. (2013). Intergenerational Transfer of Specific Bacteria in Corals and Possible Implications for Offspring Fitness. *Microbial Ecology*, 65(1), 227–231. <https://doi.org/10.1007/s00248-012-0105-z>
- Cervino, J. M., Thompson, F. L., Gomez-Gil, B., Lorence, E. A., Goreau, T. J., Hayes, R. L., ... Bartels, E. (2008). The *Vibrio* core group induces yellow band disease in

- Caribbean and Indo-Pacific reef-building corals. *Journal of Applied Microbiology*, 105(5), 1658–1671. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2008.03871.x>
- Colson, P., Lamballerie, X. De, Yutin, N., Asgari, S., Bigot, Y., Bideshi, D. K., ... Raoult, D. (2013). “Megavirales”, a proposed new order for eukaryotic nucleocytoplasmic large DNA viruses. *Archives of Virology*, 158(12), 2517–2521. <https://doi.org/10.1007/S00705-013-1768-6>
- Correa, A. M. S., Ainsworth, T. D., Rosales, S. M., Thurber, A. R., Butler, C. R., & Vega Thurber, R. L. (2016). Viral outbreak in corals associated with an in situ bleaching event: Atypical herpes-like viruses and a new megavirus infecting symbiodinium. *Frontiers in Microbiology*, 7(FEB), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00127>
- Correa, A. M. S., Welsh, R. M., & Vega Thurber, R. L. (2013). Unique nucleocytoplasmic dsDNA and +ssRNA viruses are associated with the dinoflagellate endosymbionts of corals. *ISME Journal*, 7(1), 13–27. <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.75>
- Cortes, M. G., Krog, J., & Balázsi, G. (2019). Optimality of the spontaneous prophage induction rate. *Journal of Theoretical Biology*, 483. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2019.110005>
- Coutinho, F. H., Silveira, C. B., Gregoracci, G. B., Thompson, C. C., Edwards, R. A., Brussaard, C. P. D., ... Thompson, F. L. (2017). Marine viruses discovered via metagenomics shed light on viral strategies throughout the oceans. *Nature Communications*, 8, 15955. <https://doi.org/10.1038/ncomms15955>
- Czyz, A., Los, M., Wrobel, B., & Wegrzyn, G. (2001). Inhibition of spontaneous induction of lambdoid prophages in Escherichia coli cultures: Simple procedures with possible biotechnological applications. *BMC Biotechnology*, 1. <https://doi.org/10.1186/1472-6750-1-1>
- Davies, E. V., Winstanley, C., Fothergill, J. L., & James, C. E. (2016). The role of temperate bacteriophages in bacterial infection. *FEMS Microbiology Letters*, 363(5), 1–10. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnw015>
- de Groot, R., Brander, L., van der Ploeg, S., Costanza, R., Bernard, F., Braat, L., ... van Beukering, P. (2012). Global estimates of the value of ecosystems and their services in monetary units. *Ecosystem Services*, 73(9), 2976–2981. <https://doi.org/10.1016/j.ecoser.2012.07.005>
- Downs, C. A., Fauth, J. E., Halas, J. C., Dustan, P., J., B., & Woodley, C. M. (2002). Oxidative stress and seasonal coral bleaching. *Free Radical Biology & Medicine*, 33(4), 533–543. <https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2010.04.015>
- Echols, H. (1972). Developmental Pathways for the Temperate Phage: Lysis VS Lysogeny. *Annual Review of Genetics*, 6(1), 157–190. <https://doi.org/10.1146/annurev.ge.06.120172.001105>

- Fagoonee, I., Wilson, H. B., Hassell, M. P., & Turner, J. R. (1999). The dynamics of zooxanthellar populations: a long-term study in the field. *Science*, 283, 843–845. <https://doi.org/10.1038/098448b0>
- Falkowski, P. G., Dubinsky, Z., Muscatine, L., & McCloskey, L. (1993). Population control in symbiotic corals: ammonium ions and organic materials maintain the diversity of zooxanthellae. *BioScience*, 43(9), 606–611.
- Fiedler-Ferrara, N., & do Prado, C. P. C. (1994). *Caos: uma introdução*. Editora Blucher.
- Fischer, M. G. (2016). Giant viruses come of age. *Current Opinion in Microbiology*, 31, 50–57. <https://doi.org/10.1016/J.MIB.2016.03.001>
- Fischer, M. G., & Hackl, T. (2016). Host genome integration and giant virus-induced reactivation of the virophage mavirus. *Nature*, 540(7632), 288–291. <https://doi.org/10.1038/nature20593>
- Goldsmith, E. (1972). Words and Models - a systems approach to linguistics. *Kybernetes*, 1(4), 243–249.
- Gonze, D., Coyte, K. Z., Lahti, L., & Faust, K. (2018). Microbial communities as dynamical systems. *Current Opinion in Microbiology*, Vol. 44, pp. 41–49. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2018.07.004>
- Grant, A. J., Rémond, M., Starke-Peterkovic, T., & Hinde, R. (2006). A cell signal from the coral *Plesiastrea versipora* reduces starch synthesis in its symbiotic alga, *Symbiodinium* sp. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 144(4), 458–463. <https://doi.org/10.1016/J.CBPA.2006.04.012>
- Harrison, E., & Brockhurst, M. A. (2017). Ecological and Evolutionary Benefits of Temperate Phage: What Does or Doesn't Kill You Makes You Stronger. *BioEssays*, 39(12), 1700112. <https://doi.org/10.1002/bies.201700112>
- Hatcher, B. G. (1988). Coral reef primary productivity: A beggar's banquet. *Trends in Ecology & Evolution*, 3(5), 106–111. [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(88\)90117-6](https://doi.org/10.1016/0169-5347(88)90117-6)
- Herman, J., & Usher, W. (2017). SALib : An open-source Python library for Sensitivity Analysis. *The Journal of Open Source Software*, 97(1–2), 2015–2017. <https://doi.org/10.21105/joss.00097>
- Howard-Varona, C., Hargreaves, K. R., Abedon, S. T., & Sullivan, M. B. (2017). Lysogeny in nature: mechanisms, impact and ecology of temperate phages. *The ISME Journal*, 11(7), 1511–1520. <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.16>
- Jiang, S. C., & Paul, J. H. (1996). Occurrence of Lysogenic Bacteria in Marine Microbial Communities as Determined by Prophage Induction. *Marine Ecology Progress Series*, 142, 27–38.

- Knowles, B., Silveira, C. B., Bailey, B. A., Barott, K., Cantu, V. A., Cobián-Güemes, A. G., ... Rohwer, F. (2016). Lytic to temperate switching of viral communities. *Nature*, *531*(7595), 466–470. <https://doi.org/10.1038/nature17193>
- Krediet, C. J., Ritchie, K. B., Paul, V. J., & Teplitski, M. (2013). Coral-associated micro-organisms and their roles in promoting coral health and thwarting diseases. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *280*(1755), 20122328–20122328. <https://doi.org/10.1098/rspb.2012.2328>
- Kushmaro, A., Banin, E., Loya, Y., Stackebrandt, E., & Rosenberg, E. (2001). *Vibrio shiloi* sp. nov., the causative agent of bleaching of the coral *Oculina patagonica*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *51*(4), 1383–1388. <https://doi.org/10.1099/00207713-51-4-1383>
- Kushmaro, A., Loya, Y., Fine, M., & Rosenberg, E. (1996). Bacterial infection and coral bleaching. *Nature*, *380*, 396.
- Kuznetsov, Y. G., Klose, T., Rossmann, M., & McPherson, A. (2013). Morphogenesis of mimivirus and its viral factories: an atomic force microscopy study of infected cells. *Journal of Virology*, *87*(20), 11200–11213. <https://doi.org/10.1128/JVI.01372-13>
- Lawrence, S A., Fløge, S. A., Davy, J. E., Davy, S. K., & Wilson, W. H. (2017). Exploratory analysis of *Symbiodinium* transcriptomes reveals potential latent infection by large dsDNA viruses. *Environmental Microbiology*, *19*(10), 3909–3919. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13782>
- Lawrence, S A., Wilson, W. H., Davy, J. E., & Davy, S. K. (2014). Latent virus-like infections are present in a diverse range of *Symbiodinium* spp. (Dinophyta). *Journal of Phycology*, *50*(6), 984–997. <https://doi.org/10.1111/jpy.12242>
- Lesser, M., Falcón, L., Rodríguez-Román, A., Enríquez, S., Hoegh-Guldberg, O., & Iglesias-Prieto, R. (2007). Nitrogen fixation by symbiotic cyanobacteria provides a source of nitrogen for the scleractinian coral *Montastraea cavernosa*. *Marine Ecology Progress Series*, *346*, 143–152. <https://doi.org/10.3354/meps07008>
- Lesser, M. P., Stochaj, W. R., Tapley, D. W., & Shick, J. M. (1990). Bleaching in coral reef anthozoans: effects of irradiance, ultraviolet radiation, and temperature on the activities of protective enzymes against active oxygen. *Coral Reefs*, *8*(4), 225–232. <https://doi.org/10.1007/BF00265015>
- Lesser, M P. (1996). Elevated temperatures and ultraviolet radiation cause oxidative stress and inhibit photosynthesis in symbiotic dinoflagellates. *Limnology and Oceanography*, *41*(2), 271–283. <https://doi.org/10.4319/lo.1996.41.2.0271>
- Lesser, M P. (2011). Coral Bleaching: Causes and Mechanisms. In Z. Dubinsky & N. Stambler (Eds.), *Coral Reefs: An Ecosystem in Transition* (pp. 405–419). https://doi.org/10.1007/978-94-007-0114-4_23

- Lesser, M P, Mazel, C. H., Gorbunov, M. Y., & Falkowski, P. G. (2004). Discovery of Symbiotic Nitrogen-Fixing Cyanobacteria in Corals. *Science*, 305(5686), 997–1000.
- Levin, R. A., Voolstra, C. R., Weynberg, K. D., & van Oppen, M. J. H. (2017). Evidence for a role of viruses in the thermal sensitivity of coral photosymbionts. *The ISME Journal*, 11(3), 808–812. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.154>
- Littman, R., Willis, B. L., & Bourne, D. G. (2011). Metagenomic analysis of the coral holobiont during a natural bleaching event on the Great Barrier Reef. *Environmental Microbiology Reports*, 3(6), 651–660. <https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2010.00234.x>
- Lohr, J., Munn, C. B., & Wilson, W. H. (2007). Characterization of a latent virus-like infection of symbiotic zooxanthellae. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(9), 2976–2981. <https://doi.org/10.1128/AEM.02449-06>
- Lorenz, N., Reiger, M., Toro-Nahuelpan, M., Brachmann, A., Poettinger, L., Plener, L., ... Jung, K. (2016). Identification and Initial Characterization of Prophages in *Vibrio campbellii*. *PLOS ONE*, 11(5), e0156010. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156010>
- Łoś, J. M., Łoś, M., Węgrzyn, A., & Węgrzyn, G. (2010). Hydrogen peroxide-mediated induction of the Shiga toxinconverting lambdoid prophage ST2-8624 in *Escherichia coli* O157:H7. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 58(3), 322–329. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2009.00644.x>
- Łoś, M., & Węgrzyn, G. (2012). Pseudolysogeny. In *Advances in virus research* (Vol. 82, pp. 339–349). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394621-8.00019-4>
- Lotka, A. J. (1910). Contribution to the theory of periodic reaction. *Journal of Physical Chemistry*, 14, 271–274.
- Lwoff, A. (1953). Lysogeny. *Bacteriological Reviews*, 17(4), 269–337. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13105613>
- Maslov, S., & Sneppen, K. (2017). Population cycles and species diversity in dynamic Kill-the-Winner model of microbial ecosystems. *Scientific Reports*, 7(1), 39642. <https://doi.org/10.1038/srep39642>
- Motta, S., & Pappalardo, F. (2013). Mathematical modeling of biological systems. *Briefings in Bioinformatics*, 14(4), 411–422. <https://doi.org/10.1093/bib/bbs061>
- Muscatine, L., & Pool, R. R. (1979). Regulation of numbers of intracellular algae. *Proceedings of the Royal Society of London - Biological Sciences*, 204(1155), 131–139. <https://doi.org/10.1098/rspb.1979.0018>
- Muscatine, L., R. McCloskey, L., & E. Marian, R. (1981). Estimating the daily contribution of carbon from zooxanthellae to coral animal respiration1. *Limnology and Oceanography*, 26(4), 601–611. <https://doi.org/10.4319/lo.1981.26.4.0601>

- Muscatine, L. (1967). Glycerol excretion by symbiotic algae from corals and *Tridacna* and its control by the host. *Science*, *156*(3774), 516–519. <https://doi.org/10.1126/science.156.3774.516>
- Nguyen-Kim, H., Bettarel, Y., Bouvier, T., Bouvier, C., Doan-Nhu, H., Nguyen-Ngoc, L., ... Brune, J. (2015). Coral Mucus Is a Hot Spot for Viral Infections. *Appl. Environ. Microbiol.*, *81*(17), 5773–5783. <https://doi.org/10.1128/AEM.00542-15>
- Nguyen-Kim, H., Bouvier, T., Bouvier, C., Doan-Nhu, H., Nguyen-Ngoc, L., Rochelle-Newall, E., ... Bettarel, Y. (2014). High occurrence of viruses in the mucus layer of scleractinian corals. *Environmental Microbiology Reports*, *6*(6), 675–682. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12185>
- Nicoll, M. P., Proença, J. T., & Efstathiou, S. (2012). The molecular basis of herpes simplex virus latency. *FEMS Microbiology Reviews*, *36*(3), 684–705. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00320.x>
- Odum, H. T., & Odum, E. P. (1955). Trophic structure and productivity of a windward coral reef community on Eniwetok Atoll. *Ecological Monographs*, *25*(3), 291–320.
- Paul, J. H. (2008). Prophages in marine bacteria: Dangerous molecular time bombs or the key to survival in the seas? *ISME Journal*, *2*(6), 579–589. <https://doi.org/10.1038/ismej.2008.35>
- Quinones, M., Kimsey, H. H., & Waldor, M. K. (2005). LexA Cleavage Is Required for CTX Prophage Induction. *Molecular Cell*, *17*(2), 291–300. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCEL.2004.11.046>
- Raharinirina, N. A., Brandt, G., & Merico, A. (2017). A Trait-Based Model for Describing the Adaptive Dynamics of Coral-Algae Symbiosis. *Frontiers in Ecology and Evolution*, *5*(April), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fevo.2017.00031>
- Refardt, D., & Rainey, P. B. (2009). Tuning a Genetic Switch: Experimental Evolution and Natural Variation of Prophage Induction. *Evolution*, *64*(4), 1086–1097. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2009.00882.x>
- Reshef, L., Koren, O., Loya, Y., Zilber-Rosenberg, I., & Rosenberg, E. (2006). The Coral Probiotic Hypothesis. *Environmental Microbiology*, *8*(12), 2068–2073. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2006.01148.x>
- Ripp, S., & Miller, R. V. (1997). The role of pseudolysogeny in bacteriophage-host interactions in a natural freshwater environment. *Microbiology*, *143*(6), 2065–2070. <https://doi.org/10.1099/00221287-143-6-2065>
- Rohwer, F., Seguritan, V., Azam, F., & Knowlton, N. (2002). Diversity and distribution of coral-associated bacteria. *Marine Ecology Progress Series*, *243*, 1–10. <https://doi.org/10.3354/meps243001>
- Rosenberg, E. (2004). The bacterial disease hypothesis of coral bleaching. In *Coral health and disease*. https://doi.org/10.1007/978-3-662-06414-6_25

- Rosenberg, E., Kushmaro, A., Kramarsky-Winter, E., Banin, E., & Yossi, L. (2009). The role of microorganisms in coral bleaching. *The ISME Journal*, 3(2), 139–146. <https://doi.org/10.1038/ismej.2008.104>
- Saltelli, A., Annoni, P., Azzini, I., Campolongo, F., Ratto, M., & Tarantola, S. (2010). Variance based sensitivity analysis of model output. Design and estimator for the total sensitivity index. *Computer Physics Communications*, 181(2), 259–270. <https://doi.org/10.1016/j.cpc.2009.09.018>
- Seymour, J., Patten, N., Bourne, D., & Mitchell, J. (2005). Spatial dynamics of virus-like particles and heterotrophic bacteria within a shallow coral reef system. *Marine Ecology Progress Series*, 288, 1–8. <https://doi.org/10.3354/meps288001>
- Six, E. W., & Klug, C. A. C. (1973). Bacteriophage P4: a satellite virus depending on a helper such as prophage P2. *Virology*, 51(2), 327–344. [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(73\)90432-7](https://doi.org/10.1016/0042-6822(73)90432-7)
- Sobol, I. M. (2001). Global sensitivity indices for nonlinear mathematical models and their Monte Carlo estimates. *Mathematics and Computers in Simulation*, 55(1–3), 271–280. [https://doi.org/10.1016/S0378-4754\(00\)00270-6](https://doi.org/10.1016/S0378-4754(00)00270-6)
- Soffer, N., Brandt, M. E., Correa, A. M., Smith, T. B., & Thurber, R. V. (2014). Potential role of viruses in white plague coral disease. *The ISME Journal*, 8(2), 271–283. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.137>
- Stewart, F. M., & Levin, B. R. (1984). The population biology of bacterial viruses: Why be temperate. *Theoretical Population Biology*, 26(1), 93–117. [https://doi.org/10.1016/0040-5809\(84\)90026-1](https://doi.org/10.1016/0040-5809(84)90026-1)
- Suttle, C. A. (2007). Marine viruses - Major players in the global ecosystem. *Nature Reviews Microbiology*, 5(10), 801–812. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1750>
- Tarutani, K., Nagasaki, K., & Yamaguchi, M. (2000). Viral impacts on total abundance and clonal composition of the harmful bloom-forming phytoplankton *Heterosigma akashiwo*. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(11), 4916–4920. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11055943>
- Taylor, B. P., Cortez, M. H., & Weitz, J. S. (2014). The virus of my virus is my friend: Ecological effects of virophage with alternative modes of coinfection. *Journal of Theoretical Biology*, 354, 124–136. <https://doi.org/10.1016/J.JTBI.2014.03.008>
- Thingstad, T. F. (2000). Elements of a theory for the mechanisms controlling abundance, diversity, and biogeochemical role of lytic bacterial viruses in aquatic systems - Thingstad - 2000 - Limnology and Oceanography - Wiley Online Library. *Limnology and Oceanography*, 45(6), 1320–1328. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.4319/lo.2000.45.6.1320/abstract>
%5Cnpapers2://publication/uuid/7D985307-E9B4-4904-9A7F-A71877950469
- Thompson, J. R., Rivera, H. E., Closek, C. J., & Medina, M. (2014). Microbes in the coral holobiont: partners through evolution, development, and ecological

- interactions. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 4, 176. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2014.00176>
- Tomaru, Y., Shirai, Y., & Nagasaki, K. (2008). Ecology, physiology and genetics of a phycodnavirus infecting the noxious bloom-forming raphidophyte *Heterosigma akashiwo*. *Fisheries Science*, 74(4), 701–711. <https://doi.org/10.1111/j.1444-2906.2008.01580.x>
- Van Woesik, R., De Vantier, L. M., & Glazebrook, J. S. (1995). Effects of Cyclone “Joy” on nearshore coral communities of the Great Barrier Reef.” *Marine Ecology Progress Series*, 128(1–3), 261–270. <https://doi.org/10.3354/meps128261>
- Vega Thurber, R. L., Barott, K. L., Hall, D., Liu, H., Rodriguez-Mulleter, B., Desnues, C., ... Rohwer, F. (2008). Metagenomic analysis indicates that stressors induce production of herpes-like viruses in the coral *Porites compressa*. *PNAS*, 105(47), 18413–18418. <https://doi.org/10.1002/ecja.1058>
- Vega Thurber, R. L. V., & Correa, A. M. S. (2011). Viruses of reef-building scleractinian corals. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 408(1–2), 102–113. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2011.07.030>
- Volterra, V. (1926). Variazioni e fluttuazioni del numero d’individui in specie animali conviventi. *Mem Acad Lincei Roma*, 2(6168), 31–113.
- Wang, Z., & Goldenfeld, N. (2010). Fixed points and limit cycles in the population dynamics of lysogenic viruses and their hosts. *Physical Review E - Statistical, Nonlinear, and Soft Matter Physics*. <https://doi.org/10.1103/PhysRevE.82.011918>
- Ware, J. R., Fautin, D. G., & Buddemeier, R. W. (1996). Patterns of coral bleaching: modeling the adaptive bleaching hypothesis. *Ecological Modelling*, 84(1–3), 199–214. [https://doi.org/10.1016/0304-3800\(94\)00132-4](https://doi.org/10.1016/0304-3800(94)00132-4)
- Wegley, L., Edwards, R., Rodriguez-Brito, B., Liu, H., & Rohwer, F. (2007). Metagenomic analysis of the microbial community associated with the coral *Porites astreoides*. *Environmental Microbiology*, 9(11), 2707–2719. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2007.01383.x>
- Weinbauer, M. G., Brettar, I., & Höfle, M. G. (2003). Lysogeny and virus-induced mortality of bacterioplankton in surface, deep, and anoxic marine waters. *Limnology and Oceanography*, 48(4), 1457–1465. <https://doi.org/10.4319/lo.2003.48.4.1457>
- Weynberg, K. D., Neave, M., Clode, P. L., Voolstra, C. R., Brownlee, C., Laffy, P., ... van Oppen, M. J. H. (2017). Prevalent and persistent viral infection in cultures of the coral algal endosymbiont *Symbiodinium*. *Coral Reefs*, 36(3), 773–784. <https://doi.org/10.1007/s00338-017-1568-7>
- Wiedenmann, J., D’Angelo, C., Smith, E. G., Hunt, A. N., Legiret, F.-E., Postle, A. D., & Achterberg, E. P. (2012). Nutrient enrichment can increase the susceptibility of

- reef corals to bleaching. *Nature Climate Change* 2012 3:2, 3(2), 160. <https://doi.org/10.1038/nclimate1661>
- Wigington, C. H., Sonderegger, D., Brussaard, C. P. D., Buchan, A., Finke, J. F., Fuhrman, J. A., ... Weitz, J. S. (2016). Re-examination of the relationship between marine virus and microbial cell abundances. *Nature Microbiology*, 1(3), 15024. <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2015.24>
- Wilhelm, S. W., & Suttle, C. A. (1999). Viruses and Nutrient Cycles in the Sea. *BioScience*, 49(10), 781–788. <https://doi.org/10.2307/1313569>
- Wilkinson, C. R. (1999). Global and local threats to coral reef functioning and existence: review and predictions. *Marine and Freshwater Research*, 50(8), 867. <https://doi.org/10.1071/MF99121>
- Wilson, W H, Van Etten, J. L., & Allen, M. J. (2009). The Phycodnaviridae: the story of how tiny giants rule the world. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 328, 1–42. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19216434>
- Wilson, W H., Francis, I., Ryan, K., & Davy, S. K. (2001). Temperature induction of viruses in symbiotic dinoflagellates. *Aquatic Microbial Ecology*, 25(1), 99–102. <https://doi.org/10.3354/ame025099>
- Wilson, William H, Carr, N. G., & Mann, N. H. (1996). The effect of phosphate status on the kinetics of cyanophage infection in the oceanic cyanobacterium *Synechococcus* sp. WJ7803. *Journal of Phycology*, 32, 506–516.
- Wodarz, D. (2013). Evolutionary dynamics of giant viruses and their virophages. *Ecology and Evolution*, 3(7), 2103–2115. <https://doi.org/10.1002/ece3.600>
- Wood-Charlson, E. M., Weynberg, K. D., Suttle, C. A., Roux, S., & van Oppen, M. J. H. (2015). Metagenomic characterization of viral communities in corals: mining biological signal from methodological noise. *Environmental Microbiology*, 17(10), 3440–3449. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12803>
- Wooldridge, S. A. (2009). A new conceptual model for the warm-water breakdown of the coralalgae endosymbiosis. *Marine and Freshwater Research*, 60(6), 483–496. <https://doi.org/10.1071/MF08251>
- Yau, S., Lauro, F. M., DeMaere, M. Z., Brown, M. V., Thomas, T., Raftery, M. J., ... Cavicchioli, R. (2011). Virophage control of antarctic algal host-virus dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(15), 6163–6168. <https://doi.org/10.1073/pnas.1018221108>
- Young, R. (1992). Bacteriophage lysis: mechanism and regulation. *Microbiological Reviews*, 56(3), 430–481. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1406491>
- Young, Ry, Wang, I.-N., & Roof, W. D. (2000). Phages will out: strategies of host cell lysis. *Trends in Microbiology*, 8(3), 120–128. [https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(00\)01705-4](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(00)01705-4)

- Zaneveld, J. R., Burkepile, D. E., Shantz, A. A., Pritchard, C. E., McMinds, R., Payet, J. P., ... Thurber, R. V. (2016). Overfishing and nutrient pollution interact with temperature to disrupt coral reefs down to microbial scales. *Nature Communications*, 7(1), 11833. <https://doi.org/10.1038/ncomms11833>
- Zeng, L., Skinner, S. O., Zong, C., Sippy, J., Feiss, M., & Golding, I. (2010). Decision making at a subcellular level determines the outcome of bacteriophage infection. *Cell*, 141(4), 682–691. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.03.034>

Capítulo I***Viral infections rule zooxanthellae population dynamics***

*Artigo a ser submetido ao periódico *Proceedings of the National Academy of Sciences**

Biological Sciences: Ecology

Viral infections rule zooxanthellae population dynamics

Amanda B. Campos ^{a, c, d}, Rafael Menezes ^{b, c, d}, Flora Bacelar ^{b, c, d}, and Pedro M. Meirelles ^{a, c *}

^a Institute of Biology, Federal University of Bahia, Brazil

^b Institute of Physics, Federal University of Bahia, Brazil

^c National Institute of Science & Technology in Interdisciplinary and Transdisciplinary Studies in Ecology and Evolution (INCT IN-TREE)

^d Group of Statistical Physics and Complex Systems (FESC), Bahia, Brazil

* To whom correspondence may be addressed: pmeirelles@ufba.br

Abstract

Coral bleaching consists in the population decrease of zooxanthellae cells within coral tissue and is associated to coral mortality events worldwide. Several studies indicate the presence of a latent viral infection in zooxanthellae cells, where viral particles are assembled when exposed to stressors related to bleaching, such as intense UV radiation and high temperatures, leading to cell lysis. Although there are evidences of a possible role of giant virus infections in coral bleaching, there are still no mechanistic explanations linking viral infections to coral health status. Here, we propose and investigate a new hypothesis of coral bleaching, the Viral Coral Bleaching Hypothesis. Using mathematical modeling, we found that the coexistence between giant viruses and zooxanthellae is broadly stable and that coral health state is determined by viral reproduction strategy. We found that high intensity of viral induction, that is, high rates of shift from lysogenic to lytic reproduction, are linked to bleached corals, but bleaching can be attenuated by high rates of lysogenic infection and vertical transfer of viral infection. Indeed, coral bleaching can occur in the absence of viral induction if these viral reproduction traits are not favored. In addition, we show that annual seasonality of

temperature and UV radiation may lead to the appearance of annual bleaching cycles. We suggest this unique dynamics is likely to play an important and previously neglected role in coral bleaching events, and should be considered when investigating bleaching events and planning coral bleaching mitigation strategies.

Significance

Reef-building corals cannot survive without symbiotic algae, zooxanthellae, on which they depend to acquire nutrients. The critical decrease in zooxanthellae density within coral tissue is denominated coral bleaching. Experiments suggest a persistent correlation between giant virus infection and stressed corals. In fact, zooxanthellae cultures submitted to high temperature and UV radiation present an active viral infection. Although this pattern was observed, there are no mechanistic framework linking giant virus infection and coral bleaching. Here we proposed and investigated a new coral bleaching mechanism, the Viral Coral Bleaching Hypothesis. By using a numerical model to illustrate the infectious dynamics of zooxanthellae and giant virus, we demonstrated that their coexistence is broadly stable and that the shift from latent to active viral infection is linked to bleached corals.

Keywords

Coral Bleaching, Coral Bleaching Modeling, Coral Virome, Viral Life Cycle, Giant Virus.

Introduction

Coral bleaching is a global threat (Brown, 1997) and consists in a disruption of the symbiotic relationship between coral and zooxanthellae (Baker et al., 2008) due to a critical density reduction in its population (Fitt et al., 2000). Once zooxanthellate corals acquire up to 90% of their nutritional needs from zooxanthellae photosynthetic products (Muscatine et al., 1981), the persistence of bleaching compromises coral nutrition, reproduction and growth, which might lead to coral death (Baird & Marshall, 2002).

So far, oxidative stress (Wooldridge, 2009) and bacterial infections (Kushmaro et al. 1996) are the only well elucidated mechanisms that explain coral bleaching process. These mechanisms are triggered by seawater warming and/or high UV radiance and lead, respectively, to oxidative coral bleaching (*Oxidative Theory of Coral Bleaching - OTCB*; Downs et al., 2002) and to bacterial infection

coral bleaching (*Microbial Bleaching Hypothesis - MBH*; Rosenberg, 2004; Rosenberg et al., 2009). In both mechanisms, environmental stress plays an important role: in the OTCB, high UV incidence and/or temperature events stimulate the production of reactive oxygen species leading to posterior zooxanthellae expulsion by coral host and coral bleaching (Michael P. Lesser, 1996). In MBH, high water temperature induces the production of virulence factors, i.e. zinc-metalloproteinases, in *Vibrio shilloi* bacterium, which invades coral tissue, degrading zooxanthellae photosynthetic apparatus and causes coral bleaching (Toren et al., 1998).

Nevertheless, viruses seem to establish a close relationship with corals, since they were found associated to coral mucus (Nguyen-Kim et al., 2015), tissue (Vega Thurber et al., 2008), carbonate skeleton (Vega Thurber et al., 2008) and zooxanthellae cells (Benites et al., 2018; Lawrence, 2014). Indeed, there are increasing evidences suggesting that viruses could play a neglected role in coral thermal sensitivity (Levin et al., 2017), and possibly in coral bleaching (Correa et al., 2016). High particle density and genetic sequences similar to giant viruses from Herpesviridae, Mimiviridae and Phycodnaviridae families were found in seawater surrounding the coral reef during a massive coral bleaching event in Great Barrier Reefs in Australia (Correa et al., 2016), suggesting a correlation between high viral abundance and coral bleaching. Further, it was found that these viral families are apparently ubiquitous in coral viromes (Vega Thurber et al., 2017; Wood-Charlson et al., 2015) and widely distributed in marine ecosystems (Ogata et al., 2010). Notably, several empirical evidences show that environmental stress, such as high temperatures and UV-radiance can trigger the expression of giant viruses in zooxanthellae cultures (Correa et al., 2013; Lawrence et al., 2017; Lawrence et al., 2014; Levin et al., 2017; Lohr et al., 2007; Wilson et al., 2001), suggesting that zooxanthellae cells harbor a latent giant virus infection, which, once triggered, leads to zooxanthellae cell lysis and further population decrease. Even though there are evidences of a possible role of giant virus infections in coral bleaching (Correa et al., 2016), there is still no proposed mechanistic explanations to link viral infections to coral health status.

Mathematical models have been extensively used to investigate the mechanism and the evolution of the relationship between coral and zooxanthellae, including aspects related to coral investment in symbiosis (Raharinirina et al., 2017) and coral bleaching (Ware et al. 1996). Similarly, modeling has been a useful tool to unravel viral systems. Modeling suggest that viral lysogeny should be favored if viral host are under unfavorable conditions or when viral decay is high (Stewart e Levin 1984 but see Knowles et al., 2016). Notably, giant virus infection dynamics is expected to display an important regulatory role in environmental productivity when they infect free living algae (Yau et al., 2011). Nevertheless, we still lack information on the effect of giant viruses on coral's symbiotic algae.

We explored the conditions under which giant virus infection in zooxanthellae may lead to coral bleaching, in order to propose and theoretically investigate a new mechanism for coral bleaching, the Viral Coral Bleaching Hypothesis. We used mathematical modeling to investigate zooxanthellae population dynamics under the influence of the infectious dynamics of giant viruses, considering their ability to establish a latent infection. We hypothesized this phenomenon could be another feasible mechanism, besides *Oxidative Theory of Coral Bleaching* and *Microbial Bleaching Hypothesis*, to explain coral bleaching events.

Methods

General model framework

We considered Ordinary Differential Equations (ODE) to illustrate giant virus-zooxanthellae population dynamics. We explicitly model the density of viral free particles and host cells per milliliter inside coral tissue and we assume a well mixed system, where contact rates follows mass action kinetics.

As proposed by empirical evidence (Lawrence et al., 2017; Lohr et al., 2007; Wilson et al., 2001), we consider that giant viruses can establish a latent infection in zooxanthellae cells. Therefore, the equation system (1) represents the population dynamics of susceptible zooxanthellae (Z), zooxanthellae carrying latent infection of giant virus, hereafter referred to as lysogen host (Z_g), and finally a population of free giant virus particles (G). Here, we explicitly model three important temperate virus life history traits: proportion of viral lysogenic infection (γ_g), proportion of successful vertical transmission of viral infection through host cell division (ρ_g) and intensity of viral induction in lysogen cells (δ_g). For simplicity, we assume that host cell lysis is instantaneous after lytic viral infection.

In this model (Eq. 1), zooxanthellae population increases and decreases with host intrinsic birth (b) and death rate (d), respectively. To explicitly account for vertical transmission of viral infection we considered that coral carrying capacity (k) is the host density at which intraspecific competition death rate is equal to intrinsic death rate, as in (Taylor et al., 2014). Viral infection in susceptible zooxanthellae population (Z) occurs in a rate $\phi_g G$, and can result either in lysogeny, with a proportion γ_g , increasing the virus infected host population (Z_g), or go straight to lytic cycle, correspondingly increasing giant virus particles population (G). Lysogen host population (Z_g) also increases with *per capita* birth rate $b\rho_g$, which is the parcel of the Z_g progeny that are born with a latent viral infection. The Z_g population decreases as lysogenic virus are induced to lytic cycle with rate $\alpha_g \delta_g$, which

empirical evidences suggests that is influenced by environmental stressors, such as temperature and UV radiation (Benites et al., 2018; Lawrence et al., 2017; Lohr et al., 2007). Giant virus population (G) increases with the number of virus assembled during a lytic infection event (β_g), which occurs when viral infection of susceptible zooxanthellae goes straight to lytic cycle and when lysogen host suffer an induction to lytic cycle. Giant virus population decreases with the *per capita* rate of natural decay of particles (m_g). We assume that lysogen cell host carries a single latent viral infection and that it can not suffer subsequent infections. We also assume that viruses do not decay during the latent state in lysogen cell.

$$\begin{aligned}
 \frac{dZ}{dt} &= \overbrace{Z \left[b - d \left(1 + \frac{Z + Z_g}{k} \right) \right]}^{\text{host growth}} + \overbrace{(1 - \rho_g)bZ_g}^{\text{unsuccessful vertical transmission}} - \overbrace{\phi_g ZG}^{\text{viral infection}} \\
 \frac{dZ_g}{dt} &= \overbrace{Z_g \left[\rho_g b - d \left(1 + \frac{Z + Z_g}{k} \right) \right]}^{\text{vertical transmission}} + \overbrace{\gamma_g \phi_g ZG}^{\text{lysogeny}} - \overbrace{\delta_g \alpha_g Z_g}^{\text{viral induction}} \\
 \frac{dG}{dt} &= \overbrace{\beta_g (1 - \gamma_g) \phi_g ZG}^{\text{lytic infection}} + \overbrace{\beta_g \delta_g \alpha_g Z_g}^{\text{viral infection}} - \overbrace{m_g G}^{\text{viral decay}}
 \end{aligned} \tag{1}$$

Model biological parameters

Model parameters can be classified as parameters related to the host population traits (b , d , k), viral infection traits (ϕ_g , β_g , m_g) and viral reproduction strategy traits (ρ_g , γ_g , δ_g , α_g). We obtained most of the parameters' reference values for viral infection traits from published experimental studies, using Phycodnaviridae algal virus family as reference. Reference values of coral carrying capacity of zooxanthellae and coral bleaching threshold were sourced from Fagoonee et al., 1999, using *Acropora formosa* coral as reference. We have not explicitly considered any particular zooxanthellae clade. When parameter reference values could not be sourced from empirical studies, we derived them from basic principles. Reference values for the biological parameters are shown in Table 1, and parameter derivations are available in github (www.github.com/meirelleslab and www.github.com/camposamanda).

Table 1. We used Phycodnaviridae viral family as a reference to recover viral infection parameters values, and the coral *Acropora formosa* as reference to recover bleaching related parameters. Unknown reference values were derived based on basic principles. As they indicate proportions or intensity, and because they are the parameters studied in this work, the parameters related to the viral reproductive strategy (ρ_g , γ_g and δ_g) do not have a reference value.

Parameter	Definition	Reference value	Unit	Reference
b	zooxanthellae birth rate	0.043	1/day	derived

d	zooxanthellae death rate	0.021	1/day	derived
k	coral carrying capacity	10^7	host/ml	(Fagoonee et al., 1999)
-	coral bleaching threshold	10^5	host/ml	(Fagoonee et al., 1999)
ϕ_g	viral infection rate	1.55×10^{-5}	ml/(particles*day)	derived
β_g	viral burst size	300	particle/host	(Taylor et al., 2014)
m_g	viral decay rate	6.3×10^{-2}	1/day	(Taylor et al., 2014)
ρ_g	proportion of successful vertical transmission	0-1	-	-
γ_g	proportion of viral lisogeny	0-1	-	-
δ_g	intensity of viral induction	0-1	-	-
α_g	viral induction rate	0.043	1/day	derived

Results

Basic properties of the system

In this system, three fixed points exist where populations are either zero or positive: in the extinction state all populations are zero ($E_0 = 0, 0, 0$); when only susceptible zooxanthellae population is positive, we considered it as the disease-free state ($E_1 = Z^{**}, 0, 0$); and when all populations are positive, the coexistence state ($E_2 = Z^*, Z_g^*, G^*$). Nevertheless, extreme parameters values related to viral infection strategy, i.e. $\rho_g, \gamma_g, \delta_g$, can result in distinct subsystems. Considering that vertical transmission of viral infection is fully achieved ($\rho_g = 1$) and latent infection is stable ($\delta_g = 0$), neither coexistence state nor a disease-free state is possible and the system can converge to a fixed point where lysogenic host is at coral carrying capacity, considered as the lysogeny state ($E_3 = 0, \hat{Z}_g, 0$). In another scenario, when vertical transmission of viral infection is fully achieved ($\rho_g = 1$) but the intensity of viral induction is relatively low ($0 < \delta_g < (-d+b)/\alpha_g$), the system can converge to a fixed point where the coexistence of lysogen host and giant virus population is possible, the infected state ($E_4 = 0, \hat{Z}_g, \hat{G}$). Also, in this scenario, the disease-free state and coexistence is not possible. Notably, for the subsystem where all viral infections results in lysogeny ($\gamma_g = 1$) and the latent infection is stable ($\delta_g = 0$), no viral particles are assembled and coexistence is not possible, hence susceptible zooxanthellae is at the coral carrying capacity in a disease-free state ($E_5 = Z^0, 0, 0$). Importantly, in the case that all viral infections outcomes in a lytic viral reproduction ($\gamma_g = 0$), hosts are not lysogenized and the coexistence of

susceptible zooxanthellae and giant viruses is possible ($E_6 = Z^+, 0, G^+$); in this case the disease-free state is not possible. Existence conditions and mathematical expressions, when available, are provided in Supplementary Information (Supp. Table 1).

The disease-free state is stable under restricted conditions

We investigated the numerical conditions under which a transition from a disease-free state ($Z^{**}, 0, 0$) to the coexistence of all populations (Z^*, Z_g^*, G^*) occurs. We found that the disease-free state is stable only for a narrow range of parameter values related to viral lytic reproduction, which occurs either when viral infection results directly in the assembly of new viral particles ($\gamma_g < 1$) or when lysogen hosts are induced and viral infection shifts from lysogenic to lytic reproduction ($\delta_g > 0$). We found that the activation of all viral reproduction pathways leads to system divergence from the disease-free state (Fig. 1).

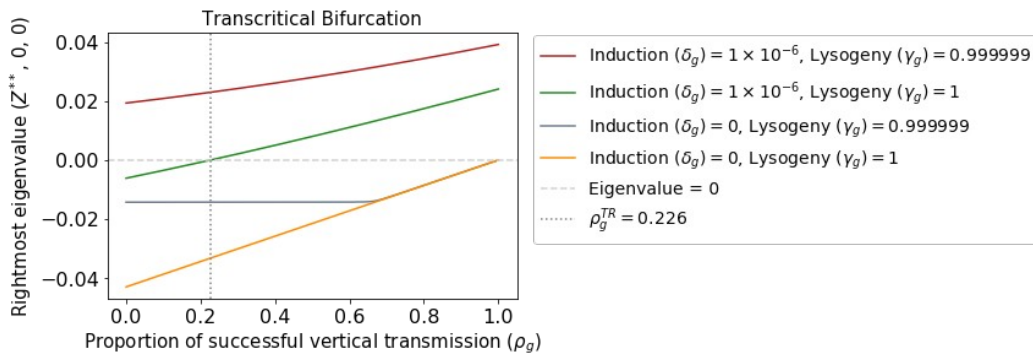


Figure 1. Stability conditions for the disease-free state. The disease-free fixed point ($E_4 = Z^{**}, 0, 0$) is stable only for a narrow range of parameter values, where at least one viral reproduction pathway is closed. The disease-free state becomes unstable once its largest eigenvalue is positive (green line) and system diverges from the fixed point.

A transcritical bifurcation occurs once the disease-free and coexistence fixed points exchange stability (Fig. 2). It is observed when $\rho_g = 0.226$ (ρ_g^{TR}) for a particular case of parameter values, when all viral infections results in lysogeny ($\gamma_g = 1$) but the viral induction is at basal intensity ($\delta_g = 10^{-6}$). When $\rho_g < \rho_g^{TR}$ the disease-free state ($Z^{**}, 0, 0$) is stable. The analytical expression for ρ_g^{TR} is available in Supplementary Information (Supp. Eq. 1).

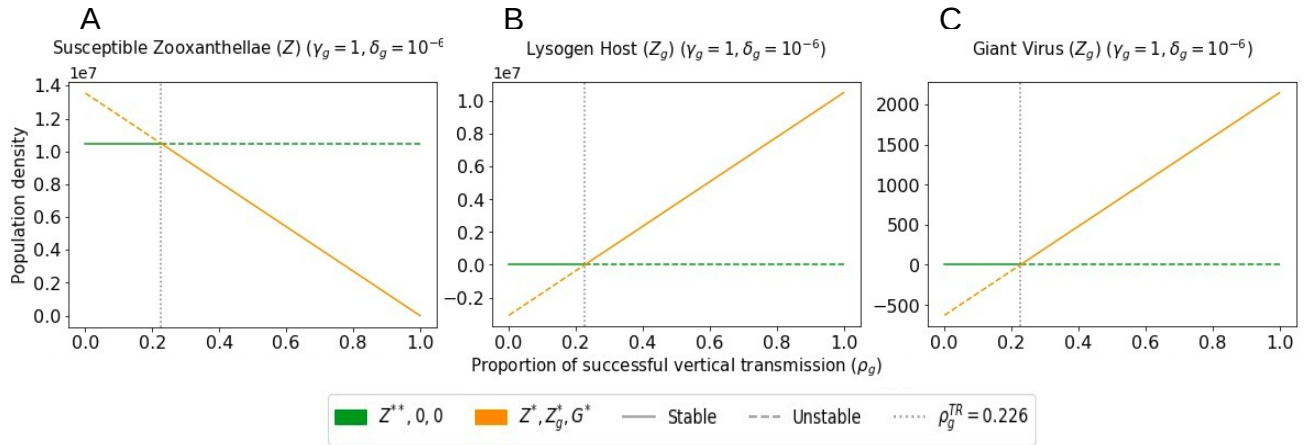


Figure 2. Transcritical bifurcation between the disease-free state and infected state. The disease-free state ($E_4 = Z^{**}, 0, 0$) and coexistence state ($E_2 = Z^*, Z_g^*, G^*$) exchanges stability for a critical proportion of successful vertical transmission of viral infection (ρ_g^{TR}) in a particular scenario where viral infection invariably results in lysogeny ($\gamma_g = 1$) and viral induction occurs in a low intensity ($\delta_g = 10^{-6}$). Analytical expression for ρ_g^{TR} is available in Supplementary Information (Supp. Eq. 1).

Giant virus infection can cause an abrupt decrease in zooxanthellae population density

Since the activation of viral reproduction pathways leads to the coexistence of all populations, we further investigated the conditions that viral reproduction strategy (γ_g , ρ_g and δ_g) can lead total zooxanthellae density to decrease below the bleaching threshold (10^5 host cells/ml) inside coral tissue. We observed a clear relationship between virus population traits and viral bleaching. Even in the absence of viral induction ($\delta_g \alpha_g = 0$), if the proportion of latent infection (γ_g) and successful vertical transfer (ρ_g) of viral infection are lower than 0.5, total zooxanthellae population suffers a critical decrease in density within coral tissue and bleaching occurs (Fig. 3a). Nevertheless, the intensity of viral induction (δ_g) seems to be determinant to zooxanthellae population density. Even if the proportion of latent infection (γ_g) and successful vertical transfer (ρ_g) of viral infection are maximum, when $\delta_g \geq 0.5$ coral bleaching occurs (Fig. 3b-d). In this case, when viral induction reaches its mean value ($\delta_g \alpha_g = 0.021$), the lysogen host population effective growth is null; therefore, high values of δ_g leads to total zooxanthellae population decrease over time. Even though the intensity of viral induction (δ_g) is a constraint to total zooxanthellae population density, we show that the range of δ_g values that result in coral bleaching is partially determined by the relationship between ρ_g and γ_g , where a high proportion of latent infection and successful vertical transfer of viral infection contributes to the persistence of total zooxanthellae population density (Fig. 3b-d).

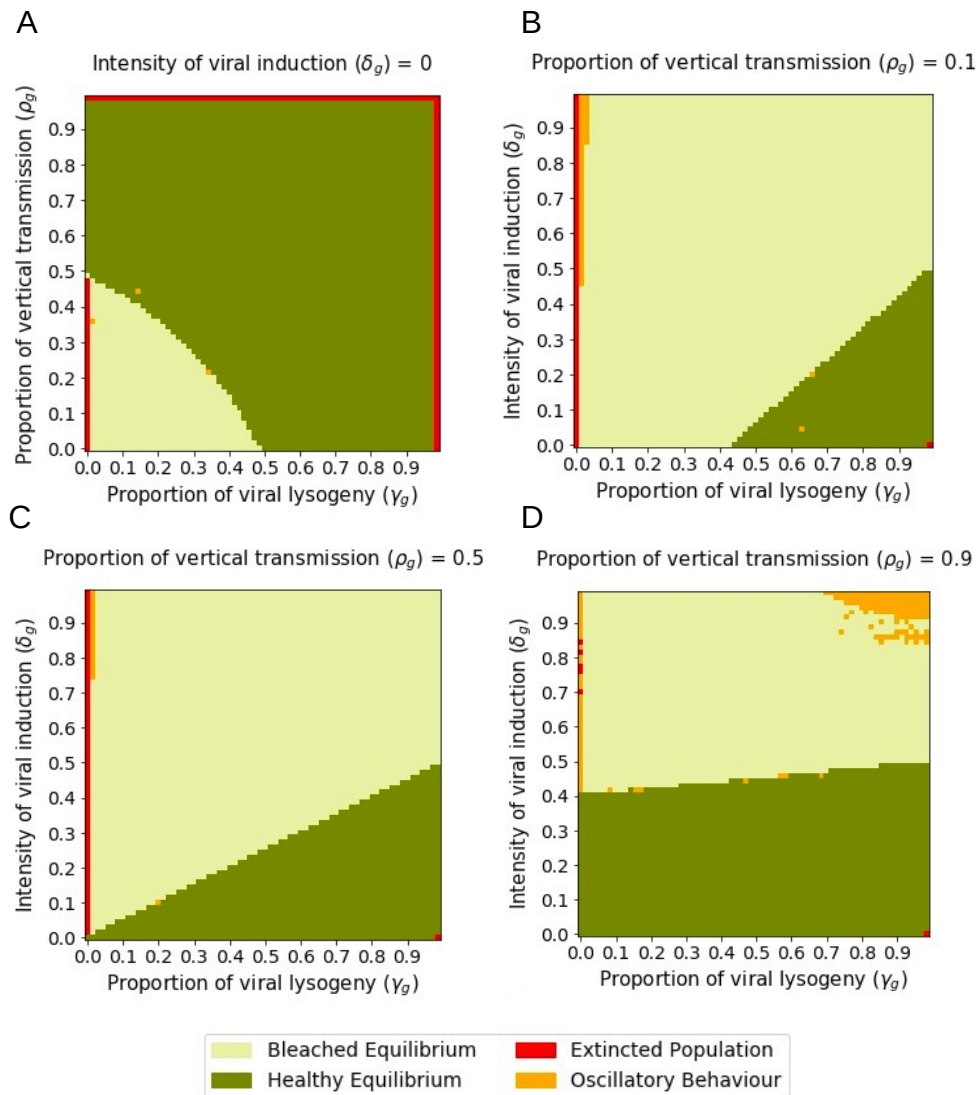


Figure 3. Relationship between viral reproduction strategy traits and coral bleaching. We considered the effect of the proportion of viral lysogeny (γ_g), vertical transmission of virus infection (ρ_g) and intensity of viral induction (δ_g) in viral bleaching. Dark green represents healthy coral state and yellow represents bleached coral state using a threshold of 10^5 cell/cm² (Fagoonee et al., 1999). Orange indicates the occurrence of oscillatory dynamics considering a temporal evolution of 2 billion time steps and red indicates the extinction of at least one population (extinction threshold = 10^{-6}). We show that (a) in the absence of viral induction, γ_g and ρ_g have the same relative contribution to determine the unhealthy coral state, where low values for both parameters results in coral bleaching. (b-d) We show that for any combination of ρ_g and γ_g , when $\delta_g \geq 0.5$ coral bleaching occurs. Nevertheless, for increasing values of ρ_g (0.1, 0.5 and 0.9 respectively) we observe that a healthy coral status can be attained in a broader proportion of viral lysogeny (γ_g).

Lysogen zooxanthellae density decrease leads to coral bleaching

We further investigated how each host population density within coral tissue changes in the transition from healthy to bleached state. Host cell lysis and total host population decrease can occur either by a direct entrance in lytic cycle ($\gamma_g \rightarrow 0$), or from viral induction ($\delta_g \rightarrow 1$). We found that lysogen host (Z_g) usually outnumber susceptible zooxanthellae population (Z) when all populations coexist in

coral tissue and that the healthy state of coral is marked by high density of zooxanthellae carrying a lysogenic viral infection (Z_g) (Fig. 4).

When the intensity of viral induction is low ($\delta_g = 0.1$), the production of giant virus free particles occurs mainly through the direct establishment of a lytic infection ($\gamma_g \rightarrow 0$), in this sense, as the proportion of lysogeny increases ($\nu_g \rightarrow 1$), instead of undergoing cell lysis, susceptible zooxanthellae suffers a lysogenic infection, increasing Z_g population density (Fig. 4a). Even for low intensity of viral induction ($\delta_g = 0.1$) and high proportion of lysogeny ($\nu_g = 0.8$), giant virus population density seems to follow lysogen host density increase in the healthy state since as long as viral lytic reproduction occurs in basal rates, giant virus infection is successful (Fig. 4a).

In another scenario, we investigated the density of each host population for increasing viral induction intensity (δ_g) (Fig. 4b). We considered that half of infections results in lysogeny ($\nu_g = 0.5$) and that half of lysogen daughter cells remains infected by the virus ($\rho_g = 0.5$). In this sense, even when induction is null ($\delta_g = 0$), giant virus are being released to the system through lytic cycle. As viral induction increases ($\delta_g \rightarrow 1$), lysogen host cells are being lysed and giant virus particles are released to environment (Fig. 4b).

Even though viral lytic infection seems to greatly determine total zooxanthellae density inside coral tissue, we found that the ratio of giant virus free particles density and total zooxanthellae population density follows a power law, where giant virus population density is, on average, two orders of magnitude greater than total host density, either when coral is in a healthy or bleached state (Fig. 4c-d).

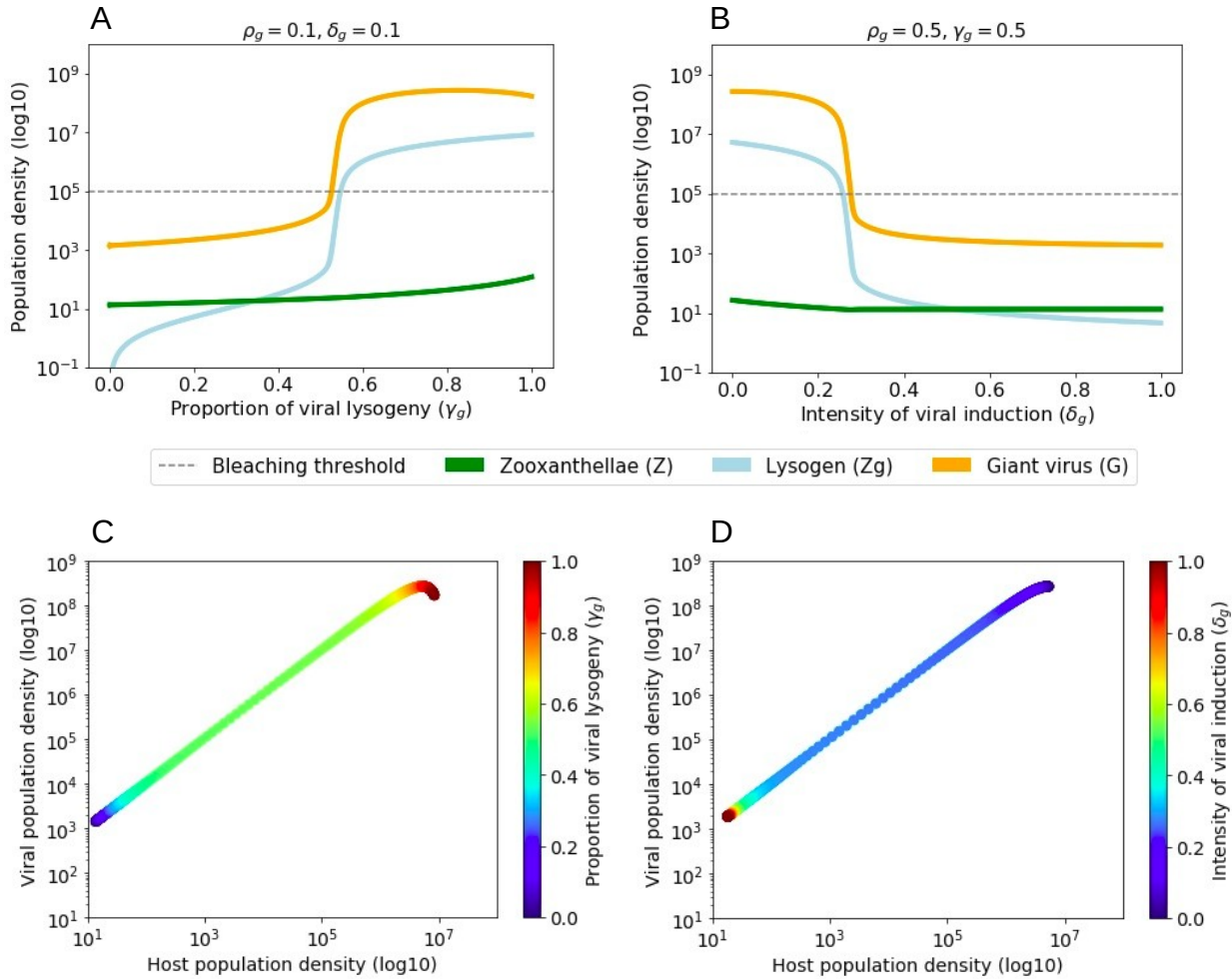


Figure 4. Zooxanthellae and virus population density during lytic viral reproduction. Coral bleaching occurs either by a direct entrance in lytic cycle (a), or from viral induction (b). The coral healthy state is marked by a high density of lysogen zooxanthellae (Z_g) (a – b). The ratio between giant virus free particles density and total host population density follows a power law and remains equivalent in a healthy or bleached coral state for both entrance mechanism in lytic cycle (c – d).

Seasonality of viral induction can lead to bleaching cycles

Similarly to the oxidative and bacterial bleaching mechanisms, we hypothesized that high temperature and UV radiation may play a decisive role in viral bleaching. Following empirical evidences of environmentally driven expression of giant virus particles in zooxanthellae cultures (Lawrence et al., 2017, 2014; Levin et al., 2017; Lohr et al., 2007; Wilson et al., 2001), we investigated how environmental seasonality of temperature and UV radiation could affect host population dynamics by considering that δ_g oscillates over a year. We considered that during winter the induction intensity is null ($\delta_g(t) = 0$), but, during summer, it reaches its maximum intensity ($\delta_g(t) = 1$). We considered the induction varying as the equation bellow (Eq. 2):

$$\delta_g(t) = \frac{1}{2} + \frac{1}{2} \cos\left(\frac{2\pi}{365}t\right) \quad (2)$$

We show that total zooxanthellae population ($Z+Z_g$) density vary over time in periodic oscillations when induction depends on environmental seasonality (Fig. 5a-c). When the proportion of lysogeny and vertical transfer of viral infection are low ($\gamma_g \leq 0.5$ and $\rho_g \leq 0.5$), host population readily falls below the bleaching threshold (Fig 5a-b). Nevertheless, γ_g and ρ_g are high, total host population density oscillate around the bleaching threshold (Fig. 6c), suggesting that the combined effect of environmentally driven viral induction ($\delta_g(t)$) and prevalence of lysogeny (γ_g) as viral reproduction strategy and the maintenance of viral infection in the progeny (ρ_g) can lead to the appearance of natural annual cycles of viral bleaching events.

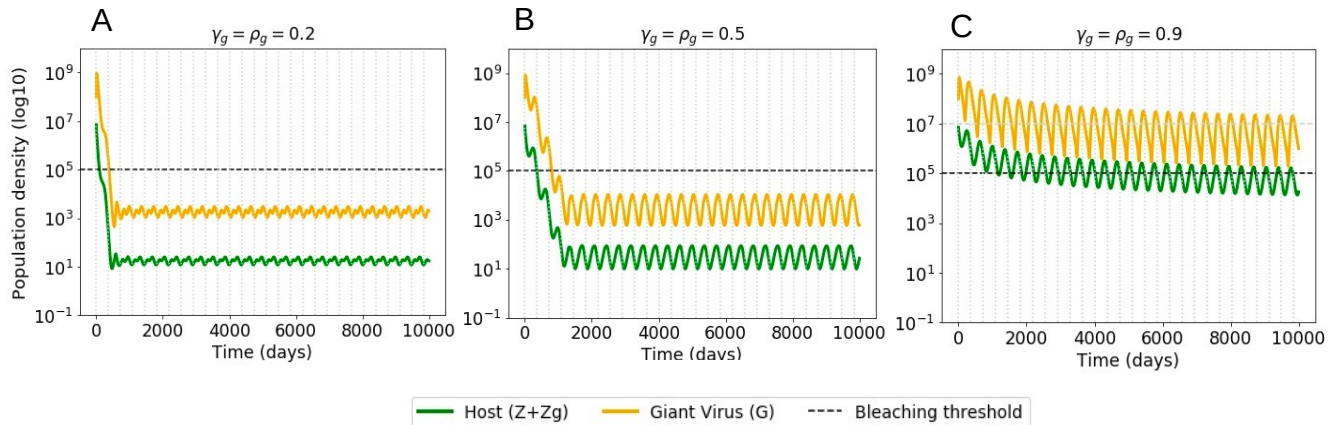


Figure 5. Periodic dynamical behavior can be observed in host population when the intensity of viral induction is seasonal $\delta_g(t)$. (a) when $\gamma_g = \rho_g = 0.2$ or (b) when $\gamma_g = \rho_g = 0.5$, host population density decrease and oscillate below bleaching threshold. (c) When $\gamma_g = \rho_g = 0.9$, host population density oscillates around bleaching threshold indicating the appearance of bleaching cycles in the system. Vertical dotted lines represent a time frame of 1 year. Initial population densities were 2×10^6 , 5×10^6 and 10^8 for zooxanthellae, lysogen and giant virus respectively.

Discussion

Giant viruses are widely distributed in marine ecosystems (Ogata et al., 2010) and apparently ubiquitous in coral microbial communities (Vega Thurber et al., 2017; Wood-Charlson et al., 2015). Empirical evidences show that giant viruses found in free-living algae (Tomaru et al., 2008), such as Phycodnaviridae viral family, are able to establish a latent infection in coral-associated *Symbiodinium* (Benites et al., 2018; Lawrence et al., 2017; Lohr et al., 2007). Our model show that the coexistence of zooxanthellae and giant virus population is stable for an extent range of viral reproduction strategy traits. The disease-free state where zooxanthellae population is free of giant virus infection, either lysogenic or lytic, is stable only for specific conditions, where giant viruses are unable to carry a lytic infection, either direct or by induction process.

Even though the coexistence of zooxanthellae and giant virus is broadly stable, we found that viral coral bleaching occurs only for specific parameter values combination related to viral reproduction strategy. We found that viral induction process has a great contribution to determine total zooxanthellae population density inside coral tissue. In phages, viral induction can occur as a result of external stressors which include changes in nutrients, pH, temperature, exposure to antibiotics, hydrogen peroxide and foreign DNA (reviewed in Howard-Varona et al., 2017; Lwoff, 1953). Indeed, empirical studies show that zooxanthellae cultures submitted to high temperatures or high UV radiation present an expression of giant virus particles and zooxanthellae cells are lysed (Correa et al., 2013; Lawrence et al., 2017; 2014; Levin et al., 2017; Lohr et al., 2007; Wilson et al., 2001). Notably, these factors are also related to coral-algae mutualism disruption (Wooldridge, 2013; 2009).

Despite viral induction being a constraint to total zooxanthellae population density, we found that low levels of viral induction combined with high levels of viral lysogeny and vertical transmission of viral infection result in persistence of zooxanthellae population above bleaching threshold. In this sense our model show that viral induction does not necessarily result in viral bleaching, as it would depend on the viral sensibility to the induction agent (i.e. higher temperatures and UV radiation) and on other viral reproduction strategy traits. Since most experimental studies forcing the induction of viral lytic reproduction in zooxanthellae cultures do not quantify the amount of host cells that were lysed neither explicitly correlates the induction intensity with the amount of induced cells (Benites et al., 2018; Lawrence et al., 2014; Levin et al., 2017; Lohr et al., 2007), we lack experimental information on how temperature and UV-radiation stress can lead to viral coral bleaching.

Our model predicts that viral coral bleaching can occur in the absence of factors triggering viral induction. It occurs when lytic reproduction is favored and vertical transmission of viral infection is majorly unsuccessful. Indeed, field experiments has shown that UV radiation in naturally occurring intensities can lead to coral bleaching (reviewed in Banaszak & Lesser, 2009) and this is supported by viral coral bleaching. Additionally, we found that viral bleaching could be attenuated in front of high proportions of vertical transmission of viral infection. Even though we should be cautious since we considered that lysogen zooxanthellae host cells are immune to cell lysis by a subsequent lytic infection, this result indicates that the allowance of viral infection spread in host population would represent a temporary benefit to host population.

Our results also indicate that healthy corals may have a high population density of lysogen hosts when giant viruses are present in the local community. Several mechanisms can determine the viral lysogeny, such as viral density, host-virus genetic compatibility and host physiological state

(reviewed in Howard-Varona et al., 2017). Indeed, experiments revealed that in several coral reef systems an increase in host density is often accompanied by an increase in lysogenic reproduction in viruses (Knowles et al., 2016; but see Alrasheed et al., 2019). Bacterial lysogens can account for 50% of the total bacterial abundance in prokaryotic communities from marine environments (Sime-Ngando, 2014). In fact, bacterial lysogens are widespread (Chibani-Chennoufi et al., 2004), occurring in varying frequencies in aquatic (Sime-Ngando, 2014) and coral systems (Knowles et al., 2016b), nevertheless, we lack information on lysogens frequency in eukaryotic communities.

Coral bleaching usually occurs during summer when sea surface temperature rise above average. In the oxidative coral bleaching, high UV incidence and/or temperature events stimulate the production of reactive oxygen species leading to posterior zooxanthellae expulsion by coral host and coral bleaching (Lesser, 1996). In bacterial infection coral bleaching, high water temperature induces the production of virulence factors in the bacteria *Vibrio shilloyi* inside coral tissue, leading to posterior degradation of zooxanthellae photosynthetic apparatus and coral bleaching (Toren et al., 1998). Our model show that the seasonality of viral induction intensity, that is, its dependence on summer high temperature and UV-stress, can lead to the appearance of annual cycles of viral coral bleaching events.

In this work, we expand the knowledge regarding the mechanisms that can govern coral bleaching, previously restricted to oxidative stress bleaching and bacterial infection bleaching. Here, we proposed and theoretically investigated a new hypothesis for coral bleaching - the Viral Coral Bleaching Hypothesis - in which giant virus infection is an important regulator of zooxanthellae population dynamics. We emphasize that experimental studies are required to investigate the extent in which viral infections influence bleaching events in comparison to other known coral bleaching mechanisms. We suggest that this unique dynamic should play an important and previously neglected role in coral bleaching events. Thus, we recommend that this new mechanism should be taken into account in the investigation of bleaching events and in the planning of coral bleaching mitigation strategies.

Caveats

Here we built model considering the general characteristics of viral infections without contemplating any biological particularity of resistance or immunity of either zooxanthellae or coral in relation to viral infection. In this sense we encourage further investigation considering zooxanthellae resistance to viral infection, as well as considering different zooxanthellae tolerance levels to triggering agents of viral induction. We also encourage further investigation considering different coral taxa particularities,

specially those producing proteins that serve as ultraviolet-blocking agents which could attenuate radiation-related viral induction. Here we used zooxanthellae population decrease as an indicative of coral unhealthy state, in this sense, for simplicity we disregard any compensatory mechanisms, such as compensation of photosynthetic efficiency from zooxanthellae, which could maintain coral in a healthy state even at low abundances of zooxanthellae within its tissue.

Acknowledgments

ABC and PMM thank Erik Aguiar and Felipe Benites for insightful comments. ABC thanks CNPq for MsC scholarship (132261/2018-9). RMS thanks CAPES for MsC scholarship (88882.460937/2019-01). PMM thanks to PROPESQ-UFBA (11268). All codes are deposited in GitHub for scientific reproducibility www.github.com/meirelleslab and www.github.com/camposamanda.

References

- Baird, A., & Marshall, P. (2002). Mortality, growth and reproduction in scleractinian corals following bleaching on the Great Barrier Reef. *Marine Ecology Progress Series*, 237, 133–141. <https://doi.org/10.3354/meps237133>
- Baker, A. C., Glynn, P. W., & Riegl, B. (2008). Climate change and coral reef bleaching: An ecological assessment of long-term impacts, recovery trends and future outlook. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 80(4), 435–471. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2008.09.003>
- Banaszak, A. T., & Lesser, M. P. (2009). Effects of solar ultraviolet radiation on coral reef organisms. *Photochemical and Photobiological Sciences*, Vol. 8, pp. 1276–1294. <https://doi.org/10.1039/b902763g>
- Benites, L. F., Silva-Lima, A. W., da Silva-Neto, I. D., & Salomon, P. S. (2018). Megaviridae-like particles associated with Symbiodinium spp. from the endemic coral *Mussismilia braziliensis*. *Symbiosis*, 76(3), 303–311. <https://doi.org/10.1007/s13199-018-0567-y>
- Bratbak, G., Egge, J. K., & Heldal, M. (1993). Viral mortality of the marine alga *Emiliania huxleyi* (Haptophyceae) and termination of algal blooms. *Marine Ecology Progress Series*, 93(1–2), 39–48. <https://doi.org/10.3354/meps093039>
- Brown, B. E. (1997). Coral bleaching: causes and consequences. *Coral Reefs*, 16(0), S129–S138. <https://doi.org/10.1007/s003380050249>
- Chibani-Chennoufi, S., Bruttin, A., Dillmann, M. L., & Brüssow, H. (2004, June). Phage-host interaction: An ecological perspective. *Journal of Bacteriology*, Vol. 186, pp. 3677–3686. <https://doi.org/10.1128/JB.186.12.3677-3686.2004>
- Correa, A. M. S., Ainsworth, T. D., Rosales, S. M., Thurber, A. R., Butler, C. R., & Vega Thurber, R. L. (2016). Viral outbreak in corals associated with an in situ bleaching event: Atypical herpes-like viruses and a new

megavirus infecting symbiodinium. *Frontiers in Microbiology*, 7(FEB), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00127>

- Correa, A. M. S., Welsh, R. M., & Vega Thurber, R. L. (2013). Unique nucleocytoplasmic dsDNA and +ssRNA viruses are associated with the dinoflagellate endosymbionts of corals. *ISME Journal*, 7(1), 13–27. <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.75>
- Downs, C. A., Fauth, J. E., Halas, J. C., Dustan, P., J., B., & Woodley, C. M. (2002). Oxidative stress and seasonal coral bleaching. *Free Radical Biology & Medicine*, 33(4), 533–543. <https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2010.04.015>
- Emerson, J. B., Thomas, B. C., Andrade, K., Allen, E. E., Heidelberg, K. B., & Banfield, J. F. (2012). Dynamic viral populations in hypersaline systems as revealed by metagenomic assembly. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(17), 6309–6320. <https://doi.org/10.1128/AEM.01212-12>
- Fagoonee, I., Wilson, H. B., Hassell, M. P., & Turner, J. R. (1999). The dynamics of zooxanthellar populations: a long-term study in the field. *Science*, 283, 843–845. <https://doi.org/10.1038/098448b0>
- Fang, Z., Tan, J., Wu, S., Li, M., Xu, C., Xie, Z., & Zhu, H. (2019). PPR-Meta: a tool for identifying phages and plasmids from metagenomic fragments using deep learning. *GigaScience*, 8(6). <https://doi.org/10.1093/gigascience/giz066>
- Fitt, W. K., McFarland, F. K., Warner, M. E., & Chilcoat, G. C. (2000). Seasonal patterns of tissue biomass and densities of symbiotic dinoflagellates in reef corals and relation to coral bleaching. *Limnology and Oceanography*, 45(3), 677–685. <https://doi.org/10.4319/lo.2000.45.3.0677>
- Herman, J., & Usher, W. (2017). SALib : An open-source Python library for Sensitivity Analysis. *The Journal of Open Source Software*, 97(1–2), 2015–2017. <https://doi.org/10.21105/joss.00097>
- Howard-Varona, C., Hargreaves, K. R., Abedon, S. T., & Sullivan, M. B. (2017). Lysogeny in nature: mechanisms, impact and ecology of temperate phages. *The ISME Journal*, 11(7), 1511–1520. <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.16>
- Knowles, B., Silveira, C. B., Bailey, B. A., Barott, K., Cantu, V. A., Cobián-Güemes, A. G., ... Rohwer, F. (2016). Lytic to temperate switching of viral communities. *Nature*, 531(7595), 466–470. <https://doi.org/10.1038/nature17193>
- Kushmaro, A., Loya, Y., Fine, M., & Rosenberg, E. (1996). Bacterial infection and coral bleaching. *Nature*, 380, 396.
- La Scola, B., Desnues, C., Pagnier, I., Robert, C., Barrassi, L., Fournous, G., ... Raoult, D. (2008). The virophage as a unique parasite of the giant mimivirus. *Nature*, 455(7209), 100–104. <https://doi.org/10.1038/nature07218>
- Lawrence, S. A., Floge, S. A., Davy, J. E., Davy, S. K., & Wilson, W. H. (2017). Exploratory analysis of Symbiodinium transcriptomes reveals potential latent infection by large dsDNA viruses. *Environmental Microbiology*, 19(10), 3909–3919. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13782>
- Lawrence, S. A., Wilson, W. H., Davy, J. E., & Davy, S. K. (2014). Latent virus-like infections are present in a diverse range of *Symbiodinium* spp. (Dinophyta). *Journal of Phycology*, 50(6), 984–997. <https://doi.org/10.1111/jpy.12242>

- Lawrence, S. A., Wilson, W. H., Davy, J. E., & Davy, S. K. (2014b). Latent virus-like infections are present in a diverse range of *Symbiodinium* spp. (Dinophyta). *Journal of Phycology*, 50(6), 984–997. <https://doi.org/10.1111/jpy.12242>
- Lesser, M. P. (1996). Elevated temperatures and ultraviolet radiation cause oxidative stress and inhibit photosynthesis in symbiotic dinoflagellates. *Limnology and Oceanography*, 41(2), 271–283. <https://doi.org/10.4319/lo.1996.41.2.0271>
- Levin, R. A., Voolstra, C. R., Weynberg, K. D., & van Oppen, M. J. H. (2017). Evidence for a role of viruses in the thermal sensitivity of coral photosymbionts. *The ISME Journal*, 11(3), 808–812. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.154>
- Lohr, J., Munn, C. B., & Wilson, W. H. (2007). Characterization of a latent virus-like infection of symbiotic zooxanthellae. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(9), 2976–2981. <https://doi.org/10.1128/AEM.02449-06>
- Lwoff, A. (1953). Lysogeny. *Bacteriological Reviews*, 17(4), 269–337. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13105613>
- Maurice, C. F., Bouvier, C., de Wit, R., & Bouvier, T. (2013). Linking the lytic and lysogenic bacteriophage cycles to environmental conditions, host physiology and their variability in coastal lagoons. *Environmental Microbiology*, 15(9), 2463–2475. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12120>
- Muscatine, L., McCloskey, L., & E. Marian, R. (1981). Estimating the daily contribution of carbon from zooxanthellae to coral animal respiration1. *Limnology and Oceanography*, 26(4), 601–611. <https://doi.org/10.4319/lo.1981.26.4.0601>
- Ogata, H., Monier, A., & Claverie, J.-M. (2010). Distribution of Giant Viruses in Marine Environments. In *Global Change: Mankind-Marine Environment Interactions* (pp. 157–162). https://doi.org/10.1007/978-90-481-8630-3_28
- Rosenberg, E. (2004). The bacterial disease hypothesis of coral bleaching. In *Coral health and disease*. https://doi.org/10.1007/978-3-662-06414-6_25
- Rosenberg, E., Kushmaro, A., Kramarsky-Winter, E., Banin, E., & Yossi, L. (2009). The role of microorganisms in coral bleaching. *The ISME Journal*, 3(2), 139–146. <https://doi.org/10.1038/ismej.2008.104>
- Sime-Ngando, T. (2014). Environmental bacteriophages: Viruses of microbes in aquatic ecosystems. *Frontiers in Microbiology*, Vol. 5. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00355>
- Taylor, B. P., Cortez, M. H., & Weitz, J. S. (2014). The virus of my virus is my friend: Ecological effects of virophage with alternative modes of coinfection. *Journal of Theoretical Biology*, 354, 124–136. <https://doi.org/10.1016/J.JTBI.2014.03.008>
- Thurber, R. V., Payet, J. P., Thurber, A. R., & Correa, A. M. S. (2017). Virus–host interactions and their roles in coral reef health and disease. *Nature Reviews Microbiology*, 15(4), 205–216. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.176>
- Tomaru, Y., Shirai, Y., & Nagasaki, K. (2008). Ecology, physiology and genetics of a phycodnavirus infecting the noxious bloom-forming raphidophyte *Heterosigma akashiwo*. *Fisheries Science*, 74(4), 701–711. <https://doi.org/10.1111/j.1444-2906.2008.01580.x>

- Toren, A., Landau, L., Kushmaro, A., Loya, Y., & Rosenberg, E. (1998). Effect of Temperature on Adhesion of *Vibrio* Strain AK-1 to *Oculina patagonica* and on Coral Bleaching. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(4), 1379–1384. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16349542>
- Verneau, J., Levasseur, A., Raoult, D., La Scola, B., & Colson, P. (2016). MG-Digger: An Automated Pipeline to Search for Giant Virus-Related Sequences in Metagenomes. *Frontiers in Microbiology*, 7, 428. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00428>
- Wilson, W H, Van Etten, J. L., & Allen, M. J. (2009). The Phycodnaviridae: the story of how tiny giants rule the world. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 328, 1–42. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19216434>
- Wilson, William H., Francis, I., Ryan, K., & Davy, S. K. (2001). Temperature induction of viruses in symbiotic dinoflagellates. *Aquatic Microbial Ecology*, 25(1), 99–102. <https://doi.org/10.3354/ame025099>
- Wood-Charlson, E. M., Weynberg, K. D., Suttle, C. A., Roux, S., & van Oppen, M. J. H. (2015). Metagenomic characterization of viral communities in corals: mining biological signal from methodological noise. *Environmental Microbiology*, 17(10), 3440–3449. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12803>
- Wooldridge, S. A. (2013). Breakdown of the coral-algae symbiosis: Towards formalising a linkage between warm-water bleaching thresholds and the growth rate of the intracellular zooxanthellae. *Biogeosciences*, 10(3), 1647–1658. <https://doi.org/10.5194/bg-10-1647-2013>
- Wooldridge, Scott A. (2009). A new conceptual model for the warm-water breakdown of the coralalgae endosymbiosis. *Marine and Freshwater Research*, 60(6), 483–496. <https://doi.org/10.1071/MF08251>
- Yau, S., Lauro, F. M., DeMaere, M. Z., Brown, M. V., Thomas, T., Raftery, M. J., ... Cavicchioli, R. (2011). Virophage control of antarctic algal host-virus dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(15), 6163–6168. <https://doi.org/10.1073/pnas.1018221108>

Supplementary Information

Supplementary table 1. Fixed points and its respective eigenvalues. The fixed point expression determine the density of the variable while the eigenvalues determine the stability of the fixed point. A fixed point becomes unstable when at least one of the system's eigenvalue is positive.

Fixed Point	-	Z	Z _g	G
E ₀	Extinction fixed point	0	0	0
E ₀	Existence conditions	None	None	None
E ₀	Extinction eigenvalue	b - d	$\rho_g b - \delta_g \alpha_g - d$	-m _g
E ₁	Disease-free fixed point	$-k(-b+d)/(d)$	0	0
E ₁	Existence conditions	k ≠ 0	None	None
E ₁	Disease-free eigenvalue	-b+d	$\frac{\beta_g k \phi_g (1-\gamma_g)(b-d) - \alpha_g d \delta_g + bd(\rho_g - 1) - dm_g + \sqrt{f(b, d, k, \phi_g, \beta_g, m_g, \alpha_g, \delta_g, \gamma_g, \rho_g)}}{\beta_g, m_g, \alpha_g, \delta_g, \gamma_g, \rho_g}$	$\frac{\beta_g k \phi_g (1-\gamma_g)(b-d) - \alpha_g d \delta_g + bd(\rho_g - 1) - dm_g - \sqrt{f(b, d, k, \phi_g, \beta_g, m_g, \alpha_g, \delta_g, \gamma_g, \rho_g)}}{\beta_g, m_g, \alpha_g, \delta_g, \gamma_g, \rho_g}$
E ₂	Coexistence fixed point	Not calculated	Not calculated	Not calculated
E ₂	Coexistence eigenvalue	Not calculated	Not calculated	Not calculated
E ₃	Lysogeny fixed point	0	$(\rho_g b - \delta_g \alpha_g - d)(k/d)$	0
E ₃	Existence conditions	None	$\rho_g = 1, \delta_g = 0$	None
E ₃	Lysogeny eigenvalue	$-k(1+(b-k/(k)))+k$	$b-k(1+(b-k/(k)))$	$(\beta_g d \phi_g (1-\gamma_g)(b-k)/k) - m_g$
E ₄	Infected fixed point	0	$(\rho_g b - \delta_g \alpha_g - d)(k/d)$	$(\beta_g \delta_g \alpha_g Z_g)(m_g)$
E ₄	Existence conditions	$\rho_g = 1$	$\delta_g < (-d+b)/\alpha_g$	$\delta_g \neq 0$
E ₄	Infected eigenvalue	Not calculated	Not calculated	Not calculated

Equation 1. Analytical expression for the critical proportion of successful vertical transmission of viral infection (ρ_g^{TR}). A transcritical bifurcation occurs when the disease-free fixed point ($Z^{**}, 0, 0$) and coexistence fixed point (Z^*, Z_g^*, G) exchange stability. It occurs in a particular condition where all viral infections results in lysogeny ($\gamma_g = 1$) but the viral induction is at basal rates ($\delta_g > 10^{-6}$). When $\rho_g < \rho_g^{TR}$ the disease-free state ($Z^{**}, 0, 0$) is stable.

$$\rho_g^{TR} = \frac{1}{bdm_g}(dm_g)(b + \alpha_g\delta_g) + (k\alpha_g\beta_g\delta_g\phi_g)(-b + d)$$

Conclusão

O branqueamento de corais consiste na diminuição da população de células de zooxantela no tecido do coral e está associada à mortalidade de corais em nível global. Evidências empíricas sugerem que a indução viral, ou seja, a mudança de estratégia reprodutiva viral de latente para ativa, influencia na mortalidade das zooxantelas. Embora existam evidências de um possível papel das infecções por vírus gigantes no branqueamento de corais, ainda não existem explicações mecanicistas que vinculem infecções virais ao estado de saúde do coral. Assim, neste trabalho, investigamos o comportamento da dinâmica populacional das zooxantelas sob a influência da dinâmica infecciosa dos vírus gigantes dentro do tecido do coral a partir da construção de um modelo matemático. Aqui consideramos explicitamente as estratégias de reprodução viral para investigarmos de maneira mecanista como infecções virais podem causar o branqueamento de corais.

Encontramos que a coexistência entre vírus gigantes e zooxantelas é amplamente estável dentro do tecido do coral e que o estado de saúde dos corais é determinado pela estratégia de reprodução viral. Nesse caso, altas taxas de infecção lisogênica e transferência vertical da infecção viral estão relacionadas ao estado saudável dos corais, enquanto que a alta intensidade de indução viral está ligada ao branqueamento do coral. Nesse contexto, utilizamos teoricamente a temperatura e radiação UV altas como agentes indutores, entretanto, qualquer agente indutor viral com ação sobre os vírus gigantes poderia provocar o branqueamento a partir desse mecanismo. Recomendamos que estudos empíricos devem ser feitos a fim de elencar quais fatores podem se comportar como agentes indutores potenciais e o quão sensível é a indução viral à esses agentes, ou seja, o quanto eles contribuem para a indução viral na zooxantela. Sugerimos então que a concentração ou intensidade desses fatores no ambiente deve ser levada em consideração em iniciativas de monitoramento de recifes de corais como um sinal inicial de um possível evento de branqueamento.

Nesse trabalho construímos um modelo considerando as características gerais da dinâmica infecciosa viral sem considerar qualquer particularidade biológica de resistência ou imunidade das zooxantelas ou do coral em relação à infecção viral. Isso significa que não consideramos a presença de uma população de zooxantelas resistentes à infecção viral ou resistentes à fatores abióticos, como zooxantelas mais termotolerantes ou termosensíveis. Além disso, nesse modelo não consideramos a presença de proteínas de proteção solar que são produzidas por alguns taxa específicos de coral. A partir disso, encorajamos que novos estudos sejam feitos com o objetivo de adicionar essas particularidades e entender o seu efeito no contexto desse novo mecanismo de branqueamento de corais.

Ainda, mostramos que a proporção de células totais de zooxantela e de vírus gigantes segue uma lei de potência em corais saudáveis e branqueados. Esse resultado é um importante aspecto a ser levado em consideração em estudos empíricos. Aqui nós demonstramos que corais saudáveis tem proporcionalmente mais partículas virais do que corais branqueados. Isso é contra-intuitivo já que estudos experimentais indicam que existe um aumento na quantidade de partículas virais no ambiente frente a mortalidade da zooxantela para a liberação dessas novas partículas virais no ambiente. Esse padrão emerge no modelo porque aqui consideramos a dinâmica infecciosa viral na zooxantela no equilíbrio do sistema, ou seja, não se leva em consideração os intervalos de tempo curtos imediatamente após o evento de branqueamento, mas sim o efeito à longo prazo dessa dinâmica. Nesse contexto, a morte da zooxantela devido a infecção viral resultaria na diminuição da sua densidade e por conseguinte, na diminuição de hospedeiros disponíveis para que o vírus possa se reproduzir, levando à diminuição da densidade viral à longo prazo. Dessa forma, é intuitivo perceber que, considerando a dinâmica à longo prazo, a quantidade de vírus gigantes no ambiente é diretamente proporcional à disponibilidade de hospedeiros no sistema. É importante ressaltar que esse padrão emerge quando o coral não exerce qualquer estímulo à reprodução da zooxantela dentro de seu tecido. Dessa forma, além de experimentos com culturas de zooxantelas como tem sido historicamente feitos, encorajamos que também sejam feitos experimentos com as zooxantelas dentro do tecido do coral, a fim de investigar como o coral responderia à diminuição da densidade de zooxantelas dentro de seu tecido a partir da infecção viral.

É importante ressaltar que nesse trabalho levamos em consideração apenas a densidade populacional de zooxantelas dentro do tecido do coral como indicativo de branqueamento, dessa forma consideramos que uma menor quantidade de zooxantelas influencia negativamente no estado de saúde do coral. Assim, não consideramos outros mecanismos nos quais a densidade de zooxantela pode ser reduzida dentro do tecido coral e este continue em um estado de saúde saudável. Por exemplo, a compensação da eficiência fotossintética da zooxantela é um processo no qual uma menor densidade populacional de zooxantelas no tecido do coral pode fornecer a mesma quantidade de nutrientes ao coral que uma alta densidade populacional de zooxantelas.

Salientamos que vírus menores, denominados de virófagos, são parasitas naturais da fábrica viral dos vírus gigantes. Os virófagos competem com os vírus gigantes pela sua fábrica viral diminuindo a quantidade total de vírus gigantes produzidos por evento infeccioso, podendo resultar também na produção de vírus gigantes com partículas deformadas. Os virófagos estão presentes em vários sistemas onde o vírus gigantes se encontram: livres no ambiente marinho, infectando amebas e algas unicelulares de vida livre. Dessa forma, os virófagos são organismos que potencialmente podem ter uma ação de mitigação no branqueamento por infecção viral, bem como bacteriófagos tem ação

atenuadora no branqueamento por infecção bacteriana no coral *Oculina patagonica*. Partículas virais e sequências genéticas semelhantes à virófagos já foram encontradas em culturas de zooxantelas e em metagenomas de corais, entretanto nenhuma evidência empírica robusta ainda foi encontrada confirmando a presença desses organismos na zooxantela ou no tecido do coral.

Com esse trabalho contribuímos para o avanço do conhecimento acerca dos mecanismos que governam o branqueamento de coral, outrora restritos ao branqueamento por estresse oxidativo e infecção bacteriana. Enfatizamos que estudos experimentais são necessários para investigar o quanto as infecções virais podem influenciar os eventos de branqueamento de corais em comparação a outros mecanismos conhecidos, o branqueamento por estresse oxidativo e o branqueamento por infecção bacteriana, e como esses mecanismos podem agir sinergeticamente uma vez que não há evidências que estes sejam mutualmente exclusivos.

Finalmente, aqui propomos uma nova hipótese para o branqueamento de corais – a Hipótese do Branqueamento Viral de Corais – na qual a infecção por vírus gigantes é um importante regulador da dinâmica populacional de zooxantelas. Sugerimos então que essa dinâmica única deve desempenhar um papel importante e anteriormente negligenciado nos eventos de branqueamento de corais. Assim, sugerimos que esse novo mecanismo deve ser levado em consideração na investigação de eventos de branqueamento e no planejamento de estratégias de mitigação de branqueamento de corais.