

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Análises multicriteriais dos eventos de branqueamento e doenças em *Siderastrea stellata* (Cnidaria, Scleractinia) dos recifes do Cabo Branco, João Pessoa - PB

Gabriel Malta de Farias

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cristiane Francisca Costa Sassi

João Pessoa – 2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Análises multicriteriais dos eventos de branqueamento e doenças em *Siderastrea stellata* (Cnidaria, Scleractinia) dos recifes do Cabo Branco, João Pessoa - PB

Gabriel Malta de Farias

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cristiane Francisca Costa Sassi

Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas (Trabalho Acadêmico de conclusão de Curso), como requisito parcial à obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

João Pessoa - 2016

Catálogo na publicação Universidade
Federal da Paraíba Biblioteca Setorial
do CCEN

F224a Malta de Farias, Gabriel

Análises multicriteriais dos eventos de branqueamento e doenças em *Siderastrea Stellata* (Cnidária, Scleractinia) dos recifes do Cabo Branco, João Pessoa - PB / Gabriel Malta de Farias.- João Pessoa, 2016.

47p. : il.-

Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) –
Universidade Federal da Paraíba.

1. Corais. 2. *Siderastrea Stellata* - Branqueamento.
3. Histologia. I. Título.

UFPB/BS-CCEN

CDU: 593.6(043.2)

Maria Teresa Macau - CRB 15/176

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Gabriel Malta de Farias

Análises multicriteriais dos eventos de branqueamento e doenças em *Siderastrea stellata* (Cnidaria, Scleractinia) dos recifes do Cabo Branco, João Pessoa - PB

Trabalho – Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas, como requisito parcial à obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas

Data: _____

Resultado: _____

BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dra. Cristiane F. Costa Sassi – Orientadora
UFPB/CCEN/DSE/LARBIM
(Orientadora)

Prof. Dr. Roberto Sassi
UFPB/CCEN/DSE/LARBIM
(1º Membro Titular)

Profa. Dra. Krystyna Gorlach Lira
UFPB/CCEN/DBM/LABIM
(2º Membro Titular)

MsC. Jordana Kaline da Silva Santana
Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos/UFPB
(Suplente)

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente aos meus orientadores Dra. Cristiane F. Costa Sassi e Dr. Roberto Sassi por todo conhecimento, atenção, respeito e dedicação que foram essenciais para minha carreira e formação no Curso de Ciências Biológicas. Os senhores me acolheram desde meu primeiro período, ensinando-me como “fazer ciência”. São e sempre serão um exemplo de pessoas, cidadãos e acima de tudo, de profissionais que pretendo me espelhar durante minha futura carreira acadêmica. Sou muito grato por todo esse carinho! Também quero agradecer aos meus companheiros e amigos do laboratório LARBIM e do curso de Ciências Biológicas. Sem vocês, eu não teria chegado onde cheguei. Muito obrigado meus amigos!

As técnicas do laboratório LARBIM, Neide, Dora e Margarida muito obrigado por toda ajuda, paciência e suporte. A presença de vocês em minha caminhada na graduação foi muito importante.

Agradeço também aos meus pais Maria Lígia Malta de Farias e Alexandre Maia de Farias por toda ajuda a mim oferecida, pelos seus incentivos e apoios seja financeiro ou sentimental. Muito obrigado minha Mãe e meu Pai, sou muito feliz e orgulhoso por tê-los em minha vida.

Meus irmãos Virgínia, Rafael e Luana amo muito vocês e agradeço por estarem presente em minha vida. Obrigado pelos conselhos, atenção, apoio e carinho, vocês são muito importantes para mim.

Um grande obrigado também aos professores e coordenadores do Curso de Ciências Biológicas. Aprendi muito com o conhecimento que cada professor compartilhou comigo e assim, agora possuo uma bagagem que será fundamental para minha futura carreira acadêmica. Gratidão!

Agradeço também ao CNPq pela concessão de quatro anos de bolsa de iniciação científica (PIBIC/UFPB) e pelo suporte financeiro do Projeto do INCT-Mar- Grupo de Trabalho 1.3 - Os Recifes e os Ecossistemas Coralinos (MCT/CNPq/FNDCT/Edital N° 71/2010).

Por fim, sou muito grato a todos e gostaria de dizer que me tornei uma pessoa melhor após passar por essa etapa muito importante de minha vida a qual vocês tiveram uma participação especial.

RESUMO

Eventos de branqueamentos e doenças em invertebrados bentônicos marinhos têm sido apontados como as principais causas de degradação dos recifes de corais. Na tentativa de caracterizar precisamente esses eventos pesquisadores de diversos países perceberam que uma única linha de investigação é insuficiente. Desta forma, estudos integrando diversas abordagens, tais como análises macroscópicas, microbiológicas, citológicas, histológicas e da composição dos microssimbiontes associados a cnidários, têm sido cada vez mais enfatizados. Diante do exposto e com a finalidade de entender mais profundamente os eventos de branqueamento e o aparecimento de alterações teciduais em colônias do coral *Siderastrea stellata* dos recifes do Cabo Branco, este trabalho realizou o monitoramento em campo desses eventos, induziu em condições laboratoriais o branqueamento em colônias de *S. stellata* e analisou aspectos da composição dos microssimbiontes e da histologia desse cnidário. O monitoramento foi realizado no período de setembro de 2011 a julho de 2012, em duas poças de marés, mediante inspeções visuais mensais de 20 colônias de *S. stellata* e utilizando o “*Coral Health Chart*”. No mesmo período, fragmentos saudáveis, branqueados e alterados (n=2 para cada situação) foram coletados para análises comparativas da densidade populacional das zooxantelas. Em junho de 2012, oito colônias de *S. stellata* que haviam se recuperado de um branqueamento recente foram coletadas e submetidas em condições laboratoriais à indução de branqueamento por estresse térmico. Nos meses de agosto e setembro de 2014, maio e junho de 2015 foram coletados fragmentos de *S. stellata*, saudáveis, branqueados, com a síndrome semelhante a “pigmentation response” e com a doença semelhante a “white plague” (n= 3 para cada condição) para análises histológicas comparativas. As inspeções de campo revelaram que *S. stellata* vem sofrendo com recorrentes episódios de branqueamento e doenças resultando em alterações no padrão de coloração tecidual e na densidade das zooxantelas simbiotes, tais eventos foram associados ao regime de chuvas e principalmente com as alterações nas condições ambientais da área de estudo. Sob condição laboratorial de estresse térmico extremo *S. stellata* apresentou-se como uma espécie muito resistente, corroborando os dados do monitoramento, mas nessas condições tem sua capacidade de resiliência diminuída, o que parece se opor ao verificado no campo. A técnica histológica e a coloração H&E empregada se mostraram eficientes. Comparando as amostras de tecidos saudáveis com as amostras de tecido branqueado e doentes, observou-se que tanto o branqueamento quanto as doenças promovem desestruturação das camadas teciduais, efeitos negativos nas estruturas reprodutivas e drásticas reduções na densidade populacional das zooxantelas simbiotes, mostrando que a histologia é uma eficiente ferramenta para analisar eventos de branqueamento e doenças, bem como para analisar a integridade da relação simbiótica que os corais mantêm com seus simbiotes. Em linhas gerais esta pesquisa demonstrou que, para melhor compreender os eventos de branqueamento e doenças em corais, se faz necessário além das inspeções rotineiras de campo, realização de ensaios laboratoriais diversos e associar estudos mais aprofundados como por exemplo o emprego de técnicas histológicas, as quais fornecem a real severidade desses eventos.

Palavras-chave: *Siderastrea stellata*; branqueamento; histologia.

ABSTRACT

Bleaching events and disease in marine benthic invertebrates have been identified as the main causes of degradation of coral reefs. In an attempt to characterize precisely these events, researchers from several countries realized that a single line of research is insufficient. Thus, studies integrating various approaches, such as macroscopic analysis, microbiological, cytological, histological and composition of microsymbionts associated with cnidarians, have been increasingly emphasized. In order to understand more deeply bleaching events and the appearance of tissue changes in coral colonies of *Siderastrea stellata* from Cabo Branco reefs, this work carried out monitoring in the field of these events, induced bleaching events in colonies of *S. stellata* in laboratory and analysed aspects of the composition of microsymbionts and histology of this cnidarian. The monitoring was carried out from September 2011 to July 2012, in two tides pools through visual inspections of 20 colonies of *S. stellata* and using the "Coral Health Chart". In the same period, healthy fragments, bleached and altered (n = 2 for each situation) were collected for comparative analysis of population density of zooxanthellae. In June 2012, eight colonies of *S. stellata* who had recovered from a recent bleaching were collected for laboratory experiments of bleaching induction by heat stress. In August and September 2014, May and June 2015 were collected fragments of *S. stellata*, healthy, bleached, with a similar syndrome "pigmentation response" and the disease "white plague" (n = 3 for each condition) for comparative histological analysis. The field inspections revealed that *S. stellata* has suffered from recurrent episodes of bleaching and disease resulting in changes in the pattern of tissue colour and density of zooxanthellae symbionts, such events were associated with rainfall and especially with the changes in environmental conditions of the study area. Under laboratory conditions of extreme heat stress *S. stellata* was presented as a very resistant species, corroborating the monitoring data, but these conditions have decreased their resilience, which seems to oppose to that seen in the field. Histological technique and H & E staining employed were efficient. Comparing the samples of healthy tissues, bleached and diseased, it was observed that both the bleached as diseased promote disintegration of the tissue layers. In addition, adverse effects on reproductive structures and a drastic reduction in density of zooxanthellae symbionts, showing the histology as an efficient tool for analysing bleaching and disease events, as well as to analyse the integrity of the symbiotic relationship that corals have with their symbionts. In general, this research has shown that, to a better understanding of bleaching events and disease in corals, it is necessary in addition to routine inspections field, conducting several laboratory tests and associate further studies such as the use of histological techniques, which provide the actual severity of these events.

Keywords: *Siderastrea stellata*; bleaching; histology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Colônia do coral <i>Siderastrea stellata</i> , nos recifes costeiros da Praia do Cabo Branco, João Pessoa (PB).....	16
Figura 2 – Vista geral da área de estudo, praia do Cabo Branco, João Pessoa – PB.....	18
Figura 3 – Poças de marés selecionadas para o monitoramento de 20 colônias de <i>S. stellata</i> nos recifes costeiros do Cabo Branco, João Pessoa – PB. Poça 1 (A) e Poça 2 (B).....	19
Figura 4 – Mapas esquemáticos das poças 1 e 2 com o posicionamento de cada uma das 20 colônias dentro das poças monitoradas mensalmente (C1 a C20) nos recifes do cabo Branco, João Pessoa - PB.....	19
Figura 5 – “ <i>Coral Health Chart</i> ”, utilizado no monitoramento das colônias de <i>Siderastrea stellata</i> dos recifes do Cabo Branco, João Pessoa – PB.....	20
Figura 6 – Câmara incubadora microprocessada (A) contendo os aquários (B) utilizados nos experimentos de indução do branqueamento por elevação da temperatura, do coral <i>S. stellata</i> coletados nos recifes do Cabo Branco, João Pessoa – PB.....	22
Figura 7 – Colônias de <i>Siderastrea stellata</i> coletadas dos recifes do Cabo Branco João Pessoa - PB. (A= colônia saudável; B= colônia branqueada; C= colônia com síndrome semelhante a “pigmentation response”, D= colônia com a doença semelhante a “white plague”.....	23
Figura 8 – Alterações no padrão de coloração nas colônias de <i>S. stellata</i> , observadas durante o período de outubro de 2011 a julho de 2012, nos recifes do cabo Branco, João Pessoa – PB. (A= Sadia; B= Branqueamento Moderado; C= “ <i>White Plague</i> ”; D= “ <i>Pigmentation Response</i> ”.....	24
Figura 9 – Percentual mensal das colônias branqueadas/alteradas de <i>S. stellata</i> , monitoradas nos recifes do Cabo Branco, João Pessoa – PB, durante o período de outubro de 2011 a julho de 2012.....	27
Figura 10 – Frequência mensal de alterações nas colônias de <i>S. stellata</i> monitoradas nos recifes do Cabo Branco, João Pessoa – PB, quanto ao aparecimento de doenças e branqueamento durante o período de outubro de 2011 a julho de 2012.....	29
Figura 11 – Densidade populacional de zooxantelas encontradas em fragmentos sadios e	

alterados de <i>S. stellata</i> coletados nos recifes do Cabo Branco, João Pessoa - PB.....	29
Figura 12 – Dados percentuais médios das quantidades de zooxantelas em colônias de <i>S. stellata</i> sadias comparadas às branqueadas, coletadas nos recifes costeiros do Cabo Branco - PB.....	30
Figura 13 – Alterações nas condições de saúde em <i>S. stellata</i> quando submetida a estresse crescente de temperatura até 37°C.....	32
Figura 14 – Quantidades de zooxantelas expulsas durante os ensaios laboratoriais de estresses térmicos com o coral <i>S. stellata</i> , coletado nos recifes do Cabo Branco.....	33
Figura 15 – Secção transversal (5µm) de tecidos sadios do coral <i>Siderastrea stellata</i> , coletado nos recifes do Cabo Branco, João Pessoa – PB (Ep= Epiderme; Ga= gastroderme; Zox= zooxantelas; Me= Mesogleia. 400x).....	34
Figura 16 – Secção transversal (5µm) mostrando a organização dos pólipos, em colônias sadias de <i>Siderastrea stellata</i> , coletadas nos recifes de Cabo Branco. (A= organização geral dos pólipos do coral; B= detalhes das estruturas de um pólipo).....	35
Figura 17 – Filamentos mesentéricos (A) e estruturas reprodutivas feminina (B), em tecidos do coral <i>S. stellata</i> coletado nos recifes do Cabo Branco, João Pessoa - PB. (Oc.=oócito; N=núcleo; n=nucléolo; setas pretas= Filamento mesentérico; em aumento de 400x).....	36
Figura 18 – Células reprodutivas femininas (oócitos) do coral <i>S. stellata</i> , em diferentes estágios de desenvolvimento. (A= oócitos em estágio I; B= ovócito em estágio II; C= oócito de estágio III e D= oócito em estágio V).....	36
Figura 19 – Detalhes das camadas teciduais do coral <i>S. stellata</i> , coletado nos recifes do Cabo Branco. A= lâmina do coral sadio; B= lâmina do coral branqueado, evidenciando aumento da mesogleia (seta preta) e diminuição da espessura da epiderme (seta vermelha).....	37
Figura 20 – Células reprodutivas femininas (ovócitos) do coral <i>S. stellata</i> , em degradação. (A-B) oócitos em estágio I degradado; (C) oócito em estágio III degradado.....	39

LISTA DE TABELAS

<p>Tabela 1 – Monitoramento mensal das vinte colônias de <i>S. stellata</i> na poça 1 dos recifes costeiros do Cabo Branco, João Pessoa – PB durante o período de outubro de 2011 a julho de 2012. (Sd = Sadia; BM = Branqueamento Moderado; WP = “White Plague”; PR = “Pigmentation Response”; WP/PR = “White Plague” e “Pigmentation Response”).</p> <p>Tarja cinza nas tabelas, destaca as colônias com alterações.....</p>	25
<p>Tabela 2 – Monitoramento mensal das vinte colônias de <i>S. stellata</i> na poça 2 nos recifes costeiros do Cabo Branco, João Pessoa – PB durante o período de outubro de 2011 a julho de 2012. (Sd = Sadia; BM = Branqueamento Moderado; WP = “White Plague”; PR = “Pigmentation Response”; WP/PR = “White Plague” e “Pigmentation Response”).</p> <p>Tarja cinza nas tabelas, destaca as colônias com alterações.....</p>	25
<p>Tabela 3 – Médias das variáveis ambientais obtidas da poça 1 nos recifes do Cabo Branco, João Pessoa – PB, durante o período de outubro de 2011 a julho de 2012. (IM= Índice Pluviométrico).....</p>	26
<p>Tabela 4 – Médias das variáveis ambientais obtidas da poça 2 nos recifes do Cabo Branco, João Pessoa – PB, durante o período de outubro de 2011 a julho de 2012. (IM= Índice pluviométrico).....</p>	27
<p>Tabela 5 – Respostas das colônias de <i>S. stellata</i> ao estresse de temperatura efetuado em laboratório. (Sd = condição sadia, BM= Branqueamento moderado; BF = Branqueamento forte. CHC = Critérios de cores e respectivas nomenclaturas segundo o “<i>Coral Health Chart</i>”).....</p>	31
<p>Quadro 1 - Quadro comparativo mostrando o aspecto das colônias de <i>S. stellata</i> nas condições sadia (A), branqueada (B), com a síndrome “pigmentation response” (C) e com doença semelhante a “white plague” (D), ao lado das suas respectivas lâminas histológicas, coradas em H&E. (aumento 40x).....</p>	38

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
1.1. Recifes de Corais e Relações Simbióticas.....	10
1.2. Eventos do Branqueamento e Doenças em Cnidários.....	11
2. OBJETIVOS.....	15
2.1. Objetivo Geral.....	15
2.2. Objetivos Específicos.....	15
3. METODOLOGIA.....	16
3.1. Espécie Estudada.....	16
3.2. Área de Estudo.....	17
3.3. Monitoramento do Evento de Branqueamento e Doenças em <i>S. Stellata</i>.....	18
3.4. Determinação das Densidades de Zooxantelas em Colônias de <i>S. Stellata</i>.....	20
3.5. Ensaios Laboratoriais de Indução do Branqueamento com Coral <i>S. stellata</i>.....	21
3.6. Análises Histológicas de Colônias de <i>S. stellata</i>.....	22
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
4.1. Monitoramento do Evento de Branqueamento e Doenças em <i>S. stellata</i>.....	24
4.2. Determinação das Densidades de Zooxantelas em Colônias de <i>S. stellata</i>.....	29
4.3. Ensaios Laboratoriais de Indução do Branqueamento com Coral <i>S. stellata</i>.....	30
4.4. Análises Histológicas das Colônias de <i>S. stellata</i>.....	34
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	40
6. REFERÊNCIAS.....	41

1. INTRODUÇÃO

1.1. Recifes de Corais e Relações Simbióticas

Os recifes de coral são as maiores e mais espetaculares estruturas feitas por organismos vivos. Segundo registros geológicos a existência dos recifes ocorreu muito antes do aparecimento de qualquer indivíduo da ordem Scleractinia, como por exemplo os recifes de estromatólitos, que foram edificados pela associação de cianobactérias e o sedimento areia (VERON, 2000). O aparecimento dos ancestrais dos scleractíneos atuais segundo registros fosseis encontrados na China e Escócia, ocorreu no Triássico Médio, a 247 milhões de anos atrás aproximadamente (VERON, 2000). Mas além dos corais, moluscos vermetídeos, hidróides calcários, esponjas e algas calcárias, também contribuem para edificação desse ecossistema marinho (ODUM; ODUM, 1955).

Os ambientes recifais são considerados um dos mais antigos e ricos ecossistemas da Terra (MCCONNAUGHEY, 2000). Sendo assim, sua importância ecológica, social e econômica é indiscutível. Numa escala global, os recifes concentram a maior biodiversidade de todos os ecossistemas, razão pela qual são referenciados como as florestas tropicais dos oceanos. Essa enorme diversidade de vida pode ser medida quando constatamos que uma em cada quatro espécies marinhas vive nos recifes, incluindo 65% das espécies de peixes, permitindo a muitas comunidades humanas que habitam a zona costeira terem suas economias baseadas nos recursos provenientes desses ambientes (MCCONNAUGHEY, 2000).

Os recifes de coral estão distribuídos predominantemente entre os trópicos de Capricórnio e de Câncer, e sua distribuição vertical está limitada a profundidades inferiores a 100m devido a associação simbiótica mutualística que os corais mantêm com os dinoflagelados endossimbiontes do gênero *Symbiodinium*, que são chamados de zooxantelas, sendo, portanto a luz um fator essencial para o crescimento e desenvolvimento desses ecossistemas (HOEGH-GULDBERG, 1999; VERON, 2000; CRABBE, 2008).

Um dos principais organismos responsáveis pela construção dos recifes são os corais, animais do Filo Cnidaria, pertencente a classe Anthozoa e da ordem Scleractinia, cuja principal característica desta ordem é a presença de esqueleto calcário formado pela deposição de CaCO_3 . De modo geral, os cnidários são caracterizados pela presença de

três camadas a epiderme e gastroderme, que são formadas por tecido epitelial, sendo ambas separadas por uma camada de tecido conjuntivo denominada mesogléia, que é composta por mucopolissacarídeos, colágeno e células ameboides (MUSCATINE, 1974).

No caso particular dos escleractínios, é no interior das células da gastroderme que se encontram as zooxantelas, mas esses dinoflagelados também fazem associação simbiótica com diversos outros organismos marinhos, a exemplo de protistas, hidróides calcários, gorgônias, esponjas, moluscos, entre outros. Sendo elas as principais responsáveis pela nutrição autotrófica de seus hospedeiros (MULLER-PARKER; D'ÉLIA, 1997; TRENCH, 1987, 1997).

A microssimbiose, em particular aquela que ocorre entre invertebrados bentônicos e as zooxantelas, é o mais importante tipo de simbiose encontrado nos ambientes recifais, porém, é sabido que outros microrganismos como cianobactérias, protistas (ex. diatomáceas), microcrustáceos, vermes, entre outros, também vivem em associação com invertebrados marinhos, contribuindo dessa forma com a elevada produtividade dos recifes (PIYAKARNCHANA et al., 1986; TRENCH, 1997; COSTA et al., 2001, 2004).

Veron (2000) aponta que, com o artifício da simbiose os corais podem existir em ambientes onde o índice nutricional seja praticamente nulo. Sendo os ecossistemas coralíneos responsáveis pelo enriquecimento nutricional destes ambientes, tornando-se verdadeiros “oásis” dos oceanos para as mais diversas espécies marinhas.

A quebra da interação simbiótica entre os cnidários e sua microbiota tem promovido a destabilização dos recifes de corais acarretando no surgimento de doenças, síndromes e o aparecimento do fenômeno do branqueamento registrado nos recifes de coral de todo o globo. Estes eventos por sua vez, em certas circunstâncias podem resultar na morte massiva de diversos invertebrados marinhos e desequilibrar todo o ecossistema recifal (GLYNN et al., 2001; HOEGH-GULDBERG et al., 2007).

1.2. Eventos do Branqueamento e Doenças em Cnidários

O fenômeno do branqueamento é caracterizado pela perda ou expulsão das zooxantelas e/ou de seus pigmentos fotossintetizantes do interior do tecido de seus hospedeiros. Durante estes eventos os cnidários tornam-se visivelmente pálidos, ficam propensos a doenças e infecções por parasitas, reduzem sua taxa de crescimento e reprodução, e o ecossistema recifal se torna frágil e vulnerável

A quebra da estabilidade simbiótica que as zooxantelas mantêm com seus hospedeiros e que é promovida pelos eventos de branqueamento, também altera a integridade das relações dos cnidários com outros microrganismos, levando assim à diminuição da imunidade do hospedeiro frente aos agentes estressores (GLYNN, 1993; COSTA et al., 2001; GLYNN et al., 2001).

Segundo a literatura, as principais causas que estão relacionadas com os eventos de branqueamento são o aumento ou redução brusca da temperatura superficial da água do mar, aumento ou redução da salinidade, aquecimento global, etc. (DESALVO et al., 2008). Porém, fatores advindos de estresses locais, principalmente de atividades antrópicas como poluição, uso de agrotóxicos, eutrofização na zona costeira, desmatamento, sedimentação decorrente da hidrodinâmica costeira e processos erosivos, também têm sido considerados responsáveis por esses eventos (PHILIPP; FABRICIUS, 2003). Mas é consenso geral que tais perturbações provocam sérias implicações à economia trófica desses ecossistemas e à produtividade marinha, (GLYNN et al., 2001; RICHARDSON; ARONSON, 2002).

Assim como o branqueamento, as doenças em diversos invertebrados bentônicos estão entre as principais causas da destruição dos recifes de coral, sendo motivo do aumento expressivo de publicações sobre esse assunto nas últimas décadas (HARVELL et al., 2007). Sabe-se que, as doenças em corais estão associadas a um complexo de organismos de diferentes filos, inclusive as bactérias. Por essa razão, inúmeras pesquisas tem sido conduzida no sentido de cultivar os microrganismos envolvidos na doença (patógenos). A doença da banda negra, por exemplo, tem sido descrita como provocada por um "consórcio" de microrganismos que gera um microambiente anóxico, rico em sulfeto, e que na maioria dos casos leva a morte do coral (ANTONIUS, 1988; RICHARDSON, 1998). Em contrapartida, o papel dos microrganismos na maioria das outras doenças de corais não tem sido totalmente elucidado, devido à dificuldade de se identificar os patógenos envolvidos.

O estudo de doenças de corais é um assunto particularmente confuso em decorrência da natureza polimicrobiana da maioria delas, de maneira que é praticamente impossível cumprir os postulados de Koch para muitas doenças que tem acometido os corais, conforme sugerido por diversos pesquisadores (RICHARDSON, 1998). Sutherland et al. (2004) e também Weil (2004), por exemplo, afirmaram que apenas sete dos vinte e dois tipos de doenças que acometem as espécies de corais do Caribe tiveram

seus patógenos identificados, no entanto o postulado de Koch foi cumprido em apenas três desses.

Muitos dos estudos voltados para elucidação das doenças em corais têm sido realizados principalmente através de técnicas tradicionais de cultura e sequenciamento dos microrganismos, inclusive no Brasil (p. ex., MOREIRA et al., 2014). Esses estudos têm demonstrado a presença de bactérias, vírus e fungos na microbiota de holobiontes doentes e saudáveis. No entanto, apesar de vários artigos recentes nortear esses aspectos, Amman et al. (1995) já haviam relatado que apenas de 0,01 a 1% dos microrganismos marinhos são cultiváveis; logo, levanta-se dúvida se os microrganismos que não são cultiváveis podem estar associados ao aparecimento das doenças e/ou síndrome em diversos cnidários.

Diante disto, Bythell et al. (2002) propuseram a análise da histologia dos tecidos doentes, associada ao emprego da técnica de fluorescência *in situ* e hibridação (FISH) para analisar a estrutura espacial da comunidade microbiana associadas a lesões de tecidos doentes, independente destes microrganismos serem ou não cultivados. Segundo estes autores e também Manz et al. (2000) e Ainsworth et al. (2007) e Mydlarz et al. (2013) a união de estudos histológicos com a técnica da fluorescência e hibridação *in situ* permitem a visualização espacial dos microrganismos patogênicos presentes nos tecidos lesionados e de microrganismos presentes nos tecidos saudáveis, a exemplo de zooxantelas e bactérias, e esses achados podem confirmar a presença da doença.

Recentemente foi descoberto que durante episódios de doenças os corais podem combater os patógenos invasores através de um conjunto de respostas autoimunes que tendem a diminuir ou retardar o crescimento dos patógenos e/ou retardar o crescimento do tecido lesionado. Dentre essas respostas estão incluídas inflamação celular e produção de melanina, surgimento de amebócitos circulantes e antioxidantes (células do sistema imunológico e que estão presentes na mesoglêia), ativação da peroxidase (PO), entre outras (MYDLARZ et al., 2008), refletindo, tais respostas, na plasticidade e na resiliência do hospedeiro para lidar com a mudança ambiental interna, e até mesmo com a possibilidade de evolução à resistência à doença a partir dessas respostas (MYDLARZ et al., 2008).

Na tentativa de se caracterizar precisamente as doenças que acometem os cnidários, pesquisadores de diversos países perceberam que uma única linha de investigação é insuficiente. Desta forma, estudos integrando diversas abordagens, tais como análises macroscópicas, microbiológicas, citológicas, histológicas e da

composição dos microssimbiontes associados a esses cnidários, com enfoques também nos estressores humanos que atuam nos recifes, têm sido cada vez mais enfatizados. Tais abordagens multicriteriais tornam-se necessários quando o interesse é estabelecer medidas de conservação dos recifes e devem ser cada vez mais incentivadas. Neste contexto, o uso de técnicas histológicas acoplada à potentes marcadores celulares aparece como mais uma ferramenta poderosa para elucidação das diversas doenças que vem acometendo os cnidários. Diante do exposto e com a finalidade de entender mais profundamente os eventos de branqueamento e o aparecimento de alterações teciduais em colônias do coral *Siderstarea stellata* dos recifes costeiros do Cabo Branco, João Pessoa – PB, este trabalho realizou o monitoramento em campo desses eventos, induziu em condições laboratoriais, o branqueamento em colônias de *S. stellata* e analisou aspectos da composição dos microssimbiontes e da histologia desse cnidário. Mostrando assim uma abordagem multicriterial para caracterização desses eventos.

2- OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Caracterizar mediante análise de múltiplos parâmetros o fenômeno do branqueamento e das doenças que acometem o coral *Siderastrea stellata* dos recifes costeiros do Cabo Branco, João Pessoa – PB.

2.2. Objetivos Específicos

- a)- Monitorar os recifes costeiros do Cabo Branco, João Pessoa – PB, quanto ao aparecimento e sazonalidade de branqueamento e doenças em exemplares do coral *Siderastrea stellata*;
- b)- Comparar a densidade populacional das zooxantelas das colônias de *S. stellata* saudas e branqueadas, coletadas nos recifes costeiros do Cabo Branco, João Pessoa - PB;
- c)- Realizar ensaios laboratoriais de indução do branqueamento e acompanhar a capacidade resiliente do coral *S. stellata*, coletado nos recifes costeiros do Cabo Branco, João Pessoa – PB;
- d)- Descrever mediante análises histológicas as alterações que ocorrem no tecido de colônias saudas, branqueadas e doentes do coral *S. stellata* coletado nos recifes costeiros do Cabo Branco, João Pessoa – PB.

3. METODOLOGIA

3.1. Espécie Estudada

A espécie de coral utilizada para o estudo foi *Siderastrea stellata* (VERRILL, 1868) (Fig. 1), que faz parte da Família Siderastreidae juntamente com os gêneros: *Pseudosiderastrea*, *Horastrea*, *Anomastrea*, *Psammocora* e *Coscinaraea*. Esta família possui representantes que datam desde o Cretáceo, caracteriza-se por formar colônias maciças ou laminares e raramente, são solitários. De acordo com Veron (2000), os gêneros *Psammocora* e *Coscinaraea* são encontrados no Indo Pacífico, porém, a distribuição dos demais gêneros e preferência por habitat ainda não são totalmente conhecidas.

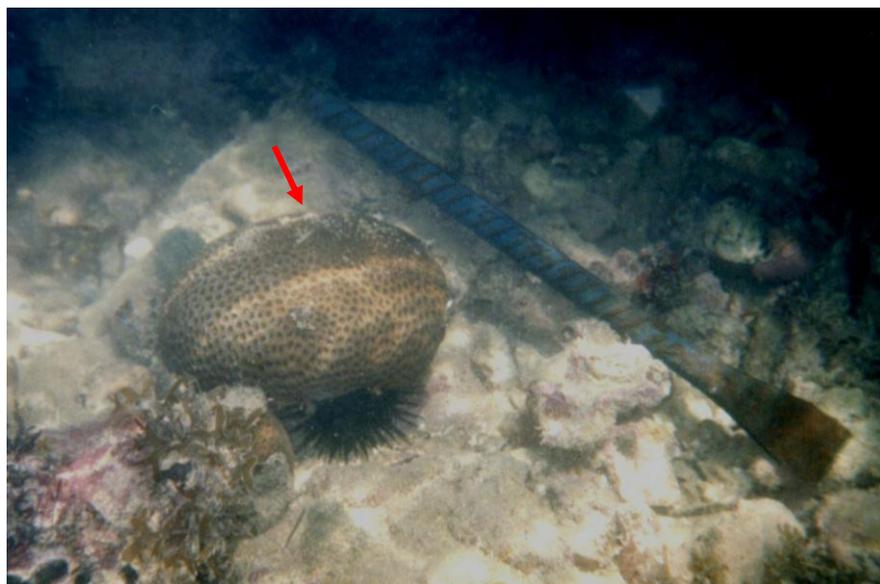


Figura 1- Colônia do coral *Siderastrea stellata*, nos recifes costeiros da Praia do Cabo Branco, João Pessoa (PB) (Fotografia: Ana Carolina Lubambo V. Brito).

O gênero *Siderastrea* (BLAINVILLE, 1830), apresenta pólipos pequenos de coloração marrom-violeta, rósea ou acizentada (VAUGHAN; WELLS, 1943). Veron (2000) aponta que, as colônias deste gênero possuem um formato esférico e incrustante, com coralitos ceriídes, arredondados ou poligonais, sendo composto por cinco espécies: *Siderastrea glynni*, *Siderastrea savignyana*, *Siderastrea siderea*, *Siderastrea radians* e *Siderastrea stellata*. Das cinco espécies, *S. siderea*, *S. radians* e *S. stellata* são encontradas no Atlântico, sendo as duas primeiras abundantes da região Caribenha,

enquanto que, *S. stellata* é endêmica para o Brasil (LABOREL, 1970; SANTOS et al., 2004). As demais espécies podem ser encontradas na Europa, África, América do Norte e Sul, Oeste da Índia, Mar Vermelho e Oeste do Indo Pacífico (WELLS, 1956).

A espécie *Siderastrea stellata* (VERRILL, 1868), apresenta colônias maciças e esféricas, possuindo semelhanças com espécies caribenhas, no entanto, apresentam cálices maiores, septos mais delicados e espaços interseptais mais largos do que as espécies caribenhas (LABOREL, 1970). Santos (2004) acrescenta que, *S. stellata* pode ter também um formato achatado, esférico e hemisférico, com diâmetros entre 10,25 mm a 84,14 mm. A espécie estudada é um coral comum das regiões rasas dos recifes brasileiros e é considerada como uma espécie muito resistente a variações na temperatura, salinidade e turbidez da água (LEÃO et al., 2003). Na área estudada é encontrada com frequência em águas muito rasas, incluindo poças de marés, sendo assim submetida a estresses fóticos e térmicos, a variação da maré, e ao soterramento.

Quanto aos aspectos reprodutivos, *S. stellata* é gonocórica, possui fertilização e incubação interna das larvas, apresenta ciclo reprodutivo anual e as desovas ocorrem no verão. Sabe-se, ainda, que esta espécie de coral libera plânulas e que os oocistos se desenvolvem dentro dos mesentérios férteis sem a presença de zooxantelas, sendo estas adquiridas via pólipos parenteral durante o estágio de desenvolvimento embrionário (NEVES; SILVEIRA, 2003). Segundo ainda esses autores, as plânulas de *S. stellata* são lecitotróficas, sobrevivendo durante os primeiros estágios larvais de suas próprias reservas, e dos produtos fotossintéticos de seus simbiontes.

A escolha de *S. stellata* como organismo de estudo nesta pesquisa deve-se ao fato de que ela apresenta uma grande plasticidade ecológica, tem uma grande adaptação às condições ambientais amplamente variáveis (COSTA et al., 2013) e existem registros de branqueamento e doenças acometendo esta espécie na área de estudo (AMORIM et al., 2011; COSTA SASSI et al., 2013).

3.2. Área de Estudo

Os recifes costeiros do Cabo Branco (Fig. 2), João Pessoa-PB, local selecionado para a realização desta pesquisa, estão situados no litoral sul da cidade, nas imediações das coordenadas (7°9'16"S, 34°47'35"W). Nesta área existe uma falésia ativa e um extenso terraço de abrasão marinha do tipo arenítico-ferruginoso (SASSI, 1987), que se forma na base da falésia e que são colonizadas por diversos organismos bênticos.

O local está sujeito a um intenso hidrodinamismo e apresenta significantes variações nas quantidades de material em suspensão, oxigenação intensa da água, e intenso processo de erosão e sedimentação, bem como é extremamente irregular no tocante ao substrato, propiciando uma vasta complexidade de habitat que favorecem a manutenção de uma elevada biodiversidade de organismos bentônicos, os quais revelam uma distribuição complexa e irregular dependendo das variações dos diferentes tipos de substratos da área (COSTA, 2006).



Figura 2- Vista geral da área de estudo, praia do Cabo Branco, João Pessoa – PB. (Fotografia: Carolina Rocha, 2009).

3.3. Monitoramento do Evento de Branqueamento e Doenças em *S. Stellata*

Para monitorar o aparecimento e sazonalidade de branqueamento e doenças em colônias de *S. stellata* foram selecionadas duas poças nos recifes costeiros do Cabo Branco, João Pessoa – PB, sendo ambas fotografadas e desenhadas esquematicamente. A Poça 1 possuía aproximadamente 2,0m de comprimento por 1,0m de largura, tinha profundidade de aproximadamente 15 cm, durante a maré baixa (0.0m) e situava-se a 150 m de distância da linha de costa, defronte ao Farol do Cabo Branco. A Poça 2 era menor que a primeira, possuía aproximadamente 1,5m de comprimento por 80,0cm de largura, sendo da mesma profundidade que a primeira, durante as marés baixas (0.0m). A distância entre uma poça e outra era de aproximadamente 100m.

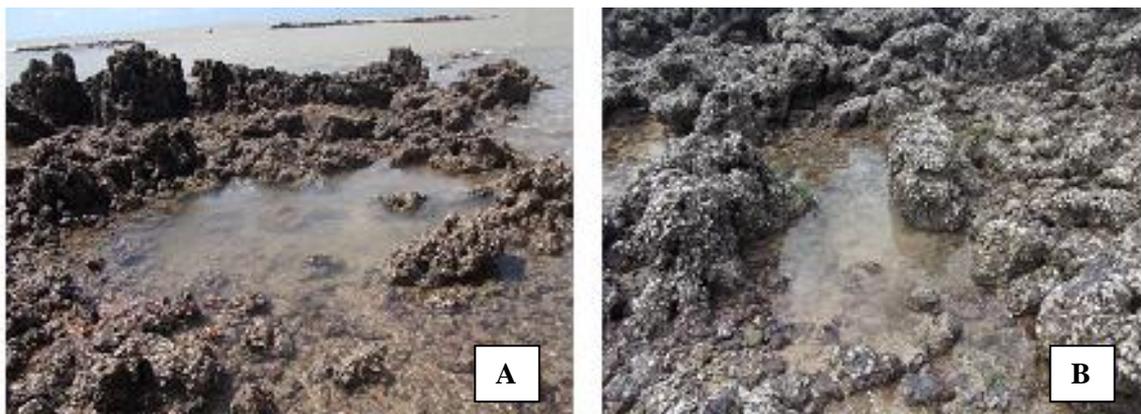


Figura 3- Poças de marés selecionadas para o monitoramento de 20 colônias de *S. stellata* nos recifes costeiros do Cabo Branco, João Pessoa – PB. Poça 1 (A) e Poça 2 (B).

Em ambas as poças foram selecionadas 20 colônias de *S. stellata*, cujas localizações das mesmas foram anotadas num mapa esquemático (Fig. 4), e os diâmetros máximo e mínimo de cada colônia foram anotados em prancheta de PVC.

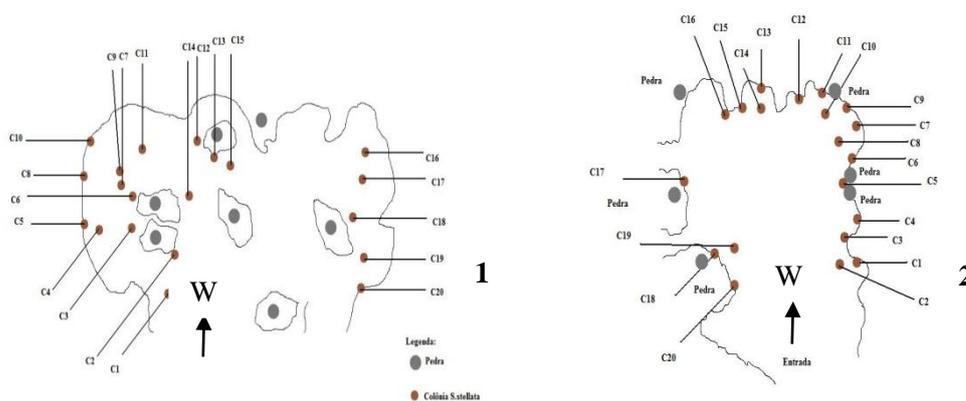


Figura 4- Mapas esquemáticos das poças 1 e 2 com o posicionamento de cada uma das 20 colônias dentro das poças monitoradas mensalmente (C1 a C20) nos recifes do cabo Branco, João Pessoa - PB.

Mensalmente durante o período de outubro de 2011 a julho de 2012 foi monitorado o aparecimento e sazonalidade de branqueamento nas colônias de *S. stellata* de ambas as poças utilizando a metodologia do “*Coral Health Chart*” (www.coralwatch.org) e as recomendações de Siebeck et al. (2006). Segundo esta metodologia cada tonalidade do cartão está relacionada com a concentração de zooxantelas presentes no tecido dos corais, ou seja, o cartão é constituído por quatro padrões de cores (B, C, D e E) as quais variam em uma escala de seis tonalidades,

sendo a escala **1** a mais próxima do branco e a **6** a tonalidade mais escura, representando a condição sadia da colônia (Fig. 5). Concomitantemente, colônias com sinais de alteração em seus tecidos (áreas branqueadas, roxas ou pálidas) foram fotografadas com uma câmera digital subaquática Finepix XP10 Fuji® para posteriores análises em laboratório.

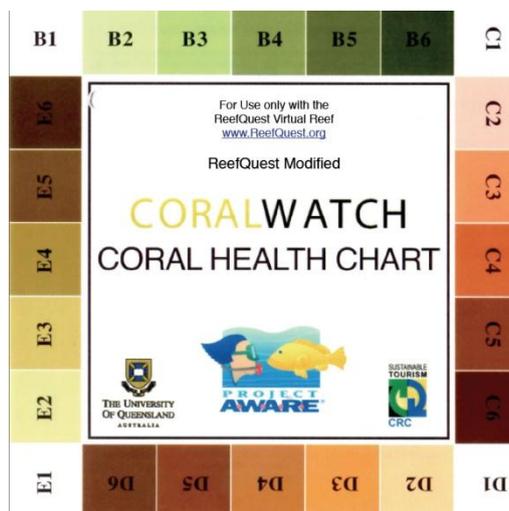


Figura 5- “Coral Health Chart”, utilizado no monitoramento das colônias de *Siderastrea stellata* dos recifes do Cabo Branco, João Pessoa – PB.

Simultaneamente ao monitoramento foi determinada a temperatura superficial da água das poças, utilizando um termômetro de reversão Watanabe Keiki Co. ($\pm 0,01^{\circ}\text{C}$), e a salinidade da água, utilizando um refratômetro portátil “American Optical” 10.419. Dados pluviométricos do período de estudo foram obtidos junto a Agência Executiva de Gestão das Águas do Estado da Paraíba, disponibilizado no endereço eletrônico: <http://www.aesa.pb.gov.br/>.

3.4. Determinação das Densidades de Zooxantelas em Colônias de *S. Stellata*

Durante o período de setembro de 2011 a janeiro de 2012 foram coletados mensalmente fragmentos (\varnothing 5cm) saudáveis com sinais de alteração em seus tecidos (áreas branqueadas, roxas ou pálidas) do coral *Siderastrea stellata* (n=2 para cada situação) dos recifes costeiros do Cabo Branco, utilizando martelo e ponteiros, acondicionadas individualmente em sacos de plásticos com água do mar do local de

coleta, e conduzidas em condição hermética para o Laboratório de Ambientes Recifais e Biotecnologia com Microalgas (LARBIM/UFPB).

No laboratório, os tecidos de cada fragmento foram removidos com água do mar filtrada, utilizando um jato de compressão a ar (Water Pik®), sendo o volume do homogeneizado registrado e fixado em Lugol a 10% para posteriores análises microscópicas da densidade populacional das zooxantelas, as quais foram realizadas mediante de contagens celulares, efetuadas em microscópio óptico (LEICA®) sob o aumento de 400x, utilizando uma câmara de Fuchs Rosenthal (n= 4 lâminas para cada exemplar).

Após a retirada dos tecidos os esqueletos foram submergidos em solução de hipoclorito de sódio a 2% por um período de 4 horas, para remoção completa da matéria orgânica, sendo em seguida secados em estufa a 70⁰C, para posteriores determinação da área de cada exemplar através da técnica da folha de alumínio (MARSHALL, 1970; COSTA et al., 2006).

3.5. Ensaios Laboratoriais de Indução do Branqueamento com Coral *S. stellata*

Em junho de 2012 foram coletadas oito colônias de *Siderastrea stellata* que haviam se recuperado de um branqueamento recente, utilizando martelo e ponteiras. As amostras foram acondicionadas em sacos de plástico com água do mar do local de coleta e levadas ao LARBIM/UFPB.

Em laboratório, as colônias foram distribuídas em dois aquários, sendo o aquário 1 com duas colônias e o aquário 2 com 6 colônias. As colônias foram mantidas nesses aquários com água do mar do local de coleta, sob aeração constante e em temperatura de 26°C, por um período de quatro dias de aclimação, para minimizar os estresses sofridos durante a coleta, seguindo as recomendações de Kuguru et al. (2007).

Após o período de aclimação os aquários, contendo as colônias foram colocados dentro de uma câmara incubadora microprocessada, termostaticada, dotada de sistema de iluminação fornecido por 16 lâmpadas fluorescentes tipo luz do dia de 40 W cada, com fotoperíodo ajustado para 12 horas claro/escuro (Fig. 6). Durante os experimentos a água dos aquários foi trocada por água do mar *in natura* recém-coletada, duas vezes por semana, provendo assim alimentação para os corais. Tal procedimento possibilitou também a manutenção da salinidade dos aquários entre 35 a 36 Psu.



Figura 6- Câmara incubadora microprocessada (A) contendo os aquários (B) utilizados nos experimentos de indução do branqueamento por elevação da temperatura, do coral *S. stellata* coletados nos recifes do Cabo Branco, João Pessoa – PB.

Dentro da incubadora, as colônias foram submetidas a elevação da temperatura da água na ordem de 1°C por dia, até atingir a temperatura de 37°C, sendo programado o retorno, também de 1°C por dia até a temperatura ambiente de 25°C. Em cada aumento de temperatura as colônias foram fotografadas e monitoradas quanto ao branqueamento utilizando o cartão do “*Coral Health Chart*” (Fig. 5) e as recomendações de Siebeck et al. (2006). Além disso, foram coletadas amostras de água dos aquários para avaliação da expulsão de zooxantelas em decorrência do aumento da temperatura. As determinações das densidades de zooxantelas nos aquários foram efetuadas num microscópio invertido Zeiss, utilizando câmaras de sedimentação de 2 ml, conforme procedimentos estabelecidos por *Utermhol* (1952).

3.6. Análises Histológicas de Colônias de *S. stellata*

Com a finalidade de aprofundar o entendimento dos eventos de branqueamento e doenças em corais da Paraíba, nos meses de agosto e setembro de 2014, maio e junho de 2015 foram coletados nos recifes costeiros do Cabo Branco, utilizando martelo e ponteiros, fragmentos (≈ 5 cm) do coral *Siderastrea stellata* nas condições saudável, branqueado, com a síndrome semelhante a “Pigmentation Response” e com a doença semelhante a “White Plague” (n= 3 para cada condição) (Fig. 7). Os fragmentos foram acondicionados individualmente em recipientes de vidro devidamente etiquetados,

contendo solução fixadora de formol a 4% preparado com água do mar, e transportados em condições herméticas (caixa de isopor) para o LARBIM/UFPB. Sendo, o horário em que as amostras foram fixadas, registrado em caderneta de campo.

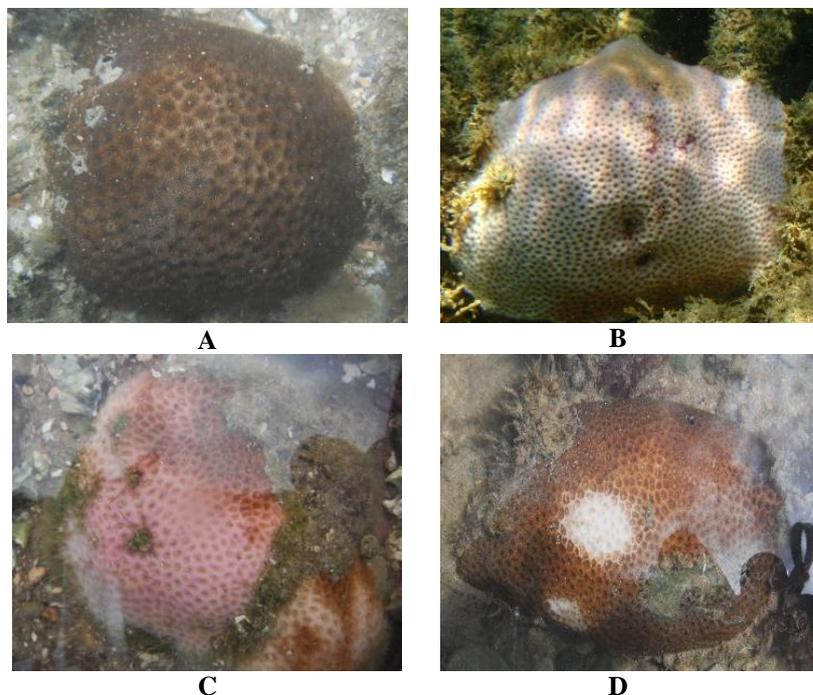


Figura 7 - Colônias de *Siderastrea stellata* coletadas dos recifes do Cabo Branco João Pessoa - PB. (A= colônia saudável; B= colônia branqueada; C= colônia com síndrome semelhante a “Pigmentation Response”, D= colônia com a doença semelhante a “White Plague”).

Em laboratório, após um período de 12 horas de fixação, as amostras dos corais sofreram lavagens contínuas com água. Em seguida, os fragmentos foram descalcificados em solução de formaldeído e ácido fórmico, seguindo a metodologia de Work; Aeby (2011). Após a descalcificação, as amostras foram desidratadas em uma série de solução de etanol, diafanizadas, embebidas em parafina, emblocadas, cortadas e coradas em H&E. Foram realizados cortes transversais e cortes longitudinais (5-7 μ m) de cada amostra, com até seis pólipos cada, utilizando um micrótomo rotativo manual (Modelo EK Micro).

As análises das lâminas histológicas das amostras saudáveis, branqueadas e doentes foram comparadas entre si e com a literatura especializada. Das lâminas histológicas preparadas, três lâminas (para cada condição) foram fotografadas em aumento de 400x, para a determinação da densidade populacional das zooxantelas, seguindo o método descrito em Palmer et al. (2012) com adaptações.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Monitoramento do Evento de Branqueamento e Doenças em *S. stellata*

Durante o período de monitoramento realizado nas duas poças selecionadas para estudo, foram observadas colônias de *Siderastrea stellata* nas condições sadia (Sd), branqueamento moderado (BM), manchas brancas e manchas roxas, sendo essas duas últimas semelhantes respectivamente à doença “White Plague” (WP) e a síndrome “Pigmentation Response” (PR) (Fig. 8).

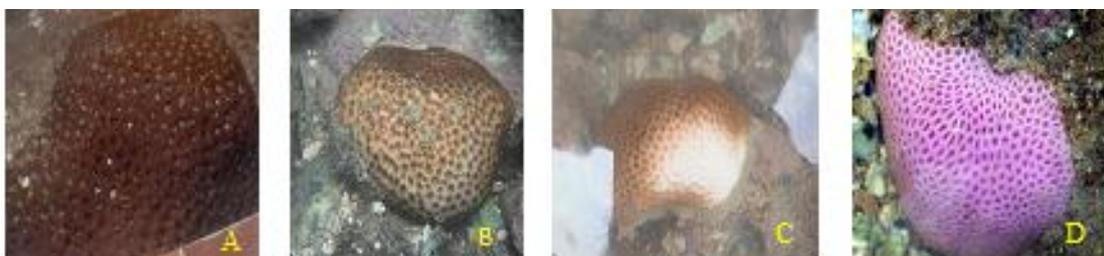


Figura 8- Alterações no padrão de coloração nas colônias de *S. stellata*, observadas durante o período de outubro de 2011 a julho de 2012, nos recifes do cabo Branco, João Pessoa – PB. (A= Sadia; B= Branqueamento Moderado; C= “White Plague”; D= “Pigmentation Response”).

Evidenciou-se que as alterações nas condições de saúde das 20 colônias selecionadas ocorreram, ao longo do período do monitoramento, de forma distinta entre as poças estudadas, o que denota influência do habitat no aparecimento de eventos de branqueamento e doenças (Tabela 1 e 2). Por exemplo, para a poça 1 o aparecimento de colônias branqueadas e/ou doentes ocorreu desde o início do monitoramento (outubro de 2011) até o final deste (julho de 2012) (tabela 1); porém na poça 2 esses eventos só foram registrados a partir de abril de 2012 (tabela 2).

C8	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	BM	Sd	Sd
C9	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd
C10	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd
C11	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	WP	Sd	Sd	Sd
C12	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd
C13	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd
C14	Sd	Sd	Sd	Sd	BM	BM	Sd	WP	WP	WP
C15	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd
C16	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd
C17	BM	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd
C18	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	BM	WP	WP	WP
C19	WP/PR	WP	WP	Sd	WP/PR	WP/PR	WP	Sd	WP	WP
C20	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd	Sd

As análises dos dados ambientais obtidos das duas poças selecionadas para estudos revelaram flutuações nesses parâmetros. Na poça 1 a salinidade variou de 34 psu a 39 psu, com os menores valores ocorrendo nos meses de fevereiro e março de 2012, e os maiores valores ocorrendo no período de maio a julho de 2012. A temperatura da superfície da água dentro da poça variou de 26,0⁰C a 31,7⁰C (Tabela 3). Na poça 2 a salinidade variou de 34 psu a 39 psu, com os menores valores ocorrendo no mês de setembro de 2011, e os maiores valores também ocorreram durante o período de maio a julho de 2012. A temperatura da superfície da água dentro desta poça variou de 26,0⁰C a 31,0⁰C (Tabela 4). O índice pluviométrico para a região de estudo teve o menor valor registrado no mês de dezembro de 2011 (8,4mm) e o maior valor no mês de julho de 2012 (540,7mm), conforme pode ser observado nas tabelas 3 e 4.

Tabela 3- Médias das variáveis ambientais obtidas da poça 1 nos recifes do Cabo Branco, João Pessoa – PB, durante o período de outubro de 2011 a julho de 2012. (IM= Índice Pluviométrico).

Data	Salinidade (psu)	Temperatura (°C)	IM (mm)
Out/11	36	31,0	9,0
Nov/11	36	26,4	44,9
Dez/11	35	29,0	8,4
Jan/12	38	28,8	186,2
Fev/12	34	29,0	141,9
Mar/12	34	29,3	71,0
Abr/12	38	31,7	46,6
Mai/12	39	29,6	216,5

Jun/12	39	30,0	540,7
Jul/12	39	29,5	290,5

Tabela 4- Médias das variáveis ambientais obtidas da poça 2 nos recifes do Cabo Branco, João Pessoa – PB, durante o período de outubro de 2011 a julho de 2012. (IM= Índice pluviométrico).

Data	Salinidade (psu)	Temperatura (°C)	IM (mm)
Set/11	34,0	30,8	32,4
Out/11	35,0	31,0	9,0
Nov/11	35,0	26,0	44,9
Dez/11	37,0	28,5	8,4
Jan/12	38,0	28,8	186,2
Fev/12	35,0	30,0	141,9
Mar/12	35,5	30,4	71,0
Abr/12	38,0	29,0	46,6
Mai/12	39,0	30,2	216,5
Jun/12	39,0	30,0	540,7
Jul/12	39,0	29,5	290,5

Os dados revelaram que em ambas as poças o percentual de colônias sadias diminuiu ao longo do período estudado, no entanto, nos meses onde ocorreram os maiores índices pluviométricos (tabela 3 e 4), foram registrados os maiores percentuais de colônias branqueadas e alteradas, sendo para poça 1 no mês de maio de 2012 (45% das colônias alteradas) e, para a poça 2 no mês junho de 2012 (25% das colônias alteradas) (Fig. 9).

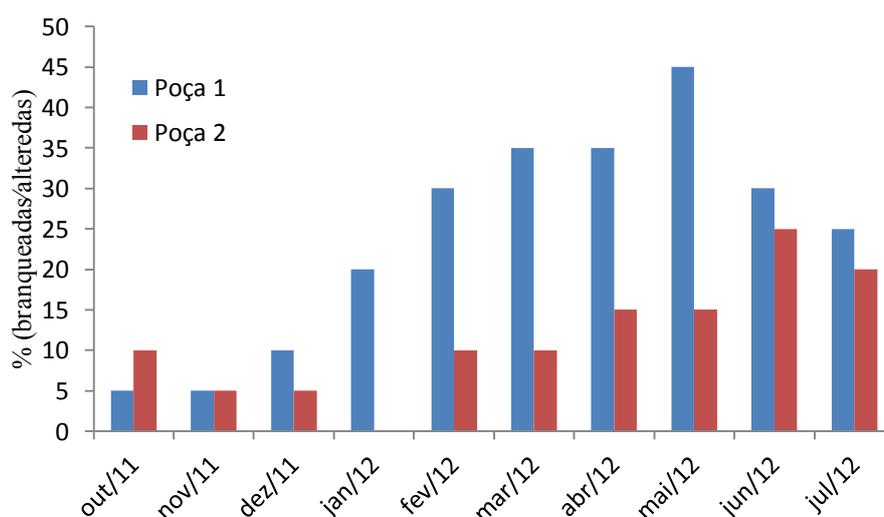


Figura 9- Percentual mensal das colônias branqueadas/alteradas de *S. stellata*, monitoradas nos recifes do Cabo Branco, João Pessoa – PB, durante o período de outubro de 2011 a julho de 2012.

Esses achados sugerem que a chegada das chuvas desestabiliza a relação que as zooxantelas mantêm com o seu hospedeiro diminuindo a sua resistência a fatores de estresse (COSTA et al., 2013; DESALVO et al., 2008). É possível que as condições que prevalecem nas poças de marés dos recifes do Cabo Branco, como as que foram monitoradas, ofereçam condições particulares de estresse que podem incluir, durante os períodos de exposição, elevações da temperatura e variações na salinidade, além de processos de sedimentação, por exemplo. Mas a chegada das chuvas, somada às condições térmicas das poças de marés nos recifes do Cabo Branco podem atuar sinergicamente desestabilizando as populações de zooxantelas no interior dos tecidos de *S. stellata*. A propósito, Sassi et al. (1987), constataram que a temperatura da água de poças de marés nesses recifes pode chegar até 43°C e a salinidade pode diminuir consideravelmente, chegando até 6 psu devido à infiltração de água doce oriunda do lençol freático na base da falésia. Costa (2006) trabalhando os mesmos recifes, já havia referido que o branqueamento na área não está necessariamente relacionado com o aumento da temperatura da água, como tem sido considerado nos trabalhos de Fitt et al. (2000) e Glynn et al. (2001).

O monitoramento das condições de saúde de cada colônia nas duas poças de marés selecionadas nesta pesquisa, demonstrou que mesmo submetidas a condições ambientais similares, o comportamento de cada colônia variou em cada poça (Fig. 10) indicando que cada colônia responde de forma diferente às pressões do meio no que concerne ao aparecimento de branqueamento e doenças. Tal observação sugere capacidades distintas de resistência, resiliência e aclimatação entre elas, inferindo-se que isso pode estar associado a respostas genéticas ou a capacidade intrínseca de cada colônia manter a estabilidade simbiótica com seus microssimbiontes, em particular com as zooxantelas.

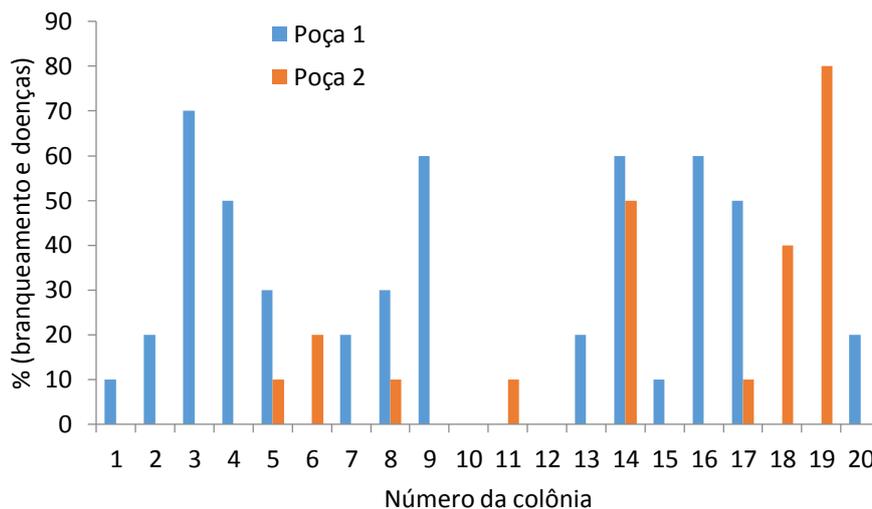


Figura 10- Frequência mensal de alterações nas colônias de *S. stellata* monitoradas nos recifes do Cabo Branco, João Pessoa – PB, quanto ao aparecimento de doenças e branqueamento durante o período de outubro de 2011 a julho de 2012.

4.2. Determinação das Densidades de Zooxantelas em Colônias de *S. stellata*

Os dados demonstraram que as colônias sadias de *S. stellata* possuem maiores densidades de zooxantelas em seus tecidos, em relação às colônias alteradas (Fig. 11). Foi constatado ainda, que colônias sadias possuem em média, percentualmente, cerca de 4 vezes mais zooxantelas em seus tecidos do que colônias alteradas (Fig. 12), sendo tal fato uma característica essencial para manutenção da condição de saúde das colônias de *S. stellata* frente a estresses ambientais ou antrópicos na região estudada.

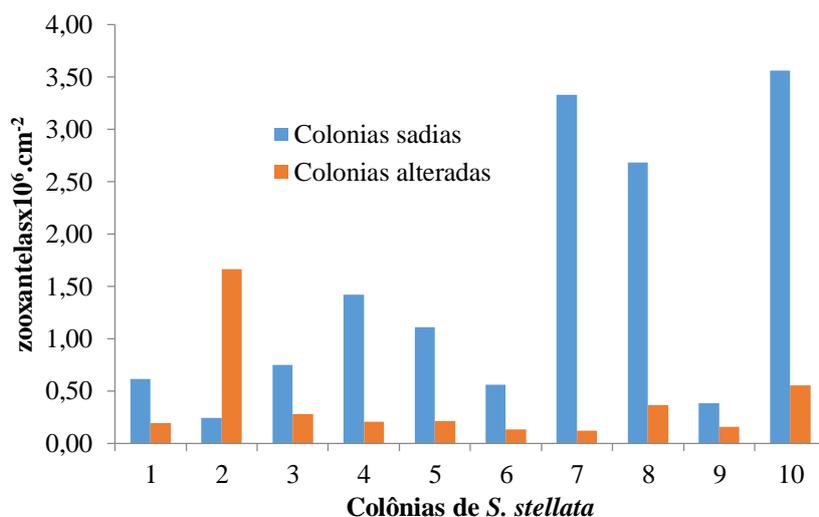


Figura 11- Densidade populacional de zooxantelas encontradas em fragmentos sadios e alterados de *S. stellata* coletados nos recifes do Cabo Branco, João Pessoa - PB.

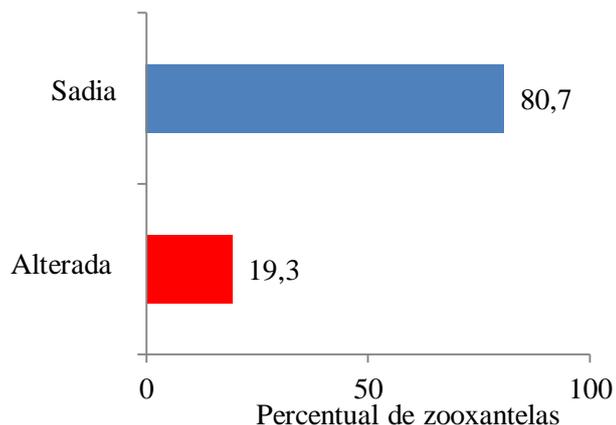


Figura 12- Dados percentuais médios das quantidades de zooxantelas em colônias de *S. stellata* sadias comparadas às branqueadas, coletadas nos recifes costeiros do Cabo Branco - PB.

Esses achados corroboram com as observações apontadas por Desalvo et al. (2008) em que, trabalhando com espécies de corais dos recifes da Costa Rica, evidenciou uma menor densidade populacional de zooxantelas simbiotes em corais branqueados e doentes, como também, perda dos pigmentos fotossintetizantes destes simbiotes. Tal evento, foi associado a variações da temperatura da água de superfície do mar, variações da salinidade, ao regime de chuvas e ações antrópicas.

4.3. Ensaios Laboratoriais de Indução do Branqueamento com Coral *S. stellata*

Os experimentos de estresse térmico para indução do branqueamento em colônias de *S. stellata*, permitiram evidenciar que com o aumento da temperatura da água todas as colônias passaram da condição sadia (critério C5, C6 do “*Coral Health Chart*”), para as condições de branqueamento moderado (C3, C4) na temperatura de 31°C e branqueamento forte (C2 e C1) a 35°C (Tabela 5).

Tabela 5 - Respostas das colônias de *S. stellata* ao estresse de temperatura efetuado em laboratório. (Sd = condição sadia, BM= Branqueamento moderado; BF = Branqueamento forte. CHC = Critérios de cores e respectivas nomenclaturas segundo o “*Coral Health Chart*”).

Temperatura	Aquário 1	CHC	Aquário 2	CHC
27	Sd	C5	Sd	C6
28	Sd	C5	Sd	C6
29	Sd	C5	Sd	C6
30	Sd	C5	Sd	C6
31	BM	C4	Sd	C5
32	BM	C3	BM	C4
33	BF	C2	BM	C3
34	BF	C2	BF	C2
35	BF	C1	BF	C1
36	BF	C1	BF	C1
37	BF	C1	BF	C1
36	BF	C1	BF	C1
35	BF	C1	BF	C1
34	BF	C1	BF	C1
33	BF	C1	BF	C1
32	BF	C1	BF	C1
31	BF	C1	BF	C1
30	BF	C1	BF	C1
29	BF	C2	BF	C2
28	BF	C2	BF	C2
27	BF	C2	BF	C2
26	BF	C2	BF	C2
25	BF	C2	BF	C2

Durante os experimentos, foi constatado rápidas alterações na coloração das colônias, de maneira que em 8 dias de aumento crescente da temperatura todas as colônias já estavam branqueadas. No entanto, a diminuição diária da temperatura para a condição inicial demonstrou uma velocidade muito lenta na recuperação das colônias, pois após 23 dias, quando a temperatura da água retornou a 25° C, as colônias ainda se achavam na condição de branqueamento forte (C2 e C1), denotando assim uma baixa capacidade de resiliência em condições extremas como a que foi empregada neste

estudo. Tais dados demonstram que *S. stellata* é de fato muito resistente a estresses dessa natureza, pois não houve morte em nenhuma das colônias testadas durante todo o experimento. Detalhes da sequência das respostas na alteração da cor das colônias, nas condições experimentais testadas podem ser visualizados na figura 13.

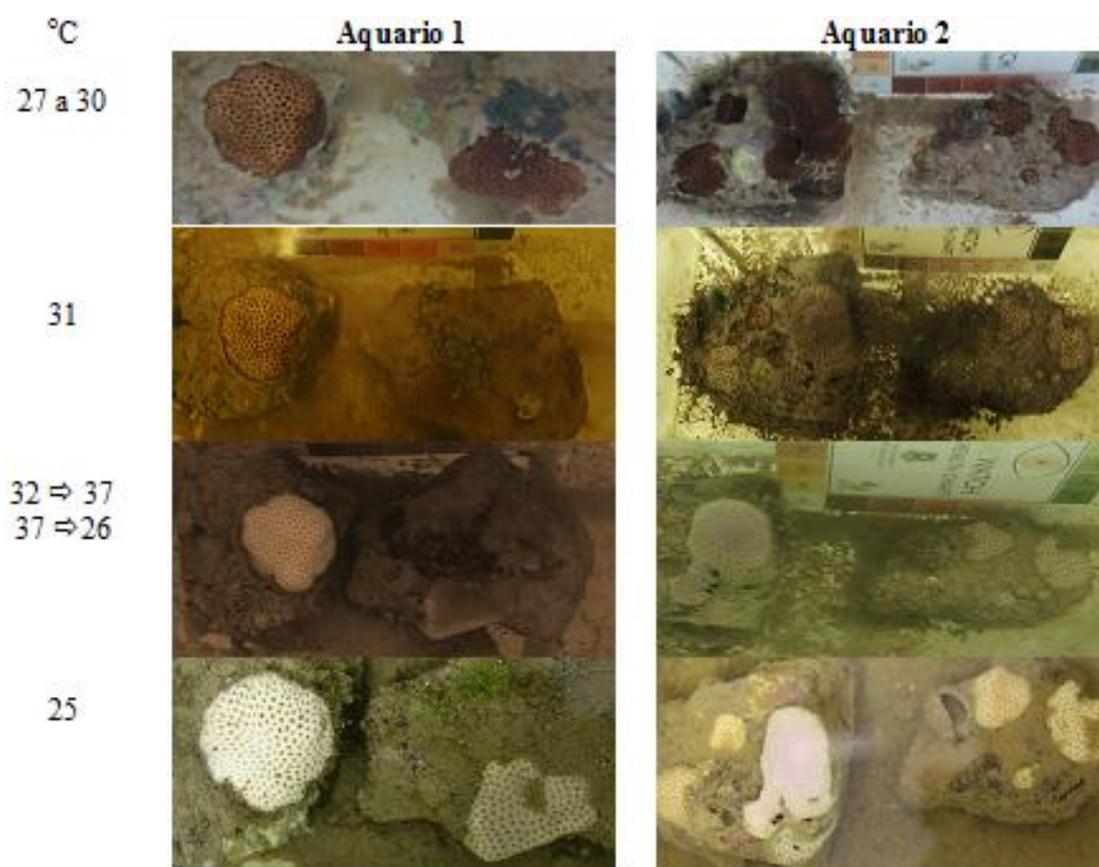


Figura 13- Alterações nas condições de saúde em *S. stellata* quando submetida a estresse crescente de temperatura até 37°C.

Ressalta-se, no entanto, que as condições laboratoriais não reproduzem o que acontece no campo, desse modo, esses dados devem ser interpretados com ressalva, pois durante o monitoramento dessa mesma espécie de coral, efetuado em poças de marés nos recifes do Cabo Branco, todas as colônias que sofreram branqueamento moderado e/ou forte, rapidamente retornavam à condição saudável, evidenciando uma grande capacidade de resiliência a perturbações ambientais.

Siderastrea stellata é considerada uma das espécies de corais mais resistentes (COSTA, 2006) o que lhe confere uma capacidade de colonizar habitats variáveis em recifes rasos, inclusive em poças de marés. Ela é uma das espécies de corais mais

conspícuas que ocorrem nos recifes costeiros da região nordeste, e possivelmente sua resistência esteja associada a presença de zooxantelas do Clado C (COSTA et al., 2006; LAJEUNESSE et al., 2003), que é reconhecidamente um dos mais resistentes (DESALVO et al., 2008).

As análises de zooxantelas expulsas pelo hospedeiro durante o experimento de estresse térmico demonstraram uma substancial perda de zooxantelas para a massa d'água até o terceiro dia de aumento da temperatura, quando esta atingiu 29°C reduzindo depois a taxa de expulsão a qual se manteve aproximadamente constante durante o restante do experimento (Fig. 14).

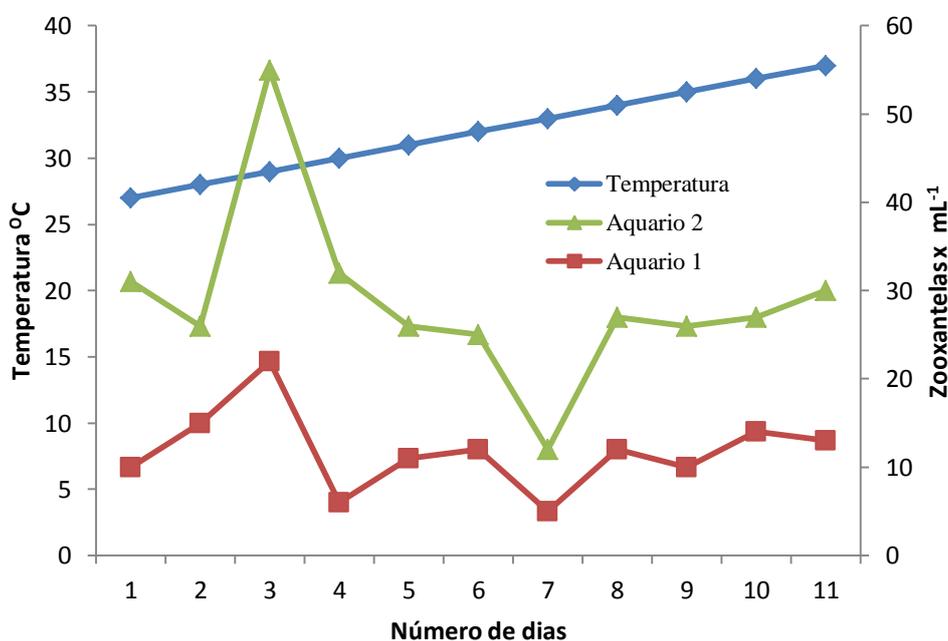


Figura 14- Quantidades de zooxantelas expulsas durante os ensaios laboratoriais de estresses térmicos com o coral *S. stellata*, coletado nos recifes do Cabo Branco.

A diminuição na taxa de expulsão das zooxantelas observada em todas as colônias, nos dois aquários testados, evidencia um esforço das colônias de *S. stellata* para manter uma população residual mínima de zooxantelas no interior da gastroderme, corroborando com os achados de Glynn et al. (2001) e Sunagawa et al. (2008) que consideram que durante eventos térmicos de branqueamento os corais branqueados mantêm um mínimo de simbionte em seus tecidos, possibilitando em seguida a recuperação das colônias afetadas por este evento.

4.4. Análises Histológicas das Colônias de *S. stellata*

Siderastrea stellata possui uma estrutura tecidual composta por dois epitélios do tipo Pseudo-estratificado Cilíndrico. Entre um epitélio e outro, existe uma fina camada de tecido conjuntivo que é a mesogléia. O epitélio externo corresponde a epiderme e é caracterizado por células colunares e justapostas com células caliciformes intercaladas; o segundo epitélio, camada mais interna, corresponde a gastroderme, onde estão localizadas as zooxantelas, células ameboides e outras estruturas (Fig. 15).



Fig. 15- Secção transversal (5µm) de tecidos saudios do coral *Siderastrea stellata*, coletado nos recifes do Cabo Branco, João Pessoa – PB (Ep= Epiderme; Ga= gastroderme; Zox= zooxantelas; Me= Mesogleia. 400x).

A técnica histológica e a coloração H&E empregada para as amostras dos corais se mostrou eficiente e permitiu visualizar tanto a organização das camadas teciduais como a organização dos pólipos com os septos primários e secundários e os filamentos mesentéricos que são estruturas responsáveis pela produção das células sexuais femininas e masculinas (Fig. 15 e 16).

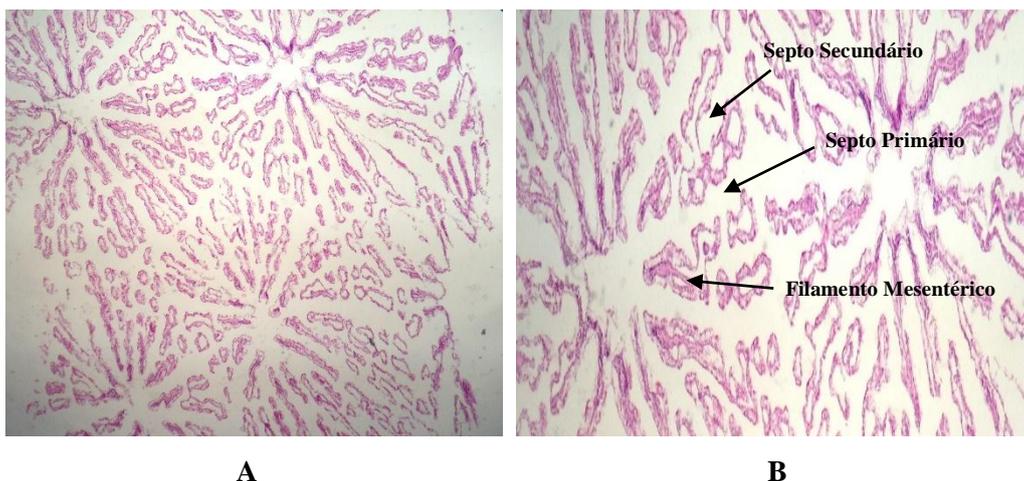


Fig. 16- Secção transversal (5µm) mostrando a organização dos pólipos, em colônias sadias de *Siderastrea stellata*, coletadas nos recifes de Cabo Branco. (A= organização geral dos pólipos do coral; B= detalhes das estruturas de um pólipos).

Também foi possível observar a presença de estruturas reprodutivas, a exemplo dos filamentos mesentéricos contendo oócitos com o núcleo e nucléolo (Fig. 17). Nas lâminas analisadas foram observados oócitos do I, II, III e V estágio. Oócitos do estágio I caracteriza-se pela presença do citoplasma denso, corado em róseo, com núcleo centralizado e com um nucléolo posicionado no centro do núcleo (Fig. 18A). Nos oócitos de estágio II, o núcleo ocupa metade da área da célula e o nucléolo está posicionado na periferia do núcleo (Fig. 18B). Oócitos de estágio III, geralmente estão se desprendendo da mesogléia, ocorre aumento do material citoplasmático e uma redução no tamanho do núcleo que está localizado na periferia da célula. Nesse estágio pode ou não ser observado o nucléolo (Fig. 18C). Finalmente, os oócitos de estágio V encontram-se totalmente desprendido da mesogléia, possui uma invaginação na periferia da membrana plasmática em forma de U, e o núcleo encontra-se na periferia juntamente com o nucléolo (Fig. 18D). Tais descrições estão de acordo com os achados de Shikina et al. (2012).

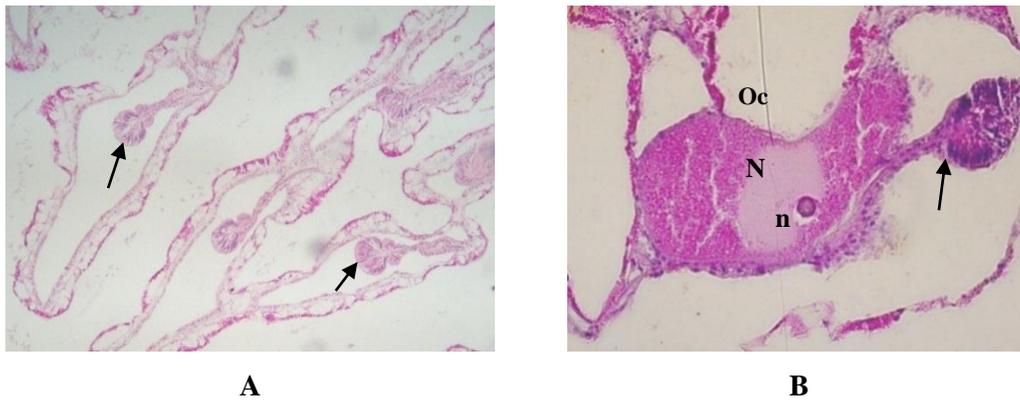


Figura 17 - Filamentos mesentéricos (A) e estruturas reprodutivas feminina (B), em tecidos do coral *S. stellata* coletado nos recifes do Cabo Branco, João Pessoa - PB. (Oc.=oócito; N=núcleo; n=nucléolo; setas pretas= Filamento mesentérico; em aumento de 400x).

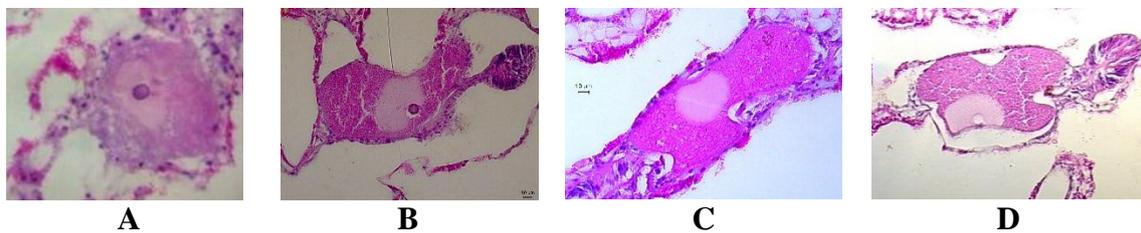


Figura 18 – Células reprodutivas femininas (oócitos) do coral *S. stellata*, em diferentes estágios de desenvolvimento. (A= oócitos em estágio I; B= ovócito em estágio II; C= oócito em estágio III e D= oócito em estágio V.

Comparando as amostras de tecidos saudáveis com as amostras de tecido branqueado, observou-se que nas amostras branqueadas a fina camada da mesoglêia torna-se volumosa, a epiderme reduz de espessura, a gastroderme apresenta-se completamente desestruturada, promovendo ruptura entre as camadas, saídas das zooxantelas, e uma deterioração por completo da organização das camadas teciduais (Fig. 19).

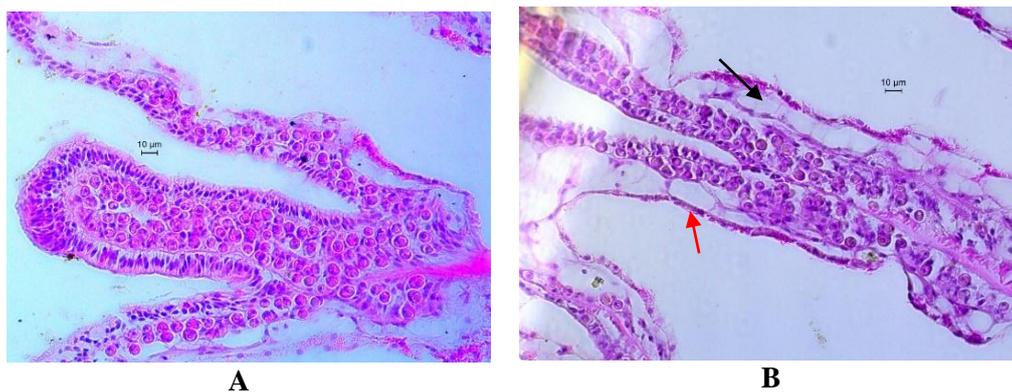
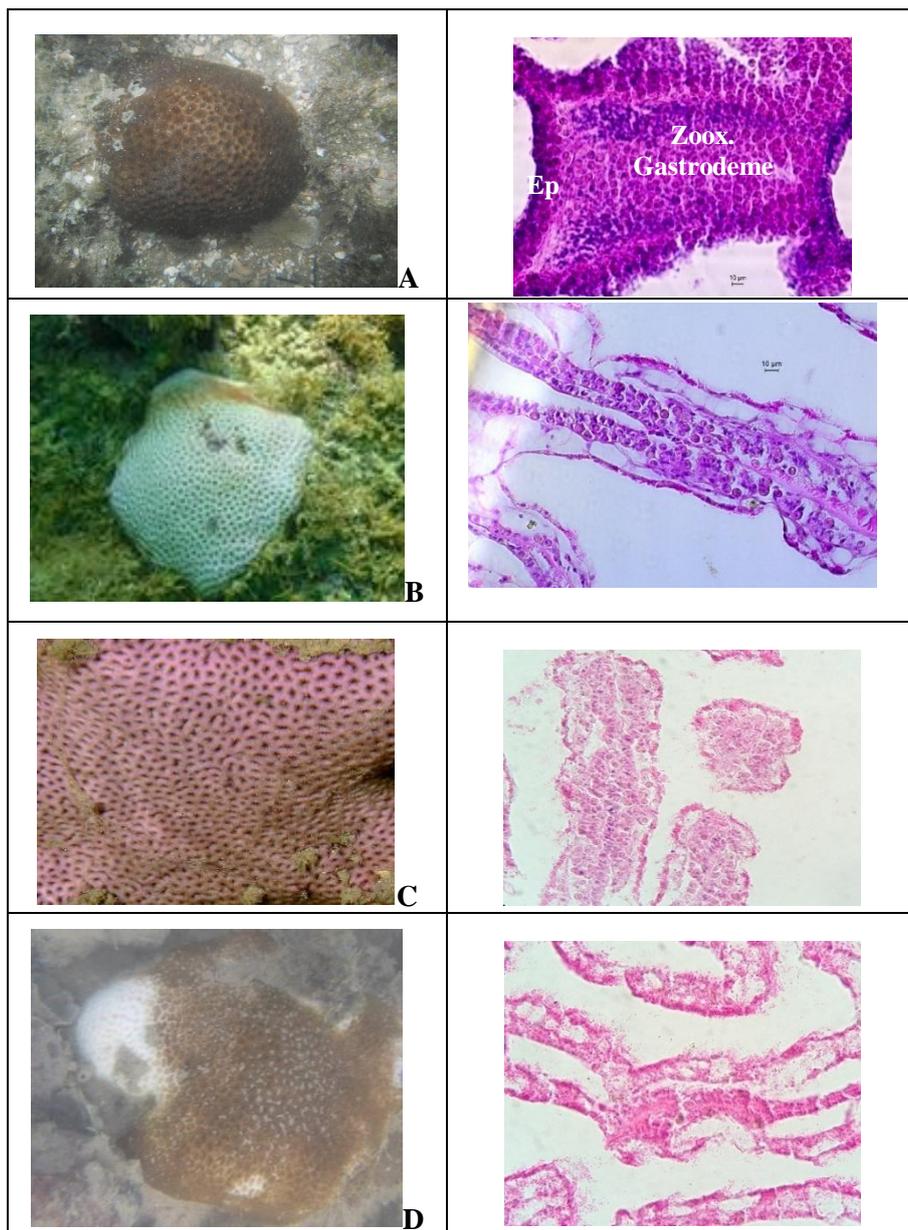


Figura 19 – Detalhes das camadas teciduais do coral *S. stellata*, coletado nos recifes do Cabo Branco. **A**= lâmina do coral sadio; **B**= lâmina do coral branqueado, evidenciando aumento da mesogleia (seta preta) e diminuição da espessura da epiderme (seta vermelha).

Um quadro comparativo mostrando as condições de saúde das colônias de *Siderastrea stellata* com os aspectos histológicos de seus tecidos, é apresentado. Neste, observa-se que as colônias sadias apresentam integridade em suas camadas teciduais e nas células representativas de cada camada (Quadro 1A.). Por outro lado, colônias branqueadas, com a síndrome “Pigmentation response” (caracterizada macroscopicamente pela coloração rósea), e colônias com a doença semelhante a “White plague” (caracterizada macroscopicamente pela presença de manchas brancas de formato circular, oblongo, piriforme e irregular, localizadas no centro ou em sua periferia), apresentam nítida desorganização de suas camadas teciduais, deterioração dos tecidos e redução da mesogléia (Quadro 1B-D). Esta camada, por sua vez, em alguns casos não foi identificada nas lâminas histológicas, porém para as amostras de colônias branqueadas, observa-se aumento no volume dessa camada.



Quadro 1 - Quadro comparativo mostrando o aspecto das colônias de *S. stellata* nas condições sadia (A), branqueada (B), com a síndrome “pigmentation response” (C) e com doença semelhante a “white plague” (D), ao lado das suas respectivas lâminas histológicas, coradas em H&E. (aumento 40x).

Tais dados confirmam que eventos de branqueamento e/ou doenças promovem destruição dos tecidos que podem levar à morte da área afetada pela lesão. Williams et al. (2011) referiram que das espécies de corais por eles estudadas e que apresentavam descoloração visíveis em seus tecidos, 72% apresentavam perda de tecido e 67% tinham evidências de necrose; Work; Aeby (2011) registraram que toda lesão é melhor

representada por sinais microscópicos, cujos os principais são necroses e fragmentação do tecido.

Conforme consta na literatura eventos de branqueamentos e doenças causam também implicações nos processos reprodutivos dos corais. Nas lâminas analisadas nessa pesquisa observou-se que maior frequência de oócitos no estágio III e V foram observados nas lâminas de colônias saudáveis, porém nas colônias branqueadas e doentes essas estruturas reprodutivas foram muito raras. Além disso, nessas amostras os oócitos estavam deteriorados, caracterizados pela ruptura da membrana plasmática, conteúdo citoplasmático deformado e as vezes ausência de núcleo e nucléolo (Fig. 20).

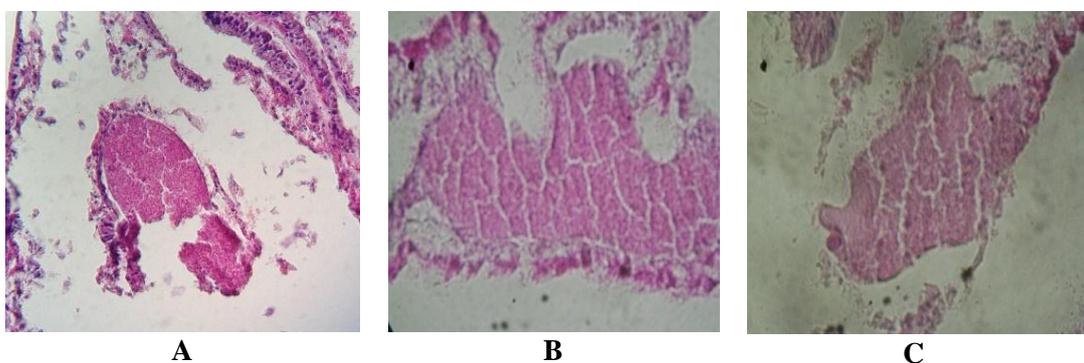


Figura 20 – Células reprodutivas femininas (ovócitos) do coral *S. stellata*, em degradação. (A-B) oócitos em estágio I degradado; (C) oócito em estágio III degradado.

Outra informação obtida com as análises histológicas das colônias de *S. stellata*, nas condições saudáveis, branqueadas e doentes, foi a influência negativa que esses eventos promovem na população de zooxantelas no interior dos tecidos das colônias. As análises das lâminas revelaram que o número médio de zooxantelas por $100\mu\text{m}^2$ da gastroderme dos corais coletados variou entre as condições de saúde estudadas. As maiores densidades das zooxantelas ocorreram nas colônias sadias ($6,14\pm 0,20$ células/ $100\mu\text{m}^2$) e as menores nas colônias branqueadas ($4,06\pm 0,18$ células/ $100\mu\text{m}^2$) e nas colônias com a doença semelhante a “White plague” ($0,08\pm 0,4$ células/ $100\mu\text{m}^2$) e com a síndrome semelhante a “Pigmentation response” ($3,2\pm 0,12$ células/ $100\mu\text{m}^2$). Tais dados corroboram os achados de Palmer et al. (2012) que analisando as espécies de corais *Acropora millepora* e *Porites* sp., encontraram grandes densidades de zooxantelas em tecidos sadios em relação aos tecidos pigmentados/doentes. Isso demonstra que mais uma vez a histologia pode ser uma ferramenta para se analisar a integridade da relação simbiótica que os corais mantêm com seus simbiossiontes.

Diante do exposto, conclui-se que somente mediante o uso de técnicas histológicas é possível observar a severidade das doenças no coral, visto que inspeções visuais de campo propiciam apenas observação da alteração na coloração da colônia, dando uma falsa impressão das reais condições das mesmas.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta pesquisa utilizou de abordagens multicriteriais para entender mais profundamente os eventos de branqueamento e o aparecimento de alterações teciduais em colônias do coral *Siderastrea stellata* dos recifes costeiros da Paraíba. Os dados obtidos evidenciaram que o coral *Siderastrea stellata* dos recifes do Cabo Branco vem sofrendo episódios recorrentes de branqueamentos e doenças, os quais são visualizados pelas alterações na coloração de seus tecidos e na densidade das zooxantelas simbiotes. Tais eventos foram relacionados com as alterações no regime de chuvas e elevação da temperatura superficial da água do mar, os quais em sinergia com os fatores abióticos das condições das poças de marés estudadas promoveram a desestabilização da relação simbiótica entre o coral e suas zooxantelas, favorecendo assim, o aparecimento de colônias branqueadas e alteradas. Experimentos laboratoriais de indução de branqueamento por estresse térmicos, também possibilitaram observar alterações na coloração dos tecidos e na densidade populacional das zooxantelas de *S. stellata*, no entanto apenas com o emprego de técnicas histológicas, foi possível compreender melhor a severidade dos eventos do branqueamento e doenças nas camadas teciduais e nos aspectos reprodutivos desse cnidário. Diante do exposto, esta pesquisa demonstrou que, para melhor compreender os eventos de branqueamento e doenças em corais, se faz necessário além das inspeções rotineiras de campo, realização de ensaios laboratoriais diversos, associar estudos mais aprofundados como por exemplo o emprego de técnicas histológicas, as quais fornecem a real severidade desses eventos.

6. REFERÊNCIAS

AINSWORTH, T. D.; KRAMASKY-WINTER, E.; LOYA, Y.; HOEGH-GULDBERG, O.; FINE, M. Coral Disease Diagnostics: What's between a Plague and a Band? **Appl. Environ. Microbiol.** v. (73), n. 3: p. 981-992, 2007.

AMANN, R. I.; LUDWIG, W.; SCHLEIFER, K. H. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. **Microbiol. Rev.**, v. (59): p.143-169, 1995.

AMORIM, T. P. DE L.; COSTA, C. F.; SASSI, R. Branqueamento e doenças em cnidários dos recifes costeiros de picãozinho, Nordeste do Brasil. **Tropical Oceanography**, Recife, v. (40), n. 1: p. 185-201, 2011.

AMORIM, T. P. L.; COSTA, C. F.; SASSI, R. Branqueamento e doenças em cnidários dos recifes costeiros de picãozinho, Nordeste do Brasil. **Tropical Oceanography**, v. (40), n. 1: p. 185-201, 2012.

ANTONIUS, A. Distribution and dynamics of coral diseases in the Eastern Red Sea. In: **Proceedings of 6th International Coral Reef Symposium Townsville**, Australia, v. (2): p. 293-298, 1988.

BYTHELL, C. J.; BARER, M. R.; COONEY, R. P.; GUEST, J. R.; O'DONNELL, A. G.; PANTOS, O.; LE TISSIER, M. D. A. Histopathological methods for the investigation of microbial communities associated with disease lesions in reef corals. **Letters in Applied Microbiology**, v. (34), n.5: p. 359–364, 2002.

COSTA, C. F.; SASSI, R.; AMARAL, F. D. Branqueamento em *Siderastrea stellata* (Cnidaria, Scleractinia) da Praia de Gaibú, Pernambuco, Brasil. **Rev. Nordestina de Biologia**, v. (15), n. 1: p. 15-22, 2001.

COSTA, C.F.; SASSI, R.; AMARAL, F.D. Population density and photosynthetic pigment content in symbiotic dinoflagellates in the Brazilian scleractinian coral

Montastrea cavernosa (Linnaeus, 1767). **Brazilian J Oceanography**, v.(52), n.2: p.1-7, 2004.

COSTA, C. F.; SASSI, R.; COSTA, M. A.; BRITO, A. C. L. Recifes costeiros da Paraíba, Brasil: usos, impactos e necessidades de manejo no contexto da sustentabilidade. **Gaia Scientia**. v. (1), n. 1: p.37-45, 2006.

COSTA, C. F.; SASSI, R.; GORLACH-LIRA, K. Diversity and seasonal fluctuations of microsymbionts associated with some scleractinian corals of the Picãozinho reefs of Paraíba State, Brazil **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, v. (8), n. 4: p. 240-252,2013.

CRABBE, M. J. A novel method for the transport and analysis of genetic material from polyps and zooxanthellae of scleractinian corals. **J Biochem Biophys Methods**, v. (57): p.171-176, 2008.

DESALVO, M. K.; VOOLSTRA, C. R.; SUNAGAWA, S.; SCHWARZ, J. A.; STILLMAN, J. H.; COFFROTH, M. A.; SZMANT, A. M.; MEDINA, M. Differential gene expression during thermal stress and bleaching in the Caribbean coral *Montastraea faveolata*. **Molecular ecology**, v. (17), n. 17: p. 3952-3971, 2008.

EAKIN, C. M.; MORGAN, J. A.; HERON, S. F. *et al.* Caribbean corals in crisis: record thermal stress, bleaching, and mortality in 2005. **PloS one**, v. (5), n. 11: p. 13969, 2010.

FITT, W. K. ; MCFARLAND, F. K. ; WARNER, M. E.; CHILCOAT, G. C. Seasonal patterns of tissue biomass and densities of symbiotic dinoflagellates in reef corals and relation to coral bleaching. **Limnology and oceanography**, v. (45), n. 3: p. 677-685, 2000.

GLYNN, P.W. Coral reef bleaching: ecological perspectives. **Coral Reefs**, v. (12): p.1-17, 1993.

GLYNN, P. W.; MATÉ, J. L.; BAKER, A.C.; CALDERON, M.O. Coral reef bleaching and mortality in Panama and Ecuador during the 1997-1998 EL Niño-Southern

oscillation event: spatial/temporal patterns and comparison with the 1982-1983 event. **Bull Mar Sci**, v. (69), n. 1: p.79-109, 2001.

GORDON, J.; KNOWLTON, N.; RELMAN, D. A.; ROHWER, F.; YOUL, M. Looking for a term for the functional entity formed by a macrobe and its associated symbiotic microbes and viruses? The term is “holobiont”. **American Society For Microbiology, versão On line**, 2014.

GRYGIER, M. J. Lauridae: taxonomy and morphology of Ascothoracid crustacean parasites of zoanths. **Bulletin of Marine Science**, v. (36), n. 2: p. 278-303, 1985.

HALPERN, B. S.; SELKOE, K. A; MICHELI, F.; KAPPEL, C. V. Evaluating and ranking the vulnerability of global marine ecosystems to anthropogenic threats. **Conservation biology: the journal of the Society for Conservation Biology**, v. (21), n. 5: p.1301-1315, 2007.

HARVELL, D.; MERKEL, S.; JORDAN-DAHLGREN, E.; ROSENBERG, E.; RAYMUNDO, L.; SMITH, G.; WEIL, E.; WILLIS, B. Coral disease, environmental drivers, and the balance between coral and microbial associates. **Oceanography**, v. (20): p.172–195, 2007.

HOEGH-GULDBERG, O. Climate change, coral bleaching and the future of the world’s coral reefs. **Marine and Freshwater Research**, v. (50), n. 8: p.839, 1999.

HOEGH-GULDBERG O, MUMBY PJ, HOOTEN AJ, STENECK RS, GREENFIELD P, et al. Coral reefs under rapid climate change and ocean acidification. **Science** 318: 1737–1742, 2007.

HUGHES, T. P.; BAIRD, A H.; BELLWOOD, D. R. et al. Climate change, human impacts, and the resilience of coral reefs. **Science (New York, N.Y.)**, (301)5635: p. 929-933, 2003.

LABOREL, J. Madréporaires et hydrocoralliaires récifaux des cotes brésiliennes: systématique, écologie, répartition verticale et géographique. **Masson**, 1970.

LAJEUNESSE, T. C.; LOH, W. K. W.; VAN WOESIK, R.; HOEGH-GULDBERG, O.; SCHMIDT, G. W.; FITT, W. K. Low symbiont diversity in southern Great Barrier Reef corals, relative to those of the Caribbean. **Limnology and Oceanography**, v. (48), n. 5: p. 2046-2054, 2003.

LEÃO, Z. M. A. N.; DOMINGUEZ, J. E. M. L. Tropical Coast of Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. (41): p.112-122, 2000.

LEÃO, Z.M.A.N.; KIKUCHI, R.K.P.; TESTA, V. Corals and coral reefs of Brazil. In: Cortes J. Ed., Latin American. **Coral Reefs**: p.9-53, 2003.

KUGURU, B.; WINTERS, G.; BEER, S.; SANTOS, S. R.; CHADWICK, N. E. Adaptation strategies of the corallimorpharian *Rhodactis rhodostoma* to irradiance and temperature. **Marine Biology**, v. (151), n. 4: p. 1287-1298, 2007.

MANZ, W.; ARP, G.; SCHUMANN-KINDEL, G.; SZEMZYKE, U.; REITNER, J. Widefield deconvolution epifluorescence microscopy combined with fluorescence *in situ* hybridisation reveals the spatial arrangement of bacteria in sponge tissue. **J. Microbiol. Methods**, v. (40): p.125-134, 2000.

MCCONNAUGHEY, T.A.; SMALL, A.M. Community and Environmental Influences on Reef Coral Calcification. **Limnology and Oceanography**, v. (45): p. 1667-1671, 2000.

MOBERG, F.; FOLKE, C. Ecological goods and services of coral reef ecosystems. **Ecological Economics**, v. (29): p.215–233, 1999.

MOREIRA, A. P. B.; TONON, L. A. C.; PEREIRA, C. V.; ALVES JR., N.; AMADO-FILHO, G. M.; FRANCINI-FILHO, R. B.; PARANHOS, R.; THOMPSON, F. L. Culturable heterotrophic bacteria associated with healthy and bleached scleractinian *Madracis decactis* and the Fireworm *Hermodice carunculata* from the Remote St. Peter and St. Paul Archipelago, Brazil. **Current Microbiology**, v. (68): p.38-46, 2014.

MULLER-PARKER, G.; D'ELIA, C. F. Interactions between corals and their symbiotic algae. In: Birkeland, C. (Ed.) **Life and death of coral reefs**, p.96-113, 1997.

MUSCATINE, L. Endosymbiosis of cnidarians and algae. In: Muscatine, L.; Lenhoff, H. M. (Eds.) **Coelenterate Biology. Reviews and new perspectives**, Academic Press, New York, p.359-389, 1974.

MYDLARZ, L. D.; HOLTHOUSE, S. F.; PETERS, E. C.; HARVELL, C. D. Cellular Responses in Sea Fan Corals: Granular Amoebocytes React to Pathogen and Climate Stressors. **PLoS 3**, v. (3): p.1811, 2008.

MYDLARZ, L.D.; WILLIS, B. L. Pigmented tissues of two scleractinian corals evidence of an inflammatory-like response in non-normally. **Proc. R. Soc. B**, v. (275): p.2687-2693, 2013.

NEVES, S. M. Erosão costeira no Estado da Paraíba. **Tese (Doutorado em Geologia) Curso de Pós-Graduação em Geologia**, Instituto de Geociências Universidade Federal da Bahia: p.130, 2003.

ODUM H.T.; ODUM E.P. Trophic structure and productivity of a windward coral reef community on Eniwetok Atoll. **Ecol Monogr**, v. (25): p.291-320, 1955.

PALMER, C.V.; BYTHELL, J. C.; WILLIS, B. L. Levels of immunity parameters underpin bleaching and disease susceptibility of reef corals. **The FASEB Journal**, v. (24): p.1-12, 2012.

PHILIPP E.; FABRICIUS, K. Photophysiological stress in scleractinian corals in response to short-term sedimentation. **J Exp Mar Biol Ecol**, v. (287): p.57-78, 2003.

PIYAKARNCHANA, T.; WISSESSANG, S.; PHOLPUNTHIN, P.; PHADUNG, Y.; RUNGSUPA, S. Dinoflagellates and diatoms on the surface of the seven species of corals from the Sichang Islands, the Gulf of Thailand. **Galaxea**, v. (5), n.1: p.123-128, 1986.

RICHARDSON, L. L. Coral diseases: what is really known?. **TREE**, v. (13) n. 11: p. 438-443, 1998.

RICHARDSON, L. L.; ARONSON, R. B. Infectious diseases of reef corals. **Proc. 9 th Int. Coral Reef Symp.** v. (2): p.1225-1230, 2002.

SANTOS, M. G.; AMARAL, F. D.; HERNANDEZ, M. M. I.; KNOWTON, N.; JARA, J. Variação morfológica de *Favia gravida* Verrill, 1868 e *Siderastrea stellata* Verrill, 1868 (Cnidaria, Scleractinia): Aspectos esqueléticos. **Bol Mus Nac Zool Rio de Janeiro.** v. (517): p. 1-9, 2004.

SASSI, R. Fitoplâncton da Formação Recifal da Ponta do Seixas (lat. 7o 9'16" S, Long. 34o 47, 35" W), Estado da Paraíba, Brasil: **composição, Ciclo Anual e alguns Aspectos Físio-Ecológicos.** São Paulo, 1987.

SHIKINA, S.; CHIEH-JHEN, C.; JHE-YU, L.; ZI-FAN, S.; YI-JOU, C.; YAN-HORN, L.; CHING-FONG, C. Germ cell development in the scleractinian coral *Euphyllia ancora* (Cnidaria, Anthozoa). **Plos one**, v.(7): p. 1-12, 2012.

SIEBECK, U. E.; MARSHALL, N. J.; KLÜTER, A.; HOEGH-GULDBERG, O. Monitoring coral bleaching using a colour reference card. **Coral Reefs**, v. (25), n. 3: p. 453-460, 2006.

SUTHERLAND, K. P.; PORTER, J. W.; TORRES, C. Disease and immunity in Caribbean and Indo-Pacific zooxanthellate corals. **Marine Ecology Progress Series**, v. (266): p. 273-302, 2004.

TRENCH, R. K. Dinoflagellates in non-parasitic symbioses. **The biology of dinoflagellates.** Blackwell, Oxford, p. 530-570, 1987.

TRENCH, R. K. Diversity of symbiotic dinoflagellates and the evolution of microalgal-invertebrate symbioses. In: **Proc 8th Int Coral Reef Symp**, p. 1275-1286, 1997.

VAUGHAN, T. W.; WELLS, J. W. Revision of the suborders families, and genera of the scleractinia. **Geological Society of America Special Papers**, v. (44): p. 1-394, 1943.

VERON, J. Corals of the World. **Australian Institute of Marine Science**, v. (1): p. 21-43, 2000.

WEIL, E.; G. SMITH; GIL-AGUDELO D.L. Status and progress in coral reef disease research. **Dis. Aquat. Org.**, v. (69): p.1-7. DOI: 10.3354/dao069001, 2004.

WELLS, J. W. Scleractinia. **Treatise on invertebrate paleontology**, p. 328-444, 1956.

WILLIAMS, G. J.; KNAPP, I. S.; AEBY, G. S.; DAVY, S. K. Spatial and temporal patterns of scleractinian coral, soft coral, and zoanthid disease on a remote, near-pristine coral reef (Palmyra Atoll, central Pacific). **Dis. Aquat. Org.**, v. (94), n. 2: p.89-100, 2011.

WORK, T. M.; AEBY, G. S. Pathology of tissue loss (white syndrome) in *Acropora* sp. Corals from the Central Pacific. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. (107): p. 127–131, 2011.