



**Universidade Federal do Sul da Bahia - UFSB**  
**Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia - IFBA**  
**Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologias Ambientais - PPGCTA**

Andressa Tavares Silva

**ESTUDO DA SENSIBILIDADE E TOLERÂNCIA AO AUMENTO DA  
CONCENTRAÇÃO DE NUTRIENTES EM LARVAS DE CORAIS**

Orientador: Prof Dr. Allison Gonçalves Silva

Coorientador: Profa Dra. Fabiana Cezar Félix Hackradt

PORTO SEGURO - BA

JULHO – 2019

Andressa Tavares Silva

**ESTUDO DA SENSIBILIDADE E TOLERÂNCIA AO AUMENTO DA  
CONCENTRAÇÃO DE NUTRIENTES EM LARVAS DE CORAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Sul da Bahia e Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Ciências e Tecnologias Ambientais para obtenção do Título de Mestre em Ciências e Tecnologias Ambientais.

Orientador: Prof Dr. Allison Gonçalves Silva

Coorientadora: Profa Dra. Fabiana Cezar Félix Hackradt

PORTO SEGURO - BA

JULHO – 2019

Dados internacionais de catalogação na publicação (CIP)  
Universidade Federal do Sul da Bahia – Sistema de Bibliotecas

S586e Silva, Andressa Tavares  
Estudo da sensibilidade e tolerância ao aumento da concentração de nutrientes em larvas de corais. / Andressa Tavares Silva. – Porto Seguro, 2019.  
65 p.

Orientador: Allison Gonçalves Silva; Fabiana Félix César Hackradt  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Sul da Bahia.  
Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologias Ambientais.

1. *Agaricia humilis*. 2. Ecossistemas Recifais. 3. Espécies Reativas de Oxigênio. 4. Defesas Antioxidantes. I. Silva, Allison Gonçalves. II. Hackradt, Fabiana Félix César. III. Título.

CDD: 593.6

**ESTUDO DA SENSIBILIDADE E TOLERÂNCIA AO AUMENTO DA  
CONCENTRAÇÃO DE NUTRIENTES EM LARVAS DE CORAIS**

**Comissão Julgadora**

---

**Dr<sup>a</sup>. Laura Fernandes de Barros Marangoni**  
**International University of Monaco**

---

**Prof. Dr. Marcus Luciano Souza de Ferreira Bandeira**  
**Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia**

---

**Prof. Dr. Silvio Tarou Sasaki**  
**Universidade Federal do Sul da Bahia**

30/04/2018

Local da Defesa: IFBA Porto Seguro BA

Dedico este trabalho a todos  
aqueles que contribuíram com  
sua realização

## Sumário

INTRODUÇÃO GERAL.....	1
REFERÊNCIAS.....	5
ARTIGO 1 – AVALIAÇÃO DE ANTIOXIDANTES NOS EFEITOS DE POLUENTES NO ESTRESSE OXIDATIVO EM CORAIS: UMA REVISÃO .....	11
Resumo.....	11
Introdução .....	11
Material e Métodos .....	13
Resultados e Discussão .....	13
Conclusão.....	21
Highlights.....	21
Referências.....	21
ARTIGO 2 – Impacto da poluição marinha na sobrevivência de larvas do coral <i>Agaricia humilis</i> Verrill, 1902 .....	30
1 Introdução .....	32
2 Material e Métodos .....	34
3 Resultados .....	38
4 Discussão .....	42
5 Conclusão.....	45
Agradecimentos .....	45
Referências.....	46
CONCLUSÃO GERAL.....	57

## Estudo da sensibilidade e tolerância ao aumento da concentração de nutrientes em larvas de corais

### RESUMO GERAL

Os corais são organismos sensíveis às mudanças climáticas. Aumento na temperatura e na concentração de nutrientes, efeitos de impacto local e global podem provocar diversas disfunções nestes animais, comprometendo todo o ecossistema recifal. O objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos do aumento de nutrientes e de temperatura em larvas de corais. Foi realizado um estudo bibliográfico a fim de observar as respostas à estressores ambientais em outros locais do mundo; em seguida analisou-se nitrato, nitrito, amônio, fosfato e clorofila a de amostras de águas de poças ao longo do recife de Coroa Vermelha e posterior simulação dos valores mínimo e máximo dos nutrientes encontrados nas poças em larvas do coral *Agaricia humilis* em diferentes temperaturas. Por fim foi realizada a análise de peroxidação lipídica a fim de buscar evidências de estresse oxidativo nas larvas. Observou-se que os nutrientes nitrogenados,  $46 \mu\text{mol L}^{-1}$ , para amônia e  $8,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ , para o nitrato, e a clorofila a apresentaram altos valores no período seco (verão), devido provavelmente ao aumento do aporte continental nesta época do ano, devido ao aumento do turismo na região. As larvas submetidas aos tratamentos na temperatura mais alta ( $32^\circ$ ) apresentaram as maiores taxas de mortalidade, cerca de 78% e as maiores taxas de estresse oxidativo ocorreram nas larvas sobreviventes que foram submetidas aos tratamentos de baixa temperatura e maiores concentrações de nutrientes. Os resultados apontados neste trabalho demonstram a importância do monitoramento de corais para avaliação dos efeitos de estressores ambientais nos recifes. Foi evidenciado que o aumento de temperatura nos oceanos pode aumentar as taxas de mortalidade nos corais, enquanto o aumento de nutrientes, ainda que em temperaturas mais brandas ( $26^\circ\text{C}$ ) pode provocar estresse oxidativo.

**Palavras-chave:** *Agaricia humilis*, ecossistemas recifais, espécies reativas de oxigênio, defesas antioxidantes, LPO, TBARS



## Study of the sensitivity and tolerance to the increase of nutrient concentration in coral larvae

### ABSTRACT

Corals are organisms that are sensitive to climate change. Increased temperature and nutrient concentration, effects of local and global impact can cause several dysfunctions in these animals, compromising the entire reef ecosystem. The objective of this work was to study the effects of nutrient and temperature increase on coral larvae. A bibliographic study was carried out to observe the responses to environmental stressors in other parts of the world; then nitrate, nitrite, ammonium, phosphate and chlorophyll a from pooled water samples along the Coroa Vermelha reef and later simulation of the minimum and maximum values of the nutrients found in the pools in larvae of the *Agaricia humilis* coral at different temperatures. Finally, the analysis of lipid peroxidation was carried out in order to search for evidence of oxidative stress in the larvae. It was observed that nitrogenous nutrients,  $46 \mu\text{mol L}^{-1}$ , for ammonia and  $8,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ , for nitrate, and chlorophyll presented high values in the dry season (summer), probably due to the increase in continental intake at this time of the year, due to the increase in tourism in the region. The larvae submitted to treatments at the highest temperature ( $32^\circ$ ) presented the highest mortality rates, about 78% and the highest rates of oxidative stress occurred in the surviving larvae that were submitted to low temperature treatments and higher nutrient concentrations. The results pointed out in this work demonstrate the importance of coral monitoring to evaluate the effects of environmental stressors on reefs. It has been shown that rising temperatures in the oceans can increase coral mortality rates, while increasing nutrients, even at milder temperatures ( $26^\circ \text{C}$ ), can lead to oxidative stress.

**Keywords:** *Agaricia humilis*, reef ecosystems, reactive oxygen species, antioxidant defenses, LPO, TBARS

## INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil possui o único complexo recifal do atlântico sul (MARANGONI *et al.* 2017), com pouca diversidade de espécies, porém com alto endemismo. Situado na região costeira dos estados da Bahia e do Espírito Santo, estão os bancos recifais conhecidos como Royal Charlotte e banco dos Abrolhos. Os bancos são alargamentos da plataforma continental, que se estendem da costa em direção ao mar por aproximadamente 200 km (ANDRÉS *et al.* 2018). A cidade de Porto Seguro abriga várias fisionomias da Mata Atlântica e seus ecossistemas associados, incluindo o marinho, sendo este um dos grandes atrativos que fazem do município um dos mais importantes destinos turísticos do país (COSTA *et al.* 2003). Esses ambientes, ao mesmo tempo em que representam uma das forças propulsoras do desenvolvimento do município, encontram-se pressionados pelo crescimento contínuo das atividades turísticas e outras formas de uso da terra e dos seus recursos hídricos (CAMPANILI e SCHAFFER, 2010). Assim, metodologias que identifiquem como os ambientes costeiros e recifais estão respondendo a presença e uso humano é fundamental para guiar ações e políticas públicas que visem garantir a conservação deste patrimônio e da sócio-economia que dele depende.

A zona costeira é uma região que está interligada tanto com o ambiente marinho bem como com o continente. Essa interligação permite que atividades desenvolvidas na porção continental do território causem impactos nos ecossistemas costeiros e recifais (CASTRO, 2016). Fernandes (2016) relata que a densidade demográfica média da zona costeira é de 87 habitantes/km<sup>2</sup>, cinco vezes superior à média nacional, de 17 habitantes/km<sup>2</sup>. Esse dado indica a importância de estudos de investigação dos efeitos dessas interações entre as zonas costeiras e recifais e os impactos em seus ecossistemas.

As maiores ameaças à biodiversidade marinha, principalmente costeira, são a destruição de habitats, a sobrepesca, a exploração dos recursos para consumo e a introdução de espécies exóticas (FERRIER-PAGÈS, 2011). O turismo desordenado tem se mostrado especialmente danoso nas regiões de recifes de corais e fundos calcários, enquanto que a poluição, principalmente por pesticidas, produtos químicos, rejeitos industriais e esgoto doméstico, constitui um forte agente de ameaça para a manutenção da biodiversidade marinha (MARQUES *et al.* 2017). Os recifes costeiros sofrem grande influência de bacias e microbacias hidrográficas e do material que é despejado nelas, como esgotos, fertilizantes, dentre outros (BRUNO *et al.* 2003; MEJDOUB *et al.*, 2017). Adicionalmente as zonas costeiras são ecossistemas sujeitos a intensas forças físicas como oscilação da maré, ondas produzidas pelo vento, variação de temperatura que frequentemente

produzem grande variabilidade na composição de comunidades biológicas, e na intensidade dos processos biogeoquímicos (COLES *et al.* 2015).

No litoral brasileiro estão presentes uma grande variedade de ecossistemas que incluem manguezais, recifes de corais, dunas, restingas, costões rochosos, estuários, marismas, que abrigam fauna e flora diversa (FERNANDES, 2016). A ocupação desordenada desses espaços vem colocando em risco tais ecossistemas.

Além dos impactos causados por atividades antropogênicas nas zonas costeiras, os recifes de corais são ameaçados ainda por diversos estressores inerentes às mudanças climáticas (CASTRO, 2016). Esses estressores podem ser agudos, quando são decorrentes de eventos de curta duração, como El niño, aumento de temperatura, doenças, tempestades, urbanização, entre outros (BACELAR, 1997). Já os estressores crônicos agem por um longo período, estando associados a degradação ambiental mais lenta, como diminuição de íons de carbonato e calcificação reduzida, entrada de nutrientes, sedimentação, mudanças na circulação atmosférica e oceânica (TOSIC *et al.* 2018). Os estressores podem ser de escala global, local ou regional. Impactos locais são aqueles que seus efeitos são observados a até 100 Km, regionais de 100 a 1000 Km e os globais têm implicações além de 1000 Km (BUDDEMEIER *et al.* 2004).

Os recifes de corais são um dos ecossistemas que mais sofrem com as consequências das mudanças climáticas. De fato, os corais são animais ectotérmicos, ou seja, a manutenção de sua temperatura corporal se dá através de mecanismos externos (NILSSON 2010). Aumentos de até 4°C podem levar ao seu branqueamento em semanas ou até mesmo dias (FONSECA *et al.* 2017).

Os corais dos recifes tropicais são em sua grande parte, corais construtores, da ordem *Scleractinia*. Estes animais são conhecidos como construtores, pétreos ou corais verdadeiros, pois sua grande característica é a síntese de um esqueleto calcário, em um processo denominado calcificação (ALLISON *et al.* 2018). Estes corais fazem simbiose com as zooxantelas, organismos unicelulares fotossintéticos de cor amarelada, acastanhada ou dourada. Existem corais que fazem outros tipos de simbiose, com zooclorelas ou cianelas, por exemplo (BACELAR, 1997). As zooxantelas provem carboidratos (glicerol e glicose), além de lipídeos e aminoácidos, para o coral. Esses cnidários são politróficos, já que obtêm energia tanto da autotrofia (com a simbiose com as zooxantelas) como da heterotrofia. A heterotrofia dos corais inclui a ingestão de bactérias, fitoplâncton e zooplâncton (MAJUMDAR *et al.* 2018).

A perda de simbiose entre as zooxantelas e os corais podem levar ao declínio dos recifes de corais, pois estes acabam ficando sem sua principal fonte de energia para suas atividades metabólicas primárias e secundárias, como a calcificação (BUDDEMEIER *et al.* 2004). Assim, a perda da zooxantela pelo coral pode implicar no declínio de suas taxas de calcificação, o que deixa

os corais suscetíveis à erosão, comprometendo não apenas todo o ecossistema recifal, mas também deixando a linha de costa mais desprotegida, interferindo na geomorfologia das zonas costeiras (FERRIER-PAGÈS, 2011). Além disso, ainda há a significativa perda de serviços ecossistêmicos, como os de suporte, que consiste na ciclagem de nutrientes, os de provimento, dos quais são obtidos alimentos e outros bens, entre outros serviços associados aos recifes de corais (CASTRO, 2016).

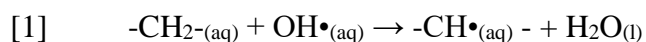
Diversos fatores estressores podem levar os corais a expulsarem seus hospedeiros naturais (zooxantelas), podendo ser destacados o aumento da temperatura dos oceanos, aumento descontrolado de nutrientes no ambiente marinho, diminuição na disponibilidade de íons de carbonato, dentre outros (MARANGONI *et al.*, 2017). Como são esses organismos unicelulares que possuem os pigmentos fotossintetizantes, ao saírem do coral, estes perdem sua cor característica, o que leva ao fenômeno conhecido como branqueamento (BUDDEMEIER *et al.*, 2004). Este fenômeno, é então uma resposta fisiológica dos corais frente aos estressores ambientais.

Os corais, assim como outros animais aeróbicos, usam o gás oxigênio para transformações metabólicas e produção de parte do ATP (Adenosina Trifosfato) (BACELAR, 1997). Contudo, o oxigênio é um importante agente oxidante, pois sua forma molecular diatômica apresenta dois elétrons desemparelhados em diferentes orbitais (SHRIVER *et al.*, 1994). O que lhe confere uma certa facilidade em oxidar componentes celulares essenciais, ou intermediários metabólicos utilizados em reações biossintéticas, ou aquelas nas quais resultam na calcificação dos corais, por exemplo (SOLOMONS, 2006). Além do oxigênio molecular, existem outros radicais derivados que também podem causar danos as células animais, tais como o superóxido, o hidroxil, o peroxil, o alcóxil, entre outros (LESSER, 2006). Estes radicais são conhecidos como espécies reativas de oxigênio, EROs (MARANGONI *et al.* 2017).

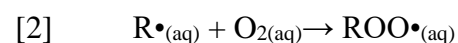
Os organismos contam então com defesas antioxidantes naturais para combater as EROs. Alguns mecanismos incluem agentes catalíticos, como enzimas peroxidase e a superóxido dismutase, SOD, que removem as EROs (LESSER, 2006). O conjunto desses mecanismos é a chamada capacidade antioxidante, no caso dos corais, quando as EROs ultrapassam a capacidade antioxidante, ocorre o branqueamento (CASTRO, 2016). Os estressores que levam à essa condição, portanto, são os térmicos e oxidativos.

Os corais, assim como os demais organismos celulares, possuem lipídeos e proteínas em suas membranas plasmáticas (NELSON, 2006). Estas bicamadas podem ser danificadas pelas EROs, o que é evidenciado pela peroxidação lipídica, LPO, que é a deteiorização oxidativa de lipídeos poli-insaturados (SOLOMONS, 2006).

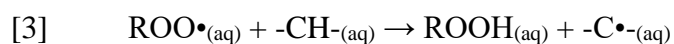
A lipoperoxidação, assim como toda reação envolvendo radicais, possui três etapas: a iniciação, a propagação e a terminação (SOLOMONS, 2006). A iniciação, nesse caso ocorre por ataque a um lipídio por ERO, como o hidroxil que é capaz de remover um hidrogênio do grupo metileno, conforme Equação 1 abaixo:



Em seguida, um novo radical é formado (-CH•-) e estabilizado através de um rearranjo molecular, de tal maneira que se forma um dieno conjugado (SOLOMONS, 2006). Em condições aeróbicas, este radical centrado em carbono se combina com o oxigênio levando a formação de radicais peroxil (ROO•) (LESSER, 2006), conforme representado na Equação 2. Neste caso o R remete à um radical genérico.



Os radicais peroxil são capazes de extrair um átomo de hidrogênio de outra molécula de lipídio, o que leva à propagação da LPO.



Por sua vez, o novo radical centrado em carbono poderá reagir com o oxigênio e formar novamente o radical peroxil e as reações em cadeia prosseguem (SHRIVER *et al.*, 1994; SOLOMONS, 2006). Quando o radical peroxil se combina com o átomo de hidrogênio que extraiu, ocorre a formação de um hidroperóxido (ROOH) (NESLON, 2006). A reatividade deste composto leva a fragmentação dos lipídios poli-insaturados, gerando produtos secundários como o 4-hidroxi-2-nonenal, malondialdeído (MDA) ou compostos contendo grupos carbonila UCHIYAMA e MIHARA, 1978). Inclusive, o MDA é um composto utilizado para quantificar o dano oxidativo em corais pela peroxidação lipídica (FONSECA *et al.*, 2017). Nesse caso, o MDA é detectado pelo ensaio TBARS (Thiobarbituric acid reactive substances) utilizando-se o ácido tiobarbitúrico (TBA) como reagente (UCHIYAMA e MIHARA, 1978). O MDA pode reagir com proteínas e com as bases do DNA, o que pode induzir a lesões mutagênicas e levar ao branqueamento (FONSECA *et al.*, 2017).

Assim, a toxicologia aquática é uma importante ferramenta para a determinação do estresse oxidativo sofrido por corais. Pode-se avaliar a toxicidade aguda (ensaios de até 96 h) ou crônica (ensaios mais longos a depender do tempo de vida do organismo) (ALLISON *et al.*, 2018). A grande vantagem de um ensaio que investiga a toxicidade aguda diz respeito à obtenção de respostas em um curto espaço de tempo, o que pode ser aplicado em organismos que tem um tempo curto de vida ou de fase do seu desenvolvimento (MARANGONI *et al.*, 2016). Como é o caso de alguns corais, que possui estágio larval com duração de 4 dias, passando a ser a partir daí um recruta, em seguida um juvenil, por fim, passando para a fase adulta (CASTRO, 2016). Dessa maneira, ensaios curtos podem significar economia de recursos para estudos ecotoxicológicos importantes para o entendimento dos efeitos das mudanças climáticas e dos estressores locais.

Em um determinado ensaio toxicológico pode ser investigado os efeitos da interação toxicológica, ou seja, das misturas dos estressores. Pode-se observar um efeito de adição, quando o efeito da mistura de dois agentes é igual à soma dos efeitos de cada um individualmente (MARANGONI *et al.*, 2016). Pode ser ressaltado também um efeito de potencialização quando um dos agentes só tem efeito quando combinado com outro. O efeito pode ser antagônico, quando há diminuição da ação toxica quando os agentes são combinados, e pode-se observar ainda um efeito sinérgico quando o efeito combinado de dois agentes é maior do que a soma dos efeitos individuais (HOFFMAN *et al.*, 2002).

Desta forma, o objetivo deste trabalho é analisar os efeitos de estressores locais e globais na toxicidade aguda de larvas do coral *Agaricia humilis* por meio de evidencia do estresse oxidativo pelo ensaio TBARS. Será discutido ainda os efeitos das misturas dos estressores, a fim de verificar se estes possuem o efeito de adição, de potencialização, antagônico ou sinérgico.

## REFERÊNCIAS

ALLISON, N.; COLE, C.; HINTZ, C.; HINTZ, K.; RAE, J.; FINCH, A. The effect of ocean acidification on tropical coral calcification: Insights from calcification fluid DIC chemistry. **Chemical Geology** 497, 162–169, 2018.

ANDRÉS, M De; BARRAGÁN, J. M.; SCHERER, M. Urban centres and coastal zone definition: Which area should we manage? **Land Use Policy** 71, 121-128, 2018.

BACELAR, A. J. de F. **Aquários marinhos de recifes de corais**. São Paulo: Nobel, 1997.

BRUNO, J. F.; PETES, L. E.; HARVELL, C., D.; HETTINGER, A. Nutrient enrichment can increase the severity of coral diseases. **Ecology Letters** 6, 1056-1061, 2003.

BUDDEMEIER, R. W.; KLEYPAS, J. A.; ARONSON, R. B. **Coral Reefs and Global Climate Change**. Potential contributions of climate change to stresses on coral reef ecosystems. Pew Center on Global Climate Change, 2004.

CAMPANILI, M; SCHAFFER, W, B. **Mata Atlântica: patrimônio nacional dos brasileiros** / Ministério do Meio Ambiente. Secretaria de Biodiversidade e Florestas. Núcleo Mata Atlântica e Pampa – Brasília: MMA, 2010.

CASTRO, C. B. Mudanças Climáticas. In: Gerling, C.; Ranieri, C.; Fernandes, L.; Gouveia, M. T. J.; Rocha, V. (Org.). **Manual de ecossistemas marinhos e costeiros para educadores**. 1ed. Santos: Editora Comunicar, 2016, v.1, p. 44-45

COLES, R. G.; RASHEED, M. A.; MCKENZIE, L. J.; GRECH, A.; YORK, P. H.; SHEAVES, M.; MCKENNA, S.; BRYANT, C. The Great Barrier Reef World Heritage Area seagrasses: Managing this iconic Australian ecosystem resource for the future. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 153, A1-A12, 2015.

COSTA, P. A. S.; BRAGA, A. da C.; ROCHA, L. O. F. Da. Reef fisheries in Porto Seguro, eastern Brazilian coast. **Fisheries Research** 60, 577-583, 2003.

FERNANDES, L. Ocupação da Zona Costeira. In: Gerling, C.; Ranieri, C.; Fernandes, L.; Gouveia, M.T. de J.; Rocha, V.. (Org.). **Manual de Ecossistemas Marinhos e Costeiros para Educadores**. 1ed.Santos - SP: Editora Comunnicar, 2016, v.1, p. 42-43.

FERRIER-PAGÈS, C.; HOOGENBOOM, M.; HOULBRÈQUE, F. The Role of Plankton in Coral Trophodynamics. In: DUBINSKY, Z.; STAMBLER, N. (Eds.). **Coral Reefs: an ecosystem in transition**. New York: Springer, 215-229, 2011.

FONSECA, J. da S.; MARANGONI, L. F. de B.; MARQUES, J. A.; BIANCHINI, A. Effects of increasing temperature alone and combined with copper exposure on biochemical and physiological parameters in the zooxanthellate scleractinian coral *Mussismilia harttii*. **Aquatic Toxicology**, 2017

HOFFMAN, D. J.; RATTNER, B. A.; BURTON JR, G. A.; LAVOIE, D. R. Ecotoxicology. In DERELANKO, M. J.; HOLLINGER, M. A. Handbook of Toxicology 2nd edition. Boca Raton: 2002.

LESSER, M. P. Oxidative stress in marine environments: biochemistry and physiological ecology. **Annual Review of Physiology** 68, 253-278, 2006.

MAJUMDAR, S. D.; HAZRA, S.; GIRI, S.; CHANDA, A.; GUPTA, K.; MUKHOPADHYAY, A.; ROY, S. D. Threats to coral reef diversity of Andaman Islands, India: A review. **Regional Studies in Marine Science** 24, 237–250, 2018.

MARANGONI, L. F. de B.; MARQUES, J. A.; BIANCHINI, A. **Fisiologia de corais: a simbiose coral-zooxantela, o fenômeno de branqueamento e o processo de calcificação**. In Conhecendo os recifes brasileiros: Rede de pesquisas Coral Vivo, Zilberberget al. Rio de Janeiro, Museu Nacional, UFRJ, 2016.



MARANGONI, L. F. de B.; MARQUES, J. A.; DUARTE, G. A. S.; PEREIRA, C. M.; CALDERON, E. N.; CASTRO, C. B. e; BIANCHINI, A. Copper effects on biomarkers associated with photosynthesis, oxidative status and calcification in the Brazilian coral *Mussismilia harttii* (Scleractinia, Mussidae). **Marine Environmental Research** 130, 248-257, 2017.

MARQUES, J. A; MARANGONI, L. F. de B.; BIANCHINI, A. Combined effects of seawater acidification and copper exposure on the symbiont-bearing foraminifer *Amphiste ginagibbosa*. **Coral Reefs** 36, 489–501, 2017.

MEJDOUB, Z.; FAHDE, A.; LOUFTI, M.; KABINE, M. Oxidative stress responses of the mussel *Mytilusgallo provincialis* exposed to emissary's pollution on coastal areas of Casablanca. **Ocean & Coastal Management** 136, 95-103, 2017.

NELSON, D. L., COX, M. M. Lehninger **Princípios de Bioquímica**. 4. ed. São Paulo: Sarvier, 2006

NILSSON, G. E.; OSTLUND-NILSSON, S.; MUNDAY, P. L. Effects of elevated temperature on coral reef fishes: Loss of hypoxia tolerance and inability to acclimate. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A** 156, 389–393, 2010.

SHRIVER, D. F.; ATKINS, P. W.; LANGFORD, C.H. **Inorganic Chemistry**. 2nd. ed. Oxford : Oxford University Press, 1994.

SOLOMONS, G. **Química Orgânica** 8 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2006.

TOSIC, M.; RESTREPO, J. D.; IZQUIERDO, A.; LONIN, S. An integrated approach for the assessment of land-based pollution loads in the coastal zone. **Estuarine, Coastal and Shelf Science** 211, 217-226, 2018.

UCHIYAMA, M., MIHARA, M. Determination of malonaldehyde precursor in the tissues by thiobarbituric acid test. **Analytical Biochemistry** 86, 271–278, 1978.

Este artigo está formatado segundo as normas da revista Marine Environmental Research  
Disponível no site: <https://www.journals.elsevier.com/marine-environmental-research>

# ARTIGO 1 – AVALIAÇÃO DE ANTIOXIDANTES NOS EFEITOS DE POLUENTES NO ESTRESSE OXIDATIVO EM CORAIS: UMA REVISÃO

## Resumo

Os recifes de corais estão diminuindo gradativamente devido à diversos fatores associados a mudanças climáticas, além de atividades antrópicas que também contribuem para os impactos nos ecossistemas recifais. O objetivo deste trabalho foi realizar um levantamento em diferentes bases de dados, sobre as respostas de enzimas antioxidantes aos poluentes no estresse oxidativo de corais. Para tanto, consultou-se diversas palavras-chaves, sendo realizada uma análise das publicações encontradas. Foram encontradas 29 publicações, indicando que os poluentes mais estudados são o cobre, o cádmio, o zinco, amônio e nitrato ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ ). O estresse oxidativo foi constatado em todos os trabalhos, através de análise de atividade enzimática. Dentre as respostas antioxidantes, as que ocorrem com mais frequência nos trabalhos são a catalase (CAT), a superóxido dismutase (SOD) e a peroxidação lipídica (LPO).

**Palavras-chaves:** ecossistemas recifais, espécies reativas de oxigênio, enzimas antioxidantes, SOD, CAT, LPO.

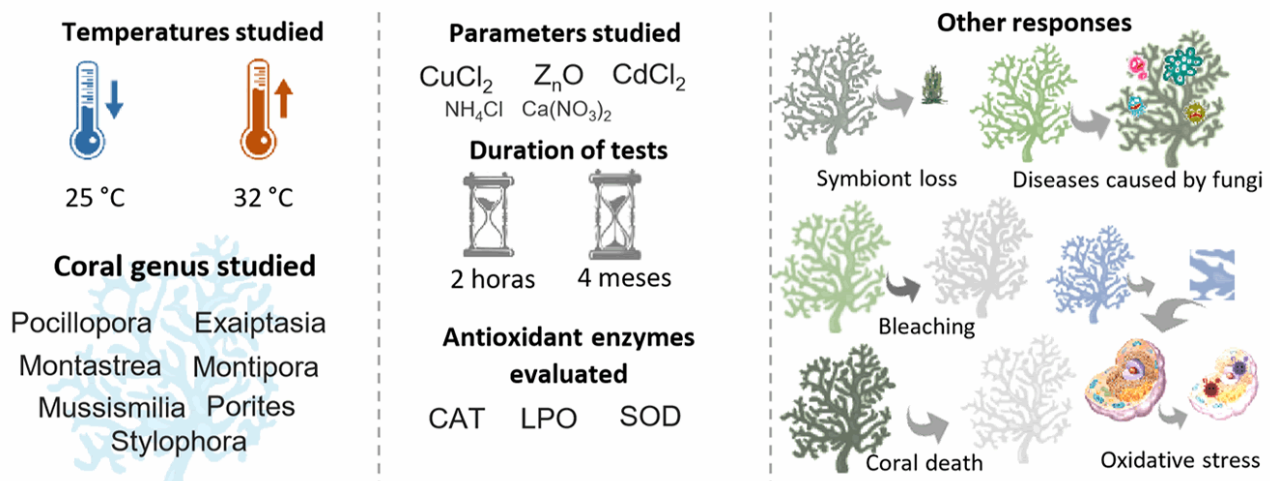


Figura 1: Graphical Abstract

## Introdução

Os ecossistemas coralíneos fornecem diversos serviços ecossistêmicos para a sociedade, sobretudo àquelas que se encontram nas zonas costeiras (OAKLEY et al., 2017). Estes ecossistemas albergam uma grande biodiversidade, incluindo espécies que são utilizados na alimentação humana (GARDNER et al., 2017). Pode-se destacar também que os recifes de coral protegem regiões costeiras da ação de ondas e tempestades, formando uma barreira que protege a linha de costa

(MUNIZ-ANGUIANO *et al.*, 2017). São ainda apreciados para lazer e turismo, além de fornecer substâncias aproveitadas pelas pesquisas farmacológicas, que visam a extração e o isolamento de compostos para teste de suas propriedades no tratamento de doenças e disfunções humanas. (CORREIA, 2005; MARANGONI *et al.*, 2016). Provedo dessa forma, serviços de regulação, de suporte, provisão e culturais (CASTRO, 2016).

Associados aos ecossistemas coralíneos estão ainda outros ambientes como bancos de gramas marinhas, manguezais, bancos de gorgônias, além de bancos de algas (FERRIER-PAGÈS, 2011). Um mesmo organismo pode passar fases de sua vida em mais de um ambiente destes, como alguns filhotes de peixes que podem viver enquanto larvas nos manguezais, passando a viver sua vida adulta no entorno dos recifes (HOFFMAN *et al.*, 2002).

Apesar de toda sua importância, infelizmente os recifes de corais sofrem ameaças pelo uso descontrolado de seus recursos, como pesca desenfreada, turismo descontrolado, poluição, mudanças climáticas de escala global (GEGNER *et al.* 2017).

Os estressores globais e até mesmo locais podem levar a diversas disfunções nos organismos dos corais, comprometendo inicialmente seu metabolismo secundário, como as taxas de calcificação de seu esqueleto, passando a interferir no seu metabolismo primário, causando a expulsão dos seus hospedeiros naturais, as zooxantelas, levando-o a condição conhecida como branqueamento (STOCKER *et al.* 2010).

A perda da simbiose entre os corais e as zooxantelas pode ser observada antes mesmo do fenômeno do branqueamento (WEIS, 2008). Para entender como isso é possível, faz-se necessário primeiro compreender o que ocorre na fisiologia do coral que permite a expulsão do seu hospedeiro. Esta condição é consequência, principalmente do estresse oxidativo (FONSECA *et al.*, 2017). Os estressores de diferentes escalas podem levar ao aumento descontrolado das zooxantelas dentro do coral, que por sua vez, não consegue mais suprir as demandas para seus simbioses, o que leva à interrupção da fotossíntese das zooxantelas (GRIFFIN, 2006). Neste ponto, essas microalgas passam a produzir espécies reativas de oxigênio, EROs, que são substâncias danosas aos corais, uma vez que são radicais que se ligam às bicamadas lipídicas, proteínas e bases do DNA desses animais (LESSER, 2006). Essas EROs aumentam em proporção à exposição dos corais aos estressores ambientais, chegando a ultrapassar a capacidade antioxidante, que é uma defesa natural, dos corais (FONSECA *et al.* 2017). Isso leva esses cnidários à expulsarem a fonte de EROs, ou seja, as zooxantelas. Consequentemente esses corais perdem os pigmentos fotossintetizantes de seus simbioses, passando a exibir a coloração branca típica de seu esqueleto (CASTRO, 2016).

Assim, antes desta última ação, os corais já apresentam danos em suas bicamadas lipídicas, condição verificada através da peroxidação lipídica, LPO; apresentam também danos no DNA, além do aumento da atividade de enzimas antioxidantes, diminuindo sua capacidade antioxidante. Todos esses efeitos podem ser verificados em ensaios laboratoriais, para verificar o estresse oxidativo sofrido pelos corais antes mesmo do seu branqueamento.

Desta maneira, este trabalho visa reunir as informações sobre os estudos já feitos, o a fim de dar suporte ao estudo sobre os impactos globais e locais no estresse oxidativo de corais.

## **Material e Métodos**

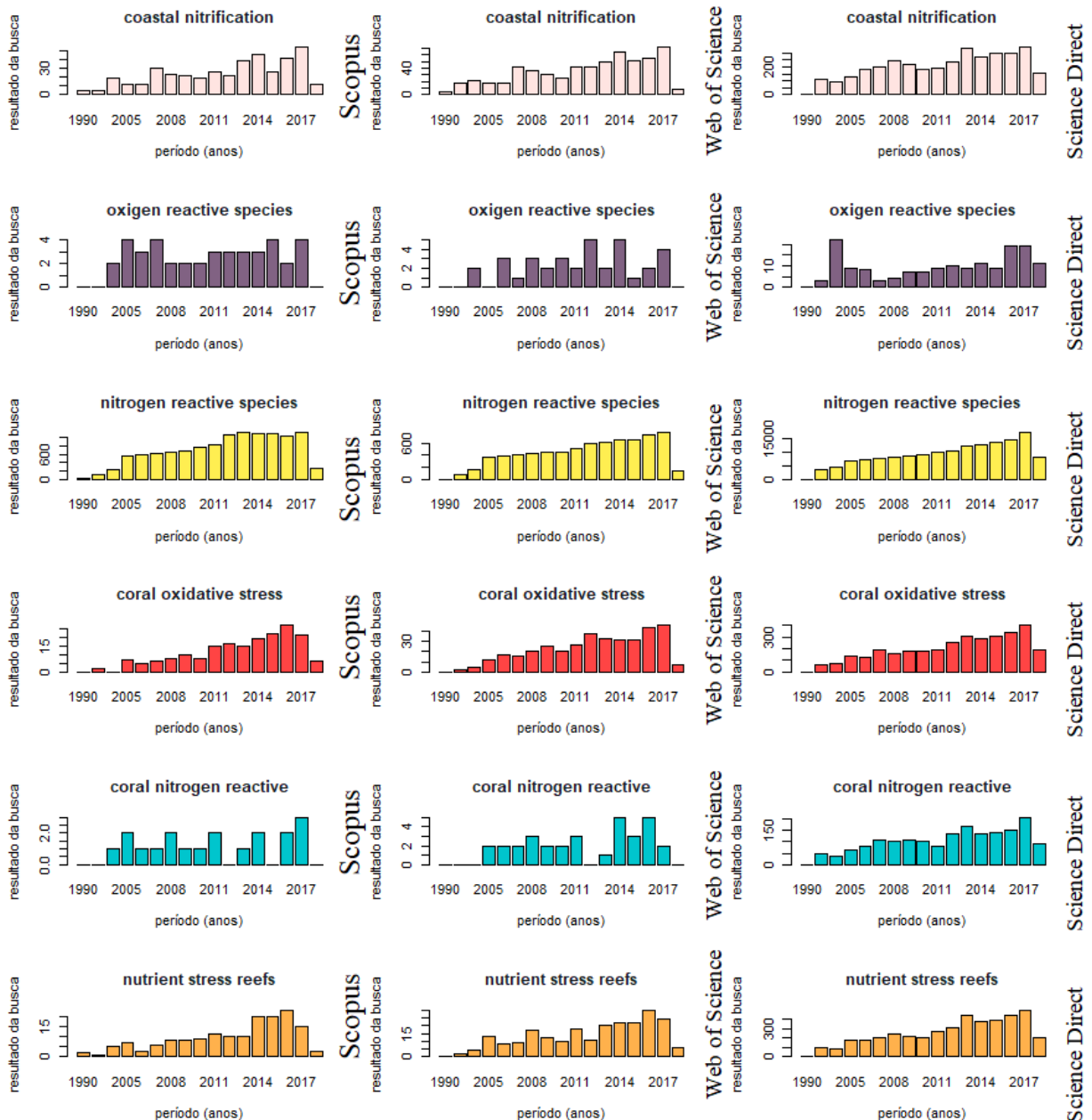
Este estudo foi conduzido a partir de uma busca da literatura disponível nas bases de dados Science Direct, Web of Science e Scopus, entre julho de 2017 e setembro de 2018. Foram utilizadas as seguintes palavras-chaves na busca, e ocasionalmente, a combinação entre elas: “coastal nitrification”, “oxygen reactive species”, “nitrogen reactive species”, “nutrient stress reefs”, “coral oxidative stress”.

A partir dos resultados encontrados, foi necessário correlacionar as palavras chaves com os conteúdos dos artigos e assim verificar sua relevância no estudo de nutrientes em ambientes recifais e seus impactos no estresse oxidativo em corais. Para isso, foram seguidos os seguintes critérios: a) excluíram-se os trabalhos que não continham as palavras-chave por completo ou que não tratavam de estudos com poluentes e estresse oxidativo em corais; b) apenas respostas antioxidantes foram consideradas, deixando-se de fora taxas de mortalidade, calcificação, estudos genéticos.

Em seguida, as informações foram organizadas seguindo-se a seguinte sequência: a) qual a abordagem dos estudos em relação ao estresse oxidativo nos corais? b) quais espécies de corais foram utilizadas nos ensaios? c) onde os experimentos foram conduzidos? d) que estressor foi estudado? e) qual a concentração do estressor? f) quais são as respostas antioxidantes?

## **Resultados e Discussão**

As buscas das palavras-chave renderam milhares de retorno, foi separado os resultados por ano e base de dados, para verificar melhor o número de publicações, conforme ilustrado na Imagem 1:



**Figura 2:** Resultados das buscas nas bases de dados

A base Science Direct foi a que apresentou mais resultados em todas as buscas realizadas. De todos os trabalhos encontrados apenas 29 faziam menção ao estresse oxidativo e respostas antioxidantes. Os estudos foram organizados e prosseguiu-se o recorte da abordagem realizada para compreensão do estudo do estresse oxidativo em corais.

a) qual a abordagem dos estudos em relação ao estresse oxidativo nos corais?

## ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO

Diversos organismos utilizam o gás oxigênio em seus processos metabólicos. Esse oxigênio pode sofrer reduções parciais, devido a sua configuração eletrônica de pares de elétrons disponíveis, o

que leva à formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) (MARANGONI *et al.* 2017). Estas espécies tanto podem exercer um papel benéfico como não, de acordo com suas concentrações. Com a produção contínua de EROs, os organismos passam a desenvolver mecanismos protetores, chamados “capacidade antioxidante” que neutralizam os efeitos adversos das EROs (ZHOU, 2018). Contudo, perturbações ambientais diversas, como poluição, incremento de nutrientes em ambientes recifais, dentre outros, podem aumentar a taxa de produção de EROs substancialmente, excedendo a capacidade antioxidante do organismo, o que o leva à condição de estresse oxidativo (GRIFFIN, 2006). Esta condição causa danos oxidativos às biomoléculas, como lipídios, proteínas e ácidos nucléicos, induzindo a efeitos deletérios e alterando a estrutura e/ou função dessas biomoléculas (LESSER, 2006).

O estresse oxidativo em corais está associado a seu branqueamento. Este fenômeno é caracterizado por diminuição de pigmentos fotossintetizantes em decorrência da disfunção da simbiose coral-zooxantelas. O estresse é uma resposta às perturbações ambientais. Durante o estresse oxidativo, ocorre uma aceleração no metabolismo das zooxantelas associadas aos corais, nestas condições, as zooxantelas passam a produzir substâncias que são danosas aos corais, as ERO, em maior quantidade que o normal (GRIFFIN, 2006). Quando o coral perde 70% a 90% da pigmentação de seus tecidos, pode-se perceber visualmente o branqueamento, pois ocorre uma coloração branca do esqueleto de carbonato de cálcio do tecido, devido à perda de simbiose com as zooxantelas (FONSECA *et al.* 2017).

O estresse oxidativo pode ocorrer devido a diversos fatores tais como: variações de salinidade, sedimentação excessiva, poluição, incremento de nutrientes, entre outros. Além disso, de modo natural, o estresse oxidativo está associado ao aumento de temperatura e alta incidência de luz em ambientes recifais (WEIS, 2008). A depender do tempo de estresse ao qual o coral é exposto, o branqueamento pode causar a mortalidade da espécie, contudo quando esta mortandade não ocorre, observa-se um declínio nas taxas de fecundidade e crescimento e o aumento da susceptibilidade a doenças, dessa maneira, o desenvolvimento do coral é igualmente comprometido (RAMOS, 2007). Estas consequências aos corais acarretam em graves consequências ao ecossistema recifal (MEJDOUB *et al.*, 2017). Atualmente, nota-se um interesse crescente em estudos de toxicidade oxidativa em organismos aquáticos causada por diferentes poluentes (LIVINGSTONE, 2001; LUSHCHAK, 2014; ORBEA *et al.*, 2017), o que reforça a importância do estudo de como os poluentes encontrados nos ecossistemas aquáticos afetam a biota ali presente.



O crescimento urbano em ritmo acelerado e sua distribuição desproporcional ao longo de águas costeiras, aumentam a carga de nutrientes nos ecossistemas aquáticos (MARQUES *et al.* 2017). O aumento desses nutrientes, sobretudo o aumento de espécies de nitrogênio, levam à proliferação de algas, inclusive algas prejudiciais devido sua toxicidade (MAIN 2010). Altas concentrações de espécies de nitrogênio podem ainda causar hipóxia e anóxia (baixa concentração de oxigênio dissolvido e ausência de oxigênio dissolvido, respectivamente), que comprometem espécies sensíveis e declínio ou eliminação da vegetação aquática submersa (OLSEN, 2013). Esta vegetação fornece habitat para alguns peixes e mariscos, equinodermos e cnidários em águas rasas. Portanto, seu comprometimento acarreta em mudanças e desequilíbrios em toda a biota associada (KELLY, 2008).

O ciclo de nutrientes varia conforme a natureza de sua espécie. Para o nitrogênio, os processos de fixação nos ambientes marinhos se dão por demandas biológicas, diferentemente do fosforo que se dá por demandas químicas (LUZ, 2018). Os recifes de corais são muito importantes para o ciclo do nitrogênio, que possui papel não só de nutriente, mas também de atuar como oxidante ou redutor em diversas reações metabólicas.

Em estudos clássicos (CROSSLAND, 1983; CAPONE *et al.* 1992; ATKINSON e FALTER, 2003), são demonstradas as concentrações usuais de nitrato e amônia em ambientes de recifes, que variam de (0,05 a 0,5)  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , enquanto o nitrito usualmente é encontrado abaixo de 1  $\mu\text{mol L}^{-1}$ .

A fixação do nitrogênio nos recifes de corais é associada, majoritariamente, às cianobactérias (DOWNS, 2002). A mortalidade de corais, causados por doenças ou branqueamento, em pode aumentar a área superficial do substrato disponível para colonização por comunidades microbianas, incluindo bactérias de fixação de nitrogênio. Este desequilíbrio, pode levar à diminuição do nitrogênio orgânico e favorecer o aumento de nitrogênio inorgânico. Esta situação leva ao aumento de espécies de algas, que diminuem a quantidade de corais, principalmente quando associada a situações estressoras, como pesca, retirada das matas ciliares, poluição, atividades antropogênicas (HOLMES e JOHNSTONE, 2010).

## RESPOSTAS DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES AO ESTRESSE

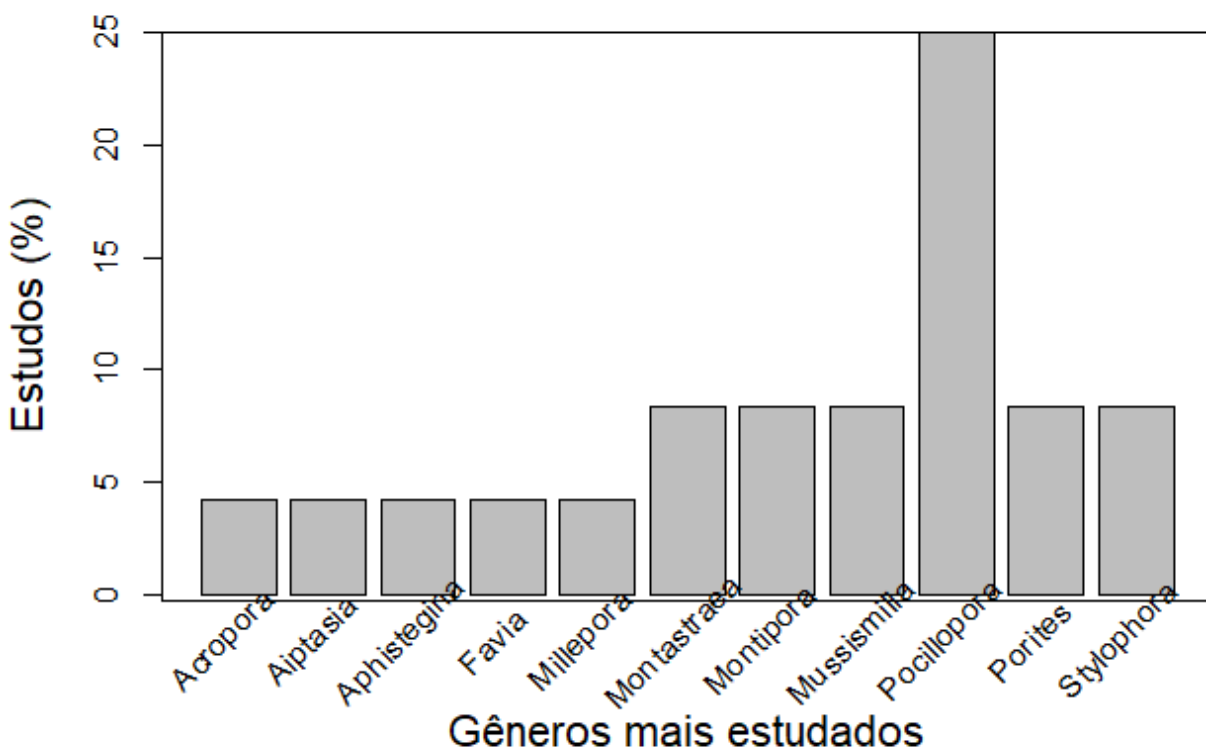
Um antioxidante é uma substância que tem o poder de retardar ou prevenir os efeitos da oxidação de substratos. Existem diversas defesas antioxidantes, como agentes catalíticos que removem as

EROs, agentes que diminuem a formação das EROs, proteínas que protegem o organismo das ações das EROs, entre outros. Contudo, as defesas não são suficientemente eficientes, pois os danos atingem DNA, proteínas e lipídios. Dentre as defesas antioxidantes mais estudadas como diagnósticos para o estresse oxidativo em corais, pode-se citar: a superóxido dismutase, a enzima catalase, a glutationaperoxidase, a glutational-s-transferase, a peroxidação lipídica, (PATEL, 2015)

A superóxido dismutase, SOD, e a catalase, CAT, atuam juntas para converter as EROs em água. Isso ocorre em duas etapas, inicialmente, a SOD catalisa a reação de dismutação do superóxido em peróxido de hidrogênio, enquanto a CAT atua na degradação do seu substrato, peróxido de hidrogênio em oxigênio e água. (LEVY *et al.* 2006).

b) quais espécies de corais foram utilizadas nos ensaios?

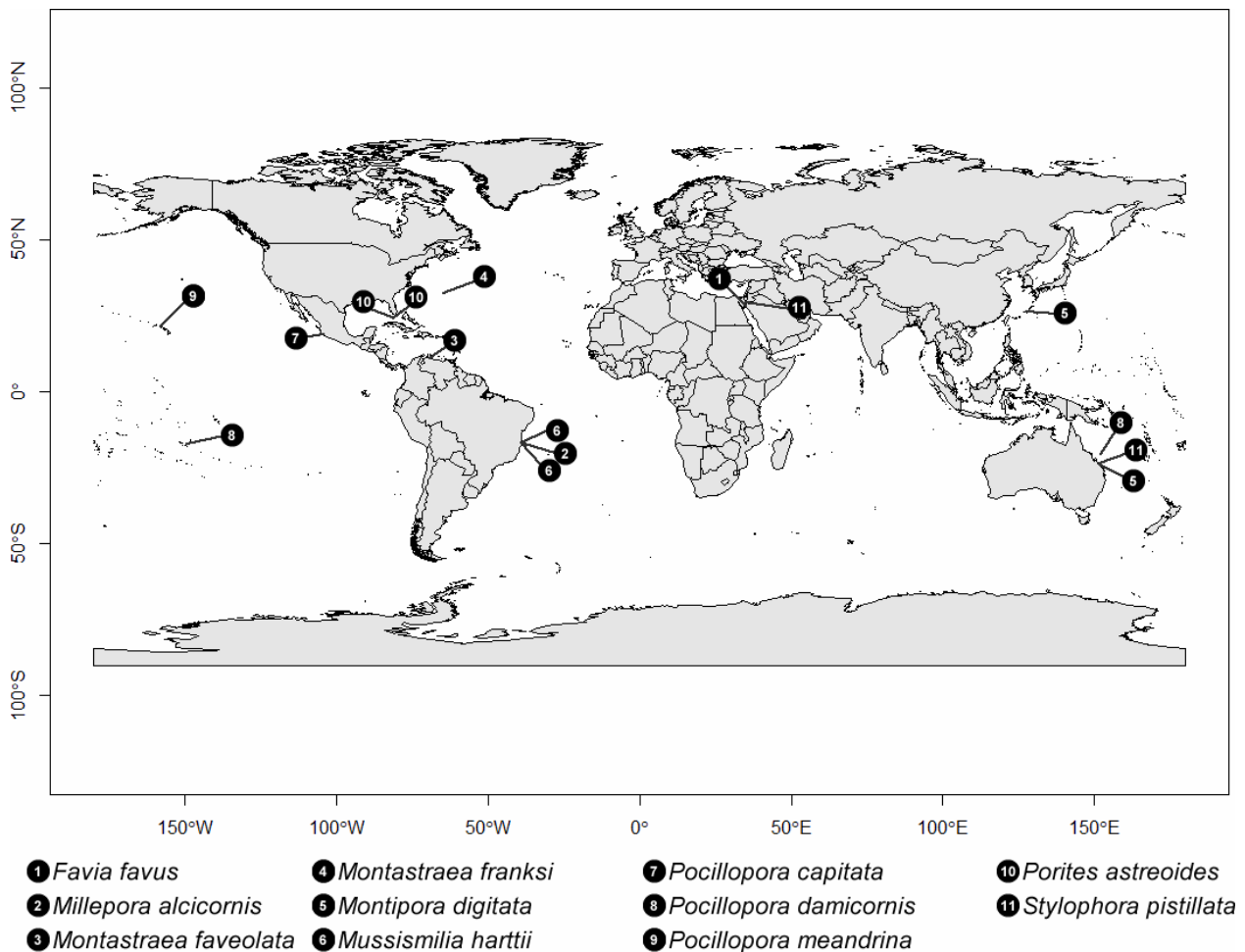
Boa parte dos estudos encontrados foram conduzidos em ensaios com corais do gênero *Pocillopora*. Seguindo deste gênero, os mais estudados são *Montastrea*, *Montipora*, *Mussismilia*, *Pocillopora*, *Porites* e *Stylophora*, conforme pode-se observar na Figura 2.



**Figura 3:** Gêneros de corais mais frequentes nos estudos

c) onde os experimentos foram conduzidos?

Os estudos foram realizados no sul da Bahia, no Brasil (MARQUES *et al.* 2017; MARANGONI *et al.* 2017; FONSECA *et al.* 2017); e na Austrália, principalmente (GARDNER, 2016; HAWKINS, 2015; KRUEGER, 2015). Outros locais de estudo e as espécies de corais estudadas estão relacionadas na Figura 3.



**Figura 4:** Espécies de corais e respectivos locais de estudo em relação a resposta antioxidantes ao estresse oxidativo d) que estressor foi estudado?

A maior parte dos estudos, pouco mais de 40%, fizeram ensaios com o cobre e o cádmio, sendo os nutrientes nitrato e fosfato menos frequentes. Além dos metais e nutrientes viu-se também alguns estudos que relataram os efeitos do benzo( $\alpha$ )pireno, do cloreto de ferro e do clordecona no estresse oxidativo em corais. Portanto, os estressores mais frequentemente relatados são de escala local.

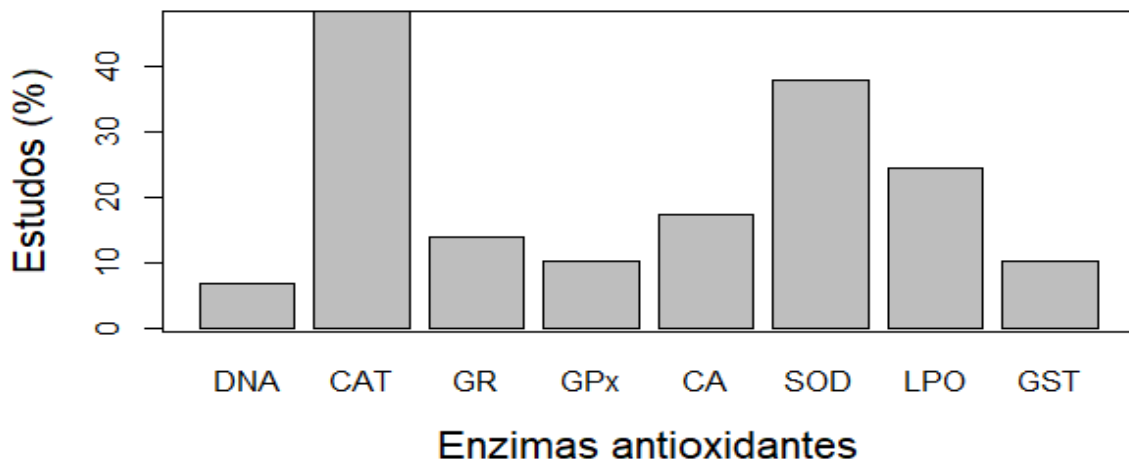
Além destes, ainda foi verificado o estressor de impacto global, a temperatura. Os maiores valores foram em torno de 32 °C (GRIFFIN, 2006; HAWKINS, 2015) e o menor valor em torno de 25 °C (WILLIAMS, 2016). Os dados aqui apresentados podem ser vistos no Quadro 1 que sumariza os resultados dos estudos analisados neste escopo.

**Quadro 1:** Sumarização dos resultados encontrados.

estudo	substancia	[ ] $\mu\text{mol L}^{-1}$	dano DNA %	CAT %	GR %	GPx %	CA %	SOD %	LPO %	GST %	prod O <sub>2</sub> %	Mg-ATPase %	Ca <sup>2+</sup> -ATPase %
<b>BIELMYER 2010</b>	cobre	2	-	-	-	-	57,1	-	-	-	-	-	-
<b>CLAVIER 2005</b>	amônio	2500	-	-	-	-	-	-	-	-	66,8	-	-
<b>DOWNS 2002</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	96	-	-	-	-
<b>DUCKWORTH 2017</b>	níquel	50	-	63,6	41,6	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>FONSECA 2017</b>	cobre	3,8	-	-	-	-	64,3	-	-	-	-	-	-
<b>GARDNER 2016</b>	-	-	-	-	-	-	-	83,3	-	-	-	-	-
<b>GRIFFIN 2006</b>	temperatura	32	-	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>HAWKINS 2015</b>	temperatura	32	-	73,68	-	-	-	42,86	-	-	-	-	-
<b>HIGUCHI 2015</b>	nitrito	10	-	80	-	-	-	83,3	-	-	-	-	-
<b>KRUEGER 2015</b>	temperatura	-	-	50	-	-	-	14,29	-	-	-	-	-
<b>KTEIFAN 2017</b>	fosfato	550	72,8	-	-	-	-	-	73	-	-	-	-
<b>LEVY 2006</b>	luz	440-480 nm	-	36,36	-	-	-	24	-	-	-	-	-
<b>LIÑÁN-CABELLO 2009</b>	-	-	-	67,23	54,17	45,56	-	-	-	96,47	86,85	-	-
<b>LUZ 2018</b>	pH	7,2	-	-	-	-	-	-	79,17	-	-	-	-
<b>MAIN 2010</b>	cobre	50	-	80	-	-	-	29,4	-	-	-	-	-
<b>MARANGONI 2017</b>	cobre	6,7	-	-	-	-	49,3	-	45,5	-	-	39,7	40
<b>MARQUES 2017</b>	cobre	3,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	25
<b>OLSEN 2013</b>	temperatura	30,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>PATEL 2015</b>	cobre	10	-	70	76,2	75	63,6	-	-	-	-	-	-
<b>PRAZERES 2011</b>	zinco	93,4	-	-	-	-	-	28,6	28,6	-	-	-	-
<b>PYTHAROPOULOU 2011</b>	cadmio	100	-	-	-	-	-	-	72,7	-	-	-	-
<b>RAMOS 2007</b>	benzo(a)pireno	1,04	-	83,3	-	-	-	85,7	-	50	-	-	-
<b>SCHWARZ 2013</b>	cobre	30	46	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>SIDDIQUI 2015a</b>	cobre	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>SIDDIQUI 2015b</b>	cobre	100	-	66,7	66,7	72,7	34,5	-	-	-	-	-	-
<b>VIJAYAVEL 2012</b>	cloreto de ferro	100	-	-	-	-	-	-	42,4	-	-	-	-
<b>WECKER 2018</b>	clordecona	30	-	42,8	-	-	-	100	-	-	-	-	-
<b>WILLIAMS 2016</b>	temperatura	26	-	20	-	-	-	66,7	-	-	-	-	-
<b>ZHOU 2018</b>	cadmio	20	-	56,2	-	-	-	48,1	-	64,3	-	-	-

O Quadro 1 auxilia ainda a entender as informações que respondem ao questionamento e) qual a concentração do estressor? Observa-se que esta resposta não é uniforme, para cada estudo foi utilizada uma concentração de um mesmo estressor. Por exemplo, pode-se considerar o cobre, um estressor de impacto local estudado na concentração de  $2 \mu\text{mol L}^{-1}$  por BIELMEYER, 2010; a até  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  por SIDDIQI, 2015b. Contudo, nenhum desses valores foram justificados. Não há nenhum relato de qualquer estudo prévio determinando as concentrações dos estressores analisados nos ambientes naturais para posterior simulação dos seus efeitos nos corais.

Em relação a pergunta f) quais são as respostas antioxidantes? O Quadro 1 também nos traz informações importantes, ensaios com a catalase, CAT, superóxido dismutase, SOD e peroxidação lipídica, LPO, são os mais frequentes nos estudos. Isto pode ser explicado pelo fato de a LPO ser a primeira evidencia de ocorrência de estresse oxidativo, uma vez que as espécies reativas de oxigênio atacam primeiramente as bicamadas lipídicas. E ainda, pelo fato da CAT agir em conjunto com a SOD como defesa antioxidante.



**Figura 5:** Respostas antioxidantes encontradas nos estudos

Por fim, observou-se que o tempo de ensaio foi bastante variado durando horas ou meses, isso porque alguns autores trabalharam com respostas toxicológicas agudas enquanto outros com respostas crônicas. Não foi relatado qualquer efeito da combinação dos agentes toxicológicos nos ensaios reportados.

## Conclusão

Através deste estudo, pode-se considerar que ainda há poucos trabalhos no que se refere ao estudo de estresse oxidativo em corais devido a poluição dos ambientes aquáticos, portanto a base de novos estudos ainda é feita através de literaturas mais clássicas, anteriores a 2008, com atualizações de dados publicados nos últimos dez anos.

Foi possível também inferir deste estudo que o aumento de nutrientes em ambientes aquáticos de maneira descontrolada, pode levar ao aumento no número de algas, conseqüentemente à diminuição de corais, comprometendo todo o ecossistema.

## Highlights

- Foram encontrados 29 trabalhos que reportaram as respostas antioxidantes ao estresse oxidativo em corais;
- Os estudos encontrados abordam espécies de corais, coordenadas exatas dos locais de coleta, estressores testados com suas respectivas concentrações (ou com suas unidades), atividade antioxidante determinada, o que facilita a reprodutibilidade destes;
- As espécies de corais mais frequentemente avaliadas são àquelas pertencentes ao gênero *Pocillpora*, cerca de 25% dos estudos aqui abordados citaram esses animais em seus experimentos;
- Os ensaios são conduzidos em diferentes partes do mundo, do atlântico ao pacífico;
- Os estressores mais estudados são os que possuem impactos locais, embora suas concentrações não tenham sido justificadas em nenhum dos trabalhos;
- Sobre as respostas antioxidantes, as atividades mais analisadas foram a catalase, a superóxido dismutase e a peroxidação lipídica, nessa ordem.

## Referências

ATKINSON, M. J.; FALTER, J. L. **Coral reefs**. In “Biogeochemistry of Marine Systems” (Black, K., and Shimmield, G., eds.). pp. 40–64, 2003.

BÉRAUD, E.; GEVAERT, F.; ROTTIER, C.; FERRIER-PAGÈS, C. The response of the scleractinian coral *Turbinaria reniformis* to thermal stress depends on the nitrogen status of the coral holobiont. **The Journal of Experimental Biology** 216, 2665-2674. 2013.

CAPONE, D. G.; DUNHAM, S. G.; HERRIGAN, S. G.; DUGUAY, L. E. Microbial nitrogen transformations in shallow, unconsolidated carbonate sediments. **Marine Ecology Progress Series** 80:75–88, 1992.

CASTRO, C. B. e; ZILBERBERG, C. **Recifes brasileiros, sua importância e conservação**. In *Conhecendo os recifes brasileiros: Rede de pesquisas Coral Vivo*, Zilberberget al. Rio de Janeiro, Museu Nacional, UFRJ, 2016.

CLAVIER, J.; BOUCHER, G.; CHAUVAUD, L.; FICHEZ, R.; CHIFFLET, S. Benthic response to ammonium pulses in a tropical lagoon: implications for coastal environmental processes. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 316, 231– 241, 2005.

CORREIA, M. D. **Ecosistemas marinhos: recifes, praias e manguezais**. Maceió: EDUFAL, 2005.

CROSSLAND, C. J. **Dissolved nutrients in coral reef waters**. Em “*Perspective on Coral Reefs*”. (Barnes, D. J., ed.). Brian Clouston publisher/AIMS, Canberra. pp. 56–68, 1983.

DUCKWORTH, C. G.; PICARIELLO, C. R.; THOMASON, R. K.; PATEL, K. S.; BIELMYER-FRASER, G. K. Responses of the sea anemone, *Exaiptasiapallida*, to ocean acidification conditions and zinc or nickel exposure. **Aquatic Toxicology** 182, 120–128, 2017.

DUNN, J. G.; SAMMARCO, P. W.; LAFLEUR JR, G. Effects of phosphate on growth and skeletal density in the scleractinian coral *Acropora muricata*: A controlled experimental approach. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 411, 34–44, 2012.

FAXNELD, S.; JORGENSEN, T. L.; TEDENGREN, M. Effects of elevated water temperature, reduced salinity and nutrient enrichment on the metabolism of the coral *Turbinaria mesenterina*. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 88, 482-487, 2010.

FERRIER-PAGÈS, C.; GATTUSO, J. P.; DALLOT, S.; JAUBERT, J. Effect of nutrient enrichment on growth and photosynthesis of the zooxanthellate coral *Stylophora pistillata*. **Coral Reefs** 19, 103-113, 2000.

FLEURY, B. G.; COLL, J. C.; TENTORI, E.; DUQUESNE, S.; FIGUEIREDO, L. Effect of nutrient enrichment on the complementary (secondary)metabolite composition of the soft coral *Sarcophyton Ehrenbergi* (Cnidaria: Octocorallia: Alcyonaceae) of the Great Barrier Reef. **Marine Biology** 136, 63-68, 2000.

FONSECA, J. da S.; MARANGONI, L. F. de B.; MARQUES, J. A.; BIANCHINI, A. Effects of increasing temperature alone and combined with copper exposure on biochemical and physiological parameters in the zooxanthellate scleractinian coral *Mussismilia harttii*. **Aquatic Toxicology**, 2017.

GARDNER, S. G.; RAINA, J.; NITSCHKE, M. R.; NIELSEN, D. A.; STAT, M.; MOTTI, C. A.; RALPH, P. J.; PETROU, K. A multi-trait systems approach reveals a response cascade to bleaching in corals. **BMC Biology** 15:117, 2017.

GEGNER, H. M.; ZIEGLER, M.; RADECKER, N.; BUITRAGO-LOPEZ, C.; ARANDA, M.; VOOLSTRA, C. R. High salinity conveys thermotolerance in the coral model *Aiptasia*. **Biology Open** 6, 1943-1948, 2017.

GRANT, A. J.; GRAHAM, K.; FRANKLAND, S.; HINDE, R. Effect of copper on algal-host interactions in the symbiotic coral *Plesiastrea versipora*. **Plant Physiology and Biochemistry** 41, 383–390, 2003.

HAWKINS, T. D.; DAVY, S. K. Nitric oxide and coral bleaching: is peroxynitrite generation required for symbiosis collapse? **The Journal of Experimental Biology** 216, 3185-3188, 2013

HIGUCHI, T.; YUYAMA, I.; NAKAMURA, T. The combined effects of nitrate with high temperature and high light intensity on coral bleaching and antioxidant enzyme activities. **Regional Studies in Marine Science** 2, 27–31, 2015.



HOLMES, G.; JOHNSTONE, R. W. The role of coral mortality in nitrogen dynamics on coral reefs. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 387: 1-8, 2010.

HUMANES, A.; NOONAN, S. H. C.; WILLIS, B. L.; FABRICIUS, K. E.; NEGRI, A. P. Cumulative Effects of Nutrient Enrichment and Elevated Temperature Compromise the Early Life History Stages of the Coral *Acropora tenuis*. **Plos One**, August 30, 2016.

KELLY, J. R. Chapter 10. **Nitrogen Effects on Coastal Marine Ecosystems**. Nitrogen in the Environment: Sources, Problems, and Management, 2008.

KOOP, K.; BOOTH, D.; BROADBENT, A.; BRODIE, J.; BUCHER, D.; CAPONE, D.; COLL, J.; DENNISON, W.; ERDMANN, M.; HARRISON, P.; HOEGH-GULDBERG, O.; HUTCHINGS, P.; JONES, G. B.; LARKUM, A. W. D.; O'NEIL, J.; STEVEN, A.; TENTORIS, E.; WARD, S.; WILLIAMSON, J.; YELLOWLEES, D. ENCORE: the effect of nutrient enrichment on coral reefs. Synthesis of results and conclusions. **Marine Pollution Bulletin** Vol. 42, No 2, pp. 91-120, 2001.

KTEIFAN, M.; WAHSHA, M.; AL-HORANI, F. A. Assessing stress response of *Stylophora pistillata* towards oil and phosphate pollution in the Gulf of Aqaba, using molecular and biochemical markers. **Chemistry and Ecology**, Vol. 33, No. 4, 281–294, 2017.

KUNTZ, N. M.; KLINE, D. I.; SANDIN, S. A.; ROHWER, F. Pathologies and mortality rates caused by organic carbon and nutrient stressors in three Caribbean coral species. **Marine Ecology Progress Series**. Vol. 294: 173–180, 2005.

LESSER, M. P. Oxidative stress in marine environments: biochemistry and physiological ecology. **Annual Review of Physiology** 68, 253-278, 2006.

LEVY, O.; ACHITUV, Y.; YACOBI, Y. Z.; STAMBLER, N.; DUBINSKY, Z. The impact of spectral composition and light periodicity on the activity of two antioxidant enzymes (SOD and CAT) in the coral *Favia fava*. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 328, 35 – 46, 2006.

MAIN, W. P. L.; ROSS, C.; BIELMYER, G. K. Copper accumulation and oxidative stress in the sea anemone, *Aiptasia pallida*, after waterborne copper exposure. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part C** 151:216–221, 2010.

MARANGONI, L. F. de B.; MARQUES, J. A.; BIANCHINI, A. **Fisiologia de corais: a simbiose coral-zooxantela, o fenômeno de branqueamento e o processo de calcificação.** In *Conhecendo os recifes brasileiros: Rede de pesquisas Coral Vivo*, Zilberberget al. Rio de Janeiro, Museu Nacional, UFRJ, 2016.

MARANGONI, L. F. de B.; MARQUES, J. A.; DUARTE, G. A. S.; PEREIRA, C. M.; CALDERON, E. N.; CASTRO, C. B. e; BIANCHINI, A. Copper effects on biomarkers associated with photosynthesis, oxidative status and calcification in the Brazilian coral *Mussismilia harttii* (Scleractinia, Mussidae). **Marine Environmental Research** 130, 248-257, 2017.

MARQUES, J. A; MARANGONI, L. F. de B.; BIANCHINI, A. Combined effects of seawater acidification and copper exposure on the symbiont-bearing foraminifer *Amphistegina gibbosa*. **Coral Reefs** 36, 489–501, 2017.

MEJDOUB, Z.; FAHDE, A.; LOUFTI, M.; KABINE, M. Oxidative stress responses of the mussel *Mytilus galloprovincialis* exposed to emissary's pollution on coastal areas of Casablanca. **Ocean & Coastal Management** 136: 95-103, 2017.

MUNIZ-ANGUIANO, D.; VERDUZCO-ZAPATA, M.; LINAN-CABELLO, M. A. Factores asociados a la respuesta de *Pocillopora* spp. (Anthozoa: Scleractinia) durante um proceso de restauración em la costa del Pacífico mexicano. **Revista de Biología Marina y Oceanografía** 52, N°2: 299-310, 2017.

NORDEMAR, I.; NYSTROM, M.; DIZON, R. Effects of elevated seawater temperature and nitrate enrichment on the branching coral *Porites cylindrical* in the absence of particulate food. **Marine Biology** 142, 669–677, 2003.

LESSER, M. P. Oxidative stress in marine environments: biochemistry and physiological ecology. **Annual Review of Physiology** 68, 253-278, 2006.

LIVINGSTONE, D. R. Contaminant-stimulated Reactive Oxygen Species Production and Oxidative Damage in Aquatic Organisms. **Marine Pollution Bulletin**, 2001.

LUSHCHAK, V. L. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. **Chemico-Biological Interactions** 224: 164-175, 2014.

O'NEIL, J. M.; CAPONE, D. A. Chapter 21: **Nitrogen Cycling in Coral Reef Environments**. Em Nitrogen in the Marine Environment, 2<sup>a</sup> edição, Elsevier, 2008.

OAKLEY, C. A.; DURAND, E.; WILKINSON, S. P.; PENG, L.; WEIS, V. M.; GROSSMAN, A. R.; DAVY, S. K. Thermal shock induces host proteostasis disruption and endoplasmic reticulum stress in the model symbiotic cnidarian *Aiptasia*. **Journal of Proteome Research** 16, 2121–2134, 2017.

OLSEN, K.; PAUL, V. J.; ROSS, C. Direct effects of elevated temperature, reduced pH, and the presence of macroalgae (*Dictyota* spp.) on larvae of the Caribbean coral *Porites astreoides*. **Bulletin Marine Science**. 91(2):255–270. 2015

ORBEA, A.; GONZÁLEZ-SOTO, N.; LACAVE, J. M.; BARRIO, I.; CAJARAVILLE, M. P. Developmental and reproductive toxicity of PVP/PEI-coated silver nanoparticles to zebrafish. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology** 199: 59–68, 2017.

PATEL, P. P.; BIELMYER-FRASER, G. K. The influence of salinity and copper exposure on copper accumulation and physiological impairment in the sea anemone, *Exaiptasia pallida*. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part C** 168, 39–47, 2015.

PRAZERES, M. de F.; MARTINS, S. E.; BIANCHINI, A. Biomarkers response to zinc exposure in the symbiont-bearing foraminifer *Amphistegina lessonii* (Amphisteginidae, Foraminifera). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 407, 116–121, 2017.

ROSIC, N.; KANIEWSKA, P.; CHAN, C-K, K.; LING, E. Y. S.; EDWARDS, D.; DOVE, S.; HOEGH-GULDBERG, O. Early transcriptional changes in the reef-building coral *Acropora aspera* in response to thermal and nutrient stress. **BMC Genomics** 15-1052, 2014.

SCHWARZ, J. A.; MITCHELMORE, C. L.; JONES, R.; O'DEA, A.; SEYMOUR, S. Exposure to copper induces oxidative and stress responses and DNA damage in the coral *Montastraea franksi*. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part C** 157, 272–279, 2013.

SIDDIQUI, S.; BIELMYER-FRASER, G. K. (a); Responses of the sea anemone, *Exaiptasia pallida*, to ocean acidification conditions and copper exposure. **Aquatic Toxicology** 167, 228–239, 2015.

SIDDIQUI, S.; GODDARD, R. H.; BIELMYER-FRASER, G. K (b). Comparative effects of dissolved copper and copper oxidenanoparticle exposure to the sea anemone, *Exaiptasia pallida*. **Aquatic Toxicology** 160, 205–213, 2015.

TANG, C.; LIN, C.; LEE, S.; WANG, W. Membrane lipid profiles of coral responded to zinc oxide nanoparticle induced perturbations on the cellular membrane. **Aquatic Toxicology** 187, 72–81, 2017.

WEIS, V.M. Cellular mechanisms of Cnidarian bleaching: stress causes the collapse of symbiosis. *The Journal of Experimental Biology*, 211:3059-3066, 2008.

WECKER, P.; LECCELLIER, G.; GUIBERT, I.; ZHOU, Y.; BONNARD, I.; ERTEAUX-LECELLIER, V. Exposure to the environmentally persistent insecticide chlordecone induces detoxification genes and causes polyp bail-out in the coral *P. damicornis*. **Chemosphere** 195, 190-200, 2018.

WOO, S.; LEE, A.; DENIS, V.; CHEN, C. A.; YUM, S. Transcript response of soft coral (*Scleronephthya gracillimum*) on exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. **Environmental Science Pollution Research** 21, 901–910, 2014.

YU, X.; HUANG, B.; ZHOU, Z.; TANG, J.; YU, Y. Involvement of caspase3 in the acute stress response to high temperature and elevated ammonium in stony coral *Pocillopora damicornis*. **Gene** 637, 108–114, 2017.

YUAN, C.; ZHOU, Z.; ZHANG, Y.; CHEN, G.; YU, X.; NI, X.; TANG, J.; HUANG, B. Effects of elevated ammonium on the transcriptome of the stony coral *Pocillopora damicornis*. **Marine Pollution Bulletin** 114, 46–52, 2017.

ZHOU, Z.; YU, X.; TANG, J.; WU, Y.; WANG, L.; HUANG, B. Systemic response of the stony coral *Pocillopora damicornis* against acute cadmium stress. **Aquatic Toxicology** 194, 132–139, 2017.

ZHU, B.; WANG, G.; HUANG, B.; TSENG, C. K. Effects of temperature, hypoxia, ammonia and nitrate on the bleaching among three coral species. **Chinese Science Bulletin** Vol. 49 No. 181923-1928, 2004.

Este artigo/capítulo está formatado segundo as normas da revista Journal of Experimental Marine Biology and Ecology  
Disponível no site: <https://www.journals.elsevier.com/journal-of-experimental-marine-biology-and-ecology>

## **ARTIGO 2 – Impacto da poluição marinha na sobrevivência de larvas do coral *Agaricia humilis* Verrill, 1902**

Andressa Tavares Silva<sup>a,b,c</sup>, Cristiano Macedo Pereira<sup>a,d</sup>, Yuri Dornelles Zebral<sup>e</sup>, Fabiana Cézar Félix Hackrad<sup>a,b\*</sup>, Adalto Bianchini<sup>a,e</sup>, Allison Gonçalves Silva<sup>a,c,1</sup>.

<sup>a</sup>Instituto Coral Vivo, Rua dos Coqueiros, 87, Parque Yaya, Santa Cruz Cabrália - BA, 45807-000 – Brasil. andressaqmc@gmail.com

<sup>b</sup>Programa de Pós-graduação em Ciências e Tecnologias Ambientais, Centro de Formação em Ciências Ambientais, Universidade Federal do Sul da Bahia, S/n Rodovia BR 367 Km 10 Zona Rural, Porto Seguro - BA, 45810-000 – Brasil. fabianacfh@ufsb.edu.br

<sup>c</sup>Programa de Pós-graduação Ciências e Tecnologias Ambientais, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia. Rod BR 367, R. José Fontana, 1, Porto Seguro - BA, 45810-000 – Brasil. allisongoncalves@ifba.edu.br

<sup>d</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia), Laboratório de Celenteratologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Museu Nacional, Quinta da Boa Vista, Rio de Janeiro, RJ, 20940-040 – Brasil. cristianomp@gmail.com

<sup>e</sup>Programa de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande - FURG, Avenida Itália km 8, Campus Carreiros, Rio Grande - RS, 96203-900 – Brasil. yurizebral@gmail.com, adaltobianchini@furg.br

\*Autor correspondente

"Declarações de interesse: nenhuma"

---

<sup>1</sup> Endereço permanente: Rod BR 367, R. José Fontana, 1, Porto Seguro - BA, 45810-000 – Brasil.

## Resumo

As atividades antrópicas afetam fortemente os ecossistemas aquáticos, provocando alterações na sua forma, composição original, além de comprometer as comunidades ali existentes. Além disto, estressores ambientais são importantes bioindicadores da saúde de inúmeros organismos, tais como os recifais, já que estes respondem fisiologicamente a estas condições. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos do aumento de nutrientes inorgânicos dissolvidos e da temperatura na tolerância de larvas de *Agaricia humilis*. O estudo foi conduzido no microcosmo do Projeto Coral Vivo, simulando condições de concentração de nutrientes de 8,5 e 46  $\mu\text{mol L}^{-1}$  para amônio e 1 e 8  $\mu\text{mol L}^{-1}$  para nitrato, bem como as misturas, em soluções preparadas com água salina sintética, e temperatura de 32°C e 26°C, aos quais submetemos as larvas. Como resposta observou-se, para mortalidade um efeito significativo da temperatura (até 78% a 32°C). Contudo, as larvas livres nadantes sobreviventes apresentaram maior dano oxidativo em altas concentrações de nutrientes e baixas temperaturas. Com isso, esse estudo evidencia a importância do monitoramento dos ambientes recifais, além da necessidade de um estudo mais detalhado da saúde fisiológica dos corais, uma vez que apenas as taxas de mortalidade não expressam a consequência de estressores globais e locais na sobrevivência de corais.

**Palavras-chave:** nutrientes inorgânicos dissolvidos, microcosmo marinho, amônia, nitrato, espécies reativas.



## 1 Introdução

Os ecossistemas coralíneos fornecem diversos serviços ecossistêmicos para a sociedade (OAKLEY *et al.*, 2017), abrigando uma grande biodiversidade, incluindo espécies que são utilizados na alimentação humana (GARDNER *et al.*, 2017). Pode-se destacar também que os recifes de coral protegem regiões costeiras da ação de ondas e tempestades, formando uma barreira que protege a linha de costa (MUNIZ-ANGUIANO *et al.*, 2017). São ainda apreciados para lazer e turismo, além de fornecer substâncias aproveitadas pelas pesquisas farmacológicas, que visam a extração e o isolamento de compostos para teste de suas propriedades no tratamento de doenças e disfunções humanas. (CORREIA, 2005; MARANGONI *et al.*, 2016). Provedo desta forma, serviços de regulação, de suporte, provisão e culturais (CASTRO, 2016). No entanto, os ambientes costeiros vêm sofrendo com a contribuição do continente no enriquecimento de nutrientes, devido à rápida urbanização e ao turismo na localidade e nas regiões próximas (CASTRO, 2016). Um dos efeitos antropogênicos mais significativos que afeta os recifes de corais é a remoção de parte da Mata Atlântica, bem como a descarga de efluentes urbanos (ZEMA, *et al.*, 2018). Estes fatores, associados a grandes quantidades de matéria orgânica e nutrientes dissolvidos, aceleram o processo de eutrofização, acarretando na qualidade da água, provocando mudanças nos ecossistemas aquáticos. (CAMPANILI e SCHAFFER, 2010).

Os nutrientes inorgânicos dissolvidos, NID, sobretudo nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ); nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ); amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) e fosfato ( $\text{PO}_4^-$ ) são essenciais ao desenvolvimento e crescimento de diversos organismos marinhos, incluindo os corais (DUBINSKY e JOKIEL, 1994). Segundo D'ANGELO e WIEDENMANN (2014), ainda há uma certa dificuldade em colher evidências dos efeitos fisiológicos em corais como resposta ao aumento dos NID. Ainda assim, os autores relatam que esta condição pode levar a redução da tolerância dos corais ao estresse térmico, ao sucesso reprodutivo, de taxas de calcificação, de extensão linear bem como da

densidade do esqueleto dos corais. O aumento dos NID pode ainda deixar os recifes de corais mais suscetíveis ao branqueamento (WOOLDRIDGE, 2016). As zooxantelas são organismos unicelulares fotossintéticos que vivem no interior do tecido dos corais, sendo, portanto, chamados endossimbiontes (TANAKA *et al.*, 2014). Quando ocorre o aumento de NID, esses organismos aumentam de modo descontrolado nos organismos dos corais, o que levam estes a expulsá-los, ao fazer isso, o coral perde parte de seus pigmentos fotossintetizantes o que caracteriza o branqueamento (JONES, 1997).

Embora sejam os impactos globais os que mais contribuem para o estresse dos corais, os regionais podem intensificar e acelerar a resposta dos corais a estes processos (FERRERA *et al.*, 2016). Um fator global que têm recebido bastante atenção dos pesquisadores é o aumento da temperatura dos oceanos (TSANG e ANG Jr *et al.*, 2019; WU *et al.*, 2019; YUAN *et al.*, 2019), que junto a outros estressores contribuem para o branqueamento e a mortalidade desses cnidários ao redor do mundo (YUAN *et al.*, 2019).

A temperatura é um dos fatores que influenciam diretamente na diversidade de espécies em comunidades coralíneas, devido à redução do crescimento do esqueleto desses animais em altas temperaturas, como 31°C (CANTIN *et al.*, 2010). Essa condição influencia na distribuição espacial de determinadas espécies ao redor do mundo, o que explica em parte a ocorrência de endemismos (TSANG e ANG JR, 2019).

Os corais, assim como outros animais aeróbicos, usam o gás oxigênio para transformações metabólicas e produção de parte do ATP (Adenosina Trifosfato) (BACELAR, 1997). Contudo, o oxigênio é um importante agente oxidante, pois sua forma molecular diatômica apresenta dois elétrons desemparelhados em diferentes orbitais moleculares, sendo uma base de Lewis (SHRIVER *et al.*, 1994). O que lhe confere uma certa facilidade em oxidar componentes celulares essenciais, ou intermediários metabólicos utilizados em reações biossintéticas, ou aquelas nas quais resultam na calcificação dos corais, por exemplo (SOLOMONS, 2006). Este oxigênio pode então levar a formação das chamadas espécies

reativas de oxigênio, EROs que podem causar danos nas estruturas das células, prejudicando seu funcionamento (LESSER, 2006). Esses danos são os chamados oxidativos e o conjunto de fatores ambientais que levam à essa condição são os estressores oxidativos (BARNES *et al.*, 2019). Para se defender desses danos, os animais contam com os antioxidantes que se ligam aos radicais livres antes que danifiquem as células, o resultado dessas reações é principalmente, a inativação das EROs (SHRIVER *et al.*, 1994).

Assim, os corais constituem um importante “termômetro” de impactos globais, bem como de impactos locais, portanto, seu monitoramento é a chave para compreender os efeitos de estressores naturais ou antropogênicos nos oceanos e, conseqüentemente nos ambientes recifais (FONSECA *et al.*, 2017).

Neste estudo o objetivo foi avaliar a presença de nutrientes inorgânicos em poças de recifes costeiros para posterior simulação da tolerância das larvas de *Agaricia humilis* frente à sua taxa de mortalidade à presença de NID e aumento de temperatura, avaliando a peroxidação lipídica, como indício de estresse oxidativo.

## **2 Material e Métodos**

### **2.1 Análise dos nutrientes em águas de poças de maré**

As poças de maré são estruturas rochosas ou arenosas que retém água na maré baixa, podendo abrigar organismos diversos, como os cnidários (GENTHE *et al.*, 1995). Desta forma, foram realizadas duas campanhas para coleta das águas de poças de mares, as quais sendo realizadas no platô recifal de Coroa Vermelha – BA, durante a maré baixa e em 10 pontos aleatórios georreferenciados por GPS (*Global Positioning System*) (anexo).

A primeira campanha foi realizada no período chuvoso, em 03 de maio de 2017 e a segunda campanha foi realizada no período seco, dia 19 de outubro de 2017, de acordo com os dados pluviométricos da região (INMET, 2017) (anexo).

As amostras de águas de poças de maré foram filtradas com filtro de 0,45 µm, o resíduo foi avaliado para clorofila *a* e o filtrado para nutrientes inorgânicos dissolvidos. Foram quantificados, amônio, nitrito, nitrato, fosfato e clorofila *a*, adotando como metodologia *Standart Methods for Examination of Water and Wastewater (2012), 4500-NO<sub>3</sub> – E Cadmium Reduction Method; 4500-NH<sub>3</sub> F. Phenate Method; 4500-NO<sub>2</sub> – B Colorimetric Method; 2015 EAP026 Chlorophyll a; 1992 4500-P*.

Para as análises dos nutrientes, os resultados foram expressos como média ± erro padrão da média. Para avaliar possíveis diferenças entre as estações durante as análises das poças de maré, foi utilizada a análise de variância (ANOVA) de uma via convencional.

## 2.2 Ensaios no microcosmo com a *Agaricia humilis*

Os estudos com as larvas de corais foram conduzidos no microcosmo marinho do Projeto Coral Vivo. Foram coletadas 40 colônias de *Agaricia humilis*, em profundidades menores que 5m no Parque Municipal Marinho do Recife de Fora, Porto Seguro, Bahia, no período da lua nova (MORSE *et al.*, 1988) do mês de maio de 2018. Em seguida, as colônias foram submetidas ao estresse luminoso permanecendo: 24h com luz direta e 24h em ambiente escuro. Após esse período de estresse, as colônias liberaram as larvas plânulas, das quais foram coletados 210 indivíduos. Grupos de 15 larvas foram separadas em cada aquário correspondente aos tratamentos (Figura 1). Cada aquário foi codificado com os números de 1 a 14, onde em cada um deles havia um tratamento específico. Os tratamentos consistiram em reproduzir as concentrações máximas e mínimas dos nutrientes nitrato e amônia obtidos *in situ*, nas poças de maré, e testá-las de forma isolada e em associação, *ex situ*, em 2 condições de temperatura (26 e 32 °C). Grupos controle, sem adição de nutrientes e com variação de temperatura foram incluídos nos experimentos (Figura 1).

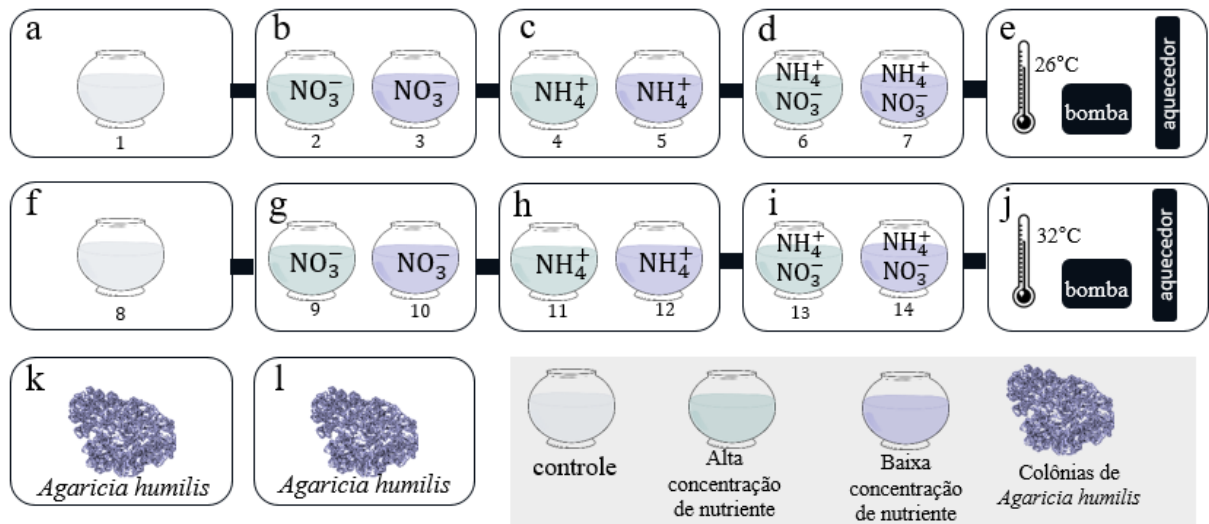


Figura 1: Desenho experimental da exposição das larvas a duas diferentes temperaturas e diferentes nutrientes.  $\text{NO}_3^-$  = nitrato;  $\text{NH}_4^+$  = amônio.

As soluções para os tratamentos foram preparadas com água destilada visando obter uma condição de salinidade em torno de 35, com 24h de antecedência. As soluções de nitrato foram preparadas com nitrato de sódio e as de amônia com cloreto de amônio. O experimento teve a duração de quatro dias, com trocas parciais (1/2 do volume) diárias das soluções preparadas anteriormente.

Ao final dos quatro dias, as larvas sobreviventes livres nadantes foram contabilizadas, para verificação da taxa de sobrevivência e congeladas em crio-tubos em ultra freezer, a  $-80^\circ\text{C}$ , para transporte para o laboratório do Instituto de Ciências Biológicas da Fundação Universidade do Rio Grande para a análise de peroxidação lipídica (LPO). Esta análise consiste em quantificar o dano sofrido nas membranas celulares através da degradação oxidativa das bicamadas lipídicas.

Os resultados obtidos no microcosmo foram expressos como a % de mortalidade das larvas de *A. humilis*. Para verificação de possíveis diferenças entre os tratamentos, foi utilizada ANOVA de uma via convencional.

### 2.3 Peroxidação lipídica (LPO)

Espécies reativas diversas podem se originar a partir da peroxidação lipídica, sendo neste ensaio a principal a ser detectada o malondialdeído (MDA), que reage com o ácido tiobarbitúrico, TBA a 60 °C. Assim, TBARS é a sigla para espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico. A presença de MDA é detectada através de emissão de fluorescência a 515 nm de excitação e 553 nm de emissão. Como o MDA é produto da peroxidação lipídica, quanto maior o seu valor em relação a quantidade de proteína do indivíduo, maior o dano oxidativo sofrido. A metodologia adotada nesse trabalho foi descrita por FEDERICI, SHAW e HANDY, 2007.

O número de larvas não foi suficiente para garantir um n amostral adequado a experimentos fisiológicos, portanto, o ensaio TBARS foi realizado a fim de corroborar com os valores observados da sobrevivência das larvas frente aos tratamentos realizados, o que de fato ocorreu.

Para esta etapa, inicialmente preparou-se os reagentes necessários. Para o preparo do hidroxitolueno butilado, BHT, solubilizou-se 0,0022g de BHT em 10 mL de etanol a 95%. Para o tampão fosfato-salino, PBS, a um pH de 7,4, utilizou-se 0,2g de cloreto de potássio, KCL, 0,24 g de fosfato de potássio monobásico,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 8 g de cloreto de sódio, NaCl e 1,74 g de fosfato de potássio dibásico,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  para o volume final de 1000 mL, completado com água. Para o ácido tricloroacético, TCA, solubilizou-se 50 g de TCA em 100 mL de água. Para o ácido tiobarbitúrico, TBA, acrescentou-se 10 mL de solução aquosa de 1,3 % de TBA a 10 mL de uma solução aquosa 0,3% de hidróxido de sódio, NaOH. Por fim, para o MDA, solubilizou-se 98,8  $\mu\text{L}$  de MDA em 9,012 mL de água ultrapura.

Para a realização da análise, depois dos procedimentos para a curva de calibração, seguiu-se a seguinte sequência: pipetou-se 10  $\mu\text{L}$  de solução de BHT, 140  $\mu\text{L}$  de solução de PBS, 40  $\mu\text{L}$  de amostra, 50  $\mu\text{L}$  de TCA em uma placa em duplicata. As amostras foram lidas em leitor de microplacas de fluorescência a 515 nm de excitação e 553 nm de emissão.

Em seguida pipetou-se 75  $\mu$ L de TBA nas poças da placa. Esta foi então conduzida a uma estufa a 60 °C por uma hora. Após esse tempo as amostras foram lidas novamente.

Os resultados foram expressos em concentração de MDA por quantidade (mg) de proteína. Para análise dos resultados fora realizada ANOVA em uma via convencional.

### 3 Resultados

Nas análises de água das poças observou-se que para os nutrientes analisados houveram diferenças entre as estações chuvosa e seca, com exceção do nitrato (Tabela 1).

Tabela 1: ANOVA para as análises de nutrientes inorgânicos dissolvidos e clorofila a nas poças de maré nas estações seca e chuvosa e valores mínimo e máximo das concentrações encontradas de cada nutriente. GL = graus de liberdade; MQ = Quadrado médio. P>F a 0,05. \*P>F a 0,001. Min - Max  $\mu$ mol L<sup>-1</sup>

	GL	MQ	F	P valor	Min - Max
<b>Nitrato</b>	1	3,18			
<b>Resíduos</b>	58	4,17	0,764	0,386	0,040 – 8,30
<b>Nitrito</b>	1	0,031			
<b>Resíduos</b>	58	0,004	8,43	0,005	0,520 – 0,860
<b>Amônio</b>	1	497			
<b>Resíduos</b>	58	75,0	66,6	3,26e-11*	8,50 – 46,0
<b>Fosfato</b>	1	0,031			
<b>Resíduos</b>	58	0,0004	81,7	1,14e-12*	0,020 – 0,140
<b>Clorofila</b>	1	5,54			
<b>Resíduos</b>	58	0,482	11,5	0,001	4,22 – 7,86

Os valores mais altos observados para os nutrientes nitrato e amônio foi para a estação seca, já para nitrito, fosfato e clorofila os valores mais altos foram observados na estação chuvosa (Figura 2).

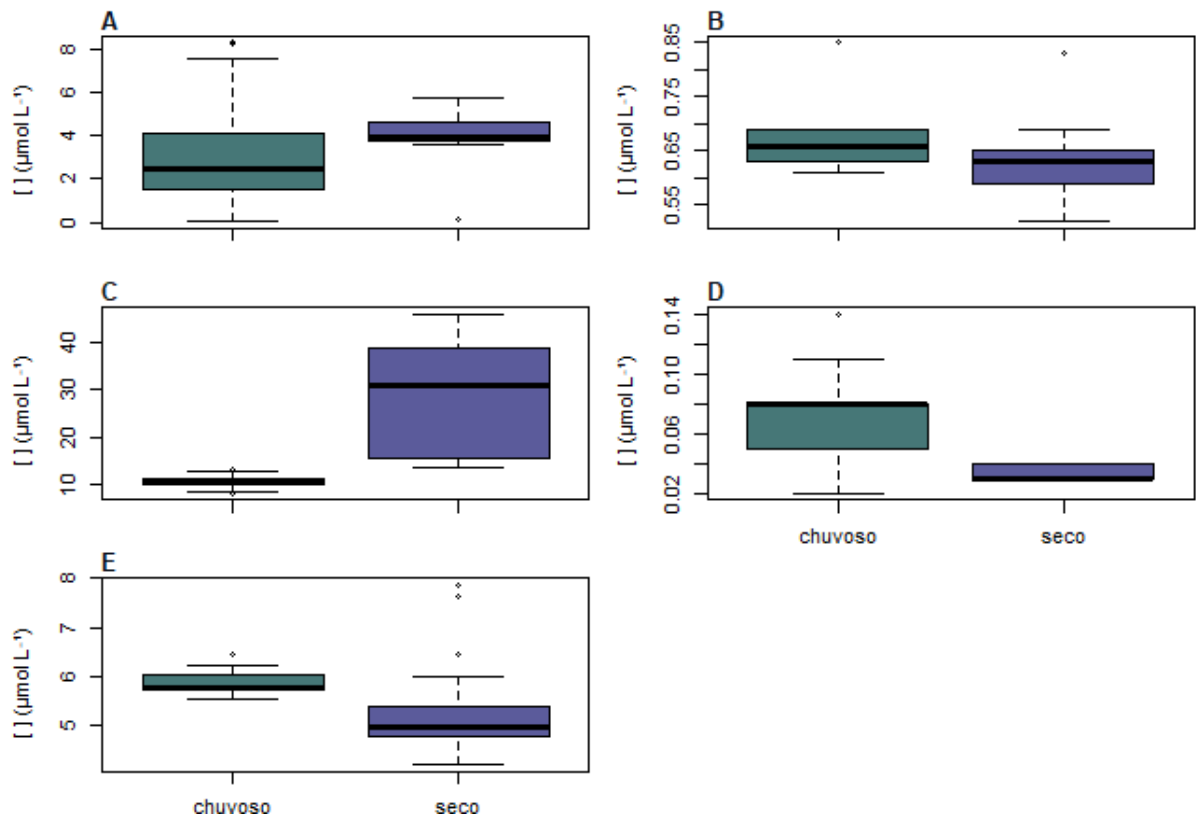


Figura 2: Boxplot das análises de águas de poças de mares, com resultados das coletas realizados no período chuvoso em verde e no período seco em roxo. [ ]=concentração; A=nitrato, B=nitrito; C=amônio; D=fosfato; E=clorofila a.

Devido a características reativas do amônio e do nitrato que se apresentaram em maiores concentrações na estação seca, que coincide com o período de alta temporada (verão), utilizou-se ambos nutrientes como modelos no ensaio em ambiente controlado.

Quando as concentrações obtidas em campo foram simuladas no laboratório, somente a temperatura teve um efeito significativo na taxa de mortalidade das larvas, sendo maiores na temperatura de 32 °C. (Tabela 2, Figura 3). Visivelmente, observou-se que em todos os tratamentos em alta temperatura as larvas de corais perderam a cor, ficando mais esbranquiçadas e translúcidas.

Tabela 2: ANOVA para as análises de mortalidade das larvas. GL = grau de liberdade; MQ = Quadrado médio.  $\text{Pr}>F$  a 0,05.  $^{**}\text{Pr}>F$  a 0,001

	GL	MQ	F	P valor
<b>Nitrato</b>	2	2,25	0,403	0,673
<b>Amônio</b>	2	0,53	0,095	0,909
<b>Temperatura</b>	1	115	20,6	0,0002 <sup>**</sup>
<b>Resíduos</b>	21	5,58		



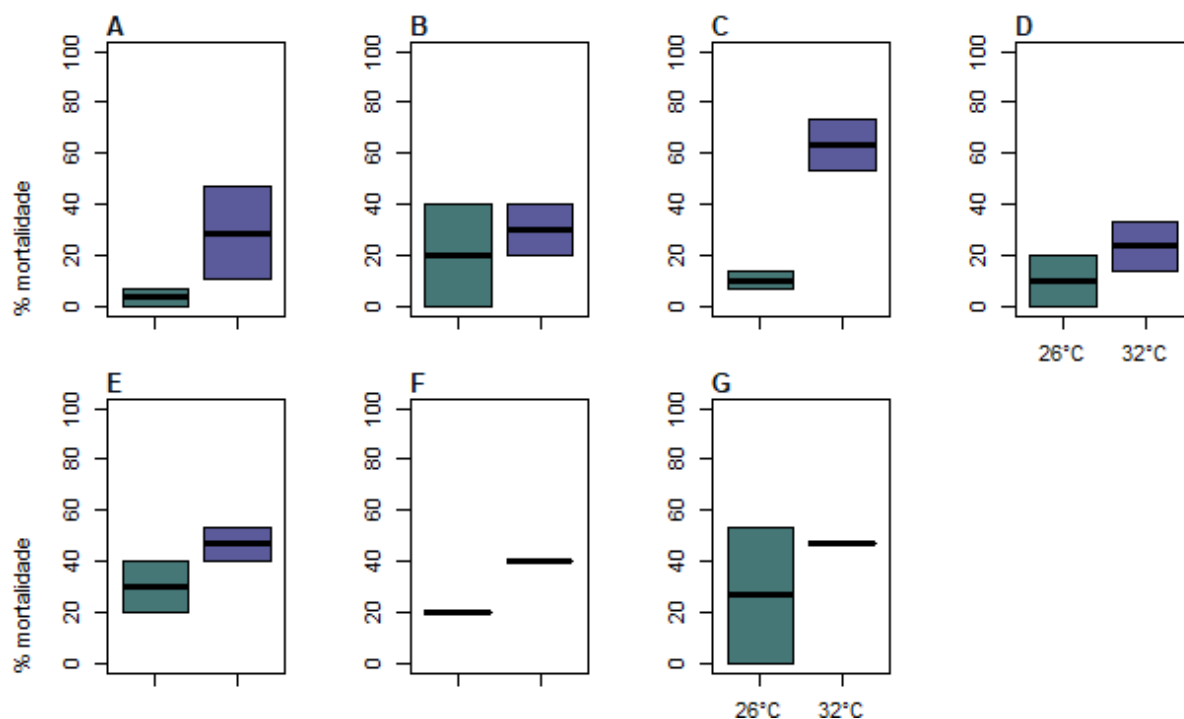


Figura 3: Boxplot da mortalidade (%) das larvas de *Agaricia humilis* após as simulações de ambientes estressores. A=controle, B=nitrato em baixa concentração, C=nitrato em alta concentração, D=amônia em baixa concentração, E=amônia em alta concentração, F=mistura de baixa concentração de nitrato e amônia, G=mistura de alta concentração de nitrato e amônia

Embora não significativa, se observou uma tendência a maiores taxas de mortalidade nos tratamentos em que altas concentrações de nutrientes eram administradas conjuntamente a altas temperaturas (Figura 3).

Do total de larvas, observou-se que 4,59% e 6,04% das larvas recrutaram nos aquários com 32°C e 26 °C, respectivamente, após os quatro dias de experimento. Adicionalmente, constatou-se que apenas os nutrientes causaram dano oxidativo significativo nas larvas de *A. humilis* (Tabela 3).

Tabela 3: ANOVA para as análises de LPO das larvas. GL = graus de liberdade; MQ = Quadrado médio.  $Pr > F$  a 0,05

	GL	QM	F	P valor
<b>Nitrato</b>	2	2,88	3,84	0,041
<b>Amônio</b>	2	1,70	2,27	0,132
<b>Temperatura</b>	1	0,130	0,174	0,681
<b>Resíduos</b>	18	5,58		

As larvas submetidas aos tratamentos de nutrientes em baixa concentração apresentaram maior dano quando submetidos a altas temperaturas, com exceção da amônia que não apresentou variação em relação as temperaturas testadas. Já para as larvas submetidas aos tratamentos de nutrientes em alta concentração apresentaram maior dano quando submetidas a baixa temperatura (Figura 4). Em suma: em alta temperatura apresentaram as maiores taxas de mortalidade, contudo, os indivíduos que sobreviveram nos tratamentos de menor temperatura tiveram mais dano oxidativo nos tratamentos de alta concentração de NID.

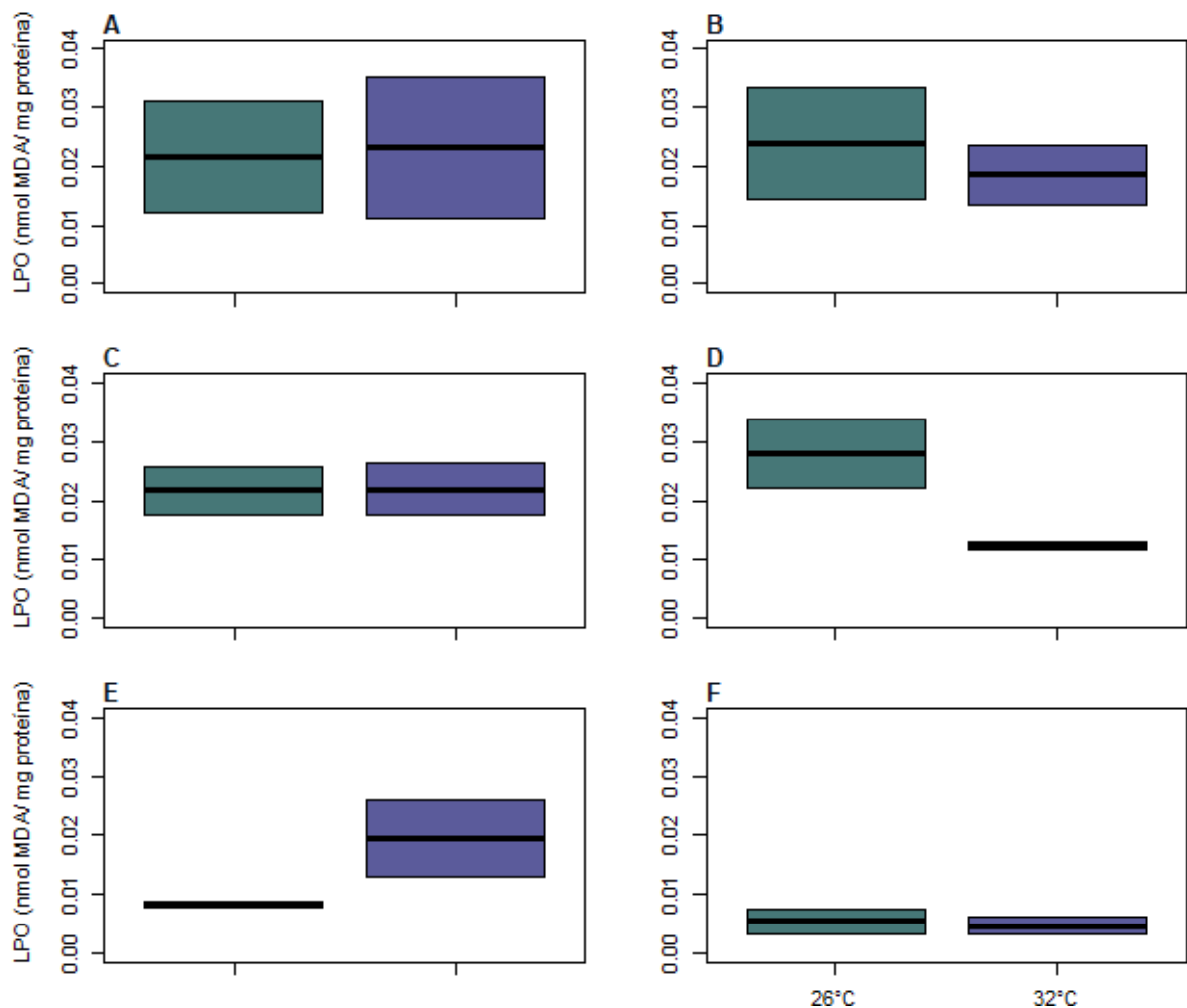


Figura 4: Boxplot da LPO das larvas de *Agaricia humilis* após as simulações de ambientes estressores. A=nitrato em baixa concentração, B=nitrato em alta concentração, C=amônio em baixa concentração, D=amônio em alta concentração, E=mistura de baixa concentração de nitrato e amônio, F=mistura de alta concentração de nitrato e amônio

#### 4 Discussão

O presente trabalho se propôs, de forma inovadora, usar valores de nutrientes obtidos *in situ*, mais especificamente em poças de maré, para simular limites máximos e mínimos em um ambiente controlado com a finalidade de avaliar a tolerância de larvas de *Agaricia humilis* a exposição de diferentes concentrações de nutrientes e temperatura.

Embora medidos *in situ*, os nutrientes fosfato e nitrito não foram utilizados na avaliação de tolerância de *A. humilis* pois são nutrientes de ciclo mais lento e com efeitos menos perceptíveis para as larvas (PASEK, 2019; STÜEKEN *et al.*, 2016). Contudo, Rosset *et al.*, 2017 mostrou que o fosfato é um nutriente determinante no crescimento de pólipos de corais, devido ao fato de este nutriente limitar sua taxa de calcificação. Já o aumento da clorofila a está associado ao aumento da produtividade primária, incluindo o aumento da densidade de zooxantelas em corais, como relatado por Tanaka *et al.*, 2014. Um estudo de como a clorofila a induz o aumento na densidade de zooxantelas pode ser considerado em um experimento futuro.

Como nutrientes utilizou-se o amônio e o nitrato. O amônio é a forma mais reativa de nitrogênio, assim espera-se que seus valores possam ter grandes variações. Esse nutriente é tóxico a diversos organismos marinhos, (D'ANGELO e WIEDENMANN, 2014) e altas concentrações de amônio podem ter implicações ecológicas importantes nos ecossistemas aquáticos, pois no processo de nitrificação, a quantidade de oxigênio dissolvido diminui (WAGNER, 2011).

Como era de se esperar, os valores *in situ* para os nutrientes nitrogenados foram maiores na estação seca (verão), seus valores foram fundamentais para simular o estresse sofrido pelos corais durante essa época do ano. Também era esperado grandes variações para os nutrientes nitrogenados nas poças, uma vez que a quantidade dessas substâncias é regulada pelo fluxo de água, como argumentou Capone *et al.* 1992. Conforme indicado por Tanaka *et*

*al.*, 2014, em águas rasas como as de poças de maré os valores para nutrientes e temperatura tendem a ser maiores do que em outros locais do mar. Este estudo demonstrou, ainda que qualitativamente, como as larvas de corais presentes nesses ambientes reagem a situações extremas de nutrientes e temperatura.

A maior temperatura utilizada nos experimentos *ex situ*, com as larvas foi uma temperatura típica para o recife de Coroa Vermelha durante o verão. Este fato revela que os experimentos realizados foram relevantes para o entendimento de como os corais respondem a esta condição, o que condiz com o que pode ocorrer durante as mudanças climáticas globais.

Para todas as condições de nutrientes as larvas de corais apresentaram maior mortalidade a 32°, assim como observado por Krueger *et al.*, 2015, e ainda por Koop *et al.*, 2001, ao relatar um aumento na mortalidade em diversos organismos devido ao aumento de nutrientes. Isto indica que o aumento da temperatura dos oceanos pode levar ao aumento das taxas de mortalidade das larvas de corais. Embora não tenha sido realizado neste estudo, a densidade de zooxantelas das larvas também pode ter sido afetada, conforme observado por Tanaka *et al.*, 2014 e como relatou Serrano *et al.*, 2018 após observar o aumento nas taxas de mortalidade e respiração, atribuindo ao possível aumento na densidade dos simbiontes. Neste estudo foi que em todos os tratamentos de alta temperatura as larvas perderam coloração, indicando uma possível perda de zooxantela. Esta é uma observação importante, pois indica o branqueamento dos corais, conforme demonstrado por Fonseca *et al.*, 2017, o que pode comprometer os ambientes recifais, diminuindo sua área de cobertura.

O aumento de nutrientes, sobretudo os nitrogenados, pode estar associado ao aumento na densidade de zooxantela nos tecidos dos corais, conforme observado por Tanaka *et al.*, 2014. Isto aumenta o número de produção de espécies reativas de oxigênio pelo coral, que passa a responder mais severamente ao estresse, como já mostrado por Wooldridge, 2016. Isto nos fornece algumas explicações dos resultados de LPO observados no presente trabalho.

Embora a temperatura não tenha sido um efeito significativo no dano oxidativo, os nutrientes nitrogenados foram. Provavelmente o aumento dos nutrientes pode ter provocado o aumento na densidade de zooxantelas nas larvas *A. humilis*, que por sua vez induziram maior dano oxidativo, principalmente a 26°C, já que a 32° C pode ter ocorrido maior expulsão desses endossimbiontes, portanto, maior mortalidade e menor dano oxidativo.

Estes resultados sugerem que o aumento de nutrientes leva ao aumento do dano oxidativo em corais em decorrência do aumento da densidade de zooxantela em seus tecidos e que o aumento da temperatura leva ao aumento nas taxas de mortalidade dos corais. O aumento da produção de espécies reativas de oxigênio e, portanto, de dano oxidativo através do aumento da concentração de estressores pode ser visto nos trabalhos de Cima *et al.*, 2013; Downs *et al.*, 2002; Kteifan *et al.*, 2017; Marangoni *et al.*, 2017 e Vijayavel *et al.*, 2012. Em todos estes estudos houve o aumento do dano oxidativo conforme o aumento da concentração do estressor, como o cobre, por exemplo.

Os resultados observados neste trabalho trazem uma importante reflexão acerca do futuro das comunidades coralíneas frente as mudanças climáticas. Isto porque resistir às condições estressoras não significa que os indivíduos não sofram danos fisiológicos. Além disso, não se sabe o que esses danos fisiológicos podem representar em relação à transmissão destas características aos descendentes desses indivíduos, ou seja quais alterações no ecossistema de fato estão associadas às mudanças climáticas e ao aumento de NID nos oceanos.

O presente trabalhado foi pautado nas respostas de larvas de corais a situações extremas de NID e de temperatura nas taxas de mortalidade e LPO. Outras respostas tais como densidade de zooxantelas, dano ao DNA, atividades enzimáticas, atividade fotossintética, entre outras podem ser consideradas em trabalhos futuros.

## **5 Conclusão**

A produtividade primária na região do estudo foi maior na estação seca, o que pode estar relacionado com o aumento do turismo local. Os valores mínimo e máximo dos nutrientes nitrato e amônia foram utilizados em uma simulação de ambiente estressor em duas condições de temperatura. Larvas do coral *Agaricia humilis* foram expostas aos ambientes estressores por quatro dias. Esse tempo foi suficiente para observar altas taxas de mortalidade, de até 78%, nos experimentos de alta concentração de nitrato,  $8,5 \mu\text{mol L}^{-1}$  a  $32^\circ\text{C}$ . Houve evidências de um maior dano oxidativo nas larvas sobreviventes nadantes livres nos tratamentos de baixa temperatura. Estes resultados mostram que embora altas temperaturas aumentem a mortalidade dos indivíduos, os que resistem a essa condição podem ser acometidos por dano oxidativo.

## **Agradecimentos**

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências e Tecnologias Ambientais da Universidade Federal do Sul da Bahia e do Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia, através de bolsa de mestrado concedido com a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB). Ao Projeto Coral Vivo, através do suporte de infraestrutura, pessoal e recurso financeiro concedido pela Petrobrás por meio do Programa Petrobras Socioambiental da Rede Biomar. Ao Eco Parque pela infraestrutura para realização dos ensaios no microcosmo marinho.

## Referências

ALLISON, N.; COLE, C.; HINTZ, C.; HINTZ, K.; RAE, J.; FINCH, A. The effect of ocean acidification on tropical coral calcification: Insights from calcification fluid DIC chemistry.

**Chemical Geology** 497, 162–169, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2018.09.004>

APHA, AWWA, WEF. **Standard Methods for examination of water and wastewater**. 22nd ed. Washington: American Public Health Association; 2012, 1360 pp. ISBN 978-087553-013-0.

BACELAR, A. J. de F. **Aquários marinhos de recifes de corais**. São Paulo: Nobel, 1997.

BARNES, R. P.; FOUQUEREL, E.; OPRESKO, P. L. The impact of oxidative DNA damage and stress on telomere homeostasis. **Mechanisms of Ageing and Development** 177, 37–45, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2018.03.013>

CASTRO, C. B. Mudanças Climáticas. In: Gerling, C.; Ranieri, C.; Fernandes, L.; Gouveia, M. T. J.; Rocha, V. (Org.). **Manual de ecossistemas marinhos e costeiros para educadores**. 1ed. Santos: Editora Comunicar, 2016, v.1, p. 44-45

CAMPANILI, M; SCHAFFER, W, B. **Mata Atlântica: patrimônio nacional dos brasileiros** / Ministério do Meio Ambiente. Secretaria de Biodiversidade e Florestas. Núcleo Mata Atlântica e Pampa – Brasília: MMA, 2010.

CAPONE, D. G.; DUNHAM, S. G.; HERRIGAN, S. G.; DUGUAY, L. E. Microbial nitrogen transformations in shallow, unconsolidated carbonate sediments. **Marine Ecology Progress Series** 80:75–88, 1992

CIMA, F.; FERRARI, G.; FERREIRA, N. G. C.; ROCHA, R. J. M.; SERÔDIO, J.; LOUREIRO, S.; CALADO, R. Preliminary evaluation of the toxic effects of the antifouling biocide Sea-Nine 211™ in the soft coral *Sarcophyton cf. glaucum* (Octocorallia, Alcyonacea) based on PAM fluorometry and biomarkers. **Marine Environmental Research**, 83, 16-22, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marenvres.2012.10.004>

CORREIA, M. D. **Ecosistemas marinhos: recifes, praias e manguezais**. Maceió: EDUFAL, 2005

COSTA Jr, O. S.; ATTRILL, M. J.; NIMMO, M. Seasonal and spatial controls on the delivery of excess nutrients to nearshore and offshore coral reefs of Brazil. **Journal of Marine Systems** 60 , 63 – 74, 2006. <https://doi:10.1016/j.jmarsys.2005.11.006>

COSTA Jr, O. S.; NIMMO, M.; ATTRILL, M. J. Coastal nutrification in Brazil: A review of the role of nutrient excess on coral reef demise. **Journal of South American Earth Sciences** 25, 257–270, 2008. <https://doi:10.1016/j.jsames.2007.10.002>



D'ANGELO, C.; WIEDENMANN, J. Impacts of nutrient enrichment on coral reefs: new perspectives and implications for coastal management and reef survival. **Current Opinion in Environmental Sustainability** 7, 82–93, 2014.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.cosust.2013.11.029>

DOWNS, C.A.; FAUTH, J.E.; HALAS, J. C.; DUSTAN, P.; BEMISS, J.; WOODLEY, C.M. Oxidative stress and seasonal coral bleaching. **Free Radical Biology & Medicine**, Vol. 33, 4, 533–543, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(02\)00907-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(02)00907-3)

DUBINSKY, Z.; JOKIEL, P. L. Ratio of energy and nutrient fluxes regulates symbiosis between zooxanthellae and corals. **Pacific Science** 48, 313-324, 1994.

FEDERICI, G. SHAW, B. J.; HANDY, R. D. Toxicity of titanium dioxide nanoparticles to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Gill injury, oxidative stress, and other physiological effects. **Aquatic Toxicology** 84, 415–430, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.07.009>

FERRERA, C. M.; WATANABE, A.; MIYAJIMA, T.; DIEGO-MCGLONE, M. L. S.; MORIMOTO, N.; UMEZAWA, Y.; HERRERA, E.; TSUCHIYA, T.; YOSHIKAI M.; NADAOKA, K. Phosphorus as a driver of nitrogen limitation and sustained eutrophic conditions in Bolinao and Anda, Philippines, a mariculture-impacted tropical coastal area.

**Marine Pollution Bulletin** 105, 237-248, 2016.

<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.02.025>

FONSECA, J. da S.; MARANGONI, L. F. de B.; MARQUES, J. A.; BIANCHINI, A. Effects of increasing temperature alone and combined with copper exposure on biochemical and physiological parameters in the zooxanthellate scleractinian coral *Mussismilia harttii*.

**Aquatic Toxicology** 190, 121-132, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.07.002>

GARDNER, S. G.; RAINA, J.; NITSCHKE, M. R.; NIELSEN, D. A.; STAT, M.; MOTTI, C. A.; RALPH, P. J.; PETROU, K. A multi-trait systems approach reveals a response cascade to bleaching in corals. **BMC Biology** 15-117, 2017. <https://doi.org/10.1186/s12915-017-0459-2>

GENTHE, B.; KFRR, R.; FRANCK, M. Microbial quality of a marine tidal pool. **Water Science and Technology** 31, 299-302. 1995. [https://doi.org/10.1016/0273-1223\(95\)90584-X](https://doi.org/10.1016/0273-1223(95)90584-X)

INMET, INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. Dados de pluviosidade estação automática de Porto Seguro. Disponível em: [www.inmet.gov.br](http://www.inmet.gov.br). Acesso em 30 abril de 2017.

JONES, R. J. Changes in zooxanthellar densities and chlorophyll concentrations in corals during and after a bleaching event. **Marine Ecology Progress Series**. Vol. 158: 51-59, 1997.  
<https://doi.org/10.3354/meps158051>

KOOP, K.; BOOTH, D.; BROADBENT, A.; BRODIE, J.; BUCHER, D.; CAPONE, D.; COLL, J.; DENNISON, W.; ERDMANN, M; HARRISON, P; HOEGH-GULDBERG, O.; HUTCHINGS, P.; JONES, G. B.; LARKUM, A. W. D.; O'NEIL, J.; STEVEN, A.; TENTORIS, E.; WARD, S.; WILLIAMSON, J.; YELLOWLEES, D. ENCORE: the effect of nutrient enrichment on coral reefs. synthesis of results and conclusions. *Marine Pollution Bulletin* Vol. 42, No 2, pp. 91-120, 2001. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(00\)00181-8](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(00)00181-8)

KRUEGER, T.; HAWKINS, T. D.; BECKER, S.; PONTASCH, S.; DOVE, S.; HOEGH-GULDBERG, O.; LEGGAT, W.; FISHER, P. L.; DAVY, S. K.; Differential coral bleaching—Contrasting the activity and response of enzymatic antioxidants in symbiotic partners under thermal stress. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A** 190, 15–25, 2015.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpa.2015.08.012>

KTEIFAN, M.; WAHSHA, M.; AL-HORANI, F. A. Assessing stress response of *Stylophora pistillata* towards oil and phosphate pollution in the Gulf of Aqaba, using molecular and biochemical markers. **Chemistry and Ecology** VOL. 33, 4, 281–294, 2017.  
<http://dx.doi.org/10.1080/02757540.2017.1308500>

LESSER, M. P. Oxidative stress in marine environments: biochemistry and physiological ecology. **Annual Review of Physiology** 68, 253-278, 2006.

<https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.68.040104.110001>

MARANGONI, L. F. de B.; MARQUES, J. A.; BIANCHINI, A. **Fisiologia de corais: a simbiose coral-zooxantela, o fenômeno de branqueamento e o processo de calcificação**. In *Conhecendo os recifes brasileiros: Rede de pesquisas Coral Vivo*, Zilberberget al. Rio de Janeiro, Museu Nacional, UFRJ, 2016.

MARANGONI, L. F. de B.; MARQUES, J. A.; DUARTE, G. A. S.; PEREIRA, C. M.; CALDERON, E. N.; CASTRO, C. B.; BIANCHINI, A. Copper effects on biomarkers associated with photosynthesis, oxidative status and calcification in the Brazilian coral *Mussismilia harttii* (Scleractinia, Mussidae). **Marine Environmental Research** 130, 248-257, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marenvres.2017.08.002>

MORSE, D. E.; HOOKER, N.; MORSE, A. N. C.; JENSEN, R. A. Control of larval metamorphosis and recruitment in sympatric agariciid corals. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 116, 193-217, 1988. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(88\)90027-5](https://doi.org/10.1016/0022-0981(88)90027-5)

MUNIZ-ANGUIANO, D.; VERDUZCO-ZAPATA, M.; LINAN-CABELLO, M. A. Factores asociados a la respuesta de *Pocillopora* spp. (Anthozoa: Scleractinia) durante un proceso de

restauración en la costa del Pacífico mexicano. **Revista de Biología Marina y Oceanografía** 52, N°2: 299-310, 2017. <https://doi.org/10.4067/S0718-19572017000200009>

NELSON, D. L., COX, M. M. Lehninger. **Principios de Bioquímica**. 4. ed. São Paulo: Sarvier, 2006

OAKLEY, C. A.; DURAND, E.; WILKINSON, S. P.; PENG, L.; WEIS, V. M.; GROSSMAN, A. R.; DAVY, S. K. Thermal shock induces host proteostasis disruption and endoplasmic reticulum stress in the model symbiotic cnidarian *Aiptasia*. **Journal of Proteome Research** 16, 2121–2134, 2017. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.6b00797>

PASEK, M. A role for phosphorus redox in emerging and modern biochemistry. **Current Opinion in Chemical Biology** 49, 53–58, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2018.09.018>

R Core Team (2018). R: **A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>

ROSSET, S.; WIEDENMANN, J.; REED, A. J.; D'ANGELO, C. Phosphate deficiency promotes coral bleaching and is reflected by the ultra-structure of symbiotic dinoflagellates. **Marine Pollution Bulletin** 118, 180-187, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.02.044>

SERRANO, X. M.; MILLER, M. W.; HENDEE, J. C.; JENSEN, B. A.; GAPAYAO, J. Z.; PASPARAKIS, C.; GROSELL, M.; BAKER, A. C. Effects of thermal stress and nitrate enrichment on the larval performance of two Caribbean reef corals. *Coral Reefs* 37, 173–182, 2018. <https://doi.org/10.1007/s00338-017-1645-y>

SHRIVER, D. F.; ATKINS, P. W.; LANGFORD, C.H. **Inorganic Chemistry**. 2nd. ed. Oxford : Oxford University Press, 1994.

SOLOMONS, G. **Química Orgânica** 8 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2006.

STÜEKEN, E. E.; KIPP, M. A.; KOEHLER, M. C.; BUICK, R. The evolution of Earth's biogeochemical nitrogen cycle. **Earth-Science Reviews** 160, 220–239, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.earscirev.2016.07.007>

TANAKA, Y.; INOUE, M.; NAKAMURA, T.; SUZUKI, A.; SAKAI, K. Loss of zooxanthellae in a coral under high seawater temperature and nutrient enrichment. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 457, 220–225, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jembe.2014.04.019>

TSANG, R. H. L.; ANG Jr, P. Resistance to temperature stress and *Drupella* corallivory may promote the dominance of *Platygyra acuta* in the marginal coral communities in Hong Kong.

**Marine Environmental Research** 144, 20–27, 2019.

<https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.11.009>

VIJAYAVEL, K.; DOWNS, C. A.; OSTRANDER, G. K.; RICHMOND, R. H. Oxidative DNA damage induced by iron chloride in the larvae of the lace coral *Pocillopora damicornis*.

**Comparative Biochemistry and Physiology, Part C** 155, 275–280, 2012.

<https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2011.09.007>

WAGNER, S. C. Biological Nitrogen Fixation. **Nature Education Knowledge** 3(10):15, 2011.

WEIS, V.M. Cellular mechanisms of Cnidarian bleaching: stress causes the collapse of symbiosis. **The Journal of Experimental Biology**, 211, 3059-3066, 2008.

<https://doi.org/10.1242/jeb.009597>

WOOLDRIDGE, S. A. Excess seawater nutrients, enlarged algal symbiont densities and bleaching sensitive reef locations: 1. Identifying thresholds of concern for the Great Barrier Reef, Australia. **Marine Pollution Bulletin** xx, xxx–xxx, 2016.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.04.054>

WU, Y.; ZHOU, Z.; WANG, J.; LUO, J.; WANG, L.; ZHANG, Y. Temperature regulates the recognition activities of a galectin to pathogen and symbiont in the scleractinian coral *Pocillopora damicornis*. **Developmental and Comparative Immunology** 96, 103–110, 2019.

<https://doi.org/10.1016/j.dci.2019.03.003>

YUAN, X.; GUO, Y.; CAI, W.; HUANG, H.; ZHOU, W.; LIU, S. Coral responses to ocean warming and acidification: Implications for future distribution of coral reefs in the South China Sea. **Marine Pollution Bulletin** 138, 241–248, 2019.

<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.11.053>

ZEMA, D. A.; LUCAS-BORJA, M. E.; CARRÀ, B. G.; DENISI, P.; RODRIGUES, V. A.; RANZINI, M.; ARCOVA, M. C. S.; CICCIO, V. de.; ZIMBONE, S. M. Simulating the hydrological response of a small tropical forest watershed (Mata Atlantica, Brazil) by the ANNAGNPS model. *Science of the Total Environment* 636, 737–750, 2018.

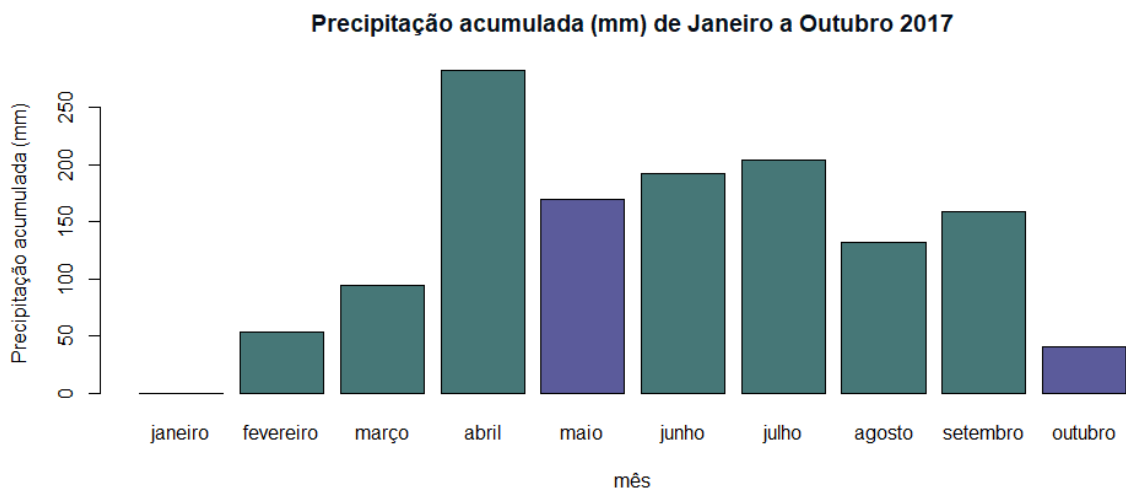
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.339>



## Anexo

*Tabela 1:* Pontos de coleta de água das poças de maré ao longo do Recife de Arenito com suas respectivas coordenadas geográficas

<i>Pontos</i>	<i>Coordenadas</i>		<i>Pontos</i>	<i>Coordenadas</i>	
	Latitude	Longitude		Latitude	Longitude
01	-16.339378	-39.000975	06	-16.343001	-39.002417
02	-16.340112	-39.001409	07	-16.343772	-39.002531
03	-16.340957	-39.001779	08	-16.344446	-39.002659
04	-16.341642	-39.002047	09	-16.345168	-39.002761
05	-16.342291	-39.002225	10	-16.346123	-39.002787



*Figura 1:* Dados da precipitação acumulada em Porto Seguro no período de janeiro a outubro de 2017, com destaque para os meses em que as análises de águas de poças de maré foram conduzidas. Fonte de dados: INMET, 2017.

## **CONCLUSÃO GERAL**

Este trabalho se propôs a coletar evidências de estresse oxidativo e efeitos na mortalidade de larvas de corais durante episódios de estresse ambiental, tais como o aumento de nutrientes e de temperatura. Ao longo do estudo percebeu-se que ainda são poucos os trabalhos com este enfoque. Percebeu-se que, de fato, há um aumento das taxas de mortalidade das larvas de corais quando estas são submetidas a altas temperaturas (32°C) e altas concentrações de nutrientes. O aumento de nutrientes é um estressor ambiental que foi observado no período seco (verão), devido provavelmente, ao aumento do turismo no local. Foi observado ainda que as larvas que sobreviveram em condições de temperatura mais baixa (26°C) tiveram o maior dano oxidativo. Os resultados deste trabalho evidenciam a importância do monitoramento ambiental, em particular ao monitoramento dos corais nos para avaliação dos efeitos locais e globais nos ecossistemas recifais.