



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR - LABOMAR**  
**CURSO DE CIÊNCIAS AMBIENTAIS**

**JANAINA PEREIRA DA SILVA**

**ESTUDO DA DIVERSIDADE DE VIBRIOS NA MICROBIOTA DO CORAL**  
***Siderastrea stellata* PRESENTE EM AMBIENTES DE RECIFES DE ARENITO NA**  
**COSTA DE FORTALEZA-CEARÁ.**

**FORTALEZA**

**2021**

JANAINA PEREIRA DA SILVA

ESTUDO DA DIVERSIDADE DE VÍBRIOS NA MICROBIOTA DO CORAL *Siderastrea stellata* PRESENTE EM AMBIENTES DE RECIFES DE ARENITO NA COSTA DE FORTALEZA-CEARÁ.

Monografia apresentada ao Curso de Ciências Ambientais do Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR) da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Ambientais.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Francisca Gleire Rodrigues de Menezes.

FORTALEZA

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

---

P492e Pereira da Silva, Janaina.

Estudos da diversidade de víbrios na microbiota do coral *Siderastrea stellata* presente em ambientes de recifes de arenito na costa de Fortaleza-Ceará. / Janaina Pereira da Silva. - 2021.  
58 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do Mar, Curso de Ciências Ambientais, Fortaleza, 2021.

Orientação: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Francisca Gleire Rodrigues De Menezes.

1. Gênero *Vibrio*. 2. *Vibrio coralliilyticus*. 3. patógenos. I. Título.

CDD 333.7

---

JANAINA PEREIRA DA SILVA

ESTUDO DA DIVERSIDADE DE VÍBRIOS NA MICROBIOTA DO CORAL *Siderastrea stellata* PRESENTE EM AMBIENTES DE RECIFES DE ARENITO NA COSTA DE FORTALEZA-CEARÁ.

Monografia apresentada ao Curso de Ciências Ambientais do Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR) da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Ambientais.

Aprovada em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_.

BANCA EXAMINADORA

---

Profa. Dra. Francisca Gleire Rodrigues de Menezes (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profa. Dra. Oscarina Viana de Sousa  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

MSc. Ana Vládila da Silva Oliveira  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus, pela minha vida, saúde, moradia e tudo que me deu, por me guiar em seus caminhos de paz e amor e nunca me desamparar.

Aos meus pais, Iraci Pereira e Francisco Marinho, por me apoiarem.

As minhas irmãs Ana, Adriana, Juliana, mulheres incríveis que me inspiram e sempre me apoiaram, e ao meu irmão Clécio, por todo carinho.

Ao meu namorado Edmilson, por todo amor, apoio, por nunca me deixar desistir, sempre me encorajar, e por toda ajuda nesse trabalho que foi essencial.

As minhas amigas de graduação Lígia Costa, Taynara Rabelo, Brenda Rocha e Ravena Santiago. Obrigada pela amizade, parceria, por todos os momentos de alegria, cuidado e união, durante esses anos.

Ao meu querido amigo Francisco José Mendes, o melhor professor de Geografia, contribuiu com minha aprovação na universidade e ajudou nos meus primeiros passos da graduação. Gratidão pela amizade, por todo apoio durante essa caminhada, e por sempre acreditar em mim.

A Profa. Dra. Francisca Gleire Rodrigues de Menezes por ter me acolhido no Laboratório de Microbiologia, pela oportunidade da bolsa de Iniciação Científica, orientação e atenção que destinou a mim enquanto sua orientanda.

Dra. Fátima Cristiane Teles e Anna Luisa de Carvalho Brito, pelos ensinamentos no laboratório e por todo carinho, sendo pessoas incríveis.

Ao Prof. Dr. Marcelo de Oliveira Soares pela atenção e recomendações ao trabalho.

Ao Dr. Rafael Rocha pelo auxílio nas técnicas de biologia molecular e ao Centro de Diagnóstico de Enfermidades de Organismos Aquáticos (CEDECAM) onde foram realizadas as análises moleculares.

Aos meus companheiros de laboratório Robério Freitas, Igor Dantas, Ariele Rodrigues, Evelyne Alves, Raquel Cavalcante, Gabriel Bezerra, Jhones Vieira, João Pedro, Yasmim Girão, Eduarda Torres e Tereza Martins. Em especial, Daniel Borges, Larissa Nunes, Ivis Coutinho e Alexandra Sampaio, por todo apoio neste trabalho. Obrigada por todo carinho e alegria, pelos ensinamentos, paciência e atenção dedicadas a mim.

Aos participantes da banca examinadora Prof.a Dra. Francisca Gleire Rodrigues de Menezes, Prof.a Dra. Oscarina Viana de Sousa e Ana Vládla da Silva Oliveira pela disponibilidade, atenção e pelas valiosas colaborações e sugestões.

A Universidade Federal do Ceará, ao Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR), ao Laboratório de Microbiologia e do Pescado (LAMAP) e todos que estiveram presentes na minha caminhada.

## RESUMO

As comunidades de recifes de corais são ecossistemas de extrema relevância em termos de recursos biológicos, apresentando grande diversidade e importância para o equilíbrio dos ambientes marinhos. A espécie coralínea *Siderastrea stellata* é endêmica do Brasil, sendo comumente encontrada desde os estados do Maranhão até o Rio de Janeiro. Assim como as outras comunidades de corais, *S.stellata* tem sofrido perdas significativas devido a ação combinada de fatores naturais e antropogênicos, como o aparecimento de doenças, que podem estar sendo ocasionadas por bactérias. Os microrganismos pertencentes ao gênero *Vibrio* são patógenos oportunistas, proeminentes como causadores de doenças nos corais. Altas temperaturas podem levar a proliferação desses indivíduos, além de induzir fatores de virulência relacionados à motilidade, degradação dos tecidos do hospedeiro, secreção de enzimas e resistência a antimicrobianos. Diante disso, o objetivo da pesquisa foi verificar e comparar abundância de espécies de *vibrio* em amostras de água, e coral *Siderastrea stellata* branqueado e saudável, no recife de arenito entremarés situado na praia do Meireles, litoral de Fortaleza-CE. Foi utilizado o meio seletivo TCBS para quantificação e isolamento das cepas suspeitas de *Vibrio*, sendo também submetidas à técnica de coloração de Gram e identificação genotípica. Em geral, a temperatura e a salinidade não apresentaram variação nos meses amostrados. A densidade dos microrganismos estudados foi significativamente maior no período de estiagem em todas as amostras, sendo mais abundante na água, quando comparada às amostras de corais. Na estação seca, os corais saudáveis apresentaram maior abundância de víbrios em comparação com os afetados, já na estação chuvosa, a contagem de corais branqueados foi mais elevada. Por meio de técnicas moleculares, o gênero *Vibrio* foi confirmado em todas as amostras. A espécie *Vibrio parahaemolyticus* foi identificada em uma cepa de coral saudável, e *Vibrio coralliilyticus* não foi detectado nas estirpes. Portanto, não foram identificadas espécies relatadas na literatura como patógenas de corais.

**Palavras-chave:** Gênero *Vibrio*. *Vibrio coralliilyticus*. patógenos.

## ABSTRACT

Coral reef communities are extremely important ecosystems in terms of biological resources, presenting great diversity and importance for the balance of marine environments. The coral species *Siderastrea stellata* is endemic to Brazil and is commonly found from Maranhão to Rio de Janeiro. Like other communities, this species has suffered significant losses due to the combined action of natural and anthropogenic factors, such as the appearance of diseases, which may be caused by bacteria. Bacteria of the genus *Vibrio* are opportunistic pathogens, prominent as causing disease in corals. High temperatures can lead to the proliferation of these bacteria, in addition to inducing virulence factors related to motility, degradation of host tissues, secretion of enzymes and resistance to antimicrobials. Therefore, the objective of the research was to verify and compare the abundance of *vibrio* in water samples, and the whitened and healthy coral *Siderastrea stellata*, in the intertidal sandstone reef located at Meireles beach, coast of Fortaleza-CE. The TCBS selective medium was used to quantify and isolate suspicious *Vibrio* strains, and were also subjected to the gram staining technique and genotypic identification. In general, temperature and salinity did not change in the sampled months. The density of *Vibrio* ssp. was significantly higher in the dry season in all samples, being more abundant in water compared to coral samples. Bleached corals showed higher *Vibrios* density in the rainy season and healthy corals in the dry season. The *Vibrio* genus was confirmed in all samples using molecular techniques, and potentially pathogenic coral species were not identified.

**Keywords:** Genus *Vibrio*. *Vibrio coralliilyticus*. pathogens.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - A: Colônia do coral <i>S. stellata</i> sadia. B: Colônia pálida. C: Colônia branqueada. D: Colônia roxa.....	19
Figura 2 - Mapa de localização da faixa litorânea de recifes de arenito entremarés, em Fortaleza – CE.....	24
Figura 3 - Poças de marés do recife de arenito ferruginoso da Volta da Jurema na Praia do Meireles, Fortaleza-CE. B: Vista do recife de arenito a partir da galeria pluvial. C: Galeria pluvial próxima ao recife. D: Galeria pluvial vista a partir do recife.....	25
Figura 4 - Fluxograma da semeadura das amostras de água coletadas na praia do Mucuripe, Fortaleza, Ceará.....	28
Figura 5 - Fluxograma da semeadura das amostras de coral coletadas na praia do Mucuripe, Fortaleza, Ceará.....	29
Figura 6 - Imagem do microscópio revelando os atributos das estirpes e a variação entre A: bastonetes médio e B: bastonetes curtos.....	36
Figura 7 - Eletroforese do PCR das 21 cepas isoladas da primeira coleta para confirmação genotípica do gênero <i>Vibrio</i> .....	37
Figura 8 - Eletroforese do PCR das 21 cepas isoladas da primeira coleta para confirmação genotípica da espécie <i>V. coralliilyticus</i> .....	39
Figura 9 - Eletroforese das 21 cepas isoladas da primeira coleta para confirmação genotípica da espécie <i>V. parahaemolyticus</i> .....	41

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Dados pluviométricos, chuva acumulada durante os dias do mês de novembro de 2019.....	26
Gráfico 2 - Dados pluviométricos, chuva acumulada durante os dias do mês de março de 2020.....	26

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Iniciadores e condições de termociclagem na investigação molecular das cepas para Gênero <i>Vibrio</i> ssp. e espécies <i>V. coralliilyticus</i> e <i>V. parahaemolyticus</i> .....	31
Tabela 2 - Composições e concentrações dos produtos utilizados nas reações de PCR.....	31
Tabela 3 - Contagem Padrão em Placa (CPP) de <i>Vibrio</i> ssp. total presente nas amostras de água, coral branqueado e saudável das duas coletas realizadas.....	34

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Principais doenças de corais relacionadas a espécies do gênero <i>Vibrio</i> .....	21
---	----

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	12
2	OBJETIVOS .....	14
2.1	Objetivo Geral .....	14
2.2	Objetivos Específicos .....	14
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	15
3.1	Ecossistemas Recifais .....	15
3.2	Recifes no Brasil e no Ceará .....	17
3.3	O coral <i>Siderastrea stellata</i> .....	18
3.4	Caracterização do gênero <i>Vibrio</i> e seu papel nas doenças de corais .....	20
3.5	<i>Vibrio coralliilyticus</i> e os fatores de virulência .....	22
4	MATERIAIS E MÉTODOS .....	24
4.1	Área de estudo .....	24
4.2	Coleta das amostras .....	27
4.2.1	Determinação da temperatura e salinidade da água .....	27
4.3	Preparo das amostras e suas diluições .....	27
4.3.1	Amostra de água .....	27
4.3.2	Amostra de coral .....	28
4.4	Isolamento e quantificação de <i>Vibrio</i> ssp. ....	29
4.5	Identificação Morfológica .....	29
4.5.1	Coloração de Gram .....	30
4.6	Identificação genotípica dos isolados .....	30
4.6.1	Extração de DNA cromossômico .....	30
4.6.2	Amplificação por Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) para o gênero <i>Vibrio</i> .....	30
4.6.3	Visualização dos produtos da extração e do PCR .....	32
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	33

<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>43</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>44</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os recifes de corais são estruturas rochosas resistentes à ação mecânica das correntes marinhas. Nessas estruturas são encontrados organismos de origem animal e vegetal que possuem esqueleto calcário (CASTRO; HUBER, 2012). São ecossistemas de extrema relevância em termos de recursos biológicos, apresentando grande diversidade de organismos, como: peixes, moluscos, crustáceos, entre outros (VILLAÇA, 2009).

Os corais dispõem de uma complexa assembleia simbiótica formada por pólipos, algas unicelulares e microrganismos (KREDIET *et al.*, 2013). A relação simbiótica mais comum é entre as zooxantelas e os corais. As zooxantelas, residem dentro das células especializadas de pólipos contribuindo na nutrição dos corais por meio dos pigmentos fotossintéticos, já os corais garantem abrigo a estes microrganismos unicelulares. Quando expostos a estresse de temperatura e irradiação solar, os corais ejetam as zooxantelas, resultando na descoloração do tecido, o que pode torná-los susceptíveis a desnutrição, doenças e infecções (CASTRO; HUBER, 2012).

Os corais escleractíneos possuem estreita relação com uma gama de bactérias que estão presentes no muco, esqueleto e tecidos desses organismos. Sendo a microbiota um importante agente na manutenção de mecanismos que beneficiam o coral, como a fotossíntese, fixação de nitrogênio, digestão de macromoléculas e a prevenção de enfermidades. Por outro lado, alguns microrganismos podem causar síndromes e doenças sob condições estressantes do ambiente (ROSENBERG *et al.*, 2007). Uma delas é o branqueamento, que pode estar relacionada com a infecção por bactérias do gênero *Vibrio* (MUNN, 2015).

Dentre as espécies desse gênero, destaca-se *Vibrio coralliilyticus* como um importante agente etiológico de doenças nos corais. Sendo relacionado à patogenia da espécie de *Pocillopora damicornis* (BEN-HAIM; ROSENBERG, 2002; BEN-HAIM *et al.*, 2003). Acredita-se que a espécie seja uma das causas do branqueamento. Foi demonstrado, experimentalmente, que a infecção por *V. coralliilyticus* causa uma diminuição na densidade das zooxantelas simbióticas e do conteúdo de clorofila, além disso, ocasionam eventos líticos que levam a morte do hospedeiro, sendo a infecção e a regulação de um grande número de fatores de virulência, dependentes de altas temperaturas (KIMES *et al.*, 2012; VIDAL-DUPIO *et al.*, 2011; ZHOU *et al.*, 2019).

Nesse contexto, considerando os impactos das mudanças climáticas, o aumento da temperatura da superfície do mar (TSM) é o efeito mais imediato, podendo promover a proliferação e surtos de doenças em organismos marinhos relacionados a patógenos oportunistas (VEZZULLI *et al.*, 2012).

Segundo Cheng e colaboradores (2020), o ano de 2019 foi o ano recorde de temperatura média dos oceanos já registrada. A anomalia de calor do oceano foi de 288 Zetta Joules, acima da média dos valores obtidos entre os anos de 1981 e 2010. Além disso, segundo o Relatório Especial Sobre o Oceano e a Criosfera em uma Mudança Climática do IPCC (Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas) os oceanos já absorveram mais de 90% do calor gerado pelo aquecimento do planeta. De acordo com as projeções climáticas deste relatório, o oceano continuará a aquecer ao longo do século XXI, e no final de 2100 a superfície oceânica absorverá entre duas e quatro vezes mais calor se o aquecimento global estiver limitado a 2°C e até sete vezes mais, considerando cenários de altas emissões. (ABRAM *et al.*, 2019).

Portanto, devido às mudanças climáticas globais, o aumento da degradação dos corais e considerando que os víbrios são patógenos oportunistas capazes de atacar o sistema de defesa e causar doenças nos corais sob condições de estresse ambiental, essa pesquisa se justifica por meio da análise da diversidade de espécies do gênero *Vibrio* em uma espécie de coral (*Siderastrea stellata*), presente na costa do Ceará, que vem sofrendo com eventos de branqueamento. Obtendo uma compreensão mais profunda dos motivos subjacentes à origem deste fenômeno e às ações que devem ser tomadas para prevenir, controlar ou reduzir seus impactos.



## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Analisar a abundância e a presença de membros do gênero *Vibrio* na água e na microbiota do coral *Siderastrea stellata*, branqueado e saudável, presente em um recife de arenito situado na praia do Meireles, faixa litorânea da cidade de Fortaleza, estado do Ceará.

### 2.2 Objetivos Específicos

- I. Comparar a diversidade do gênero *Vibrio* na água, no tecido de corais saudáveis e branqueados.
- II. Comparar a diversidade do gênero *Vibrio* mostrado em períodos de estio e chuva.
- III. Identificar as espécies isoladas nas amostras por meio de genotipagem.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Ecossistemas Recifais

Os recifes de corais são estruturas rochosas constituídas por carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ) que apresentam grande diversidade de organismos marinhos, dentre os quais destacam-se as comunidades de corais bioconstrutores que apresentam papel fundamental na formação desses ambientes (SHEPPARD *et al.*, 2018).

Esses organismos são cnidários, pertencentes principalmente ao grupo dos escleractíneos (classe Anthozoa) e dos hidrocorais (classe Hydrozoa) (HICKMAN JR. *et al.*, 2016). Predominam em regiões tropicais e subtropicais, onde a temperatura média anual oceânica seja igual ou superior a  $20^\circ\text{C}$  (CASTRO; ZILBERBERG, 2016). E suportam temperaturas que variam em torno de  $30^\circ$  a  $35^\circ\text{C}$ , dependendo da região geográfica (CASTRO; HUBER, 2012).

Uma das principais características desses corais é a presença das zooxantelas, as quais são algas unicelulares que estão inseridas em seus tecidos e contribuem na nutrição e produção de carbonato de cálcio (MARANGONI *et al.*, 2016). Nessa associação de simbiose, enquanto o coral fornece gás carbônico e produtos inorgânicos para as algas, estas, garantem os produtos provenientes da fotossíntese, como também intensificam a taxa de calcificação dos corais, auxiliando na formação dos recifes. Os demais corais que não possuem zooxantelas são denominados de azooxantelados e não formam recifes (MARANGONI *et al.*, 2016; VILLAÇA, 2009).

A maior diversidade de espécies de corais estão presentes em águas rasas, pois necessitam de luz solar para sobreviver, visando aproveitar a fotossíntese das zooxantelas (SHEPPARD *et al.*, 2018). Além disso, outros fatores cruciais para a sobrevivência desses animais são a temperatura, a quantidade de sedimento e a salinidade. As águas turvas, comumente, impedem a penetração de luz e os sedimentos podem dificultar a fixação de novas larvas para determinadas espécies. Ademais, muitos corais são sensíveis à redução da salinidade (CASTRO; HUBER, 2012).

Quando exposto a estresse de temperatura e irradiação solar, o coral expõe grandes quantidades de muco visando proteger-se da insolação, como também, o organismo pode sofrer com o evento de branqueamento, causado pela ejeção da zooxantela, tornando-se suscetível a desnutrição, doenças e infecções. Após esse evento, o coral é capaz de se recuperar, contanto que as condições ambientais (como a temperatura) se normalizem. No caso de eventos sucessivos de

branqueamento ou estresse crônico os corais ficam suscetíveis a ter uma alta taxa de mortalidade (HUGHES *et al.*, 2018; LEÃO; KIKUCHI; OLIVEIRA, 2008; LEÃO *et al.*, 2016).

Os ambientes recifais apresentam grande diversidade biológica e importância para o equilíbrio ambiental das zonas costeiras e oceanos, como também, trazem benefícios sociais, econômicos e culturais para a sociedade. Estes ambientes equivalem às florestas tropicais terrestres e apresentam uma elevada biomassa e produtividade primária, abrigando cerca de 25% do total das espécies marinhas (ADEY, 2000).

Sendo assim, engloba alta diversidade genética, riqueza e abundância de organismos, fornecendo alimentos e contribuindo para uma teia alimentar bastante complexa, incluindo seres humanos que usufruem da pesca. Estima-se que mais de 500 milhões de habitantes de regiões costeiras tropicais fazem uso dos serviços ambientais que os recifes proporcionam (HUGHES *et al.*, 2018). Além disso, os recifes funcionam como barreira natural contra a erosão em consequência do elevado hidrodinamismo, e oferecem um alto potencial nas pesquisas de novos produtos biotecnológicos e farmacêuticos (VILLAÇA, 2009).

Por serem ambientes únicos e que necessitam de condições ambientais específicas, os recifes sofrem bastante com a degradação por fatores naturais (por exemplo, tsunamis) e principalmente antrópicos. Estima-se que 19% do total dos recifes já foram perdidos em todo o planeta e que nos próximos 10 a 40 anos, cerca de 35% possam estar em situação crítica, e até o final do século, cerca de 80% (HUGHES *et al.*, 2018; WILKINSON, 2008).

Os impactos negativos das ações antrópicas, cada vez mais, refletem na saúde dos ambientes recifais. A queima de combustíveis fósseis e o desmatamento aumentam as concentrações de gases do efeito estufa, intensificando o fenômeno do aquecimento global, as ondas de calor, o aumento do nível do mar e a acidificação dos oceanos que afetam diretamente a taxa de mortalidade desses organismos. Além disso, impactos locais tais como, contaminação química das águas por agrotóxicos e químicos industriais; despejo de efluentes; recebimento de grandes quantidades de sedimentos, devido ao assoreamento provocado pelo desmatamento, invasão de espécies exóticas, plásticos e a sobrepesca intensificam a degradação dos corais e dos ambientes recifais (CASTRO; ZILBERBERG, 2016).

### 3.2 Recifes no Brasil e no Ceará

Os recifes brasileiros se concentram na costa tropical nordestina, sendo o ecossistema de maior extensão e mais rico de todo sudoeste do Atlântico. Estendem-se por 3.000 km desde o litoral oeste do Amapá até o litoral de São Paulo. Neste contexto, apresentam recifes de formações bastante diversas, incluindo recifes de arenito, atóis, recifes de barreira, “chapeirões”, entre outras formações (LEÃO *et al.*, 2016; LEÃO; KIKUCHI; OLIVEIRA, 2019).

No estado do Ceará os recifes são pouco numerosos, em sua maioria são apenas simples rochas costeiras ou bancos de areia. A alta turbidez, sedimentação e temperatura, são importantes fatores para a não formação de recifes de corais verdadeiros (biogênicos) na costa semiárida, sendo esta constituída basicamente de comunidades de corais e organismos bentônicos sobre ambientes recifais, como os recifes de arenito, os quais apresentam destaque ao longo da costa (FECHINE, 2007; LEÃO *et al.*, 2016; LEÃO; KIKUCHI; OLIVEIRA, 2019; SOARES *et al.*, 2017).

As formações de recifes de arenitos, conhecidas como *beachrocks*, são corpos rochosos alongados e estreitos, dispostos paralelamente à linha costeira estendendo-se na direção do mar, constituídos por areias de praia cimentadas por carbonatos podendo conter seixos e restos de conchas (CEARÁ, 2006). Geralmente, apresenta espessura de dois metros e age como anteparo natural para dissipação das ondas, evitando a erosão das praias. No caso de elevação do nível do mar e submersão desses recifes, podem desempenhar um papel de fundação de recifes coralíneos (VILLAÇA, 2009).

Os *beachrocks* são ambientes bastante dinâmicos que formam microcosmos da vida marinha nas poças de marés, as quais apresentam altas taxas de salinidade, sedimentação, turbidez e temperatura, principalmente nas marés baixas (BARROS, 2019; GURGEL, 2019; LEGRAND *et al.*, 2018; LOIOLA *et al.*, 2019). Além disso, nesses ambientes, pode-se encontrar biodiversidade significativa de espécies adaptadas a essas condições, predominando animais e algas endêmicas do litoral brasileiro (LEÃO *et al.*, 2016). Alguns táxons significativos são as macroalgas marinhas, moluscos, crustáceos e cnidários (GURGEL, 2019; PORTUGAL, 2016; RABELO *et al.*, 2015).

Os *beachrocks* estão presentes na faixa litorânea do Ceará, nos municípios de Amontada, Aquiraz, Barroquinha, Camocim, Cascavel, Caucaia, Fortaleza, Itapipoca, Itarema, Paracuru e Trairi (SEMACE, 2016). No município de Fortaleza, ocorrem na desembocadura dos rios Cocó e Ceará, nas praias do Titã, Volta da Jurema, Poço da Draga e Leste Oeste (FECHINE, 2007).

Além dessas rochas de praia entremarés, a 10 milhas náuticas do Porto do Mucuripe, situa-se o Parque Estadual Marinho da Pedra da Risca do Meio (PEMPRIM), um ecossistema recifal submerso, com profundidades variando entre 16 e 30 m, constituído por areia e cascalho com agregação de algas, esponjas, corais e afloramentos rochosos (SOARES *et al.* 2011). Algumas espécies de corais relevantes, que ocorrem nos ecossistemas recifais, na costa cearense são *Siderastrea stellata*, *Montastraea cavernosa*, *Favia gravida*, *Mussismilia hispida*, *Palythoa caribaeorum* e *Zoanthus sociatus* (GURGEL, 2019; SOARES; TAVARES; CARNEIRO, 2018).

### 3.3 O coral *Siderastrea stellata*

A espécie de coral escleractíneo zooxantelado *Siderastrea stellata* é endêmica do Brasil, e é considerada uma das principais construtoras de recifes brasileiros. Estende-se desde os recifes da região Norte até o litoral do Rio de Janeiro (LEÃO *et al.*, 2016). Pode ser encontrada em recifes de arenito, nos ambientes de águas rasas nas poças de marés, como também em águas de profundidade mesofótica até cerca de 110 m de profundidade, dependendo da penetração da luz (SOARES *et al.*, 2017; SOARES *et al.*, 2019). Sendo estes fatores relacionados ao formato das colônias, pois em águas mais rasas as colônias geralmente apresentam-se arredondadas e em pequenos diâmetros (10 cm), enquanto em água mais profundas podem alcançar diâmetros maiores que 20cm (BARROS; PIRES, 2006).

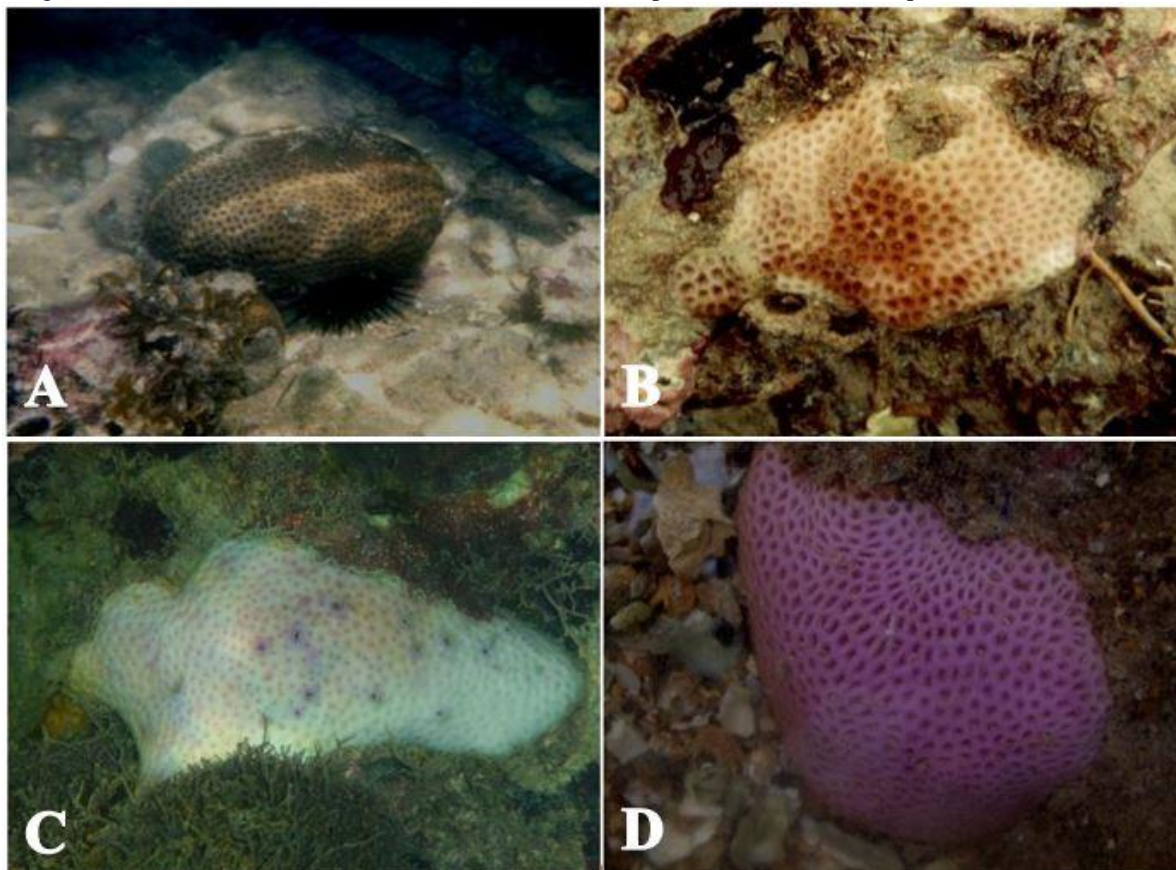
Os indivíduos dessa espécie são considerados bastante resistentes às variações de temperatura, salinidade, turbidez e a forte ação das ondas, sendo um importante indicador de estresse ambiental. Mesmo após eventos de branqueamento, apresentam rápida recuperação, o que faz dos recifes do Atlântico Sul (onde a espécie ocorre) um grande refúgio dos impactos das mudanças climáticas. (LONGO; CORREIA; MELLO, 2020; OIGMAN-PSZCZOL; CREED, 2011).

Dentre as estratégias para a rápida recuperação, está a associação com a zooxantela Clado C (gênero *Symbiodinium*), cujo grupo é considerado um dos mais resistentes ao branqueamento. Além disso, estratégias populacionais e reprodutivas, pois a espécie tende a formar colônias de pequeno diâmetro, em áreas sujeitas ao estresse, como também, tende a se reproduzir de forma precoce e incubar suas larvas (COSTA; SASSI; GORLACH-LIRA, 2008; SOARES *et al.*, 2019; TUNALA *et al.*, 2019).

No nordeste do Brasil, a espécie *S. stellata* apresenta colônias marrons, além de vários tipos de alterações na coloração desde o branqueamento até manchas brancas, rosas e roxas (Figura 1). Sendo geralmente causadas por estresse ambiental que afetam os indivíduos

(BARROS, 2019; NASCIMENTO, 2019; SANTANA; COSTA, 2009; SOARES; RABELO, 2014).

Figura 1 - A: Colônia do coral *S. stellata* sadia. B: Colônia pálida. C: Colônia branqueada. D: Colônia roxa.



Fonte: Santana e Costa (2009).

### 3.4 Caracterização do gênero *Vibrio* e seu papel nas doenças de corais

As espécies que constituem o gênero *Vibrio* são microrganismos presentes nos ambientes marinhos e estuarinos. São caracterizados como bacilos Gram negativos, não esporogênicos, anaeróbios facultativos e móveis, possuindo um flagelo polar (FARMER *et al.*, 2015; MADIGAN *et al.*, 2016). Geralmente apresentam ocorrência em águas quentes, sucedendo um aumento da abundância durante as estações mais quentes (VEZZULLI *et al.*, 2012).

As bactérias desse gênero exibem duas importantes estratégias de crescimento, podendo ser bacterioplâncton de vida livre ou viver em associações simbióticas com diversos organismos marinhos, tais como, corais, camarões, peixes, moluscos, esponjas e algas (THOMPSON; POLZ, 2006). São consideradas patógenos oportunistas, pois podem causar infecções em organismos que se encontram com o sistema imune abalado (DEROME *et al.*, 2016; FRYDENBORG *et al.*, 2013; MUNN *et al.*, 2015; TOUT *et al.*, 2015).

As comunidades de vibrios desempenham um relevante papel na manutenção e ruptura da saúde dos corais. Sabe-se que os corais são simbiontes formados por pólipos, algas unicelulares e microrganismos, portanto o tecido, o esqueleto e o muco formam uma comunidade simbiótica complexa denominada de “halobionte” (KREDIET *et al.*, 2013; BOURNE *et al.*, 2009). Além da associação dos dinoflagelados fotossintéticos que residem nos pólipos, há uma gama de microrganismos relacionados à manutenção da saúde, fornecimento de nutrientes, metabolismo de substâncias tóxicas e coibição de patógenos (KREDIET *et al.*, 2013).

Porém, associações com bactérias do gênero *Vibrio* têm causado síndromes e doenças em diversas espécies de corais ao redor do mundo. Dentre as espécies do gênero que afetam os corais, destacam-se: *Vibrio shiloi*, *Vibrio coralliilyticus*, *Vibrio harveyi*, *Vibrio owensii*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio carchariae*, *Vibrio rotiferanus* e *Vibrio proteolyticus*. Algumas doenças relacionadas a esses microrganismos já foram descritas envolvendo diversas espécies de corais (MUNN *et al.*, 2015) (Quadro 1).

Quadro 1 - Principais doenças de corais relacionadas a espécies do gênero *Vibrio*.

Doença/síndrome	Patógeno(s) associado(s)	Hospedeiro(s) principal(is)	Localização	Referências
Branqueamento	<i>Vibrio shiloi</i>	<i>Oculina patagonica</i>	M	ROSENBERG E; FALKOVITZ L (2004)
Clareamento e lise de tecido	<i>Vibrio coralliilyticus</i> , <i>Vibrio harveyi</i> , <i>Vibrio owensii</i>	<i>Pocillopora damicornis</i> , <i>Montipora spp.</i> , <i>Acropora spp.</i> , <i>Pachyseris speciosa</i>	C IP RS	BEM-HAIM Y; ROSENBERG E. (2002); BEM-HAIM Y <i>et al.</i> , (2003); USHIJIMA B <i>et al.</i> , (2012); WILSON B <i>et al.</i> , (2012)
Necrose rápida do tecido	<i>Vibrio alginolyticus</i> , <i>Vibrio harveyi</i>	Ampla variedade	AC IP RS	LUNA GM; BIAVASCO F; DANOVARO R. (2007)
Faixa branca	<i>Vibrio carchariae</i> , <i>Vibrio harveyi</i>	<i>Acropora spp.</i>	C	RITCHIE KB; SMITH GW. (1998)
Faixa /mancha amarela	<i>Vibrio rotiferanus</i> , <i>Vibrio harveyi</i> , <i>Vibrio alginolyticus</i> , <i>Vibrio proteolyticus</i>	<i>Acropora spp.</i> , <i>Montastrea spp.</i> , <i>Diploastrea spp.</i> , <i>Fungia spp.</i>	C	CERVINO JM <i>et al.</i> , (2004)

Fonte: Adaptado de Munn (2015).

A: aquários; C: Mar do Caribe; IP: Oceano Indo-Pacífico; M: Mar Mediterrâneo; RS: Mar Vermelho.

As espécies *Vibrio shiloi* e *Vibrio coralliilyticus* foram apontadas como agentes etiológicos dos corais *Oculina patagonica* e *Pocillopora damicornis*, respectivamente. Ambos são responsáveis pelo branqueamento de corais, tendo a abundância de patógenos e/ou a virulência maior com o aumento da temperatura (BEN-HAIM *et al.*, 2003; ROSENBERG; FALKOVITZ *et al.*, 2004).

Foi demonstrado que a espécie *V. shiloi* se adere a um receptor que contém beta-galactose no muco do coral, penetrando nas células epiteliais, se multiplicando e produzindo toxina peptídica extracelular, a qual inibe a atividade fotossintética das zooxantelas. Além disso, esse vibrião possui fatores de virulência, como a adesina, toxina e superóxido dismutase, que são produzidos quando as temperaturas estão elevadas (ROSENBERG; FALKOVITZ, 2004).

*V. coralliilyticus* foi isolado em diversas regiões do mundo, sendo também um possível agente causador da Síndrome Branca e surtos em corais de todo o Indo-Pacífico, além de octocorais no Caribe e corais no Mediterrâneo (BALLY *et al.*, 2007; SUSSMAN *et al.*, 2008; VIZCAINO *et al.*, 2010).

Além disso, as espécies *V. harveyi*, *V. alginolyticus* e *V. proteolyticus* foram isoladas de recifes do Caribe afetados pela doença da Faixa/Mancha Amarela, principalmente em corais do gênero *Montastraea*. Essa enfermidade é caracterizada pelo desenvolvimento de manchas amarelas ao longo do tecido do coral, as quais se espalham, resultando na perda das zooxantelas, sendo observado uma maior propagação da doença com o aumento da temperatura (CERVINO *et al.*, 2004).

*Vibrio harveyi* se destaca em diversos estudos como possível agente de infecções dos corais. A espécie apresentou abundância em colônias de *Pocillopora damicornis* afetadas pela Rápida Necrose Tecidual quando comparadas com colônias saudáveis, podendo estar associado



a esta doença, a qual é caracterizada por causar rápida degradação do tecido que pode levar o organismo à morte (LUNA *et al.*, 2007). Além disso, a espécie também foi isolada em corais com sintomas da doença da Faixa Branca tipo II, caracterizada por uma faixa linear de rápida perda de tecido e a Síndrome Branca que consiste no aparecimento de manchas com supressão de tecido (GIL-AGUDELO; SMITH; WEIL, 2006; LUNA *et al.*, 2010).

Vale destacar *Vibrio parahaemolyticus*, isolado nos corais *Mussimilia hispida* e *Palythoa caribaeorum*. Apesar de ser apontada como uma espécie benéfica ao coral na fixação de nitrogênio, foram recomendados estudos para a confirmação de uma possível patogenicidade (CHIMETTO *et al.*, 2008, 2009; SILVA, 2015).

Essa espécie é comumente relacionada a gastroenterites em humanos, associadas à ingestão de frutos do mar crus ou mal cozidos (LETCHUMANAN *et al.*, 2019). Além disso, apresenta patogenicidade em organismos marinhos, como camarões, sendo relacionada à doença da Necrose Hepatopancreática Aguda (AHPND) (SOTO-RODRIGUEZ *et al.*, 2014).

### **3.5 *Vibrio coralliilyticus* e os fatores de virulência**

*Vibrio coralliilyticus* é considerado um importante agente etiológico de doenças nos corais, e está relacionado a patogenia da espécie de *Pocillopora damicornis* (BEN-HAIM; ROSENBERG, 2002; BEN-HAIM *et al.*, 2003). Caracteriza-se como uma bactéria Gram-negativa, bastonetes móveis, único flagelo polar, com 0,8 µm de diâmetro e comprimento de 1,2 a 1,5 µm e locomoção em meios sólidos e líquidos. Além disso, formam colônias sacarose positiva no meio Ágar Tiosulfato Citrato Bile Sacarose (TCBS) com até 48 horas de incubação a 30°C, tendo crescimento ótimo a uma faixa de salinidade variando de 1 a 7% de NaCl (BEN-HAIM; ROSENBERG, 2002; BEN-HAIM; ZICHERMAN-KEREN; ROSENBERG, 2003).

Segundo Vidal-Dupiol e colaboradores (2011), a infecção por *V. coralliilyticus* é dependente de altas temperaturas, pois foi demonstrado que, em temperaturas abaixo de 25°C não há nenhum sinal de infecção, e que temperaturas entre 25°C até 32,5°C causam o branqueamento, lise e morte dos corais. Estudos indicaram que a infecção diminui significamente a densidade das zooxantelas simbióticas e da clorofila através da excreção de proteases extracelulares, podendo levar à lise e morte dos hospedeiros (ZHOU *et al.*, 2019).

De acordo com Santos e colaboradores (2011), a espécie *V. coralliilyticus* possui repertório de virulência diverso. Em algumas cepas estudadas, foram identificadas cerca de 17 metaloproteases, pertencentes à família de peptidases. Dentre elas, a metaloprotease de zinco VcpA, descrita em outros estudos como o principal fator de virulência na infecção bacteriana de

corais (BEN-HAIM; ZICHERMAN-KEREN; ROSENBERG, 2003; SUSSMAN *et al.*, 2008). Além disso, foram descritos por aqueles autores, genes que codificam resposta ao estresse, como quorum sensing, proteínas flagelares, sistemas de quimiotaxia e formação de biofilme.

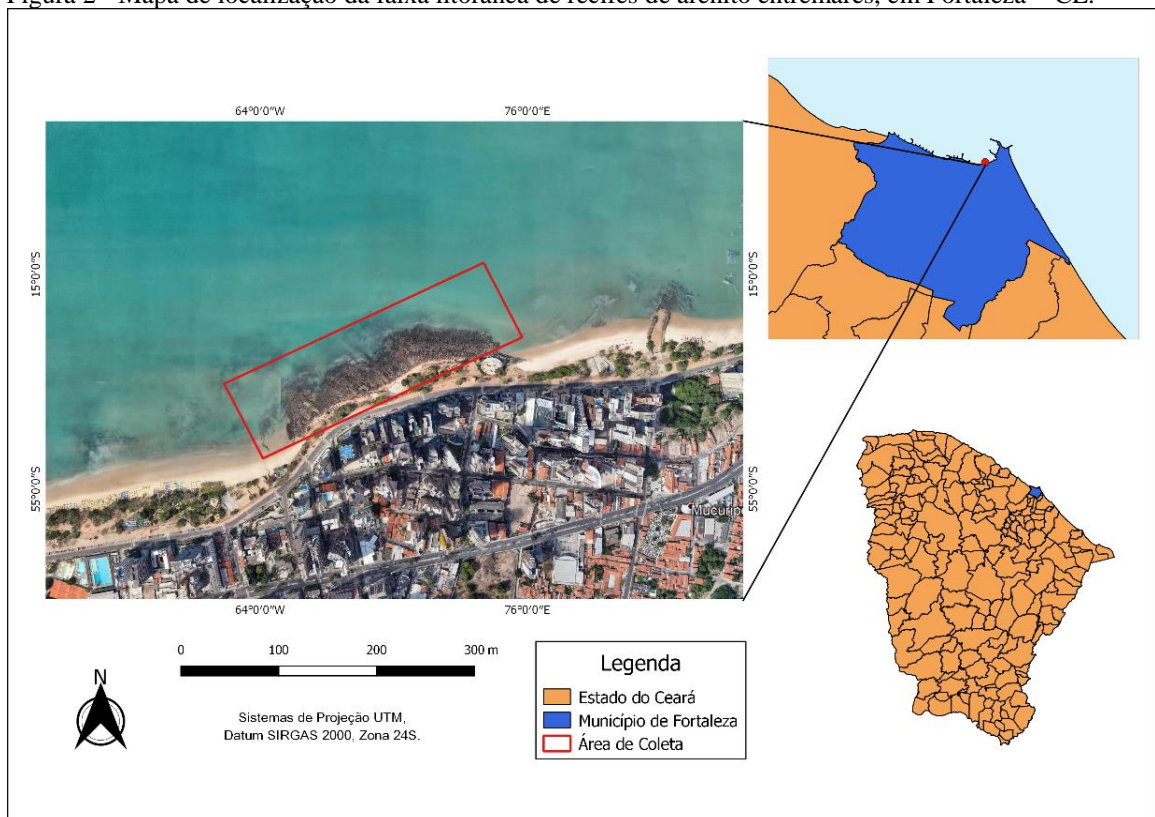
Ademais, segundo Kimes *et al.*, (2012) a espécie *V. coralliilyticus*, possui mecanismos potenciais de virulência envolvidos na motilidade, degradação do hospedeiro, regulação da transcrição, secreção e resistência antimicrobiana, regulados por temperaturas altas de 27°C. Porém, esses fatores de virulência da espécie, são considerados complexos e as doenças que acometem os corais são o resultado de um conjunto de interação de diversos fatores e não somente uma determinante.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Área de estudo

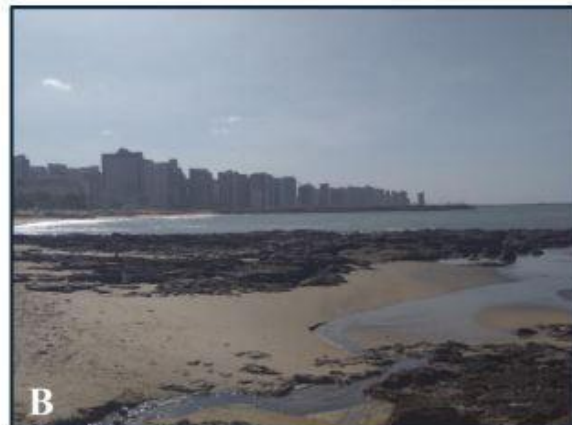
As amostras foram coletadas no ambiente recifal de arenito ferruginoso da Volta da Jurema, situado na praia do Meireles, faixa litorânea da cidade de Fortaleza, leste do Estado do Ceará ( $3^{\circ}43'23.06''\text{S}$   $38^{\circ}29'21.98''\text{O}$ ) (Figuras 2 e 3). O local apresenta clima quente sub-úmido, com temperatura média anual de  $26^{\circ}\text{C}$  e a precipitação média anual de 1448 mm. O período de estiagem do município ocorre nos meses de junho a dezembro e o período de chuvas nos meses de janeiro a maio (IPECE, 2017). Possui Temperatura Superfície do Mar entre  $26^{\circ}\text{C}$  e  $29^{\circ}\text{C}$  (INMET, 2020).

Figura 2 - Mapa de localização da faixa litorânea de recifes de arenito entremarés, em Fortaleza – CE.



Fonte: Autora (2020).

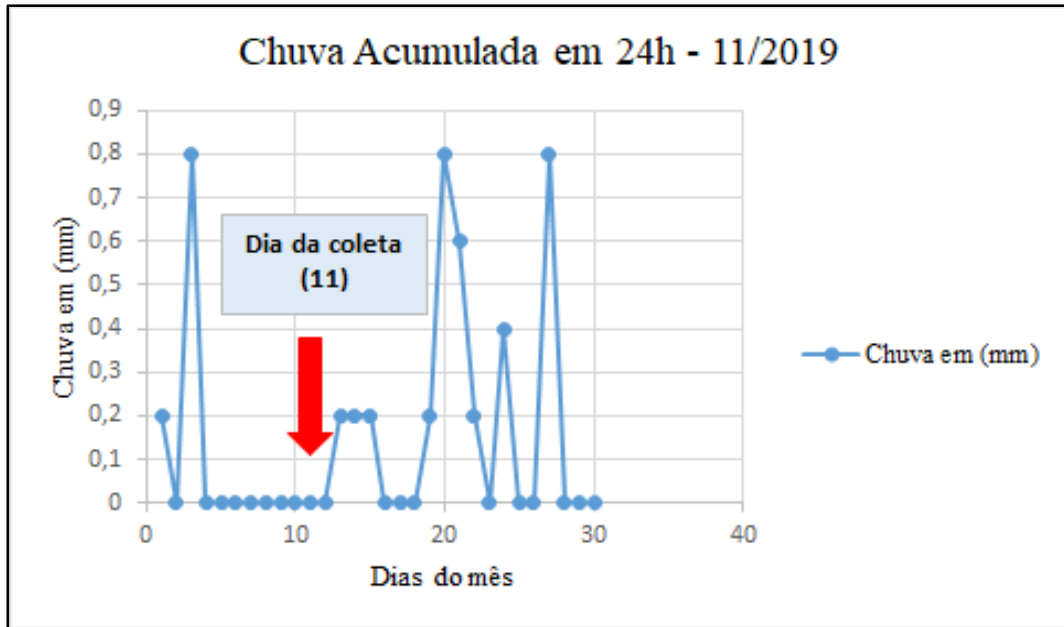
Figura 3 - Poças de marés do recife de arenito ferruginoso da Volta da Jurema na Praia do Meireles, Fortaleza-CE. B: Vista do Recife de arenito a partir da galeria pluvial. C: Galeria pluvial próxima ao recife. D: Galeria pluvial vista a partir do recife.



Fonte: Barros (2019).

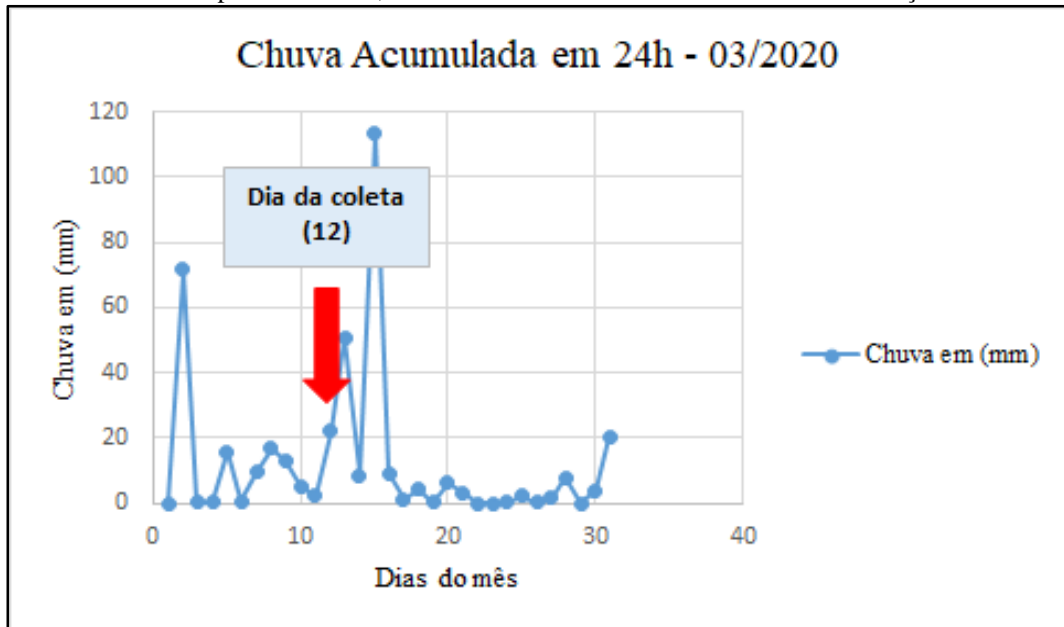
Foram realizadas duas coletas, a primeira no mês de novembro (2019) sem a ocorrência de chuvas no dia da coleta; e a segunda no mês de março (2020), tendo ocorrência de chuvas no dia (INMET, 2020) (Gráficos 1 e 2). As coletas foram realizadas sempre durante as marés baixas.

Gráfico 1 - Dados pluviométricos, chuva acumulada durante os dias do mês de novembro de 2019.



Fonte: INMET (2020).

Gráfico 2 - Dados pluviométricos, chuva acumulada durante os dias do mês de março de 2020.



Fonte: INMET (2020).

## 4.2 Coleta das amostras

Cada coleta constituiu em duas amostras de água, duas amostras de tecido do coral da espécie *Siderastrea stellata* saudável e com indícios de branqueamento, perfazendo no final dos meses de amostragem um total de seis amostras (Figuras 4 e 5).

A coleta dos corais foi realizada retirando uma pequena área do tecido do coral com auxílio de uma ponteira e martelo, posteriormente os materiais coletados foram armazenados em sacolas plásticas.

Para a coleta de água foram coletados cerca de 3 litros com o auxílio de garrafas âmbar e posteriormente filtrados usando sistema de filtro com gaze em várias dobras sobrepostas. Logo após, as gazes foram armazenadas em recipientes (225 mL) contendo água peptonada alcalina (APA) a 20 ppm. Todos os materiais e soluções estavam esterilizados.

Em seguida, as amostras foram transportadas em caixas isotérmicas até o laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado do Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR) da Universidade Federal do Ceará, onde foram realizados os procedimentos seguintes.

### 4.2.1 Determinação da temperatura e salinidade da água

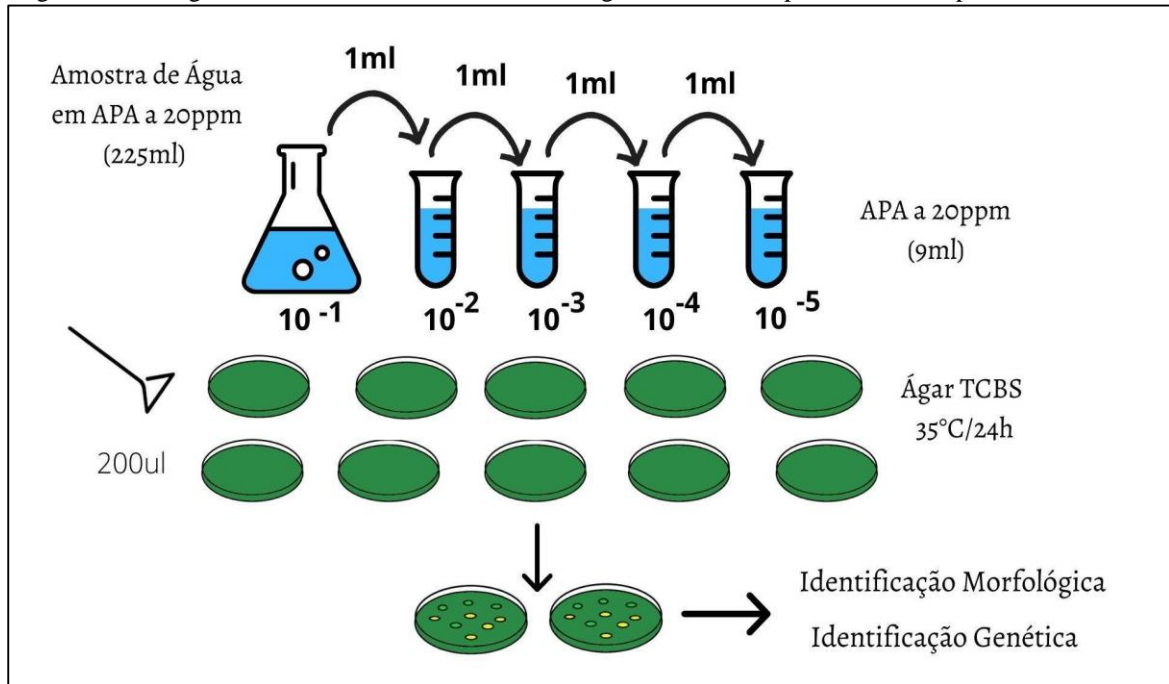
Foi medida a temperatura das amostras de água utilizando um termômetro (INCOTERM). E no ambiente de laboratório foi verificada a salinidade com o auxílio de um refratômetro (ATAGOS/MILL).

## 4.3 Preparo das amostras e suas diluições

### 4.3.1 Amostra de água

As gazes estéreis contendo o material de filtragem da água foram inoculadas e homogeneizadas em 225mL de água peptonada alcalina (APA) preparada com água do mar a 20 ppm, e incubado a 37°C por 24 horas. Decorrido esse período, foram feitas diluições decimais ( $10^{-2}$  a  $10^{-5}$ ) utilizando-se como diluente água peptonada alcalina (Figura 7).

Figura 4 - Fluxograma da sementeira das amostras de água coletadas na praia do Mucuripe, Fortaleza, Ceará.

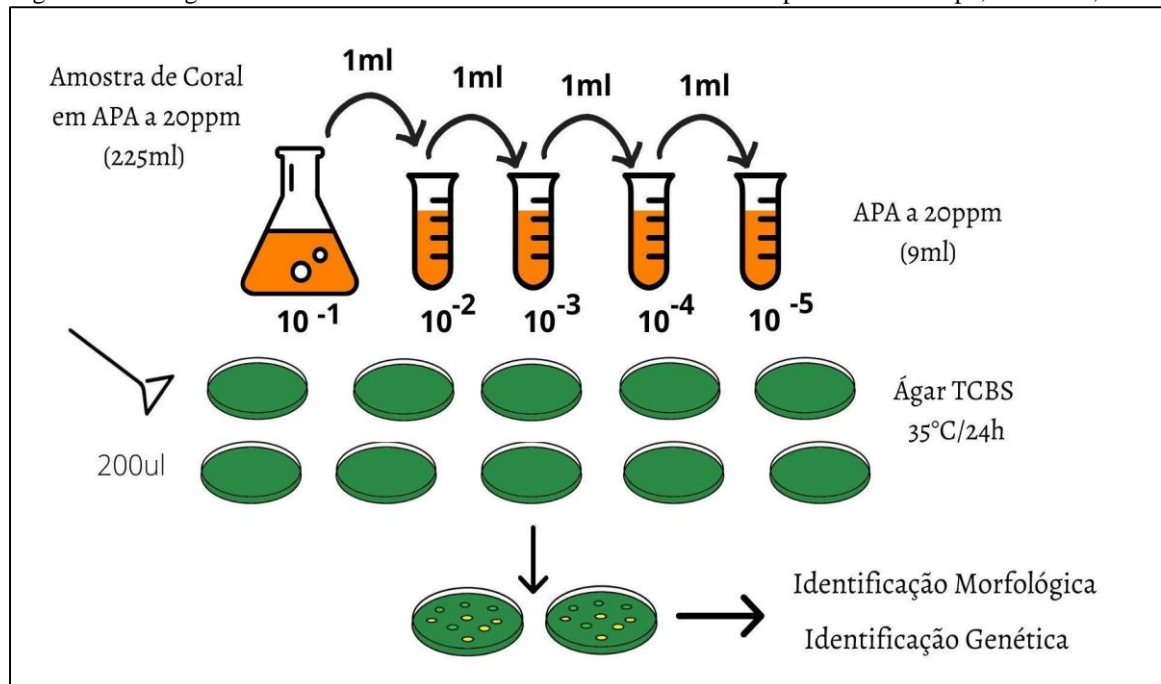


Fonte: Autora (2020).

#### 4.3.2 Amostra de coral

A partir das amostras de coral, pesou-se 25 gramas dos fragmentos retirados, os quais foram inoculadas e homogeneizadas em 225 mL de água peptonada alcalina (APA) preparada com água do mar a 20 ppm, e posteriormente incubados a 35°C por 24 horas. Após o período de incubação, foram feitas diluições decimais (10<sup>-2</sup> a 10<sup>-5</sup>) utilizando-se o mesmo diluente (Figura 8).

Figura 5 - Fluxograma da semeadura das amostras de coral coletadas na praia do Mucuripe, Fortaleza, Ceará.



Fonte: Autora (2020).

#### 4.4 Isolamento e quantificação de *Vibrio* ssp.

De cada diluição foram retiradas alíquotas de 200 $\mu$ L, as quais foram depositadas sobre a superfície do meio Ágar Tiosulfato Citrato Bile Sacarose (TCBS) com o auxílio de alças de Drigalski esterilizadas, pela técnica de *spread plate*, em duplicata. As placas foram incubadas invertidas por 24 horas a 35°C (KAYSNER *et al.*, 2004).

Após o período de incubação, foi realizada quantificação de *Vibrio* total (sacarose positiva e negativa) através do método de Contagem Padrão em Placas (CPP). Foram selecionadas para contagem, as placas com crescimento no intervalo de 25 a 250 UFC. Vale ressaltar que para valores fora deste intervalo, os resultados foram expressos em UFC/ ml / estimado e/ou UFC/ g / estimado (DOWNES; ITO, 2001).

#### 4.5 Identificação Morfológica

Das colônias com crescimento nas placas (sacaroses positivas e negativas) foram isoladas cerca de 10 colônias de cada amostra, as quais foram semeadas em tubos de ensaio contendo meio Ágar Triptona Soja (TSA) acrescidos de 1% de NaCl e, em seguida, incubados a 35°C por 24 horas na estufa. Após o período de incubação, as cepas foram submetidas ao teste de coloração de Gram (KAYSNER *et al.*, 2004).



#### **4.5.1 Coloração de Gram**

Este teste foi realizado com o intuito de revelar as características morfológicas das colônias isoladas. As culturas semeadas em meio de cultura TSA adicionado de 1% de NaCl foram postas em esfregaço e em seguida coradas de acordo com o método de Gram (MADIGAN *et al.*, 2016). Após a visualização em microscópio óptico, as cepas que apresentaram as características do gênero *Vibrio* ssp. (Bacilos Gram-negativos, encurvados ou não) foram encaminhadas às etapas posteriores.

### **4.6 Identificação genotípica dos isolados**

#### **4.6.1 Extração de DNA cromossômico**

O processo de extração de DNA foi realizado usando kit comercial Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega). As culturas bacterianas foram inoculadas em caldo LB (Luria-Bertani) + 1%NaCl a 35°C/24h. Do material crescido foi retirado 1mL para o processo de extração de DNA descrito no protocolo. A eficiência e qualidade do material extraído foram verificados por eletroforese em gel de agarose, em condições descritas no item 4.6.3.

#### **4.6.2 Amplificação por Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) para o gênero *Vibrio*.**

Para identificação dos membros do gênero *Vibrio* ssp. foi utilizado o par de iniciadores do gene Vib-F(727) e Vib-R(1423). E para as espécies foram: *V. coralliilyticus* iniciadores (76F e 1019R) e *V. parahaemolyticus* (L-tl e R-tl) (Tabela 1). As amplificações do DNA total extraído foram realizadas pela técnica de PCR (Tabela 2).

Tabela 1 - Iniciadores e condições de termociclagem na investigação molecular das cepas para gênero *Vibrio* spp. e espécies *V. coralliilyticus* e *V. parahaemolyticus*.

Genes	Iniciadores (5' - 3')	Condições de Termociclagem	Amplicons (Pb)	Fonte
<i>Vibrio</i> spp.	<b>Vib-F(727):</b> 5'-AGG CGG CCC CCT GGA CAG A-3' <b>Vib-R(1423):</b> 5'-ARA CTA CCY RCT TCT TTT GCA GC-3'	<b>Desnaturação Inicial:</b> 94°C por 2 min. <b>30 ciclos:</b> 94°C por 1 min. 50°C por 1 min. 72°C por 2 min. <b>Alongamento final:</b> 72° por 8 min.	696	SOUSA <i>et al.</i> , (2006)
<i>Vc<sup>a</sup></i>	<b>76F:</b> 5' GTT RTC TGA ACC TTC GGG GAA CG 3' <b>1019R:</b> 5' CTG TCT CCA GTC TCT TCT GAG G 3'	<b>Desnaturação Inicial:</b> 95°C por 5 min. <b>30 ciclos:</b> 95°C por 30 s. 67°C por 30 s. 72°C por 1 min. <b>Alongamento final:</b> 72° por 10 min.	940	POLSON; HIGGINS; WOODLEY (2008)
<i>tlh</i>	<b>L-tl:</b> 5'-AAA GCG GAT TAT GCA GAA GCA CTG-3 ' <b>R-tl:</b> 5'-GCT ACT TTC TAG CAT TTT CTC TGC-3 '	<b>Desnaturação Inicial:</b> 94 °C por 3 min <b>30 ciclos :</b> 94 ° C por 1 min. 58 ° C por 1 min 72 ° C por 1 min. <b>Alongamento final:</b> 72 ° C por 5 min.	450	BEJ <i>et al.</i> , 1999

Tabela 2 - Composições e concentrações dos produtos utilizados nas reações de PCR.

Reagentes da Reação	PCR
Água ultra-pura	8,775µL
Tampão 10x	1,2µL
dNTPs (2,5mM)	0,3µL
Iniciador F (20 pmol)	0,3µL
Iniciador R (20 pmol)	0,3µL
MgCl <sub>2</sub> (50 mM)	0,5µL
Taq polimerase (500U)	0,125µL
Amostra	1,0µL
Volume da Reação	12,5µL

Fonte: Autora (2020).

#### 4.6.3 *Visualização dos produtos da extração e do PCR*

Para verificação dos produtos da extração, foi realizado o método de eletroforese em gel de agarose 1% com adição do *Gel red/Blue Juice*. As corridas foram realizadas com voltagem de 100V, amperagem de 300mA por 60 minutos.

A eletroforese dos produtos do PCR, foram realizadas em gel de agarose 1,5% (p/v) (Reagem) com voltagem de 120V e amperagem de 300mA por 45 minutos.

O gel foi preparado segundo as recomendações do fabricante, após o preparo da solução, foi aquecido e distribuído em uma cuba (150 mL), onde foi inserido um pente com capacidade para 20 amostras. Logo após, as amostras de DNA foram preparadas para distribuição nos poços, sendo utilizado 4  $\mu$ L de *Gel red/Blue Juice* (1:1) e 1  $\mu$ L das amostras de DNA. Foi utilizado o marcador 1kb (DNA Ladder), sendo usado 0,3  $\mu$ L + 4  $\mu$ L de *Gel red/Blue Juice* (1:1) e 3,7  $\mu$ L de TAE, para verificação do tamanho dos fragmentos.

A visualização dos produtos tanto de extração como de PCR foi realizada em transluminador (Espectroline – UV) com luz ultravioleta.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo dos ambientes recifais, tem uma importância relevante para a comunidade científica, devido a vários fatores, dentre eles, a influência que sofrem por parte de alguns microrganismos, como os pertencentes ao gênero *Vibrio*, que podem estar associados a espécies específicas, podendo vir a acarretar danos à saúde de comunidades como as dos corais (TOUT *et al.*, 2015).

Nas coletas realizadas os valores de temperatura da água foram de 30°C e a salinidade 40 ppm (partes por milhão).

Semelhantemente, Barros (2019) ao fazer as mesmas análises na área de estudo, obteve média de temperatura de 32,55°C no mês de novembro e 32,15°C em março. E valores médios de salinidade de 43,1 ppm no mês de novembro, e 39,15 ppm em março, não apresentando variação significativa entre a época de estiagem e chuvas para a temperatura, porém foi observado uma maior variação de salinidade.

Esses valores elevados de temperatura e salinidade, mesmo em período chuvoso, acontecem devido às características dos ambientes de poças de marés, principalmente durante as marés baixas, por conta da existência de evaporação, fazendo com que assim, exista um aumento da salinidade (BARROS, 2019; GURGEL, 2019; LEGRAND *et al.*, 2018).

Os valores de temperatura registrados na água superficial das poças durante as análises feitas no recife de arenito da Volta da Jurema, quando comparados com a temperatura média da Superfície do Mar da região (26°C a 29°C) são considerados elevados, o que pode a vir influenciar a proliferação de microrganismos oportunistas do gênero *Vibrio* (VEZZULLI *et al.*, 2015).

A temperatura e a salinidade são os fatores que mais contribuem para a distribuição desses vibriões (TAKEMURA; CHIEN; POLZ, 2014). Com o crescimento da maioria das espécies sendo possível a 30°C, porém, é importante lembrar que seu crescimento ótimo está entre 35 a 37°C (FARMER *et al.*, 2015). Fato também observado, em diversos lugares ao redor do mundo, onde apresentam uma maior proliferação de espécies do gênero em ambientes costeiros, afetados por temperaturas elevadas (BAKER-AUSTIN *et al.*, 2013; HSIAO; JAN; CHI, 2016; SIBONI *et al.*, 2016; TOUT *et al.*, 2015; VEZZULLI *et al.*, 2015).

De acordo com, Tout *et al.* (2015) o aumento da temperatura favorece a abundância desses microrganismos dentro das comunidades naturais dos corais. Em seu estudo, ressaltam, que algumas espécies são capazes de se desenvolverem nesses ambientes, com destaque para *Vibrio coralliilyticus*, espécie isolada de corais sob estresse de temperatura e com sinais de

branqueamento (VIDAL-DUPIOL *et al.*, 2011). Nesse contexto, com base nos parâmetros analisados, há hipóteses da ocorrência do branqueamento dos corais por organismos patógenos oportunistas.

Os resultados das contagens de *Vibrio* spp. nas amostras de água e coral (branqueado e saudável) no período seco e chuvoso, respectivamente, estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3 - Contagem Padrão em Placa (CPP) de *Vibrio* sp. total presente nas amostras de água, coral branqueado e saudável das duas coletas realizadas.

Coleta	Estação	Água	<i>Siderastrea stellata</i> branqueado	<i>Siderastrea stellata</i> saudável
1	Seca (Novembro/2019)	$3,82 \times 10^7$ UFC/ml/*	$1,6 \times 10^6$ UFC/g	$1,14 \times 10^7$ UFC/g
2	Chuvosa (Março/2020)	$8 \times 10^6$ UFC/ml	$1,2 \times 10^6$ UFC/g	$6,4 \times 10^4$ UFC/g

Fonte: Autora (2020)

\*: estimado

Os resultados obtidos das coletas demonstram uma maior ocorrência dos víbrios nas amostras de água, quando comparada às amostras de coral, sendo a maior abundância no período de seca.

Da mesma forma, as amostras de coral tiveram maior ocorrência dos microrganismos no período de estiagem, sendo observada uma maior abundância nas amostras de corais *Siderastrea stellata* saudáveis. Já no período de chuvas, as amostras de *S. stellata* branqueadas apresentaram valores superiores.

Apesar de não ter apresentado uma maior abundância de *Vibrio* sp. nas colônias de *Siderastrea stellata* branqueadas em comparação com as saudáveis, de forma geral, houve uma maior ocorrência desses microrganismos no período seco, onde as temperaturas da superfície do mar permanecem mais elevadas, e houve uma maior incidência solar ao longo dos dias, devido a falta de chuvas. Dessa forma, concordando com Tout *et al.* (2015) que afirmam que temperaturas elevadas contribuem para a abundância de espécies do gênero *Vibrio* nas comunidades dos corais.

Araújo e colaboradores (2015) ao analisarem a densidade de *Vibrio* spp. em águas de recifes costeiros na praia de Cabo Branco em João Pessoa-PB, obtiveram uma variação ao longo do período de estudo, na época seca de  $1 \times 10^1$  a  $14 \times 10^4$  UFC/ml, e no período chuvoso de  $3,66 \times 10$

a  $2,8 \times 10^2$  UFC/ml. Portanto, apresentando valores significativamente maiores no período de estio, assim como ocorreu nas águas de poças de maré do recife da Volta da Jurema.

Em outro estudo, Araújo (2013) analisou a densidade de *Vibrios* em colônias de *Siderastrea stellata* sadias e com coloração roxa, no período seco e chuvoso. Dessa forma, é possível considerar as colônias branqueadas, a fim de realizar uma comparação, pois ambas se apresentaram afetadas. As colônias de coral sadias demonstraram maior abundância no período seco, sendo de  $2,7 \times 10^4$  UFC/m<sup>2</sup>. O que coincide com o presente estudo. Porém, as colônias roxas apresentaram maior abundância de *Vibrio* spp. no período de chuvas, sendo de  $8,58 \times 10^4$  UFC/m<sup>2</sup>. Vale ressaltar que a presença de colônias afetadas se deu somente em um único mês chuvoso.

É importante lembrar, que o recife de arenito onde se encontra a espécie sofre demasiadamente com as pressões antrópicas. A presença de esgotos clandestinos e a galeria pluvial, presente no local, são fatores que podem contribuir com a proliferação de bactérias patogênicas e a transferência de genes de resistência entre os grupos bacterianos. Podendo causar danos à saúde humana, bem como dos organismos marinhos. (BARROS, 2019; PORTUGAL *et al.*, 2016; RODRÍGUEZ *et al.*, 2015).

Barros (2019) observou eventos de branqueamento nas comunidades de corais no recife de arenito da volta da Jurema, sendo o mês de março (período chuvoso) com a maior taxa de branqueamento das colônias, e concluiu que esse efeito é resultado das altas temperaturas e a contaminação dos recifes pelos efluentes recebidos no local.

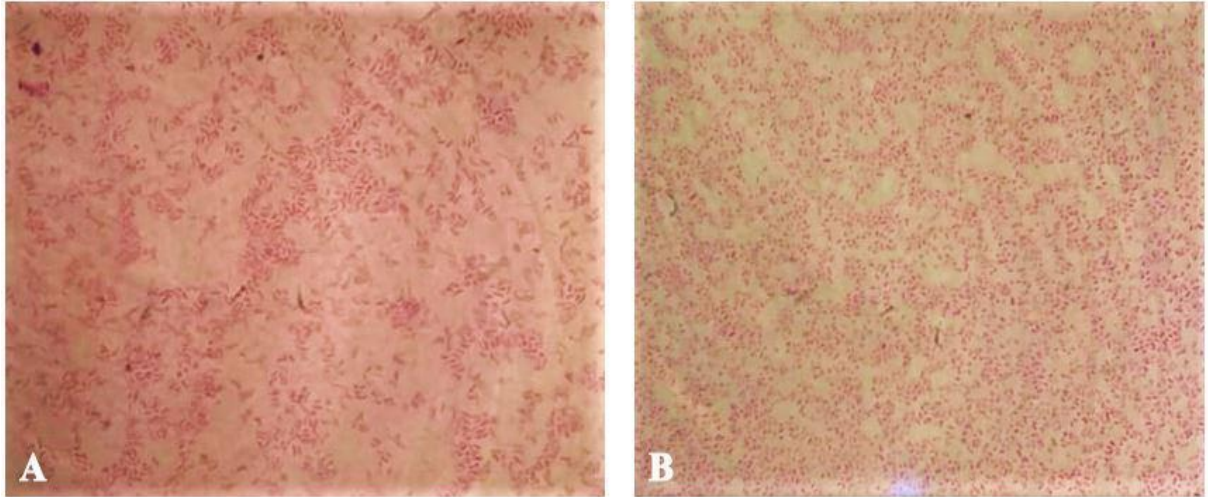
Soares e Rabelo (2014) relataram a ocorrência de eventos de branqueamento em colônias do coral *Siderastrea stellata* em um recife entremarés do Ceará, sendo este relacionado com as anomalias da temperatura da superfície do mar. Da mesma forma, em diversos lugares ao redor do mundo, há ocorrência do branqueamento em inúmeras espécies de corais, relacionados principalmente, às altas temperaturas dos oceanos (SULLY *et al.*, 2019). Nesse contexto, considerando os efeitos apresentados nas comunidades coralíneas, é de extrema relevância estudos que também analisem as mudanças na microbiota das colônias e do seu ambiente ao entorno.

Partindo para a identificação, foram isoladas um total de 21 cepas da primeira coleta, sendo sete provenientes da água, sete do coral branqueado e sete do coral saudável. Na segunda coleta, foram isolados um total de 30 cepas, sendo 10 oriundas da água, 10 do coral afetado e 10 do coral saudável. Perfazendo um total de 51 cepas isoladas.

Com relação às características morfológicas das estirpes, foram realizadas somente as análises referentes à primeira coleta, as quais em sua totalidade, foram bastonetes Gram negativos e curvados, variando entre médios e curtos (Figura 6), correspondendo com as

características do gênero estudado. Somente as estirpes da primeira coleta seguiram para as etapas posteriores, referentes à identificação genotípica, devido à pandemia de COVID-19, não foi possível retornar ao laboratório para finalizar as demais amostras.

Figura 6 - Imagem do microscópio revelando os atributos das estirpes e a variação entre A: bastonetes médio e B: bastonetes curtos.



Fonte: Autora (2019).

Para as etapas seguintes referentes as análises genotípicas, as 21 cepas da primeira coleta, tiveram resultados positivos, confirmando serem pertencentes ao gênero *Vibrio* (Figura 7). Dessa forma, tais microrganismos estavam presentes tanto nas amostras de água como de coral branqueado e saudável, na área estudada.

Figura 7 - Eletroforese do PCR das 21 cepas isoladas da primeira coleta para confirmação genotípica de gênero *Vibrio*.



Fonte: Autora (2020).

AG: Água; SID: Coral saudável; BRA: Coral branqueado; M: Marcador; N: Controle Negativo.

Sabe-se que o gênero *Vibrio* está fortemente relacionado à microbiota dos corais (LUNA *et al.*, 2010; MUNN, 2015; ROSENBERG; FALKOVITZ, 2004; VIDAL-DUPIOL *et al.*, 2011). Podendo representar uma proporção significativa em relação às bactérias no halobionte do coral, por exemplo, o coral *Pocillopora damicornis* tem uma representatividade de até 38%, já o coral *Oculina patagonica* de até 68% (BOURNE; MUNN, 2005; KOREN; ROSENBERG, 2006). Sendo a composição das comunidades bacterianas, variável dependendo das espécies analisadas, local de amostragem e os procedimentos realizados (BARROS *et al.*, 2013).

Araújo (2013) ao caracterizar a microbiota de colônias roxas e saudáveis do coral *Siderastrea stellata*, em recifes costeiros, no litoral Sul de João Pessoa, por meio das mesmas técnicas moleculares, observaram uma variação da diversidade de gêneros entre os isolados das colônias afetadas e sadias. Os isolados pertenciam às classes Proteobacteria alfa (17%) e



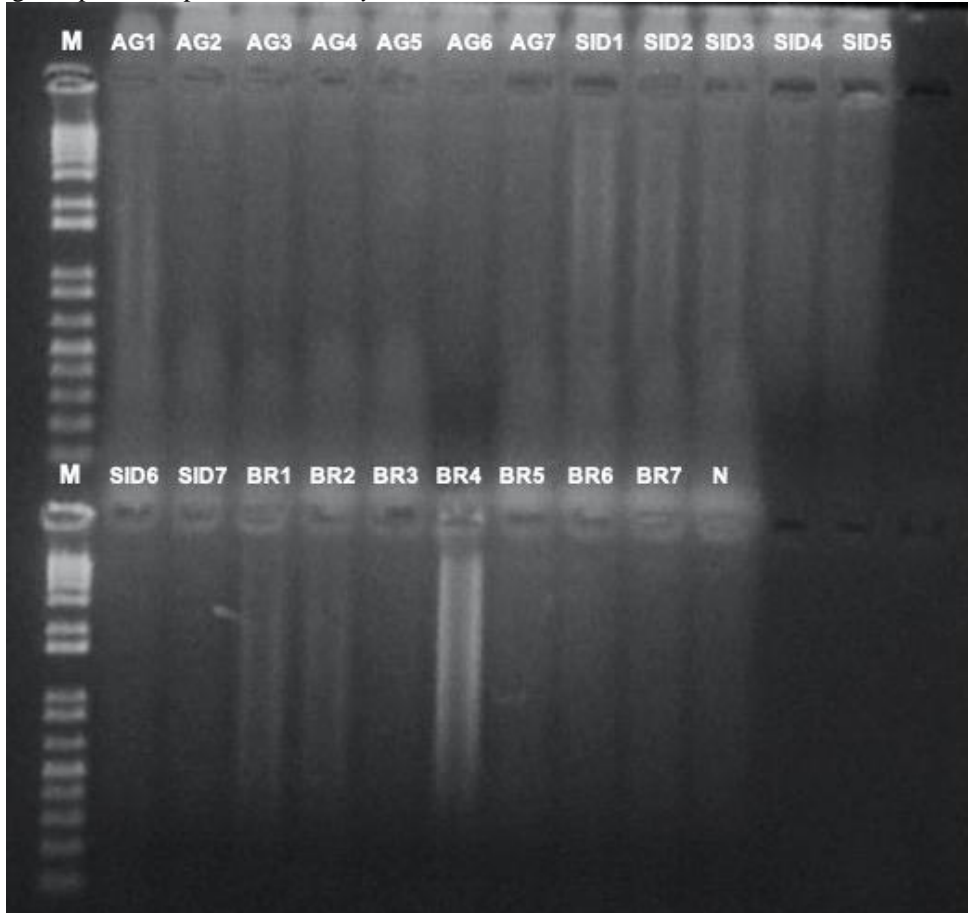
Proteobacteria gama (85%). No estudo, o gênero *Vibrio* foi isolado somente nas colônias roxas, sendo o grupo mais significativo, representando 57,5% das linhagens isoladas, cuja espécies foram: *Vibrio harveyi*, *V. rotiferianus*, *V. sinaloensis* e *V. tubiashii*.

Semelhantemente, Barros *et al.* (2013), ao investigarem a diversidade bacteriana associada à colônias saudáveis e branqueadas de *Siderastrea stellata*, em ambientes de costões rochosos, no litoral norte estado do Rio de Janeiro, concluíram que as comunidades diferem bastante entre as sadias e afetadas. Dentre as classes dominantes destacaram-se as Proteobacteria alfa, Proteobacteria gama e Proteobacteria delta. Enquanto, nos corais saudáveis foram as Proteobacteria beta, Cyanobacteria e Actinobacteria, não sendo observado o gênero *Vibrio* entre as linhagens isoladas.

Diversamente, o presente estudo traz resultados positivos para a ocorrência de víbrios nas amostras de colônias da espécie *Siderastrea stellata*, tanto em colônias sadias, como afetadas.

Após a aplicação da técnica de PCR sobre as estirpes para a detecção do gene para o gênero *Vibrio*, as 21 cepas foram testadas para os genes das espécies *Vibrio coralliilyticus* e *Vibrio parahaemolyticus*, porém, nenhuma das amostras foram positivas para a primeira espécie testada (Figura 8), e apenas uma foi confirmada como positiva para a segunda espécie, oriunda da amostra de coral saudável (Figura 9).

Figura 8 - Eletroforese do PCR das 21 cepas isoladas da primeira coleta para confirmação genotípica da espécie *V. coralliilyticus*.



Fonte: Autora (2020).

M: Marcador; N: Controle Negativo; AG: Água; SID: Coral saudável; BRA: Coral branqueado.

Apesar de não ocorrer nas amostras analisadas do presente estudo, *V. coralliilyticus* apresenta distribuição global, sucedendo uma ampla gama de hospedeiros. O microrganismo foi isolado em corais da espécie *Pocillopora damicornis* branqueadas e parcialmente lisadas no Oceano Pacífico e no Mar Vermelho, estando ausente nos indivíduos saudáveis (BEN-HAIM; ROSENBERG, 2002; BEN-HAIM *et al.*, 2003a; BEN-HAIM; ZICHERMAN-KEREN; ROSENBERG, 2003b).

De acordo com Polson, Higgins, Woodley (2008) a identificação de estirpes de *V. coralliilyticus*, por meio de técnicas moleculares, necessita de maior atenção quanto a utilização dos primers (Vc-76F e Vc-1019R), por estes produzirem sequências difíceis de serem localizadas filogeneticamente, mesmo apresentando alto grau de especificidade. Podendo resultar ocasionalmente em uma amplificação de sequências homólogas a de outras cepas pertencentes ao gênero *Vibrio*, bem como, a erros de registro junto ao banco de dados de anotações de sequências de nucleotídeos.

Devido à esta relativa homogeneidade do gene 16S rRNA em espécies de *V. coralliilyticus*, outros alvos de sequenciamento necessitam ser observados como alternativa para identificação, como sugere Wilson *et al.* (2013) que desenvolveram com sucesso ensaios de PCR e RT-PCR em tempo real para constatação do gene *vcpA*, implicada na virulência de *V. coralliilyticus* em corais, e por sua vez, quantificação de seu mRNA.

*V. coralliilyticus* também foi isolado de corais do gênero *Favia* sp. que apresentavam a Doença da Faixa Negra, no recife de Eliat, Mar vermelho, revelando maior abundância e atividade proteolítica com o aumento da temperatura (AROTSKER *et al.*, 2009).

Assim como, no Mar Mediterrâneo, foi abundante nas amostras de corais *Paramuricea clavata* com sintomas de doenças, e maior abundância observada em temperaturas elevadas (VEZZULLI *et al.*, 2010).

Além disso, foi relatado em corais com sintomas da Síndrome Branca, em recifes na região do Indo-Pacífico, com maior abundância nos indivíduos afetados (SUSSMAN *et al.*, 2008). E no Caribe, em octocorais da espécie *Pseudopterogorgia americana* doente (VIZCAINO *et al.*, 2010).

No Brasil, esse vibrião foi isolado de corais endêmicos no Banco de Recifes de Abrolhos, não apresentando diferença significativa entre organismos saudáveis e afetados (ALVES JR *et al.*, 2010).

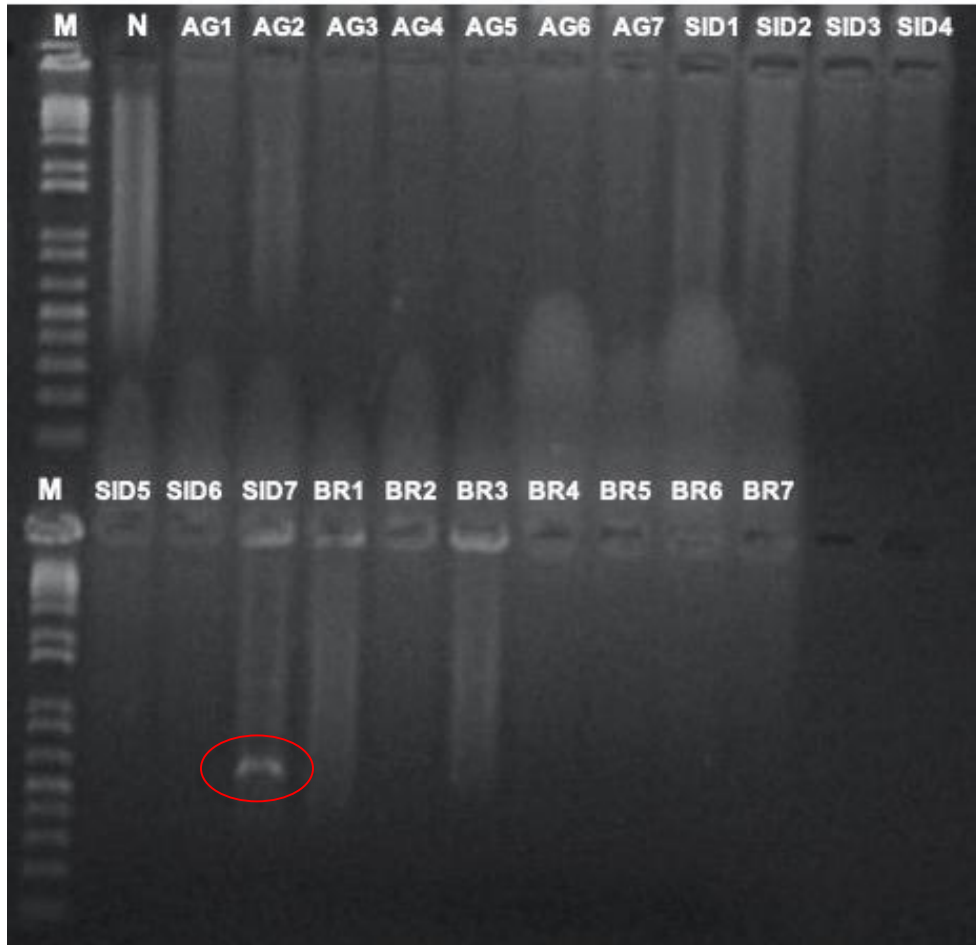
*V. coralliilyticus* é amplamente encontrado em ambientes costeiros no Ceará. A espécie foi isolada em amostras de água e sedimento em quatro estuários do estado (MENEZES *et al.*, 2017), além de ocorrer em viveiros de fazendas de carcinicultura (VIEIRA *et al.*, 2010). Como também, a bactéria foi encontrada em amostras de hemolinfa do camarão *Litopenaeus vannamei* (CARVALHO, 2009).

Dessa forma, é importante o estudo da espécie *Vibrio coralliilyticus*, devido a presença em organismos marinhos, ambientes costeiros e a relação direta com a temperatura na virulência e na infecção que afetam os corais. Estudos apontam que quando submetidos a temperaturas acima de 25°C, o microrganismo causa branqueamento, lise do tecido e morte de corais (BEN-HAIM; ROSENBERG, 2002; BEN-HAIM *et al.*, 2003a; BEN-HAIM; ZICHERMAN-KEREN; ROSENBERG, 2003b). Além disso, foi observado que a espécie pode causar a Síndrome Branca e a doença da Banda Negra nesses organismos (SUSSMAN *et al.*, 2008; AROTSKER *et al.*, 2009).

Vale ressaltar que isolados de corais doentes da Grande Barreira de Corais demonstraram possuir repertório de virulência diversos, como a presença de genes de resposta ao estresse, formação de biofilme, quorum sensing, proteínas flagelares e sistemas de quimiotaxia

(SANTOS *et al.*, 2011). Sendo demonstrado que vários fatores de virulência, são regulados de forma positiva à temperaturas acima de 27 °C (KIMES *et al.*, 2012).

Figura 9 - Eletroforese das 21 cepas isoladas da primeira coleta para confirmação genotípica da espécie *V. parahaemolyticus*.



Fonte: Autora (2020).

M: Marcador; N: Controle Negativo; AG: Água; SID: Coral saudável; BRA: Coral branqueado.

Além do resultado obtido no presente estudo em relação a presença de *V. parahaemolyticus* no coral *Siderastrea stellata* saudável, a espécie também foi isolada de corais sadios *Mussismilia hispida* (endêmica do Brasil) e *Palythoa caribaeorum* na Praia Grande, em São Paulo (CHIMETTO *et al.*, 2008; CHIMETTO *et al.*, 2009).

Em contrapartida, esse vibrião foi encontrado em colônias necrosadas do zoantídeo *Palythoa caribaeorum*, nos recifes de Carapibus, Paraíba. Porém não foi confirmada atividade proteolítica da cepa (SILVA, 2015).

Segundo Chimetto (2008) espécies do gênero *Vibrio*, incluindo *V. parahaemolyticus* podem beneficiar os corais na fixação de N<sup>2</sup>, contudo o autor sugere que sejam realizados estudos

para confirmar se esses microrganismos podem ao mesmo tempo, beneficiar o coral com a fixação do N<sup>2</sup> e, também causar infecções sob condições estressantes do ambiente.

Além de espécies de corais, *V. parahaemolyticus* é naturalmente encontrado em ecossistemas marinhos e estuarinos, sendo frequentemente isolados de água, sedimentos e organismos marinhos (ARAÚJO, 2010; CARVALHO, 2009; MENEZES *et al.*, 2017; VIEIRA *et al.*, 2009)

Menezes *et al.*, (2017) isolaram esse vibrião de amostras de água e sedimento em quatro ambientes estuarinos do Ceará, sendo *V. parahaemolyticus* a espécie mais relevante encontrada.

No mesmo Estado, o microrganismo também foi isolado da hemolinfa de camarões *Litopenaeus vannamei* (CARVALHO, 2009; VIEIRA *et al.*, 2009). E em ostras *in natura* e congeladas, comercializadas na Praia do Futuro em Fortaleza (ARAÚJO, 2010).

Em camarões marinhos, essa espécie ocasiona diversas doenças infecciosas, que causam a mortalidade e grandes perdas econômicas nos cultivos (SOTO-RODRIGUEZ *et al.*, 2014; ZHANG *et al.*, 2014). É considerado patógeno para o camarão branco do Pacífico *L. vannamei*, sendo a patogenicidade relacionada à doença da necrose hepatopancreática aguda (AHPND) também conhecida como a síndrome da mortalidade precoce (EMS) (SOTO-RODRIGUEZ *et al.*, 2014; KUMAR *et al.*, 2014).

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo da diversidade e compreensão dos papéis desempenhados pelo vibrioma na saúde e doença de corais é um tema que precisa receber mais esforços de pesquisa. A caracterização desses isolados quanto ao seu arsenal de virulência também são informações preciosas para estudos com esse enfoque.

Apesar do número reduzido de amostras, podemos verificar que a densidade de vibrios no entorno e nos tecidos dos corais *Siderastrea stellata* nos recifes de arenito, não foi influenciada pela ocorrência de chuvas e consequente aporte de água doce nesse ambiente. Essa questão pode ser elucidada com a continuação das análises, identificação e caracterização das estirpes de *Vibrio* isoladas dos tecidos coralíneos.

A verificação visual de descarga de esgoto doméstico clandestino diretamente no ambiente e a presença de banhistas circulando sobre o recife, são comprovações da forte pressão sofrida por esse ecossistema e consequentemente efeito sobre sua dinâmica e microbiota.

## REFERÊNCIAS

- ABRAM, N *et al.* Summary for policymakers. *In*: PORTNER, H.O *et al.* (ed.). **Special Report on the Ocean and Cryosphere in a Changing Climate**, [S.l]: IPCC, 2019. Disponível em: <https://www.ipcc.ch/srocc/chapter/summary-for-policymakers/>. Acesso em: 10 mar. 2021.
- ADEY, W. H. Coral reef ecosystems and human health: biodiversity counts!. **Ecosystem Health**, Washington, v. 6, n. 4, p. 227-236, dez, 2000. DOI: 10.1046/j.1526-0992.2000.006004227.x. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/227863762\\_Coral\\_Reef\\_Ecosystems\\_and\\_Human\\_Health\\_Biodiversity\\_Counts](https://www.researchgate.net/publication/227863762_Coral_Reef_Ecosystems_and_Human_Health_Biodiversity_Counts). Acesso em: 16 nov. 2020.
- ALVES JR, N.; *et al.* Diversity and pathogenic potential of vibrios isolated from Abrolhos Bank corals. **Environmental Microbiology Reports**, Brasil, v. 2, n. 1, p. 90-95, 2 dez. 2009. DOI: 10.1111/j.1758-2229.2009.00101.x. Disponível em: <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1758-2229.2009.00101.x>. Acesso em: 28 mar. 2021.
- ARAÚJO, G. H. **Caracterização bacteriológica da água do mar e diversidade de bactérias cultiváveis associadas ao coral *Siderastrea stellata* nos recifes costeiros de Cabo Branco, João Pessoa-PB**. 2013. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) - Centro de Ciências Exatas da Natureza, Universidade Federal de Paraíba, João Pessoa, 2013. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/bitstream/tede/3648/1/arquivototal.pdf>. Acesso em: 02 mar. 2021.
- ARAÚJO, G. H. *et al.* Physicochemical and bacteriological seawater quality and sustainability of Cabo Branco (Brazil) coral reef. **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, João Pessoa, vol. 10, n. 2, p. 94–104, jan. 2015. DOI: 10.1038/nclimate1628. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/282937022>. Acesso em: 21 mar. 2021.
- ARAÚJO, R. L. **Vibrio parahaemolyticus isolados de ostras (*Crassostrea rhizophorae*) comercializadas em Fortaleza-ce, Brasil**. 2010. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Pesca) - Departamento de Engenharia de Pesca, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010. Disponível em: <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/47338>. Acesso em: 02 mar. 2021.
- AROTSKER, L. *et al.* Vibrio sp. as a potentially important member of the Black Band Disease (BBD) consortium in Faviasp. corals. **Fems Microbiology Ecology**, Israel, v. 70, n. 3, p. 515-524, dez. 2009. DOI: 10.1111/j.1574-6941.2009.00770.x. Disponível em: <https://academic.oup.com/femsec/article/70/3/515/533165?login=true>. Acesso em: 27 mar. 2021.
- BAKER-AUSTIN, C. *et al.* Emerging Vibrio risk at high latitudes in response to ocean warming. **Nature Climate Change**, [S.l.], v. 3 p.73–77, jan. 2013. DOI: 10.1038/nclimate1628. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nclimate1628>. Acesso em :20 mar. 2021.
- BALLY, M. *et al.* Thermodependent bacterial pathogens and mass mortalities in temperate benthic communities: a new case of emerging disease linked to climate change. **Global Change Biology**, France, v. 13, n. 10, p. 2078-2088, out. 2007. DOI: 10.1111/j.1365-

2486.2007.01423.x. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2486.2007.01423.x>. Acesso em: 27 dez. 2020.

CASTRO, C. B. E; ZILBERBERG, C. Recifes brasileiros, sua importância e conservação. *In*: ZILBERBERG, C. *et al.* (ed.). **Conhecendo os Recifes Brasileiros**: rede de pesquisas coral vivo. Rio de Janeiro: Museu Nacional, 2016. p. 360. (58). Disponível em: <https://coralvivo.org.br/arquivos/documentos/Livro-Zilberberg-et-al-2016-Conhecendo-os-Recifes-Brasileiros-Rede-de-Pesquisas-Coral-Vivo.pdf>. Acesso em: 26 dez. 2020.

BARROS, M. M. L.; PIRES, D. O. Colony size-frequency distributions among different populations of the scleractinian coral *Siderastrea stellata* in Southwestern Atlantic: implications for life history patterns. **Brazilian Journal Of Oceanography**, São Paulo, v. 54, n. 4, p. 213-223, dez. 2006. DOI: 10.1590/s1679-87592006000300005. Disponível em: [https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1679-87592006000300005](https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-87592006000300005). Acesso em: 25 abr. 2021.

BARROS, Y. N. **Mudanças ambientais e recifes tropicais urbanos: branqueamento de corais resistentes, algas filamentosas e sedimentos**. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Oceanografia) - Instituto Ciências do Mar (Labomar), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019. Disponível em: [http://www.repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/50909/1/2019\\_tcc\\_yndbarros.pdf](http://www.repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/50909/1/2019_tcc_yndbarros.pdf). Acesso em: 04 dez. 2020.

BEJ, A. K. *et al.* Detection of total and hemolysin-producing *Vibrio parahaemolyticus* in shellfish using multiplex PCR amplification of tl, tdh and trh. *Journal of Microbiological Methods*, Alabama, vol.36, n. 3, p. 215-225. jun. 1999. DOI: 10.1016/S0167-7012(99)00037-8. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0167701299000378?via%3Dihub> Acesso em :26 mar. 2021.

BEN-HAIM, Y. *et al.* *Vibrio coralliilyticus* sp. nov., a temperature-dependent pathogen of the coral *Pocillopora damicornis*. **International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology**, Tel Aviv, v. 53, n. 1, p. 309-315, 1 jan. 2003. DOI: 10.1099/ij.s.0.02402-0. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12656189/>. Acesso em: 27 dez. 2020.  
BEN-HAIM, Y.; ROSENBERG, E. A novel *Vibrio* sp. pathogen of the coral *Pocillopora damicornis*. **Marine Biology**, Tel Aviv, v. 141, n. 1, p. 47-55, 1 jul. 2002. DOI: 10.1007/s00227-002-0797-6. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00227-002-0797-6>. Acesso em: 29 dez. 2020.

BEN-HAIM, Y.; ZICHERMAN-KEREN, M.; ROSENBERG, E. Temperature-regulated bleaching and lysis of the coral *Pocillopora damicornis* by the novel pathogen *Vibrio coralliilyticus*. **Applied And Environmental Microbiology**, Tel Aviv, v. 69, n. 7, p. 4236-4242, jul. 2003. DOI: 10.1128/aem.69.7.4236-4242.2003. Disponível em: <https://aem.asm.org/content/69/7/4236>. Acesso em: 27 dez. 2020.

BOURNE, D. G.; MUNN, C. B. Diversity of bacteria associated with the coral *Pocillopora damicornis* from the Great Barrier Reef. **Environmental Microbiology**, [S.l.], v. 7, n. 8, p. 1162-1174, ago. 2005. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2005.00793.x. Disponível em: <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1462-2920.2005.00793.x>. Acesso em: 25 mar. 2021.



BOURNE, D. G. *et al.* Microbial disease and the coral holobiont. **Trends In Microbiology**, Australia, v. 17, n. 12, p. 554-562, dez. 2009. DOI: 10.1016/j.tim.2009.09.004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19822428/>. Acesso em: 26 dez. 2020.

CARVALHO, E. M. R. **Quantificação e identificação de vibrio ssp. na hemolinfa de camarões *Litopenaeus vannamei* (boone, 1931) cultivados em fazendas no estado do ceará.** 2009. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Pesca) - Departamento de Engenharia de Pesca, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009. Disponível em: [repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/18264/1/2009\\_dis\\_emrcarvalho.pdf](https://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/18264/1/2009_dis_emrcarvalho.pdf). Acesso em: 02 mar. 2021.

CASTRO, P.; HUBER, M. E. **Biologia Marinha.** 8.ed. Porto Alegre: Amgh Editora Ltda, 2012. 482 p.

CEARÁ (Estado). Lei nº 13.796, de 30 de junho de 2006. **Institui a Política Estadual de Gerenciamento Costeiro e o Plano Estadual de Gerenciamento Costeiro e dá Outras Providências.** Fortaleza, CEARÁ, 30 jun. 2006. Seção 124, p. 5-8. Disponível em: [https://www.sema.ce.gov.br/wp-content/uploads/sites/36/2019/06/LEI-N%C2%BA-13.796\\_-2006\\_PEGC.pdf](https://www.sema.ce.gov.br/wp-content/uploads/sites/36/2019/06/LEI-N%C2%BA-13.796_-2006_PEGC.pdf). Acesso em: 15 fev. 2021.

CEARÁ (Estado). Superintendência Estadual do Meio Ambiente. **Reestruturação e atualização do mapeamento do projeto Zoneamento Ecológico-Econômico do Ceará – zona costeira e unidades de conservação costeiras- Relatório final de caracterização ambiental e dos mapeamentos.** Fortaleza: SEMACE, 2016. 475 p. Disponível em: <https://www.semace.ce.gov.br/wp-content/uploads/sites/46/2016/12/RELAT%C3%93RIO-CARACTERIZA%C3%87%C3%83O-AMBIENTAL-E-DOS-MAPEAMENTOS.pdf>. Acesso em: 15 fev. 2021.

CERVINO, J. M *et al.* Relationship of *Vibrio* species infection and elevated temperatures to yellow blotch/band disease in Caribbean corals. **Applied and environmental microbiology**, New York, vol. 70, n. 11, p. 6855-6864. nov 2004. DOI:10.1128/AEM.70.11.6855-6864.2004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15528553/>. Acesso em: 16 mar. 2021.

CHENG, L. *et al.* Record-setting ocean warmth continued in 2019. **Advances In Atmospheric Sciences**, China, v. 37, n. 2, p. 137-142, 27 jan. 2020. DOI:10.1007/s00376-020-9283-7. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00376-020-9283-7>. Acesso em: 29 dez. 2020.

CHIMETTO, L. A. *et al.* Vibrios dominate as culturable nitrogen-fixing bacteria of the Brazilian coral *Mussismilia hispida*. **Systematic And Applied Microbiology**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 4, p. 312-319, set. 2008. DOI: 10.1016/j.syapm.2008.06.001. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0723202008000453>. Acesso em: 23 mar. 2021.

CHIMETTO, L.A. *et al.* Genomic diversity of vibrios associated with the Brazilian coral *Mussismilia hispida* and its sympatric zoanthids (*Palythoa caribaeorum*, *Palythoa variabilis* and *Zoanthus solanderi*). **Journal Of Applied Microbiology**, Rio de Janeiro, v. 106, n. 6, p. 1818-1826, jun. 2009. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2009.04149.x. Disponível em: <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2672.2009.04149.x>. Acesso em: 21 mar. 2021.

COSTA, C. F.; SASSI, R.; GORLACH-LIRA, K. Zooxanthellae genotypes in the coral *Siderastrea stellata* from coastal reefs in northeastern Brazil. **Journal Of Experimental Marine Biology And Ecology**, [S.l.], v. 367, n. 2, p. 149-152, dez. 2008. DOI:

- 10.1016/j.jembe.2008.09.012. Disponível em:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022098108004632>. Acesso em: 05 jan. 2021.
- DEROME, N. *et al.* Bacterial Opportunistic Pathogens of Fish. *In*: HURST, Christon J. **The rasputin effect: when commensals and symbionts become parasitic**. 3. ed. Cincinnati: Advances In Environmental Microbiology, 2016. p. 81-108. Disponível em:  
[https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-28170-4\\_4#citeas](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-28170-4_4#citeas). Acesso em: 24 dez. 2020.
- DOWNES, F.P.; ITO, K. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4.ed. Washington: American Public Health Association, 676p., 2001.
- FARMER, J. J. *et al.* Vibrio. *In*: B. WHITMAN *et al.* **Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria**, United States, p.1–79. DOI:10.1002/9781118960608.gbm01078. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9781118960608.gbm01078>. Acesso em: 21 mar. 2021.
- FECHINE, J. A. L. **Alterações no perfil natural da zona costeira da cidade de Fortaleza, Ceará, ao longo do século XX**. 2007. Dissertação (Mestrado em Geografia) - Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007. Disponível em:  
[http://www.repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/7938/1/2007\\_dis\\_jalfechine.pdf](http://www.repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/7938/1/2007_dis_jalfechine.pdf). Acesso em: 15 fev. 2021.
- FRYDENBORG, B. R. *et al.* Temperature-dependent inhibition of opportunistic vibrio pathogens by native coral commensal bacteria. **Microbial Ecology**, New York, v. 67, n. 2, p. 392-401, 27 dez. 2013. DOI: 10.1007/s00248-013-0334-9. Disponível em:  
<https://link.springer.com/article/10.1007/s00248-013-0334-9>. Acesso em: 24 dez. 2020.
- FUNCEME. Fundação Cearense De Metodologia e Recursos Hídricos, 2020. Disponível em:  
<http://www5.funceme.br/app/calendario/produto/municipios/maxima/mensal?data=2020-10-1>. Acesso em: 12 out. 2020.
- GIL-AGUDELO, D. L.; SMITH, G.W; WEIL, E. The white band disease type II pathogen in Puerto Rico. **Revista de biología tropical**. San José, v. 54, supl. 3, p. 59-67, Dec. 2006 . Disponível em [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-77442006000600011&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442006000600011&lng=en&nrm=iso). Acesso em:15 mar. 2021.
- GURGEL, A. L. A. R. **Recifes de arenito entremarés na zona tropical: um ecossistema com alta heterogeneidade espacial e temporal?** 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Oceanografia) - Instituto Ciências do Mar (Labomar), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019. Disponível em:  
[http://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/50255/1/2019\\_tcc\\_alargurgel.pdf](http://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/50255/1/2019_tcc_alargurgel.pdf). Acesso em: 25 nov 2020.
- HICKMAN JR, C. *et al.* **Princípios integrados de Zoologia**.16 ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2016.
- HSIAO, H. I; JAN, M.S.; CHI, H. J. Impacts of climatic variability on Vibrio parahaemolyticus outbreaks in Taiwan. **International Journal Of Environmental Research And Public Health**, Taiwan, v. 13, n. 2, p. 1-15, 3 fev. 2016. DOI: 10.3390/ijerph13020188. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1660-4601/13/2/188>. Acesso em: 23 mar. 2021.

HUGHES, T. P. *et al.* Spatial and temporal patterns of mass bleaching of corals in the Anthropocene. **Science**, [S.l.], v. 359, n. 6371, p. 80-83, 4 jan, 2018. DOI: 10.1126/science.aan8048. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29302011/>. Acesso em: 18 nov. 2020.

INMET. Instituto Nacional de Meteorologia. Gráficos diários de estações, 2020. Disponível em: <https://tempo.inmet.gov.br/Graficos/A001>. Acesso em: 26 dez. 2020.

IPECE. Instituto de Pesquisa e Estratégia Econômica do Ceará. **Perfil Municipal 2017 Fortaleza**, 2017. Disponível em: [https://www.ipece.ce.gov.br/wp-content/uploads/sites/45/2018/09/Fortaleza\\_2017.pdf](https://www.ipece.ce.gov.br/wp-content/uploads/sites/45/2018/09/Fortaleza_2017.pdf). Acesso em: 14 mar. 2021.

KAYSNER, C. A. *Vibrio*. 8ª Edição, 2004. In: MERKER, R. I. **Bacteriological Analytical Manual**, [S.l.], 8th Edition, Revision A, 1998. Chapter 9. Disponível em: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-9-vibrio>. Acesso em: 15 mar. 2021

KIMES, N. E. *et al.* Temperature regulation of virulence factors in the pathogen *Vibrio coralliilyticus*. **The ISME Journal**, United States, v. 6, n. 4, p. 835-846, 8 dez. 2012. DOI: 10.1038/ismej.2011.154. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/ismej2011154>. Acesso em: 26 set. 2020.

KOREN, O.; ROSENBERG, E. Bacteria Associated with Mucus and Tissues of the Coral *Oculina patagonica* in Summer and Winter. **Applied And Environmental Microbiology**, Tel Aviv, v. 72, n. 8, p. 5254-5259, ago. 2006. DOI: 10.1128/aem.00554-06. Disponível em: <https://aem.asm.org/content/72/8/5254.short>. Acesso em: 23 mar. 2021.

KREDIET, C. J. *et al.* Coral-associated micro-organisms and their roles in promoting coral health and thwarting diseases. **Proceedings Of The Royal Society B: Biological Sciences**, Florida, v. 280, n. 1755, p. 2012-2328, 22 mar. 2013. DOI: 10.1098/rspb.2012.2328. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3574386/#RSPB20122328C42>. Acesso em: 20 ago. 2020.

KUMAR, B. K. *et al.* Diversity of *Vibrio parahaemolyticus* associated with disease outbreak among cultured *Litopenaeus vannamei* (Pacific white shrimp) in India. **Aquaculture**, India, v. 433, p. 247-251, set. 2014. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2014.06.016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0044848614003093>. Acesso em: 30 mar. 2021.

LEÃO, Z. M. A. N.; KIKUCHI, R. K. P.; OLIVEIRA, M. D. M. Branqueamento de corais nos recifes da Bahia e sua relação com eventos de anomalias térmicas nas águas superficiais do oceano. **Biota Neotropica**, Campinas, v. 8, n. 3, p. 69-82, set. 2008. DOI: 10.1590/S1676-06032008000300006. Disponível em: [https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1676-06032008000300006&script=sci\\_arttext&tlng=pt](https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1676-06032008000300006&script=sci_arttext&tlng=pt). Acesso em: 21 nov. 2020.

LEÃO, Z. M. A. N. *et al.* Brazilian coral reefs in a period of global change: a synthesis. **Brazilian Journal Of Oceanography**, São Paulo, v. 64, n. 2, p. 97-116, 2016. DOI: 10.1590/S1679-875920160916064sp2. Disponível em: [https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1679-87592016000600097&lng=en&tlng=en](https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-87592016000600097&lng=en&tlng=en). Acesso em: 21 nov 2020.

LEÃO, Z. M. A. N.; KIKUCHI, R. K. P.; OLIVEIRA, M. D. M. The coral reef province of Brazil. *in*: SHEPPARD, C. **World Seas: An Environmental Evaluation**. 2. ed. Reino Unido: Academic Press, 2019. Cap. 35. p. 813-833. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128050682000486>. Acesso em: 25 abr. 2021.

LEGRAND, E. *et al.* Ecological characterization of intertidal rockpools: seasonal and diurnal monitoring of physico-chemical parameters. **Regional Studies In Marine Science**, France, v. 17, p. 1-10, jan. 2018. DOI: 10.1016/j.rsma.2017.11.003. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2352485517303109?via%3Dihub>. Acesso em: 23 mar. 2021.

LETCHUMANAN, V. *et al.* *Vibrio parahaemolyticus*: the protagonist of foodborne diseases. **Progress In Microbes & Molecular Biology**, Malaysia, v. 2, n. 1, p. 1-8, 2 jul. 2019. DOI: 10.36877/pmmb.a0000029. Disponível em: <http://journals.hhpublisher.com/index.php/pmmb/article/view/59/133>. Acesso em: 22 mar. 2021.

BARROS, M.M. L. *et al.* Microbial community compositional shifts in bleached colonies of the Brazilian reef-building coral *Siderastrea stellata*. **Microbial Ecology**, Rio de Janeiro, vol. 65, p. 205-213, jan. 2013. DOI: 10.1007/s00248-012-0095-x. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00248-012-0095-x>. Acesso em: 22 mar. 2021.

LOIOLA, M. *et al.* Structure of marginal coral reef assemblages under different turbidity regime. **Marine Environmental Research**, [S.l.], v. 147, p. 138-148, mai. 2019. DOI: 10.1016/j.marenvres.2019.03.013. Disponível em: <https://europepmc.org/article/med/31097215>. Acesso em: 23 nov 2020.

LONGO, G. O.; CORREIA, L. F. C.; MELLO, T. J. Coral recovery after a burial event: insights on coral resilience in a marginal reef. **Marine Biodiversity**, [S.l.], v. 50, n. 6, p. 1-6, 23 out. 2020. DOI: 10.1007/s12526-020-01121-4. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12526-020-01121-4>. Acesso em: 05 jan. 2021.

LUNA, G. M. *et al.* Bacteria associated with the rapid tissue necrosis of stony corals. **Environmental microbiology**, Italy, vol. 9, n. 7, p. 1851-1857, jul. 2007. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2007.01287.x. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17564618/>. Acesso em: 15 mar. 2021.

LUNA, G. M. *et al.* *Vibrio harveyi* as a causative agent of the White Syndrome in tropical stony corals. **Environmental microbiology**, Italy, vol. 2, n. 1, p. 120-127, fev, 2010. DOI: 10.1111/j.1758-2229.2009.00114.x. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23766006/> Acesso em :15 mar. 2021.

MADIGAN, M. T. *et al.* **Microbiologia de Brock**. 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

MARANGONI, L. F. B. *et al.* Fisiologia de corais: a simbiose coral-zooxantela, o fenômeno de branqueamento e o processo de calcificação. *In*: ZILBERBERG, C. *et al.* (ed.). **Conhecendo os Recifes Brasileiros: rede de pesquisas coral vivo**. Rio de Janeiro: Museu Nacional, 2016. p. 360. (58). Disponível em: <https://coralvivo.org.br/arquivos/documentos/Livro-Zilberberg-et-al-2016-Conhecendo-os-Recifes-Brasileiros-Rede-de-Pesquisas-Coral-Vivo.pdf>. Acesso em: 25 dez. 2020.

MENEZES, F. G.R. *et al.* Pathogenic *Vibrio* species isolated from estuarine environments (Ceará, Brazil) - antimicrobial resistance and virulence potential profiles. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 89, n. 2, p. 1175-1188, 27 abr. 2017. DOI: 10.1590/0001-3765201720160191. Disponível em:

[https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0001-37652017000301175&lng=pt&nrm=iso&tlng=en](https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-37652017000301175&lng=pt&nrm=iso&tlng=en). Acesso em: 30 mar. 2021.

MUNN, C. B. *et al.* The Role of *Vibrios* in Diseases of Corals. **Microbiology Spectrum**, United Kingdom, v. 3, n. 4, p. 1-12, 6 ago. 2015. DOI: 10.1128/microbiolspec.ve-0006-2014. Disponível em:

<https://www.asmscience.org/content/journal/microbiolspec/10.1128/microbiolspec.VE-0006-2014>. Acesso em: 24 dez. 2020.

NASCIMENTO, W. F. **Saúde do coral *Siderastrea stellata* e sua relação com variáveis ambientais em poças de maré do rio grande do norte**. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2019. Disponível

em:<https://monografias.ufrn.br/jspui/handle/123456789/10407>. Acesso em: 29 dez. 2020.

OIGMAN-PSZCZOL, S. S.; CREED, J. C. Can patterns in benthic communities be explained by an environmental pressure index? **Marine Pollution Bulletin**, Rio de Janeiro, v. 62, n. 10, p. 2181-2189, out. 2011. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2011.07.001. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0025326X11003705>. Acesso em: 04 dez. 2020.

POLSON, S. W.; HIGGINS, J. L.; WOODLEY C. M. PCR-based assay for detection of four coral pathogens. **International Coral Reef Symposium**, Florida, v.8, p. 247-251, 2008. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/261709250\\_PCR-based\\_Assay\\_for\\_Detection\\_of\\_Four\\_Coral\\_Pathogens](https://www.researchgate.net/publication/261709250_PCR-based_Assay_for_Detection_of_Four_Coral_Pathogens). Acesso em: 03 jan. 2021.

PORTUGAL, A. B. *et al.* Increased anthropogenic pressure decreases species richness in tropical intertidal reefs. **Marine Environmental Research**, [S.l.], v. 120, p. 44-54, set. 2016. DOI: 10.1016/j.marenvres.2016.07.005. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27428738/>. Acesso em: 24 nov. 2020.

RABELO, E. F. *et al.* Distribution pattern of zoanthids (Cnidaria: zoantharia) on a tropical reef. **Marine Biology Research**, [S.l.], v. 11, n. 6, p. 584-592, 7 jan. 2015. DOI: 10.1080/17451000.2014.962542. Disponível em:

<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/17451000.2014.962542>. Acesso em: 23 nov. 2020.

RODRÍGUEZ, M. T. T. *et al.* Presença de *Pseudomonas* e *Enterococcus* em galerias pluviais e em águas marinhas receptoras na cidade de Fortaleza, Ceará. **Arquivos de Ciências do Mar**, Fortaleza, v. 48, n. 1, p. 49-56, jul. 2015. Disponível em:

<http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/27413>. Acesso em: 21 mar. 2021.

ROSENBERG, E. *et al.* The role of microorganisms in coral health, disease and evolution. **Nature Reviews Microbiology**, Tel Aviv, v. 5, n. 5, p. 355-362, 26 mar. 2007.

DOI: 10.1038/nrmicro1635. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrmicro1635>. Acesso em: 20 ago. 2020.

ROSENBERG, E.; FALKOVITZ, L. The vibrio shiloi/oculina patagonica model system of coral bleaching. **Annual Review Of Microbiology**, Tel Aviv, v. 58, n. 1, p. 143-159, out. 2004. Annual Reviews. DOI: 10.1146/annurev.micro.58.030603.123610. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15487933/>. Acesso em: 28 dez. 2020.

SANTANA, J. K. S.; COSTA, C. F. Branqueamento e doenças em *Siderastrea stellata* (Cnidaria, Scleractinia) dos recifes do Picãozinho, João Pessoa - PB. In: VI congresso de iniciação científica da universidade federal de campina grande, 5., 2009, João Pessoa. **Anais [...]**. Campina Grande: UFCG, 2009. p. 1-11. Disponível em: <http://pesquisa.ufcg.edu.br/anais/2009/>. Acesso em: 29 dez. 2020.

SANTOS, E.O. *et al.* Genomic and proteomic analyses of the coral pathogen *Vibrio coralliilyticus* reveal a diverse virulence repertoire. **The ISME Journal**, Rio de Janeiro, v. 5, n. 9, p. 1471-1483, 31 mar. 2011. DOI: 10.1038/ismej.2011.19. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/ismej201119>. Acesso em: 28 dez. 2020.

SILVA, R. M. S. **Diversidade de bactérias cultiváveis associadas às colônias sadias e necrosadas do zoantídeo *Palythoa caribaerum* (Cnidaria, Anthozoa) dos recifes costeiros de Carapibus, Paraíba.** 2015. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) - Centro de Ciências Exatas da Natureza, Universidade Federal de Paraíba, João Pessoa, 2015. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/bitstream/tede/9442/2/arquivototal.pdf>. Acesso em: 02 mar. 2021.

SHEPPARD, C. *et al.* **The Biology of Coral Reefs.** 2. ed. Reino Unido: Oxford, 2018. 384 p. SIBONI, N. *et al.* Spatiotemporal dynamics of *Vibrio* spp. within the sydney harbour estuary. **Frontiers In Microbiology**, Sydney, v. 7, p. 1-15, 12 abr. 2016. Frontiers Media SA. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00460. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2016.00460/full>. Acesso em: 24 mar. 2021.

SOARES, M. O. *et al.* Gestão de unidades de conservação marinhas: o caso do parque estadual marinho da pedra da risca do meio, NE Brasil. **Revista de Gestão Costeira Integrada**, Fortaleza, v. 11, n. 2, p. 257-268, jun. 2011. DOI: 10.5894/rgci261. Disponível em: <https://www.aprh.pt/rgci/rgci261.html>. Acesso em: 15 fev. 2021.

SOARES, M. O.; RABELO, E. F. Primeiro registro de branqueamento de corais no litoral do ceará (NE, Brasil): indicador das mudanças climáticas? **Geociências**, São Paulo, v. 33, n. 1, p. 1-10, 2014. Disponível em: <http://www.ppegeo.igc.usp.br/index.php/GEOSP/article/view/7351>. Acesso em: 29 dez. 2020.

SOARES, M. O. *et al.* The forgotten reefs: benthic assemblage coverage on a sandstone reef (tropical south-western atlantic). **Journal Of The Marine Biological Association Of The United Kingdom**, United Kingdom, v. 97, n. 8, p. 1585-1592, 25 jul. 2017. DOI: 10.1017/s0025315416000965. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/journals/journal-of-the-marine-biological-association-of-the-united-kingdom/article/abs/forgotten-reefs-benthic-assemblage-coverage-on-a-sandstone-reef-tropical-southwestern-atlantic/9005948A8675F83A3790AB3316730802>. Acesso em: 04 dez. 2020.

SOARES, M. O.; TAVARES, T. C. L.; CARNEIRO, P. B. M. Mesophotic ecosystems: distribution, impacts and conservation in the south atlantic. **Diversity And Distributions**, [S.l.], p. 255-268, 11 dez. 2018. DOI: 10.1111/ddi.12846. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ddi.12846>. Acesso em: 05 jan. 2021.

SOARES, M. O. *et al.* Thermal stress and tropical reefs: mass coral bleaching in a stable temperature environment?. **Marine Biodiversity**, [S.l.], v. 49, n. 6, p. 2921-2929, 17 ago. 2019. DOI: 10.1007/s12526-019-00994-4. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs12526-019-00994-4>. Acesso em: 05 jan. 2021.

SOTO-RODRIGUEZ, S. A. *et al.* Field and experimental evidence of *Vibrio parahaemolyticus* as the causative agent of acute hepatopancreatic necrosis disease of cultured shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in Northwestern Mexico. **Applied Environmental Microbiology**, Mexico, vol.81, n. 5, p. 1689-1699. mar, 2014. DOI: 10.1128/AEM.03610-14. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25548045/>. Acesso em :17 mar. 2021.

SOUSA, O.V. *et al.* The impact of shrimp farming effluent on bacterial communities in mangrove waters, Ceará, Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, Ceará, v. 52, n. 12, p. 1725-1734, dez. 2006. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2006.07.006. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/6785204\\_The\\_impact\\_of\\_shrimp\\_farming\\_effluent\\_on\\_bacterial\\_communities\\_in\\_mangrove\\_waters\\_Ceara\\_Brazil](https://www.researchgate.net/publication/6785204_The_impact_of_shrimp_farming_effluent_on_bacterial_communities_in_mangrove_waters_Ceara_Brazil). Acesso em: 03 jan. 2021.

SUSSMAN, M. *et al.* Coral Pathogens Identified for White Syndrome (WS) Epizootics in the Indo-Pacific. **Plos One**, Australia, v. 3, n. 6, p. 1-14, 18 jun. 2008. DOI: 10.1371/journal.pone.0002393. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0002393>. Acesso em: 27 dez. 2020.

SULLY, S. *et al.* A global analysis of coral bleaching over the past two decades. **Nature Commun**, United States, vol. 10, n. 1264. mar. 2019. DOI: 10.1038/s41467-019-09238-2. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41467-019-09238-2>. Acesso em: 21 mar. 2021.

TAKEMURA, A. F.; CHIEN, D. M.; POLZ, M. F. Associations and dynamics of Vibrionaceae in the environment, from the genus to the population level. **Frontiers In Microbiology**, [S.l.], v. 5, n. 38, p. 1-26, 2014. DOI: 10.3389/fmicb.2014.00038. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2014.00038/full>. Acesso em: 23 mar. 2021.

THOMPSON, J. R; POLZ, M. F. **Dynamics of *Vibrio* populations and their role in environmental nutrient cycling**. In: THOMPSON F L, AUSTIN B, SWINGS J, (eds). *The Biology of Vibrios*. 2006. Washington D C. p. 90–203.

TOUT, J. *et al.* Increased seawater temperature increases the abundance and alters the structure of natural *Vibrio* populations associated with the coral *Pocillopora damicornis*. **Frontiers In Microbiology**, Cornell, v. 6, p. 423-495, 18 maio 2015. DOI: 10.3389/fmicb.2015.00432. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2015.00432/full#h5>. Acesso em: 29 abr. 2020.

TUNALA, L. P. *et al.* Stress factors in the photobiology of the reef coral *Siderastrea stellata*. **Journal Of Experimental Marine Biology And Ecology**, Brasil, v. 519, p. 151-188, out. 2019. DOI: 10.1016/j.jembe.2019.151188. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022098118305744?via%3Dihub>. Acesso em: 05 jan. 2021.

VEZZULLI, L. *et al.* Vibrio infections triggering mass mortality events in a warming Mediterranean Sea. **Environmental Microbiology**, [S.l.], v. 12, n. 7, p. 2007-2019, 29 mar. 2010. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2010.02209.x. Disponível em: <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1462-2920.2010.02209.x>. Acesso em: 30 mar. 2021.

VEZZULLI, L. *et al.* Long-term effects of ocean warming on the prokaryotic community: evidence from the vibrios. **The Isme Journal**, [S.l.], v. 6, n. 1, p. 21-30, 14 jul. 2012. DOI: 10.1038/ismej.2011.89. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/ismej201189>. Acesso em: 25 set. 2020.

VEZZULLI, L. *et al.* Effects of global warming on vibrio ecology. **Microbiology Spectrum**, [S. l.], v. 3, n. 3, p. 1-9, 25 jun. 2015. DOI: 10.1128/microbiolspec.ve-0004-2014. Disponível em: <https://www.asmscience.org/content/journal/microbiolspec/10.1128/microbiolspec.VE-0004-2014>. Acesso em: 29 mar. 2021.

VIDAL-DUPIOL, J. *et al.* Physiological responses of the scleractinian coral *Pocillopora damicornis* to bacterial stress from *Vibrio coralliilyticus*. **Journal Of Experimental Biology**, [S.l.], v. 214, n. 9, p. 1533-1545, 13 abr. 2011. The Company of Biologists. DOI: 10.1242/jeb.053165. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2019.00366/full?report=reader#B39>. Acesso em: 20 abr. 2021.

VIEIRA, C. B *et al.* Vibrio spp. em hemolinfa de camarões *litopenaeus vannamei* coletados em três fazendas de cultivo do estado do ceará. **Boletim Técnico Científico do CEPNOR**, Belém, v. 9, p. 141-149, 2009. Disponível em: [https://www.researchgate.net/profile/Oscarina-Sousa/publication/276248190\\_Vibrio\\_spp\\_em\\_Hemolinfa\\_de\\_Camaroes\\_Litopenaeus\\_vanna\\_mei\\_Coletados\\_em\\_Tres\\_Fazendas\\_de\\_Cultivo\\_do\\_Estado\\_do\\_Ceara/links/5e6d66a3a6fdccf994ca18c0/Vibrio-spp-em-Hemolinfa-de-Camaroes-Litopenaeus-vannamei-Coletados-em-Tres-Fazendas-de-Cultivo-do-Estado-do-Ceara.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Oscarina-Sousa/publication/276248190_Vibrio_spp_em_Hemolinfa_de_Camaroes_Litopenaeus_vanna_mei_Coletados_em_Tres_Fazendas_de_Cultivo_do_Estado_do_Ceara/links/5e6d66a3a6fdccf994ca18c0/Vibrio-spp-em-Hemolinfa-de-Camaroes-Litopenaeus-vannamei-Coletados-em-Tres-Fazendas-de-Cultivo-do-Estado-do-Ceara.pdf). Acesso em: 02 mar. 2021.

VIEIRA, R. H. S. F. *et al.* Vibrio na água e sedimento de viveiros de quatro fazendas de carcinicultura no estado do Ceará, Brasil. **Braz. J. Veterinary Research And Animal Science.**, São Paulo, v. 47, n. 6, p. 454-460, 2010. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/bjvras/article/view/26807/28590>. Acesso em: 02 mar. 2021.

VILLAÇA, R. Recifes Biológicos. *In*: PEREIRA, R. C.; SOARES-GOMES, A. (org). **Biologia Marinha**. 2 ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2009. Cap. 17. p. 399-420.

VIZCAINO, M. I. *et al.* Antimicrobial resistance of the coral pathogen vibrio coralliilyticus and caribbean sister phylotypes isolated from a diseased octocoral. **Microbial Ecology**, United States, v. 59, n. 4, p. 646-657, 23 mar. 2010. DOI: 10.1007/s00248-010-9644-3. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00248-010-9644-3>. Acesso em: 29 mar. 2021.



WILKINSON, C. **Status of coral reefs of the world: 2008**. Australia: Reef and rain forest research centre, 2008. Disponível em: <https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000179244?posInSet=2&queryId=5cf135c8-fb6f-4645-9c19-674fa395b6f1>. Acesso em: 24 nov 2020.

WILSON, B. *et al.* An Improved Detection and Quantification Method for the Coral Pathogen *Vibrio coralliilyticus*. **Plos One**, [S.l.], v. 8, n. 12, p. 1-7, 10 dez. 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0081800. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0081800>. Acesso em: 03 mai. 2021.

ZHANG, X.J. *et al.* Isolation and characterization of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio rotiferianus* associated with mass mortality of chinese shrimp (*Fenneropenaeus chinensis*). **Journal Of Shellfish Research**, [S.l.], v. 33, n. 1, p. 61-68, abr. 2014. DOI: 10.2983/035.033.0108. Disponível em: <https://bioone.org/journals/journal-of-shellfish-research/volume-33/issue-1/035.033.0108/Isolation-and-Characterization-of-Vibrio-parahaemolyticus-and-Vibrio-rotiferianus-Associated/10.2983/035.033.0108.short>. Acesso em: 31 mar. 2021.

ZHOU, Z. *et al.* Altered immune landscape and disrupted coral-symbiodinium symbiosis in the scleractinian coral pocillopora damicornis by vibrio coralliilyticus challenge. **Frontiers In Physiology**, [S.l.], v. 10, p. 1-12, 2 abr. 2019. DOI: 10.3389/fphys.2019.00366. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2019.00366/full>. Acesso em: 20 abr. 2021.