



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

MARÍA GABRIELA MORENO ÁVILA

**USO DE FERRAMENTAS BIOTECNOLÓGICAS NO MANEJO DO CORAL
CONSTRUTOR *Mussismilia harttii* (VERRILL, 1868)**

RECIFE
2021

MARÍA GABRIELA MORENO ÁVILA

**USO DE FERRAMENTAS BIOTECNOLÓGICAS NO MANEJO DO CORAL
CONSTRUTOR *Mussismilia harttii* (VERRILL, 1868)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Área de concentração: Biotecnologia e Bioinformática

ORIENTADOR: PROF. DR. RANILSON DE SOUZA BEZERRA.
COORIENTADOR: DR. RUDÃ FERNANDES BRANDÃO SANTOS.

Recife
2021

Catálogo na Fonte:
Bibliotecária Natália Nascimento, CRB4/1743

Ávila, María Gabriela Moreno.

Uso de ferramentas biotecnológicas no manejo do coral construtor *Mussismilia hartii* (Verril, 1868). /
María Gabriela Moreno Ávila. – 2021.

64 f. : il., fig.; tab.

Orientador: Ranilson de Souza Bezerra.

Coorientador: Rudã Fernandes Brandão Santos.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de
Pós-graduação em Ciências biológicas, 2021.

Inclui referências.

1. Cultivo de coral. 2. Coral - restauração. 3. Coral - fragmentação. 4. Nubbins. I. Bezerra,
Ranilson de Souza. (Orient.). II. Santos, Rudã Fernandes Brandão. (Coorient.). III. Título.

587

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2023-133

MARÍA GABRIELA MORENO ÁVILA

**USO DE FERRAMENTAS BIOTECNOLÓGICAS NO MANEJO DO CORAL
CONSTRUTOR *Mussismilia harttii* (VERRILL, 1868)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Aprovada em: 29 / 10 /2021.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Ranilson de Souza Bezerra (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Thiago Cahú (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Karina Ribeiro (Examinador Externo)
Universidade Federal de Rio Grande do Norte

A minha família.

AGRADECIMENTOS

A la vida.

A mi familia llena de amor incondicional. A mis padres Janette y Ramón por estar siempre conmigo aún en la distancia; por brindarme una formación sólida a través de los valores, consejos y experiencias; por formarme como una persona crítica y honesta, y por enseñarme a siempre luchar por mis sueños.

A mi hermano Marco, por siempre ser un guía y apoyo. Más que un hermano, es un amigo incondicional que siempre ha tenido una opinión objetiva y clara cuando la he necesitado. Este logro también es de ustedes.

A meu orientador, Prof. Dr. Ranilson de Souza Bezerra por aceitar me orientar e apreender junto a mim sobre os corais; pela sua dedicação e confiança e pelo incentivo constante.

A meu coorientador e amigo Rudã Fernandes, por abrir-me as portas de sua casa, por acreditar em minha capacidade, incentivar minha vontade de apreender e meu amor pelos ecossistemas marinho costeiros, e por se tornar em um lar para mim. Eternamente grata por isso e mais.

Para Carlos, pela sua paixão por os corais, pela ajuda no desenvolvimento de todos os cultivos, pelas ganhas de sempre ajudar. Você e a força que mantem o projeto andando.

A equipe de comunicação da Biofabrica de corais, Thalia, Juliana, Jefferson e Carol, pelo excelente trabalho e apoio constante nesse caminho. É um prazer poder trabalhar com vocês. Vocês serão ótimos profissionais.

Ao laboratório de Enzimologia Luiz Accioly por abrir suas portas e explorar junto a nós uma nova linha de pesquisa focada na geração de biotecnologia aplicada a restituição de recifes de corais.

A Universidade por sempre ter as portas abertas, ainda em pandemia, para o conhecimento e todos os que queremos nutrir-nos dele.

A Tania y Sofia, mis amigas latinas, roommates, hermanas de vida, por su amistad incondicional. Estaré siempre agradecida con la vida por ponerlas en mi camino.

A Samuel y Jesús, un par de venezolanos con los que tuve la dicha de encontrarme en Recife, por ser los mejores amigos, por acompañarme en las buenas y malas y siempre cuidar de mí. Mil gracias.

A Olavio e Janilson, por me receber ao chegar em Brasil, me ensinar a falar as palavras mais importantes em português e me ajudar a desenvolver nessas terras novas para mim.

A Estrella Villamizar y Joxmer Scott, mi tutora en Venezuela y colega, por siempre tenderme una mano cuando lo necesito y por seguir prestando apoyo constante en mi formación.

A agência de fomento CAPES pela bolsa, e a Fundação Grupo Boticário e UBER pelo suporte financeiro para o desenvolvimento dessa pesquisa.

A todos os que acreditam em nossa missão e, a os que ainda não, também.

Obrigada Brasil!

¡Gracias Venezuela!

RESUMO

Mussismilia harttii é uma espécie endêmica e o principal coral construtor de recife no Nordeste de Brasil. Atualmente está classificada “Em Perigo” na lista vermelha brasileira. Portanto, é importante priorizar os trabalhos de restauração com a espécie. Com base neste cenário, (1) foi avaliada a viabilidade do cultivo *in situ* de *M. harttii* utilizando duas versões de um dispositivo de cultivo (berço) criado com tecnologia de impressão 3D e (2) foi avaliado o número de nubbins que podem ser obtidos de um pólipos doador. Foram realizados dois experimentos, cada um com N=10 por tratamento, seguindo às restrições do ICMBio. No experimento 1, duas versões do berço foram impressas em ácido polilático (polímero biodegradável); a primeira com uma superfície de fixação lisa, e a segunda com colunas nas bordas. No experimento 2, foram realizados três tratamentos: (1) o pólipos inteiro, (2) pólipos divididos pela metade e (3) pólipos divididos em três *nubbins* (réplicas geneticamente iguais). Os *nubbins* foram fixas nos berços, pesadas e inseridas na base de ancoragem fixa sobre uma mesa de cultivo. Por último, foi realizado uma análise de custo do berçário. Após 150 dias de cultivo, foi demonstrado que o berço impresso em 3D é eficaz como substrato para o crescimento dos nubbins de *Mussismilia harttii*. Foi observado um ganho de peso maior ao 100% para os nubbins cultivados em ambos berços. Taxas específicas de crescimento (TEC) e sobrevivência (100%) foram similares em ambos os tratamentos. No experimento 2, foi obtido um ganho de peso de 82%, 92% e 106% respectivamente. Uma taxa de sobrevivência de 80% nos tratamentos 1 e 2 e 70% no tratamento 3. Os custos mensais de produção de nubbins variaram entre 0,60 USD e 1,88 USD, destacando uma redução de custos ao aumentar a produção e tempo de cultivo. O uso de impressão 3D permite o desenho de estruturas mais leves e de baixo custo, assim como o uso de materiais biodegradáveis. Os resultados de crescimento são encorajadores, e os pólipos estressados foram recuperados com sucesso nas mesas de cultivo mesmo quando fragmentados em 3 partes. Além disso, as altas taxas de crescimento registradas e sobrevivência, confirmam que o cultivo de corais com tecnologia 3D pode melhorar o desempenho da produção de nubbins de *M. harttii* em programas de restauração recifal.

Palavras-chave: cultivo de coral; restauração; fragmentação; nubbins

ABSTRACT

Mussismilia harttii is an endemic species and the main reef-forming coral in the Northeast of Brazil. It is currently classified as endangered in the Brazilian red list. Thus, it is important to prioritize restoration work with the species. Based on this scenario, was (1) evaluated the viability of *in situ* cultivation of *M. harttii* using two versions of a culture device (crib), created with 3D-printing technology, and (2) assessed the number of nubbins that can be obtained from a donor polyp. Two experiments were conducted, each with an N=10 per treatment; following ICMBio restrictions. In experiment 1, two versions of the crib were printed on polylactic acid (biodegradable polymer); the first with a flat attachment surface, and the second with columns on the edges. In experiment 2, three treatments were performed: (1) using the whole polyp, (2) halved polyps, and (3) polyps divided into three nubbins (genetically equal replicates). The nubbins were fixed on the cribs, weighed, and inserted into the anchor base fixed on the culture table. Last, a cost analysis of the nursery was performed. After 150 days of cultivation, it was demonstrated that the 3D-printed crib was effective as a substratum for the growth of *Mussismilia harttii* nubbins. Higher weight gains at 100% was observed for nubbins grown in both cribs. Specific growth rates (SGR) and survival rates (100%) were similar in both treatments. In experiment 2, was obtained a weight gain of 82%, 92%, and 106% for each treatment. Survival rates of 80% in treatments 1 and 2 and 70% in treatment 3. The monthly costs of nubbin production varied between 0.60 USD and 1.88 USD, highlighting a cost reduction by increasing production and cultivation time. The use of 3D printing technology allows the design of lightweight, easy-to-handle, low-cost production structures, as well as the use of biodegradable materials. The growth results are encouraging, and the stressed polyps were successfully recovered in the culture tables even when fragmented in 3 parts. Furthermore, the high-growth rates and survival recorded confirm that coral culture with 3D technology can improve the performance of *M. harttii* nubbin in reef restoration programs.

Keywords: coral cultivation; restoration; fragmentation; nubbins.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1- Representação esquemática de um pólipó de cnidário. Sinalizando o disco pedal, a coluna, o manúbrio (extremidade oposta da coluna), e os tentáculos. 15
- Figura 2 - Anatomia de um coral pétreo. Corte longitudinal de um coral colonial, apresentando as partes do esqueleto, e anatomia básica do pólipo. 16
- Figura 3- Distribuição de recifes de corais no Brasil. 18
- Figura 4 -Distribuição de *Mussismilia harttii* no Brasil. 20
- Figura 5 -Representação das três morfologias da espécie *M. harttii*. Forma confertifólia (a). Forma intermédia (b). Forma laxa (c). 21
- Figura 6- Imagem de satélite representando área experimental localizada na praia de Porto de Galinhas, Estado de Pernambuco - Brasil. Exibindo: "Mar do Sul": local de coleta de fragmentos do coral *Mussismilia harttii* (8°30'40.36"S; 34°59'53.40 "O) (A) local experimental "Passadeira da cima" (8°30'34.96 "S; 34°59'52.23 "O) (B) 33
- Figure 7- Representação esquemática das duas versões do berço empregados nos experimentos de cultivo para *Mussismilia harttii*. Corte em perspectiva do berço ornamentado na base de ancoragem (a). Base de ancoragem (b). Encaixe do pino no sistema de fixação do dispositivo de cultivo (b1). Corpo do pino (b.2). Travas de fixação dos pinos nos substratos de fixação (b.3). Plataforma de propagação dos nubbins, berço liso (c). Plataforma de propagação dos nubbins, berço ornamentado (d)..... 34
- Figura 8- Diagrama do processo de produção de um cultivo de corais de *Mussismilia harttii*. Em destaque as operações em terra que inclui a etapa 1 de produção, e as operações marinhas que incluem as etapas 2 (obtenção de nubbins) e 3 (manejo e monitoramento)..... 37
- Figure 9- Crescimento de nubbins de coral de *M. harttii* cultivados em duas versões de dispositivos de transplante. Fotos tiradas com 150 dias de intervalo. Berço plano com detalhes do processo de divisão assexuado do coral (a). Berço ornamentado (b) 40
- Figure 10- Crescimento de nubbins de coral criados a partir de um pólipo de coral de *M. harttii* (T_A) meio pólipo (T_B) e um terço de um pólipo (T_C). Fotos tiradas com 150 dias de intervalo..... 42

Figura 11- Comparação dos custos totais para as 3 fases de produção de um cultivo de corais de *M. hartii* e os quatro cenários propostos. Cenário A: produção de 288 nubbins em um período de 4 meses. Cenário B: produção de 480 nubbins em 4 meses. Cenário C: produção de 288 nubbins em 12 meses; e cenário D: produção de 480 nubbins em 12 meses. 43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Quadro representativo do custo bruto dos itens relacionados ao cultivo experimental de <i>Mussismilia harttii</i> em berçário. Dividido nas três etapas do processo de produção: produção de insumos, obtenção de nubbins, manejo e monitoramento.....	38
Tabela 2. Comparação dos parâmetros de crescimento e sobrevivência de nubbins de coral cultivados em duas versões de dispositivos de transplante (FASTen).	39
Tabela 3. Comparação dos parâmetros de crescimento e sobrevivência de nubbins de corais criados a partir de um pólipo (T _A), meio pólipo (T _B) e um terço do pólipo (T _C).....	41
Tabela 4. Quadro representativo da análise de custos operacionais relacionados ao cultivo de <i>Mussismilia harttii</i> na fase de berçário.	42

SUMARIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 Os recifes de corais.....	15
2.2 Recifes de corais do Brasil	17
2.3 Recifes do Nordeste do Brasil	19
2.4 <i>Mussismilia harttii</i> , Verrill (1868).....	19
2.5 Ameaças aos recifes de coral.....	21
2.6 Jardinagem de corais	24
3 OBJETIVOS	26
3.1 Objetivo geral	26
3.2 Objetivos Específicos	26
CAPÍTULO 1	27
Desenvolvimento e validação de uma tecnologia para a produção dos cultivos de <i>Mussismilia harttii</i> (Verrill, 1868) usando fragmentação e impressão 3D.....	28
RESUMO	29
RESUMO GRAFICO	30
INTRODUÇÃO.....	30
MATERIAIS E MÉTODOS	32
RESULTADOS.....	39
DISCUSSÃO.....	44
CONCLUSÃO	47
REFERÊNCIAS	47
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	57
REFERÊNCIAS	58

1. INTRODUÇÃO

Os recifes de corais são ecossistemas de grande complexidade e um dos mais ricos em biodiversidade do planeta (HOEGH-GULDBERG, O., MUMBY, P. J., HOOTEN, A. J., STENECK, R. S., GREENFIELD, P., GOMEZ; & HATZIOLOS, 2007), eles cobrem uma área de apenas 0,17% dos oceanos e albergam 25% da vida marinha (NYBAKKEN, J., 2001). São encontrados em áreas tropicais e subtropicais, onde as condições ambientais permitem seu desenvolvimento (SPALDING *et al.*, 2001). Fornecem importantes serviços ecossistêmicos (HUGHES, 2017); e ao mesmo tempo, protegem o litoral de tempestades e erosão (MOBERG; FOLKE, 1999).

Os únicos recifes de coral do Atlântico Sul se encontram no Brasil (CASTRO; PIRES, 2001; LABOREL-DEGUEN *et al.*, 1970). Esses ecossistemas se distribuem desde a foz do rio Amazonas até o litoral de Santa Catarina e estão isolados dos recifes do Caribe devido à circulação oceânica e à influência do rio que atuam como barreira biogeográfica produzindo alto índice de endemismo e baixa biodiversidade (ROCHA, 2003).

No entanto, suas populações estão em declínio devido ao aumento das perturbações antrópicas e às mudanças climáticas globais (HOEGH-GULDBERG, 2011). Estes recifes têm sido expostos a uma intensa pressão antropogênica, com sobreposição de eventos, incluindo pesca excessiva, poluição e sedimentação costeira devido ao desenvolvimento urbano (BARRADAS *et al.*, 2010). Adicionado a isso, os recifes do nordeste foram recentemente afetados pelo derramamento de petróleo de 2019 (CERQUEIRA *et al.*, 2020; LOURENÇO *et al.*, 2020) e pela onda de calor recorde de 2019-2020 que desencadeou o primeiro evento de branqueamento massivo de corais da região (DUARTE *et al.*, 2020).

Para mitigar alguns desses problemas tem sido sugerido à restauração dos recifes de corais (RINKEVICH, Baruch, 2014, 2020; SHAVER; BURKEPILE; SILLIMAN, 2018), pois as estratégias tradicionais de conservação não são suficientes para mitigar o impacto acelerado das mudanças climáticas (RINKEVICH, Baruch, 2020; SHAISH *et al.*, 2008). Nesta área, a jardinagem de corais (RINKEVICH, Baruch, 1995) é uma das metodologias mais eficazes e amplamente utilizadas com várias espécies em todo o mundo (BOSTROM-EINARSSON, L BABCOCK/ RC *et al.*, 2020; LEVY *et al.*, 2010; MBIJE; SPANIER; RINKEVICH, 2010; TORTOLERO-LANGARICA *et al.*, 2019). Essa técnica tem duas etapas: cultivo de fragmentos de coral em

berçários protegidos para eles aumentar seu tamanho ou número de ramas (segundo a espécie); e transplante para áreas degradadas do recife (EPSTEIN; RINKEVICH, 2001; MBIJE; SPANIER; RINKEVICH, 2010).

Para a etapa de berçário, um dos maiores desafios está na escolha adequada do dispositivo de cultivo. A impressão 3D pode ajudar a elevar a taxa de sucesso nessa etapa. Atualmente, o uso da tecnologia 3D está sendo implementado na pesquisa oceanográfica. Diferentes aplicações como monitoramento ecológico do fundo do mar; estudos de biomecânica, hidrodinâmica, locomoção de organismos marinhos; e a restituição de recifes de coral degradados tem sido tratada por meio dessa tecnologia (MOHAMMED, 2016). No entanto, ainda não foi testado como base de fixação para os nubbins nos cultivos de corais em fase de berçário.

É importante a implementação de cultivos para a recuperação de colônias nativas do Brasil. Uma das espécies mais importantes para a construção de recifes brasileiros é *Mussismilia harttii* (PIRES; CASTRO; RATTO, 1999). Esta espécie já foi a mais abundante nas costas do nordeste e se caracteriza por apresentar menor susceptibilidade ao branqueamento (CASTRO; PIRES, 2001). Não obstante, suas populações foram reduzidas em 50% nas últimas 3 décadas. Motivo pelo qual, o presente trabalho procura desenvolver ferramentas biotecnológicas que subsidiem o manejo do coral *Mussismilia harttii* em cultivos de corais *in situ*.

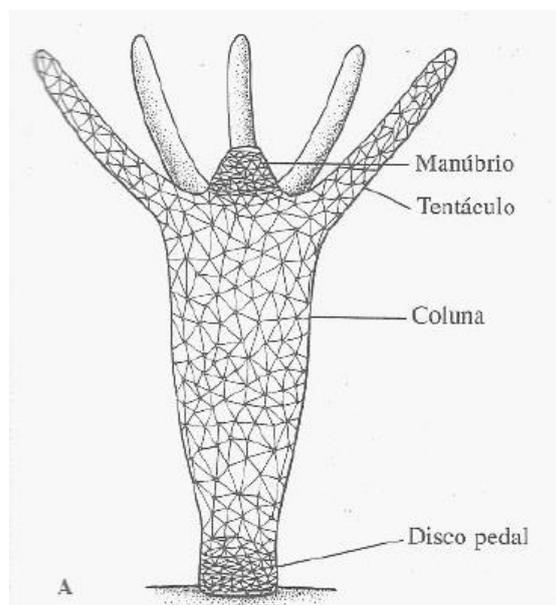
2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Os recifes de corais

Os recifes de corais são estruturas biológicas calcárias de águas tropicais e subtropicais rasas que conferem habitat a uma grande diversidade de organismos (KARLSON, 1999). Estes ecossistemas representam 0,17% da superfície total do planeta sendo considerados um dos ambientes marinhos mais produtivos (NYBAKKEN, 2001). A unidade básica de um recife são os corais. Eles são animais bentônicos sésseis do Phylum Cnidária, classe Anthozoa. A grande maioria dos corais formam colônias com pólipos pequenos, de diâmetros entre 1 e 3 mm; mas, existem algumas espécies de corais solitários cujos pólipos não excedem os 50 cm de diâmetro (RUPPERT; FOX; BARNES, 2005)

Os pólipos se assemelham a uma flor com seu pedúnculo. O pedúnculo é uma coluna cilíndrica alongada que surge de um disco pedal aboral; e na extremidade oposta está localizado um disco oral bordado por uma fileira de tentáculos que usam para se alimentar, para a defesa e para remover detritos (RUPPERT; FOX; BARNES, 2005) (Figura 1).

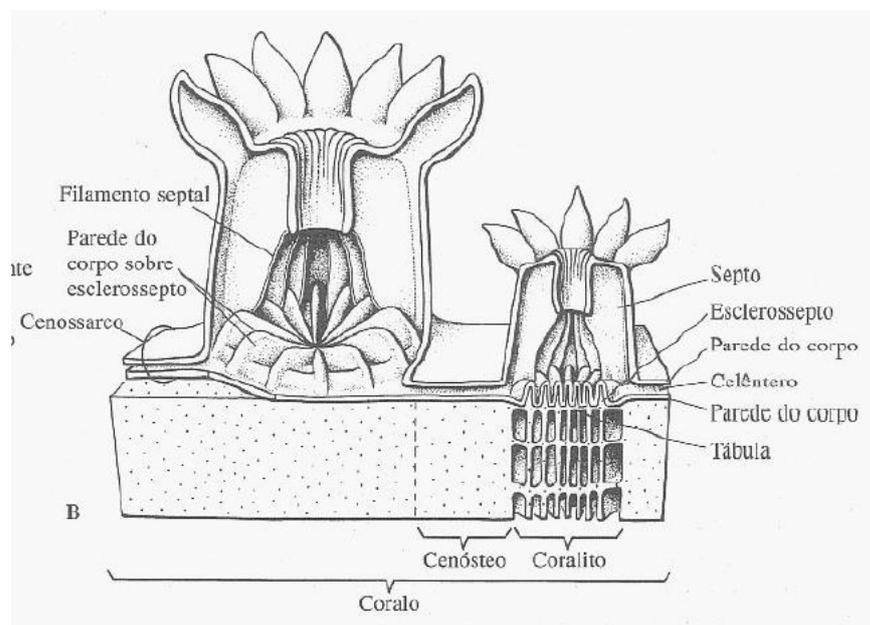
Figura 1- Representação esquemática de um pólipo de cnidário. Sinalizando o disco pedal, a coluna, o manúbrio (extremidade oposta da coluna), e os tentáculos.



Fonte: (RUPPERT; FOX; BARNES, 2005)

Estes organismos produzem um exoesqueleto de carbonato de cálcio, em forma de aragonita, secretado pela epiderme da parte mais basal da coluna (RAVEN *et al.*, 2005). Este processo gera um esqueleto em forma de taça, chamado coralito, onde habita o pólipo (Figura 2). As paredes do coralito é a teca, e o piso é a placa basal. Enquanto a colônia de coral está viva, o carbonato de cálcio é depositado abaixo dos tecidos; produzindo uma nova placa basal acima da antiga e criando uma câmara no esqueleto, aumentando assim o tamanho do esqueleto e elevando o coral (RUPPERT; FOX; BARNES, 2005). Os corais da ordem Scleractinia são os principais construtores dos depósitos de carbonato de cálcio que compõem os recifes de corais (NYBAKKEN, 2001).

Figura 2- Anatomia de um coral pétreo. Corte longitudinal de um coral colonial, apresentando as partes do esqueleto, e anatomia básica do pólipo.



Fonte: (RUPPERT; FOX; BARNES, 2005)

Para o desenvolvimento dos corais, são necessárias certas condições ambientais, como: temperatura média da água entre 23 e 29 °C, embora algumas espécies possam se desenvolver a partir de 18 °C e outras tolerar altas temperaturas por curtos períodos; salinidade entre 32 e 35 ppm; pH próximo a 8,2; e disponibilidade de luz para a atividade fotossintética das zooxantelas que possuem em seus tecidos (GLYNN; STEWART, 1973).

As zooxantelas fixam dióxido de carbono (CO₂) através da fotossíntese e disponibilizam nutrientes ao coral (HOEGH-GULDBERG, 1999). A associação mutualista que os corais têm com as zooxantelas limita algumas espécies a aproximadamente 50 m de profundidade (BAKER; WEBER, 1975), enquanto outras espécies possuem uma fisiologia fotossintética especializada que lhes permite prosperar em regimes de baixa luminosidade e habitar zonas de maior profundidade, até 165 m (KAHNG *et al.*, 2008).

Os corais escleractinianos, também conhecidos como corais pétreos ou verdadeiros constituem o maior táxon nos antozoários, com cerca de 3600 espécies (RUPPERT, *et al.*, 2005). O oceano Indo-Pacífico apresenta 85% dessas espécies de coral. Enquanto, no Atlântico existem aproximadamente 84 espécies reportadas, principalmente no Caribe com um aproximado de 60 espécies (DE LIMA, 2017)

2.2. Recifes de corais do Brasil

O padrão de circulação oceânica entre o Brasil e a África transforma os recifes do Brasil no único ecossistema de recifes de coral do Atlântico Sul (CASTRO; PIRES, 2001; LABOREL-DEGUEN *et al.*, 1970). Estes ecossistemas estão isolados dos recifes do Caribe devido à influência da água do rio Amazona e Orinoco como barreira biogeográfica que gera alta sedimentação e causa alto endemismo (ROCHA, 2003). No entanto, a alta turbidez gerada pela sedimentação potencialmente pode reduzir a irradiância solar (CACCIAPAGLIA; VAN WOESIK, 2015; DUARTE *et al.*, 2020) permitindo amortecer o aumento da temperatura do mar (TEIXEIRA *et al.*, 2019). Por isso, os corais do Atlântico Sul foram apontados como refúgios do aquecimento global sendo menos susceptíveis ao branqueamento (DUARTE *et al.*, 2020)

Estes ecossistemas estendem-se ao longo de 3000 km da costa brasileira (LEÃO, Z. *et al.*, 2016) desde a foz do rio Amazonas (CORDEIRO *et al.*, 2015) até o litoral de Santa Catarina (Figura 3) (CASTRO; ZILBERBERG, 2016) Com as maiores comunidades registradas no Parque Estadual Marinho do Parcel de Manuel Luís, estado do Maranhão, até Arraial do Cabo, estado Rio de Janeiro, e incluindo os arquipélagos oceânico Atol das Rocas e Fernando Noronha (CASTRO; PIRES, 2001; LEÃO, Z. M. A. N.; KIKUCHI; TESTA, 2003). Apesar da vasta extensão dos recifes

brasileiros, as comunidades de coral não formam recifes verdadeiros, pois, as áreas recifais são estreitas e a diversidade coralina é baixa (CASTRO; PIRES, 2001).

Figura 3 - Distribuição de recifes de corais no Brasil.



Fonte: (ELLIFF, 2014)

Até 2016 foram registradas 23 espécies de corais escleractinianos, dos quais 16 são zooxantelados, sendo cinco espécies endêmicas; e cinco hidrocorais, dos quais 3 espécies são endêmicas (LEÃO, Z. *et al.*, 2016; LEÃO, Z. M. A. N.; KIKUCHI; OLIVEIRA, 2018) Estas espécies estão adaptadas as condições extremas das costas brasileiras (LEÃO, Z. M. A. N.; KIKUCHI, 2005). Não obstante, as formações de recifes

do Atlântico sudoeste e sua distribuição ainda estão sendo estudadas, portanto se seguem descobrindo novos recifes e caracterizando suas populações (GRILLO *et al.*, 2021).

2.3. Recifes do Nordeste do Brasil

Os recifes de coral nordestinos, estendem-se do Cabo de São Roque (Rio Grande do Norte) até ao foz do rio São Francisco (Alagoas), frente aos estados de Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco e Alagoas (LEÃO, Z. *et al.*, 2016; LEÃO, Z. M. A. N.; KIKUCHI; TESTA, 2003). Numa área com cerca de 600 km de comprimento (CASTRO; PIRES, 2001). Esses ambientes apresentam alta sedimentação e turbidez, e os recifes estão entre os mais ameaçados por impactos antrópicos pelas proximidades que tem a costa (LEÃO, Z. M. A. N.; KIKUCHI; TESTA, 2003).

Esses recifes próximos das costas apresentam um topo emergente formado principalmente por algas coralinas, zoantídeos, *Siderastrea stellata* e *Favia gravida*. No infralitoral predominam as colônias de *Millepora alcicornis*, zona média *Mussismilia harttii* e na zona inferior *Montastraea cavernosa*. Sendo *M. harttii* uma das espécies mais abundantes das costas nordestinas (CASTRO; PIRES, 2001)

2.4. *Mussismilia harttii*, Verrill (1868)

O gênero endêmico *Mussismilia* (Ortmann, 1890) pertencente à família Mussidae e se compõe de quatro espécies: *M. hispida* (Verrill, 1902), *M. braziliensis* (Verrill, 1868), *M. leptophylla* (Verrill, 1868) e *M. harttii* (Verrill, 1868). A espécie *M. hispida* apresenta uma ampla distribuição ao longo da costa brasileira (PICCIANI, 2013). Enquanto as outras três espécies possuem distribuição restrita ao nordeste do Brasil (CASTRO; PIRES, 2001; PICCIANI, 2013), sendo *M. braziliensis* e *M. leptophylla* endêmicas da Bahia (LEÃO, Z. *et al.*, 2010).

Mussismilia harttii é uma das principais construtoras de recife do Brasil (PIRES; CASTRO; RATTO, 1999). Esta espécie já foi a mais abundante nas costas do nordeste brasileiro (CASTRO; PIRES, 2001). Suas populações se distribuem nos estados de Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Bahia e Espírito Santo (Figura 4) (ICMBIO/MMA, 2018).

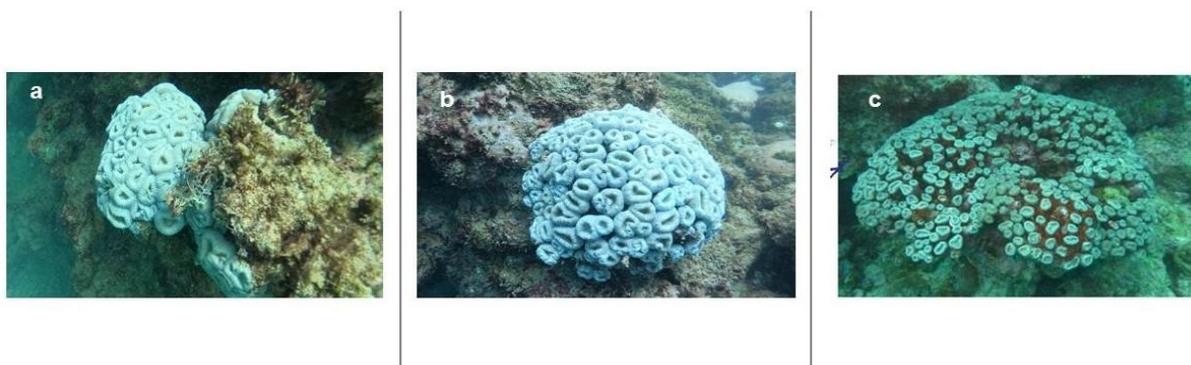
Figura 4 -Distribuição de *Mussismilia harttii* no Brasil.



Fonte: (ICMBIO/MMA, 2018)

A espécie se caracteriza por apresentar uma forma colonial facelóide (BUDD, A. N. N. F. *et al.*, 2012; ICMBIO/MMA, 2018), com coralitos em grupos dicotômicos cujos cálices estão separados uns dos outros, mas sem formar ramos (LEÃO, Z. M. A. N.; KIKUCHI; TESTA, 2003). Os cálices são de grande tamanho, com diâmetros entre 12 – 30 mm (BUDD, A. N. N. F. *et al.*, 2012; LEÃO, Z. M. A. N.; KIKUCHI; TESTA, 2003). Apresenta três morfologias diferentes: forma laxa, com cálices bem separados, comum em ambientes com águas calmas; a confertifólia, com cálices pouco separados, assemelha-se à *M. hispida*; e a intermédia que inclui as formas que não apresenta características das outras duas variantes (Figura 5) (LEÃO, Z. M. A. N.; KIKUCHI; TESTA, 2003).

Figura 5 - Representação das três morfologias da espécie *M. harttii*. Forma confertifólia (a). Forma intermédia (b). Forma laxa (c).



Fonte: (ICMBIO/MMA, 2018)

A espécie é hermafrodita com ciclo reprodutivo anual e fecundação externa. Podendo-se reproduzir também por fragmentação (PIRES; CASTRO; RATTO, 1999). E resistente a moderada turbidez e ocorre, geralmente em águas rasas de 2 a 6 m, podendo ser encontradas em águas mais profundas (entre 15 a 30 m) e raramente em profundidade de até 80 m (DE LIMA, 2017). A tendência das populações da espécie é diminuir, nos últimos 30 anos se há perdido 50% das populações, razão pela qual está listada como em perigo de extinção (ICMBIO/MMA, 2018).

2.5. Ameaças aos recifes de coral

Os recifes de coral enfrentam numerosas ameaças, tanto naturais como antrópicas, a escalas globais e/ou locais podem gerar mudanças nas condições físicas, químicas e biológicas da água afetando a condição de saúde desses ecossistemas (MCCLANAHAN, 2002). Os recifes são continuamente afetados por distúrbios naturais, e estas moldam as comunidades em que se desenvolvem. Em geral, recifes se recuperam dessas tensões naturais, desde que estes não sejam particularmente severas nem frequentes (WILKINSON, 1999).

Entre as ameaças naturais que afetam os recifes de corais podemos mencionar:

1. Perturbações geológicas que geram mudanças climáticas em escalas de tempo geológico, como a última glaciação que levou a extinção massiva de corais devido a uma série de eventos que atuarem em sinergia como: mudanças do nível do mar, baixas e altas temperaturas e as causas ligadas ao ciclo do

carbono como chuva ácida, sulfeto de hidrogênio, oxigênio e anoxia, metano, dióxido de carbono, diminuição de pH (VERON, 2008).

2. Tormentas e outros distúrbios climáticos, sendo fatores determinantes na estruturação dos recifes (WILKINSON, 1999).
3. Inundação por água doce que podem afetar os recifes que estão perto de massas de terra, seja pelo arrastre de sedimentos ou redução prolongada da salinidade durante eventos climáticos extremos (WILKINSON, 1999).
4. Exposição durante as marés baixas por períodos prolongados que deixa os corais de águas rasas expostos danificando o organismo. A quantidade de danos depende da hora do dia e das condições climáticas. Os corais expostos durante o dia são submetidos à radiação mais ultravioleta, que pode superaquecer e secar os tecidos dos corais, ficando fisiologicamente estressados, o que leva a expelir as zooxantelas causando o branqueamento e, em muitos casos, à morte (WILKINSON, 1999).
5. Surtos de predadores e doenças. A presença de predadores pode devastar recifes inteiros nos casos que as populações de predadores se tornem muito altas, podendo acontecer por variações nas condições climáticas locais num período prolongado (WILKINSON, 1999). Somado a isso, a presença de doenças e predadores pode ocorrer como evento natural, ou pode ser iniciada ou acentuadas por fatores antropogênicos (GOLDBERG; WILKINSON, 2004; WILKINSON, 1999). O impacto que podem gerar as enfermidades depende das condições ambientais, taxas de infecção, tempo de exposição, tamanho da colônia e condição de saúde que apresentava ao momento de contrair a enfermidade (GIL-AGUDELO; GARZÓN-FERREIRA, 2001).

Adicionais a essas ameaças que estão sempre presentes nesses ecossistemas e podem afetar os corais dependendo da magnitude e tempo de duração do evento; existem as pressões humanas como os fatores predominantes que danificam os recifes de coral na atualidade (GOLDBERG; WILKINSON, 2004). Os impactos antrópicos podem-se dividir em dois:

- I. Os que geram estresse direto sobre o coral como: poluição, seja por componentes orgânicos e inorgânicos, por metais pesados e por petróleo ou

derivados; aumento das cargas de sedimentos; pesca excessiva; práticas de pesca destrutivas usando dinamite ou cianeto; coleta de corais vivos para o mercado de aquários; e mineração de corais para materiais de construção.

- II. Os impactos globais que acentuam os impactos naturais como: o aumento da temperatura dos oceanos que gera o branqueamento de corais; o incremento da concentração de dióxido de carbono que afeta a taxa de calcificação dos corais; mudanças no clima e padrões atuais como chuvas e secas intensas que levam ao aumento das concentrações de sedimentos (WILKINSON, 1999)

Os recifes do Brasil não estão isentos dessa problemática. Atualmente, esses ecossistemas estão expostos a uma intensa pressão antropogênica, como a pesca excessiva, poluição e sedimentação, devido ao aumento da ocupação das regiões costeiras, desenvolvimento industrial, portuário e crescimento do turismo (BARRADAS *et al.*, 2012; LEÃO, Z. M. A. N.; KIKUCHI, 2005).

No estado de Pernambuco, localizado no Nordeste do Brasil, esta situação é agravada pela influência de cultivos da cana de açúcar (Castro & Zilberberg, 2016). A implantação de empreendimentos industriais, portuários e o crescimento descontrolado do turismo também propiciaram o comprometimento destes ecossistemas com o atropelamento de espécies, fragmentação de corais para lembranças, poluição através de protetores solares, plásticos, linhas e redes de pesca (BARRADAS *et al.*, 2012).

Além disso, a situação foi agravada pelo derramamento de petróleo de 2019; pela onda de calor de 2019-2020 que desencadeou o primeiro evento massivo de branqueamento de corais e impactou fortemente as populações de algumas espécies construtoras como *Millepora alcicornis* (CERQUEIRA *et al.*, 2020; DUARTE *et al.*, 2020; LOURENÇO *et al.*, 2020) e pela introdução de corais invasoras como *Tubastraea coccinea* e *Tubastraea tagusensis* que podem alcançar a maturidade em um ano meio; têm taxas de crescimento de 3,02 cm² por ano, ampla tolerância a variação de temperatura, dessecação e profundidade (VERMEIJ, 2005) e ameaçam à integridade da biodiversidade dos recifes das costas brasileiras já que competem pelo espaço com as espécies nativas (SAMPAIO *et al.*, 2012).

A perda acelerada de diversidade das comunidades de corais nas costas do Nordeste do Brasil torna necessária a implementação de medidas de manejo que podem garantir a recuperação das espécies nativas. Estratégias de conservação

tradicionais não são suficientes para mitigar o impacto acelerado das mudanças climáticas (RINKEVICH, Baruch, 2020; SHAISH *et al.*, 2008). Para tal fim tem sido sugerido à restauração ativa dos recifes de corais (RINKEVICH, Baruch, 2014, 2020; SHAVER; BURKEPILE; SILLIMAN, 2018) sendo a Jardinagem de corais a técnica melhor sucedida.

2.6. Jardinagem de corais

A recuperação natural dos recifes de coral são processos de longo prazo. Estima-se que uma destruição por evento natural a pequena escala, precise um pouco mais de 10 anos para se recuperar, enquanto, perturbações crônicas como derramamento de petróleo podem demorar várias décadas ou não se recuperar totalmente. Portanto, apenas gerenciar esses ecossistemas não é suficiente. É necessária iniciativas de restauração ativas que acelerem a reabilitação de recifes de corais danificados aproveitando a reprodução sexual e assexual desses organismos, num abordagem conhecido como “Jardinagem de corais” (RINKEVICH, Baruch, 1995).

A Jardinagem de corais é um processo que consta de duas etapas: o cultivo de pequenos fragmentos de corais ramificados em berçários protegidos de sedimentação, ondas, interferência humana, predadores, etc. e transplantação para áreas degradadas de recifes após a recuperação e crescimento dos fragmentos (EPSTEIN; RINKEVICH, 2001; MBIJE; SPANIER; RINKEVICH, 2010).

Para a etapa de berçário, um dos maiores desafios está na escolha adequada do dispositivo de cultivo. Desde que a jardinagem de corais foi proposta como um mecanismo para restauração ativa destes ecossistemas, numerosos substratos foram testados. Fios de cobre cobertos de plástico (LATYPOV, 2006); pratos de cerâmica (OKAMOTO *et al.*, 2008); pratos de concreto (RINKEVICH, B., 2000); aragocrete (OMORI, 2019) e viveiros em fios (LEVY *et al.*, 2010) são os mais utilizados. Além disso, as espécies de corais ramificadas são as mais usadas para o cultivo de corais devido a seu rápido crescimento, altas taxas de recuperação e sobrevivência (LOYA *et al.*, 2001; RINKEVICH, Baruch, 1995), sendo as mais comuns espécies do gênero *Acropora* (LATYPOV, 2006; OKAMOTO *et al.*, 2008); *Porites* (LATYPOV, 2006) e *Stylophora* (RINKEVICH, B., 2000).

Semelhante à abordagem usada no reflorestamento de ambientes terrestres, a maricultura de um grande número de subclones de corais obtidos através da fragmentação de uma ou mais colônias doadoras, pode promover a geração de novas colônias para a jardinagem de uma área de recife estressadas por atividades antrópicas (RINKEVICH, Baruch, 1995).

Embora o uso de recrutas assexuais (subclones) e relativamente fácil e rápido, não contribui na variabilidade genética da população. Para isso, Rinkevich (1995) propõe o uso de recrutas sexuais, porém, é um processo mais complexo e longo que pode ser feito de duas formas. A primeira transplantando colônias fecundadas durante os picos de reprodução, justo antes da descarga das larvas. Esse método permite que as novas larvas de coral sejam introduzidas em novas áreas do recife onde previamente eram inacessíveis para eles.

A segunda abordagem se encaixa nos corais que se reproduzem ou pela transmissão de gametas, ou por plânulas que brotam. A coleta dos produtos reprodutivos pode ser feita em redes de campo ou em laboratório, transferindo colônias fecundadas para aquários pouco antes de desovar gametas ou as larvas-plânula. Já estabelecidas as novas colônias se transfere de volta ao campo usando cimento epóxi. Estes juvenis de coral sobrevivem melhor em micro-habitat manipulados porque não se afeitam pela sedimentação ou estão expostos a atividades de herbivoria, ou competição com algas.

A aplicação de estratégias de jardinagem para a reabilitação de recifes degradados, integrado a manejo de reservas para conservação desses organismos pode ser uma solução para a restauração desses ecossistemas. Não obstante, e preciso a implementação de novas tecnologias que permitam a integração de outros grupos de corais, como as espécies massivas.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Desenvolver e validar ferramentas biotecnológicas que subsidiem o manejo do coral *Mussismilia harttii*.

3.2. Objetivos Específicos

1. Avaliar a viabilidade da utilização de duas versões de um dispositivo de transplante (FasT) no cultivo *in situ* de *M. harttii*
2. Avaliar o número de nubbins que podem ser obtidos a partir de um pólipó doador
3. Avaliar a viabilidade de implementação de berçários de corais para a restauração de recifes.
4. Elaborar um protocolo de manejo da espécie de cultivo *in situ* para recuperação de colônias danificadas.

CAPÍTULO 1

Desenvolvimento e validação de uma tecnologia para a produção dos cultivos de *Mussismilia harttii* (Verrill, 1868) usando fragmentação e impressão 3D

Desenvolvimento e validação de uma tecnologia para a produção dos cultivos de *Mussismilia harttii* (Verrill, 1868) usando fragmentação e impressão 3D

María Gabriela Moreno-Ávila^{1*}; Amanda Lucena dos Santos¹; Luiz Carlos Manuel Santos²; James Tony Lee³; Pedro Vitor Vasconcelos Silva¹; Rudã Fernandes Brandão Santos¹; Ranilson de Souza Bezerra¹

¹Laboratório de Enzimologia. Departamento de Bioquímica. Universidade Federal de Pernambuco. Recife. Brazil.

²Associação de Jangadeiros de Porto de Galinhas. Ipojuca. Brazil.

³Laboratório de Pesquisa em Monitoramento Ambiental Marinho. Instituto de Geociências. Universidade Federal do Pará. Belém. Brazil.

Autor correspondente:

María Gabriela Moreno-Ávila¹

¹Laboratório de Enzimologia. Departamento de Bioquímica. Universidade Federal de Pernambuco. Recife. Brazil.

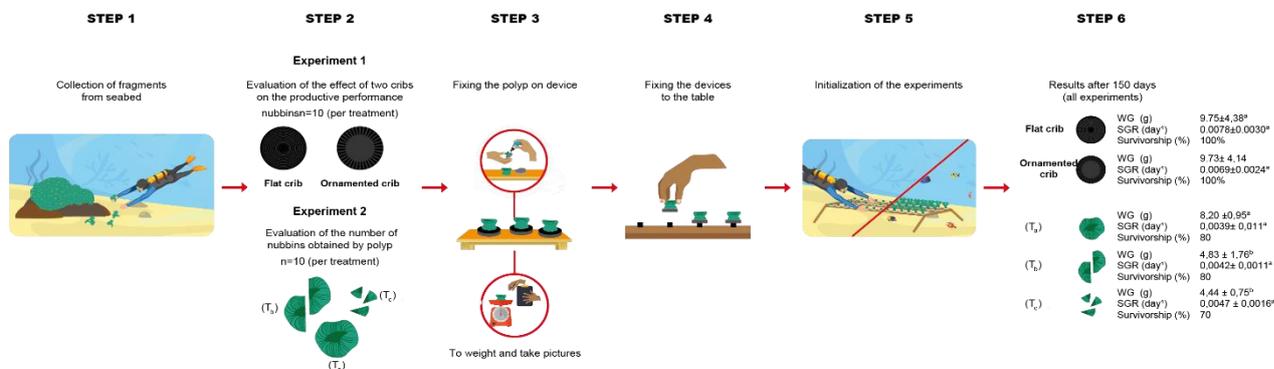
Correio electrónico: mariag.moreno.a@gmail.com

RESUMO

Mussismilia harttii é uma espécie endêmica e o principal coral construtor de recifes no Nordeste do Brasil e suas populações estão atualmente classificadas como “Em Perigo” na lista vermelha brasileira. Portanto, é urgente priorizar os trabalhos de restauração com a espécie. Nesse contexto, foi (1) avaliada a viabilidade do cultivo in situ de *M. harttii* utilizando duas versões de um berço de cultivo denominado FASTen, criado com tecnologia de impressão 3D e (2) avaliado o número de nubbins que podem ser obtidos de um pólipos doador. Os pólipos foram coletados do substrato marinho para evitar o uso de corais saudáveis. Foram realizados dois experimentos, cada uma com um N=10 por tratamento, devido às restrições da licença ambiental. No experimento 1, duas variantes do berço FASTen foram testadas, a primeira com uma superfície plana de fixação dos corais, e a segunda com colunas nas bordas. No experimento 2, foram realizados três tratamentos: (T_A) um pólipos correspondia a um nubbins, (T_B) os pólipos foram divididos pela metade e (T_C) cada pólipos foi dividido em três nubbins. Os pólipos foram produzidos utilizando um micro retífica, posteriormente, foram pesados, fixados nos berços e inseridos sobre a base de ancoragem fixada sobre uma mesa de cultivo. Com base nas métricas de produtividade dos dois experimentos, foi realizado uma análise de custo do berçário de corais. Após 150 dias de cultivo, foi demonstrado que os dispositivos impressos em 3D eram eficazes como substrato para o crescimento dos nubbins de *Mussismilia harttii*. Foi observado um ganho de peso maior ao 100% para ambos berços. As taxas específicas de crescimento (SGR) e sobrevivência foram similares em ambos os tratamentos ($p=0,40726$). No experimento 2, foi obtido um ganho de peso de 82%, 92% e 106% para o tratamento T_A, T_B e T_C respectivamente. Foi observada uma taxa de sobrevivência de 80% nos tratamentos A e B e 70% no tratamento C, e uma média SGR de 0,0039; 0,0042 e 0,0047 (dia⁻¹) ($p=0,5667$). Os custos mensais de produção de nubbins variaram entre 0,60 USD e 1,88 USD, destacando uma redução de custos através do aumento do tempo de produção e cultivo. O uso da tecnologia de impressão 3D permite o desenho de materiais leves e fáceis de manusear, bem como o uso de materiais biodegradáveis que favorecem o assentamento de corais. Os resultados de crescimento são encorajadores, e os pólipos fragmentados se recuperam com sucesso nas mesas de cultivo mesmo quando partidos em 3 partes, evidenciando a alta capacidade de regeneração da espécie, confirmando que o cultivo de corais com

tecnologia 3D pode melhorar o desempenho da produção de nubbins de *M. harttii* em programas de restauração ambiental.

RESUMO GRAFICO



Palavras-chaves: cultivo de corais, berçários, restauração, fragmentação, nubbins.

INTRODUÇÃO

Os recifes de corais do Brasil apresentam elevado endemismo e baixa biodiversidade (ROGERS *et al.*, 2014). Atualmente, esses ecossistemas estão expostos a uma intensa pressão antropogênica, como a pesca excessiva, poluição e sedimentação, devido ao aumento da ocupação das regiões costeiras, desenvolvimento industrial, portuário e crescimento do turismo (BARRADAS *et al.*, 2012; LEÃO, Z. M. A. N.; KIKUCHI, 2005). Recentemente, esta situação foi agravada pelo derramamento de petróleo que afetou as costas do Nordeste do Brasil em 2019 e pelo evento de branqueamento massivo resultante de ondas de calor recorde durante os verões de 2019 e 2020 (DUARTE *et al.*, 2020).

Para mitigar alguns desses problemas tem sido sugerido à restauração ativa dos recifes de corais (RINKEVICH, Baruch, 2014, 2020; SHAVER; BURKEPILE; SILLIMAN, 2018). Sendo a jardinagem de corais (RINKEVICH, Baruch, 1995), uma abordagem bem sucedida na transplantação de diversas espécies, principalmente ramificadas, em todo o mundo (Levy *et al.*, 2010; Mbije *et al.*, 2010; Tortolero-

Langarica et al., 2019). Esta técnica consta de duas etapas: o cultivo de fragmentos em berçários até atingirem tamanhos adequados; e transplantação para áreas degradadas de recifes de coral (EPSTEIN; RINKEVICH, 2001; MBIJE; SPANIER; RINKEVICH, 2010).

Para a etapa de berçário, um dos maiores desafios está na escolha adequada do dispositivo de cultivo. A impressão 3D pode ajudar a elevar a taxa de sucesso nessa etapa, devido à versatilidade estrutural dos dispositivos. Na atualidade, essa tecnologia emergente, está sendo implementada nas pesquisas oceanográficas. Diferentes aplicações como monitoramento ecológico do substrato marinho; estudos de biomecânica, hidrodinâmica, locomoção de organismos marinhos; e a restituição de recifes de coral degradados tem sido tratada por meio dessa tecnologia (MOHAMMED, 2016). No entanto, ainda não foi testado nos cultivos de corais na fase de berçário.

Por outro lado, viabilizar a obtenção de pólipos para a realização de berçários pode ser considerada uma das etapas mais elementares para a construção de um pacote tecnológico para o cultivo de espécies brasileiras. A escassez de informações produtivas sobre o cultivo de espécies nativas, inibe iniciativas com a finalidade de transplantação e recuperação recifal. Até agora há poucos trabalhos que dão suporte a essa abordagem, destacando-se pesquisas com hidrocorais ramificados da espécie *Millepora alcicornis* (CALDERON; ZILBERBERG; E CASTRO, 2015; OLIVEIRA; LEÃO; KIKUCHI, 2008).

Priorizar a realização de trabalhos com espécies massivas é urgente. Embora o crescimento e recrutamento deles seja mais lento, são mais resistentes ao estresse térmico (LOYA *et al.*, 2001) e constituem os principais formadores de recifes. Porém, as técnicas de cultivo com essas espécies têm representado um grande desafio, sendo a fragmentação de pólipos entre 2.5 cm e 6 cm a melhor desenvolvida (BERZINS *et al.*, 2008; PAGE; MULLER; VAUGHAN, 2018)

No Brasil, uma das espécies mais importantes para a construção de recife é *Mussismilia harttii* (PIRES; CASTRO; RATTO, 1999). Esta espécie já foi a mais abundante nas costas do nordeste brasileiro e se caracteriza por apresentar menor susceptibilidade ao branqueamento (CASTRO; PIRES, 2001). Não obstante, suas populações foram reduzidas em 50% nas últimas 3 décadas, razão pela qual está listada como em perigo de extinção (ICMBIO/MMA, 2018).

Com base nesse cenário, o objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade da utilização de duas versões de um dispositivo de transplante (FASTen), criado com tecnologia 3D, no cultivo *in situ* de *M. harttii*; e avaliar o número de nubbins que podem ser obtidos a partir de um pólipos doador.

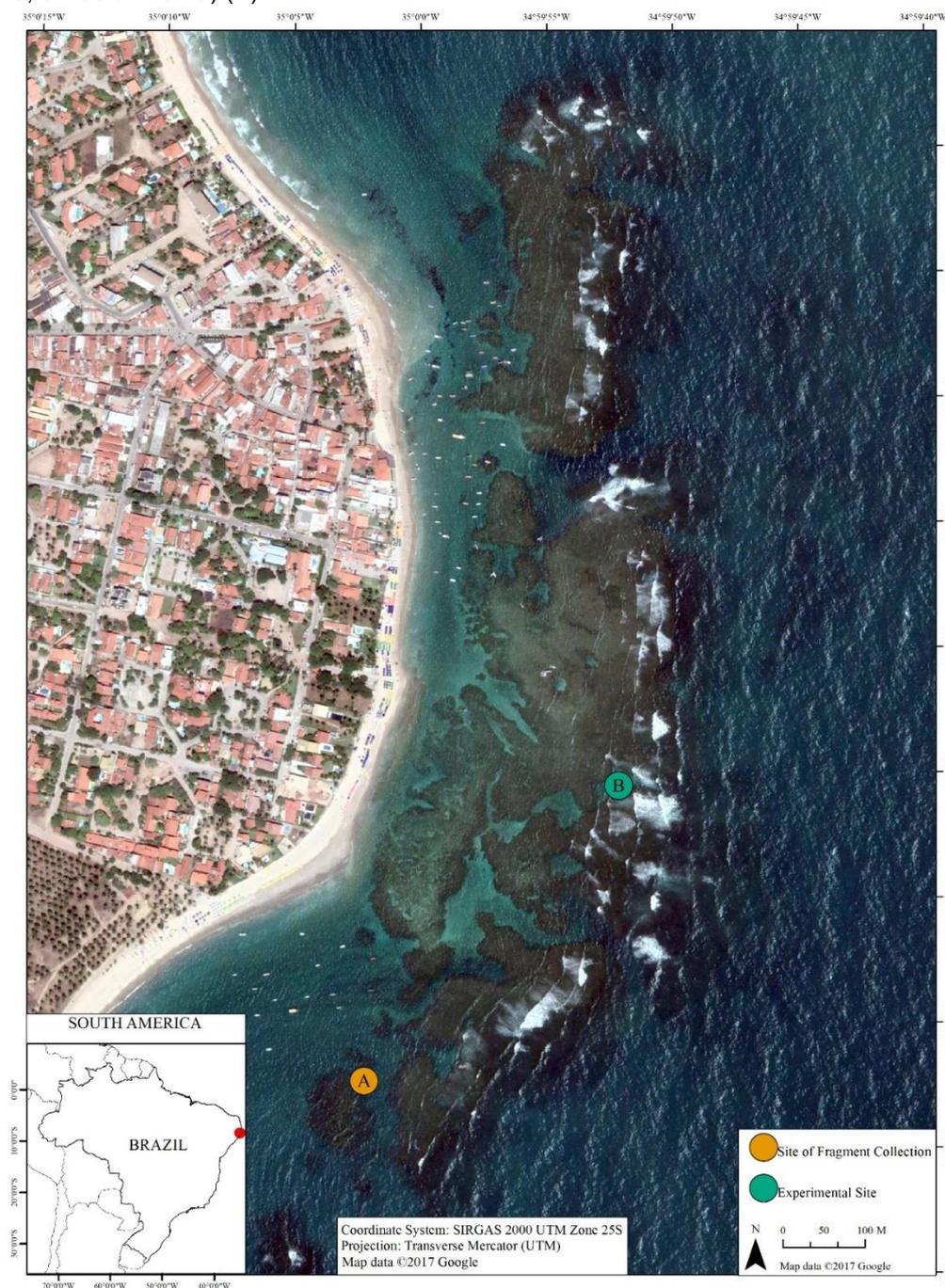
MATERIAIS E MÉTODOS

Seleção do local de estudo

O estudo foi realizado em Porto de Galinhas, a 65 Km da cidade de Recife, capital do estado de Pernambuco, Brasil. O recife está localizado a 120 m da costa (SANTOS *et al.*, 2014), tem extensão aproximada de 1,54 km e está composto por três blocos retangulares paralelos à praia, separados uns dos outros por canais com profundidade máxima de 10 m.

Foram coletados fragmentos quebrados do coral *Mussismilia harttii* achados sobre o substrato marinho na região sul da plataforma recifal, em uma piscina denominada “Mar do Sul” (8° 30' 40,36"S; 34° 59' 53,40" W) (Figura 6). Enquanto a área de experimentação localiza-se na região central da plataforma numa piscina denominada “Passadeira de Cima” (8° 30' 34,96"S; 34° 59' 52,23" W). A licença n° 53583, para coleta dos fragmentos de corais, foi obtida através do Instituto Brasileiro Chico Mendes de conservação ambiental (ICMBIO).

Figura 6 - Imagem de satélite representando área experimental localizada na praia de Porto de Galinhas, Estado de Pernambuco - Brasil. Exibindo: "Mar do Sul": local de coleta de fragmentos do coral *Mussismilia harttii* (8°30'40.36"S; 34°59'53.40 "O) (A) local experimental "Passadeira da cima" (8°30'34.96 "S; 34°59'52.23 "O) (B)



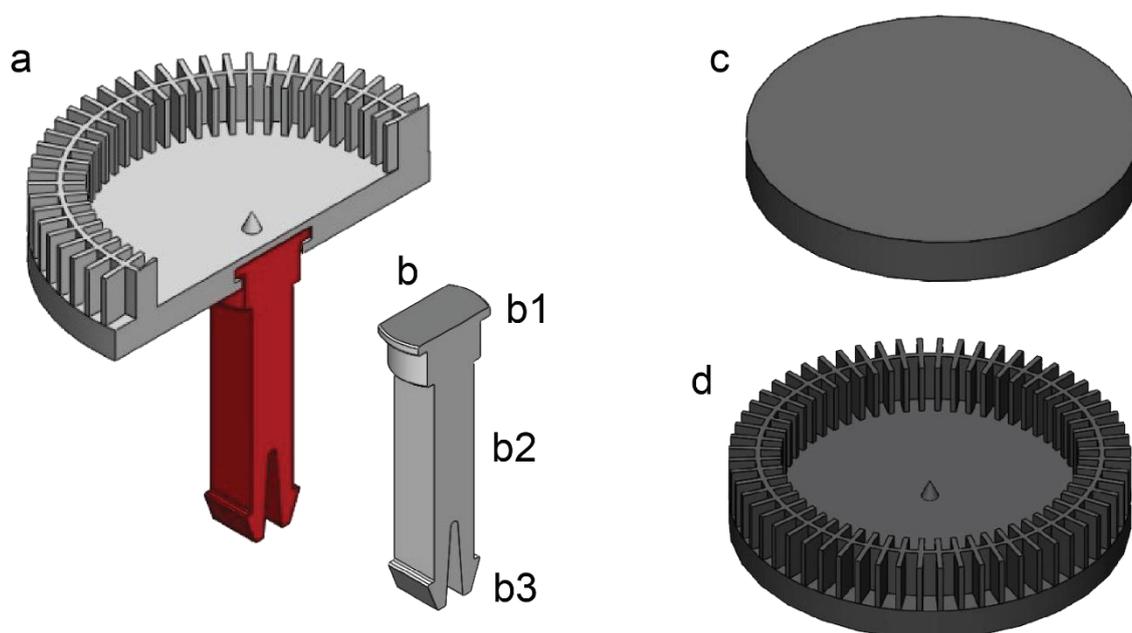
Fonte: Google Map (2017)

Eficiência do dispositivo de cultivo

Foi desenvolvido e impresso em um equipamento de impressão 3D, a adaptação de um berço de cultivo denominado FASTen (Fast Access Structure for Transplantation, patente: BR 10 2018 007 496 2) (Santos et al. 2018). O dispositivo

consta de uma estrutura impressa em Ácido polilático (PLA), constituída por duas partes: plataforma para propagação de nubbins e base de ancoragem que permite a fixação à mesa de cultivo (Figura 7).

Figure 7 - Representação esquemática das duas versões do berço empregados nos experimentos de cultivo para *Mussismilia harttii*. Corte em perspectiva do berço ornamentado na base de ancoragem (a). Base de ancoragem (b). Encaixe do pino no sistema de fixação do dispositivo de cultivo (b1). Corpo do pino (b.2). Travas de fixação dos pinos nos substratos de fixação (b.3). Plataforma de propagação dos nubbins, berço liso (c). Plataforma de propagação dos nubbins, berço ornamentado (d).



Fonte: acervo Biofábrica de Corais

Para validar a utilização do berço no cultivo *in situ* de *Mussismilia harttii* foram impressas duas versões; a primeira possui a superfície de fixação do coral completamente lisa, enquanto na segunda foram adicionadas colunas nas bordas para avaliar se facilitava o crescimento (Figura 8).

Os nubbins foram cortados radialmente deixando cerca de 1,5 cm do coralito usando uma mini retífica. Em seguida, foram colados na plataforma de propagação do berço com cianoacrilato; foram pesados, fotografados com escala, inseridos na base de ancoragem e fixados sobre uma mesa de cultivo (Material suplementar 1). As mesas foram construídas em armações de tubos de PVC. As medidas das mesas foram 1,1 x 0,2 m com uma altura de 40 cm acima do substrato marinho. As estruturas foram montadas em agosto do 2019 em uma piscina de recife conhecida como "Passadeira de cima".

O peso inicial médio dos pólipos foi $4,8 \text{ g} \pm 2,21$ (média \pm desvio padrão) para o berço liso e $5,8 \text{ g} \pm 2,00$ para o berço ornamentado. Não houve diferença significativa no peso médio inicial dos fragmentos entre os dispositivos (teste T; $p= 0,2304$). Um total de 10 fragmentos independentes foram usados como unidades réplicas para cada dispositivo. O número de fragmentos utilizados nos experimentos foi limitado conforme as especificações da licença ambiental fornecida pelo ICMBIO.

Experimento de fragmentação do pólipo

Para avaliar o número viável de nubbins por pólipos do coral, foi realizado um experimento com delineamento inteiramente casualizado e três tratamentos com 10 réplicas por tratamento. No primeiro tratamento (T_A), cada pólipo correspondeu a um nubbin e o peso médio foi $11 \pm 3,27 \text{ g}$. No segundo tratamento (T_B), cada pólipo foi dividido em dois nubbins e o peso médio foi $5,57 \pm 2,07 \text{ g}$ de cada nubbin. E no terceiro tratamento (T_C), cada pólipo foi dividido em três nubbins e o peso médio foi $4,86 \pm 1,86 \text{ g}$. Houve diferença significativa no peso médio inicial dos fragmentos entre os tratamentos T_B e T_C vs T_A (Tukey's T_A vs T_B em pares, $p= 0,0015$; T_A vs T_C , $p= 0,0012$; e T_B vs T_C $p=0,9945$).

Sobrevivência e crescimento dos nubbins

Os berçários foram monitorados por 150 dias, a manutenção mensal das mesas para remoção de algas e sedimentos foi realizada sem manipulação dos berços de cultivo. A sobrevivência foi definida como o número de fragmentos vivos fixados ao dispositivo no final do experimento. Os nubbins foram considerados desprendidos quando os corais se separaram do berço. Para avaliar o desempenho do crescimento, normalizamos o crescimento com base as métricas de peso (PUPIER; BEDNARZ; FERRIER-PAGÈS, 2018). Foi calculado:

1. Ganho do peso: $W_g = W_f - W_i$

2. Taxa de crescimento específica: $SGR(day^{-1}) = \frac{\ln W_f - \ln W_i}{\Delta t}$

Onde W_F =peso final, W_I =peso inicial, e Δt = é o intervalo de crescimento em dias

3. Comprimento máximo do pólipo (cm) através de análise fotográfica usando o programa Image J (ABRÀMOFF; MAGALHÃES; RAM, 2004).

Análise de custos

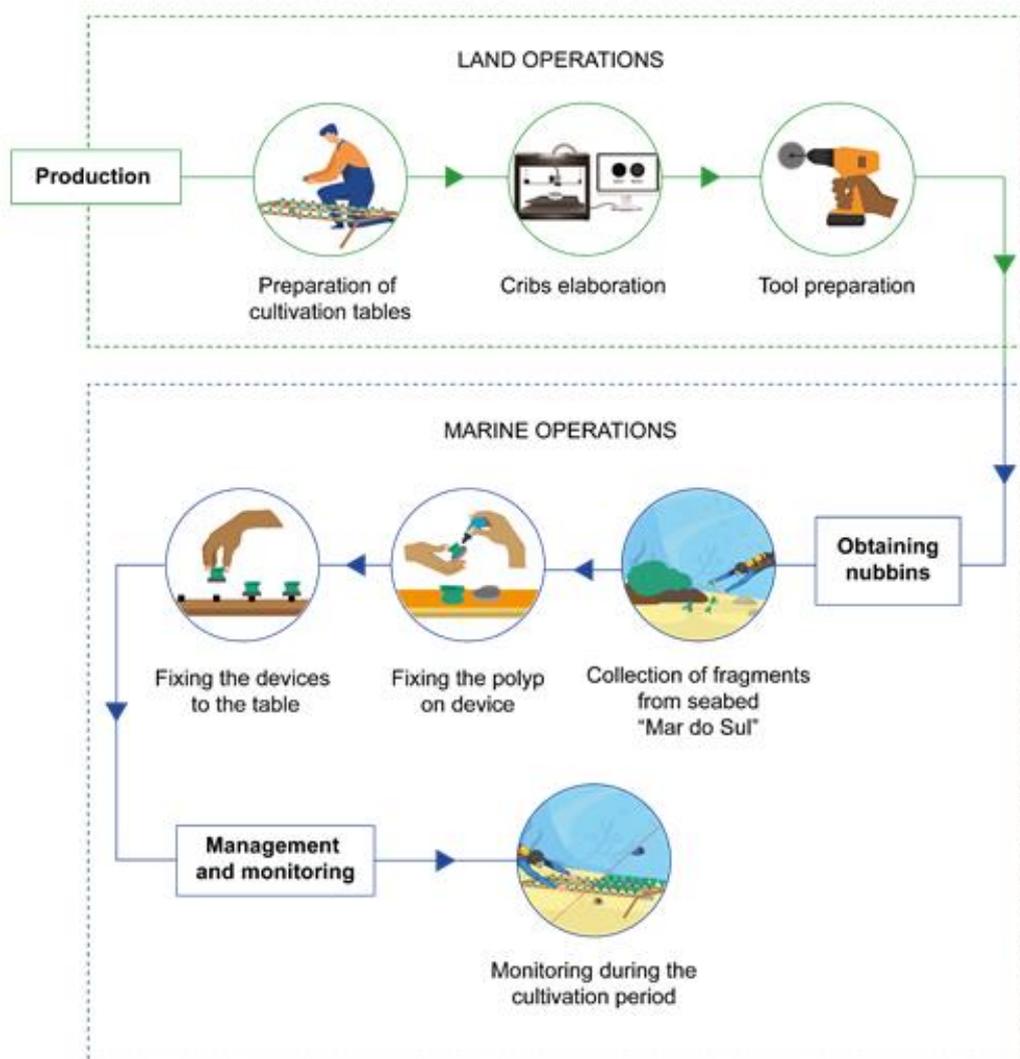
Para avaliar a viabilidade da produção de um cultivo experimental de *Mussismilia harttii* usando o dispositivo FASTen; foi estimado o custo de produção por nubbins cultivado após 4 e 12 meses no berçário e considerando uma produção diária de 288 e 480 nubbins/operação. Totalizando 4 possíveis cenários:

- A. 4 meses em cultivo com uma produção de 288 nubbins por operação
- B. 4 meses em cultivo com uma produção de 480 nubbins por operação
- C. 12 meses em cultivo com uma produção de 280 nubbins por operação
- D. 12 meses em cultivo com uma produção de 480 nubbins por operação

O número de nubbins produzidos foi estimado considerando o tempo de duração da maré baixa (3 horas), e o tempo de montagem de uma mesa de 80 nubbins (30-50 min). Foi estimada a necessidade de realizar 1 visita mensal nos cultivos para o monitoramento dos berçários com um total de 3 pessoas por imersão.

Posteriormente, foi construído um fluxograma de operações que representam as etapas do processo de elaboração dos cultivos de *M. harttii*. O processo se divide em 3 etapas: 1) produção: inclui a preparação das mesas de cultivo, impressão dos berços e obtenção dos insumos de trabalho como ferramentas, caixas de transporte, luvas, cola, etc. 2) Obtenção de nubbins: engloba a coleta dos fragmentos e preparação dos nubbins (colagem nos berços, pesagem e fotografado dos berços). 3) Manejos e monitoramento: inclui o processo de montagem das mesas nas piscinas de cultivo, remoção de algas e sedimentos, verificação dos encaixes das peças, e monitoramento durante o período de cultivo (Figura 8).

Figura 8 - Diagrama do processo de produção de um cultivo de corais de *Mussismilia harttii*. Em destaque as operações em terra que inclui a etapa 1 de produção, e as operações marinhas que incluem as etapas 2 (obtenção de nubbins) e 3 (manejo e monitoramento).



Fonte: autoria própria

Os custos de produção foram calculados segundo as informações apresentadas na tabela 1. Foi considerado o berço liso, cujo valor e tempo de produção é menor que para o berço ornamentado, e a sobrevivência média de 80%.

Tabela 1 - Quadro representativo do custo bruto dos itens relacionados ao cultivo experimental de *Mussismilia harttii* em berçário. Dividido nas três etapas do processo de produção: produção de insumos, obtenção de nubbins, manejo e monitoramento.

Etapa	Itens	Detalhamento	Custo (unidade)	Considerações
Produção dos insumos	Mesa de cultivo	Mesas de PVC para 80 nubbins de coral	\$12.07	Vida útil da mesa de 5 anos
	Fast device	Impresso em PLA	\$0.12	Conjunto base e berço
	Ferramentas	Tesouras de jardineiro, colas, etiquetas, mini retifica, caixas de armazenamento, balança, câmera	\$1086.43*	Vida útil de 2 anos
	Pessoal	2	\$24.14	Diária dos colaboradores
Obtenção dos nubbins	Pessoal	6	\$24.14	Diária dos colaboradores
	Transporte	1	\$72.43	Aluguel por dia de operação
	Equipamentos de mergulho	2 kits de mergulho completos	\$48.28	Coleta dos fragmentos doadores
Manejo e monitoramento	Pessoal	3	\$24.14	Diária dos colaboradores
	Transporte	1	\$72.43	Aluguel por dia de operação
	Equipamentos de mergulho	2 kits de mergulho completos	\$48.28	Limpeza das mesas de cultivo
	Material de consumo	escova e luvas	\$4,83	Limpeza das mesas de cultivo

*Total do material de trabalho

Fonte: autoria própria

Análises estatísticas

Para determinar se existiam diferenças significativas entre as métricas de crescimento das duas versões dos berços de cultivo, foi realizado o teste T de Student; e a ANOVA unidirecional por tratamento para o experimento de fragmentação dos pólipos. Todos os dados foram encontrados normalmente distribuídos (Shapiro-Wilk test, $p > 0,05$) e mostraram homogeneidade de variância (Levene test, $p > 0,05$). Todas

as análises estatísticas foram realizadas usando PAST 4.03 (HAMMER; HARPER; RYAN, 2001).

RESULTADOS

Viabilidade de uso do dispositivo de cultivo

O ganho de peso para os nubbins em ambos tratamentos foi maior a 100%, mas não houve diferença significativa entre eles. A diferença em porcentagem se deve ao tamanho inicial das amostras. Adicionalmente, não se apresentaram diferenças entre as taxas de crescimento específico de ambos os berços ($p= 0,40726$) (Tabela 2). A sobrevivência foi de 100% para ambos, enquanto a taxa de divisão foi de 20% no berço liso e não foi observado no berço ornamentado (Figure 9).

Tabela 2- Comparação dos parâmetros de crescimento e sobrevivência de nubbins de coral cultivados em duas versões de dispositivos de transplante (FASTen).

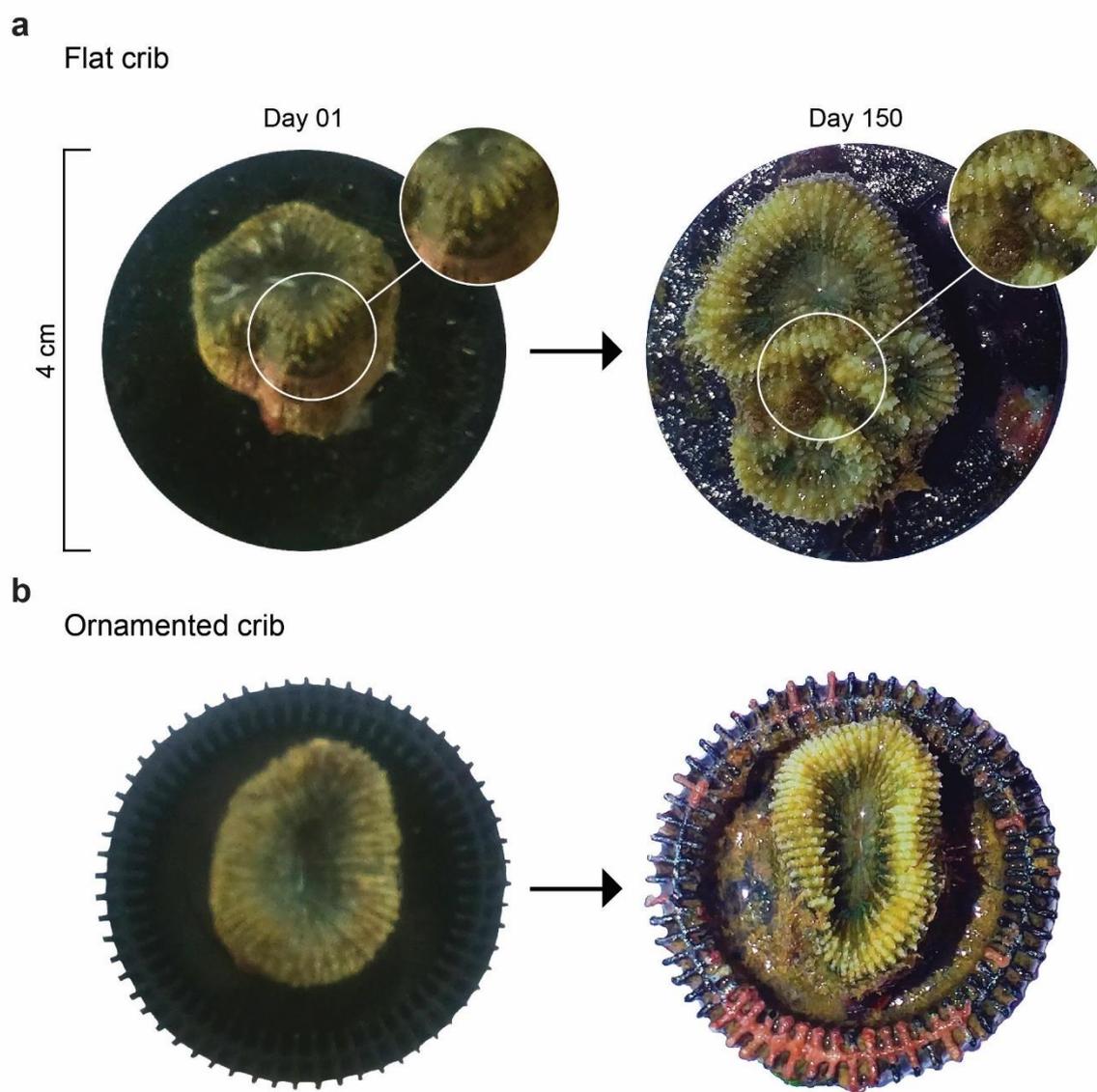
Parâmetros	Berço liso	Berço ornamentado	Estatística
Comprimento inicial (cm)	2,76±0,61 ^A	2,43±0,62 ^A	t= 1,3987 p= 0,17891
Comprimento final (cm)	3,71±0,74 ^A	2,52±0,50 ^B	t= 3,2996 p= 0,0039848
Peso inicial (g)	4,80 ± 2,21 ^A	5,80 ± 2,11 ^A	t= 1,2414; p= 0,2304
Peso final (g)	14,55±5,12 ^A	15,53±4,44 ^A	t= 0,45727; p=0,65295
Ganho de peso (g)	9,75±4,38 ^A	9,73± 4,14 ^A	t= 0,010496; p= 0,99174
Ganho de peso (%)	250,85±148,85 ^A	191,94±97,11 ^A	t= 1,0481; p= 0,30845
SGR (day ⁻¹)	0,0078±0,0030 ^A	0,0069±0,0024 ^A	t= 0,84857; p= 0,40726
Pólipos em divisão (%)	20	0	

Sobrevivência (%)	100	100	
--------------------------	-----	-----	--

*Letras diferentes denotam significância estatística diferente ($p < 0,05$).

Fonte: autoria própria

Figure 9 - Crescimento de nubbins de coral de *M. hartii* cultivados em duas versões de dispositivos de transplante. Fotos tiradas com 150 dias de intervalo. Berço plano com detalhes do processo de divisão assexuada do coral (a). Berço ornamentado (b).



Fonte: autoria própria

Os resultados comparativos entre os berços indicam que a presença de ornamentação não afeta os parâmetros de crescimento dos pólipos, portanto foi selecionado o berço liso para o desenvolvimento do experimento de fragmentação.

Experimento de fragmentação do pólipo

Os nubbins fragmentados apresentaram ganho de peso menor que os nubbins feitos com o pólipo completo (Tabela 3). Para o ganho de peso em gramas, foi observada diferença significativa entre o tratamento A, em comparação com B e C. O tamanho médio do peso aumentou 81,82% ($8,20 \pm 0,95$ g) no tratamento A, 91,52% ($4,83 \pm 1,76$) no tratamento B, e 105,71% ($4,44 \pm 0,75$) no tratamento C (Figure 10).

Tabela 3 - Comparação dos parâmetros de crescimento e sobrevivência de nubbins de corais criados a partir de um pólipo (T_A), meio pólipo (T_B) e um terço do pólipo (T_C).

Parâmetros	Tratamento A	Tratamento B	Tratamento C	Estatística
Comprimento inicial (cm)	$3,055 \pm 0,563^A$	$2,69 \pm 0,17^A$	$2,55 \pm 0,42^A$	F= 2,726; p= 0,09242
Comprimento final (cm)	$3,65 \pm 0,74^A$	$2,84 \pm 0,20^B$	$2,73 \pm 0,37^B$	F= 7,309; p= 0,004745 [*]
Peso inicial (g)	$11,00 \pm 3,27^A$	$5,00 \pm 2,71^B$	$4,86 \pm 1,86^B$	F= 12,02; p= 0,000484
Peso final (g)	$19,20 \pm 3,53^A$	$10,64 \pm 3,27^B$	$9,30 \pm 1,72^B$	F= 23,21; p= 0,00001037
Ganho de peso (g)	$8,20 \pm 0,95^A$	$4,83 \pm 1,76^B$	$4,44 \pm 0,75^B$	F= 41,41; p=0,0000001843
Ganho de peso (%)	$81,82 \pm 30,34^A$	$91,52 \pm 35,77$	$105,71 \pm 48,17^A$	F= 0,6708; p=0,5236
SGR (day⁻¹)	$0,0039 \pm 0,011^A$	$0,0042 \pm 0,0011^A$	$0,0047 \pm 0,0016^A$	F= 0,588; p= 0,5667
Pólipos em divisão (%)	37,5	25	14,3	
Sobrevivência (%)	80	80	70	

*Letras diferentes denotam significância estatística diferente (p <0,05).

Fonte: autoria própria

Se observou um incremento da taxa de crescimento específico dos pólipos ao fragmentar, não obstante, ela não é significativa (One-Way Anova; $p = 0,5667$). Em relação à prevalência de pólipos em divisão, no T_A , foi obtido uma taxa de 37,5%, em T_B de 25% e T_C de 14,3%. A sobrevivência foi de 80% nos tratamentos A e B e de 70% no tratamento C. E nesse experimento a taxa de desprendimento dos corais foi de 23,33%.

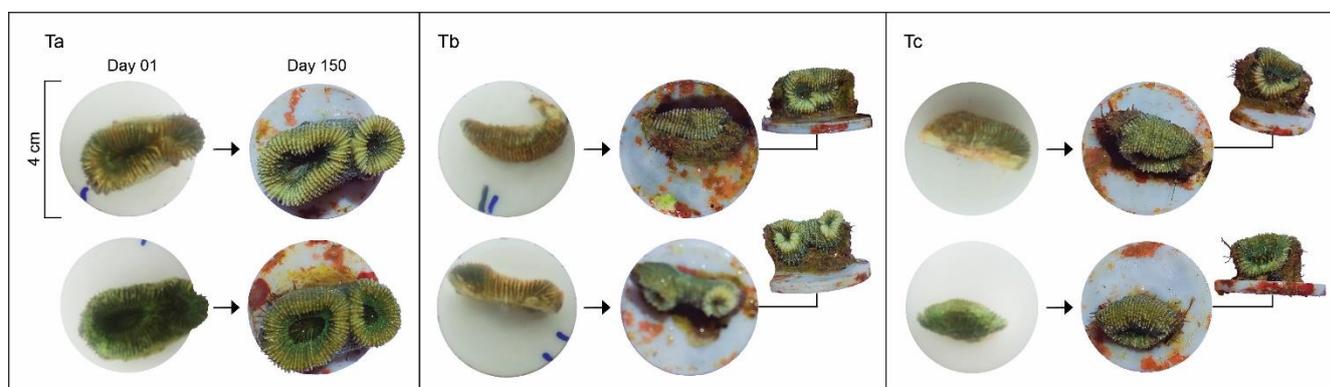


Figure 10 - Crescimento de nubbins de coral criados a partir de um pólipos de coral de *M. harttii* (T_A) meio pólipos (T_B) e um terço de um pólipos (T_C). Fotos tiradas com 150 dias de intervalo.
Fonte: autoria própria

Análise de custos

Na tabela 4 se apresentam os resultados das análises de custos. Dividindo o custo do berçário pelo tempo de cultivo, o cenário D, foi o modelo produtivo menos custoso, \$0.60 / mês, destacando-se uma redução de custos ao incrementar a produção e o tempo de cultivo. Nos 4 cenários, a etapa mais onerosa é o monitoramento dos cultivos porque vincula o pagamento da equipe, aluguel de equipo e transporte mensalmente (Figura 11).

Tabela 4 - Quadro representativo da análise de custos operacionais relacionados ao cultivo de *Mussismilia harttii* na fase de berçário.

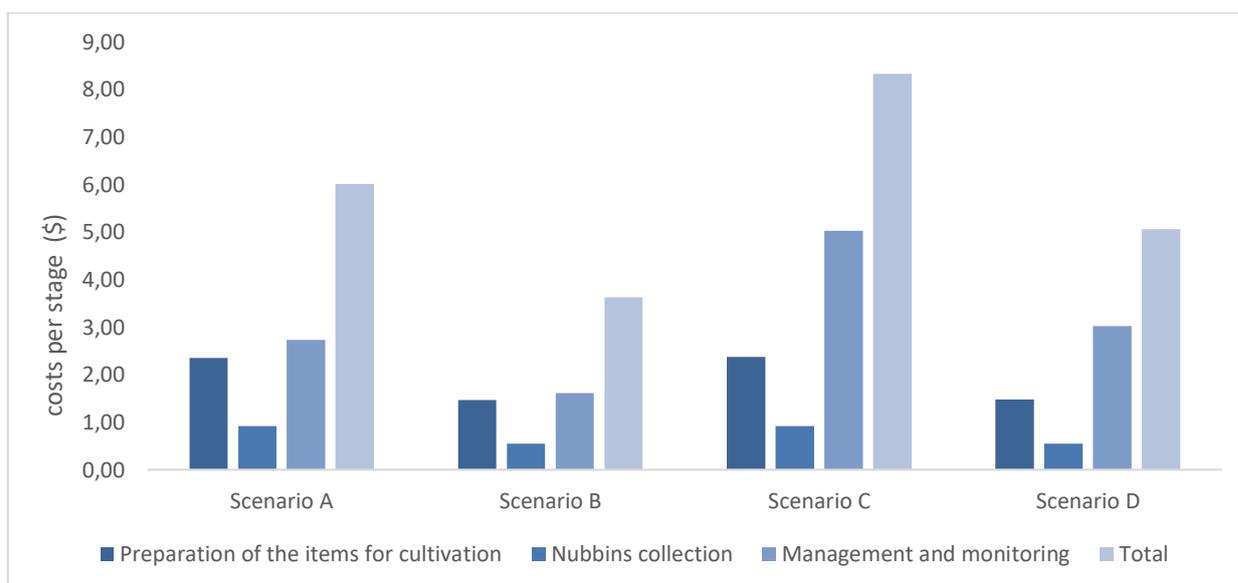
Etapa	Itens	4 meses de cultivo		12 meses de cultivo	
		288	480	288	480
		A	B	C	D
Preparação dos itens essenciais para o cultivo	Mesa de cultivo	\$0.009	\$0.009	\$0.03	\$0.03
	Fast device	\$0.12	\$0.12	\$0.12	\$0.12
	Ferramentas	\$1.89	\$1.13	\$1.89	\$1.13
	Pessoal	\$0.34	\$0.20	\$0.34	\$0.20
Total parcial		\$2.35	\$1.46	\$2.37	\$1.48

Obtenção dos nubbins	Pessoal	\$0.50	\$0.30	\$0.50	\$0.30
	Transporte	\$0.25	\$0.15	\$0.25	\$0.15
	Equipamentos de mergulho	\$0.17	\$0.10	\$0.17	\$0.10
Total parcial		\$0.92	\$0.55	\$0.92	\$0.55
Monitoramento	Pessoal	\$0.50	\$0.30	\$1.17	\$0.70
	Transporte	\$0.75	\$0.45	\$1.76	\$1.06
	Equipamentos de mergulho	\$0.50	\$0.30	\$1.17	\$0.70
	Consumíveis*	\$0.05	\$0.03	\$0.11	\$0.07
Total parcial		\$2.73	\$1.61	\$5.03	\$3.02
Total / nubbin		\$7.5	\$4.53	\$11.89	\$7.22
Custo mensal / nubbin		\$1.88	\$1.13	\$0.99	\$0.60

*Itens necessários para a manutenção das mesas (luvas, escovas, cola)

Fonte: autoria própria

Figura 11 - Comparação dos custos totais para as 3 fases de produção de um cultivo de corais de *M. harttii* e os quatro cenários propostos. Cenário A: produção de 288 nubbins em um período de 4 meses. Cenário B: produção de 480 nubbins em 4 meses. Cenário C: produção de 288 nubbins em 12 meses; e cenário D: produção de 480 nubbins em 12 meses.



Fonte: autoria própria

DISCUSSÃO

Os resultados aqui obtidos evidenciam que a produção de nubbins de corais nativos brasileiros pode ser tecnicamente viável e pode compor uma etapa em programas de recuperação de populações de espécies em risco de extinção. Merecendo destaque os seguintes pontos: a) o uso de dispositivos de cultivo impressos em 3D; b) o método de obtenção de nubbins usando mini-retífica; c) a manutenção dos animais *in situ* durante um período prolongado; d) a alta sobrevivência obtida; e) a possibilidade de obter até três nubbins a partir de um único pólipos; f) a promoção de divisão assexuada dos pólipos nas mesas de cultivo; g) coleta de amostras sem perturbação de colônias saudáveis.

Este estudo é o primeiro a pesquisar aspectos produtivos do cultivo *in situ* de *Mussismilia harttii*. Até a presente data, parte da comunidade científica não acreditava que fosse possível cultivar a espécie e obter resultados produtivos alentadores. Limitando as pesquisas a cultivos em mesocosmos para o desenvolvimento de experimentos de toxicidade (material suplementar 2). Nesses trabalhos, os pólipos foram individualizados e colados em pratos de cerâmica usando gel de cianoacrilato para realização de testes por períodos de até 35 dias (MARANGONI *et al.*, 2019). A diferença deste trabalho, onde fragmentamos 1 pólipos em até três nubbins, os fixamos em bases impressas em PLA e cultivamos *in situ* por um período de 150 dias.

A seleção da patente número BR 10 2018 007 496 2 (Santos *et al.* 2018), ao invés dos platôs de cerâmicas, foi vantajoso porque os dispositivos podem se amoldar à morfologia do coral, podendo ser injetada com diferentes polímeros moldáveis; permitem uma fácil fixação dos fragmentos de corais; podem ser conjugado em série e fundeado sobre lastros confeccionados a partir de diferentes composições; podem ser facilmente realocada para outras áreas de cultivo mobilizando a plataforma de propagação ou todo o conjunto; e possibilitam o acompanhamento produtivo dos organismos cultivados através da manipulação da plataforma de propagação.

O uso de filamentos de polilátida (PLA) tem potencial de ser uma estratégia eco-friendly para o manejo da espécie. Não foram observados problemas relacionados a engenharia dos dispositivos e polímero é favorável por ser biodegradável, reciclável, compostável, biocompatível e produzido de forma ecológica. Há evidências de que não é tóxico para os animais (MONTALVÃO *et al.*, 2020) e permite o assentamento de moluscos (GENTRIC; SAULEAU, 2019) e larvas de coral da espécie *Porites astreoides* (RUHL; DIXSON, 2019). Na água, o polímero degrada-se inicialmente

através de hidrólise abiótica, seguida e acelerada pela biodegradação por microrganismos que levam ao dióxido de carbono e à água (GENTRIC; SAULEAU, 2019). Fator que precisa ser estudado e pode ser chave para acelerar a fixação de nubbins de *Mussismilia harttii* nos dispositivos de cultivo.

Assim, o uso dos dispositivos aqui avaliados provou ser eficaz como substrato para o crescimento de nubbins da espécie. Em berçários bem mantidos, a sobrevivência esperada varia entre 80- 85 % (EDWARDS *et al.*, 2010), concordante com os resultados aqui obtidos cuja sobrevivência variou entre 70% e 100%. Além disso, os resultados produtivos foram semelhantes à espécie *Pectinia paeonia*, que apresenta uma sobrevivência de 93% e um crescimento superficial de 396%, após 5 meses de cultivo (NG; CHOU, 2014). E a espécie *Merulina scabricula* que apresentou uma sobrevivência de 92% (SHAISH *et al.*, 2008). Entretanto, a adaptação proposta do dispositivo ornamentado não é necessária, pois não altera os parâmetros de crescimento. E a presença dos ornamentos aumentaram a sedimentação nos berços e serviram como pontos de fixação de macroalgas. Por esta razão, e pelo custo de fabricação mais baixo, foi usado o berço liso para o teste de fragmentação.

Embora a fragmentação seja uma metodologia bem sucedida para obtenção de fragmentos de corais massivos (BERZINS *et al.*, 2008; PAGE; MULLER; VAUGHAN, 2018). A possibilidade de dividir os pólipos de *M. harttii* em nubbins tão pequenos quanto 1/3 do pólipo (2,55 cm de comprimento) é um relato inédito para a espécie. O processo de obtenção de novos nubbins usando micro-retífica, não afetou o crescimento e sobrevivência dos pólipos, evidenciando a elevada capacidade regenerativa da espécie (RUPPERT; FOX; BARNES, 2005). Parte do processo essencial para a sua sobrevivência (HENRY; HART, 2005) e para a recuperação da população a distúrbios, como predação, tempestades e aquecimento dos oceanos (PISAPIA; BURN; PRATCHETT, 2019). Não obstante, os efeitos da divisão forçada dos nubbins podem ser mais bem compreendidos a partir de ensaios fisiológicos complementares.

Os resultados do crescimento são encorajadores. Os pólipos estressados recuperaram-se com sucesso nos berçários, obtendo altas taxas de sobrevivência e crescimento. Não obstante, é necessário a realização de mais estudos; também é interessante que novos trabalhos sejam conduzidos investigando o efeito na reprodução sexuada da espécie.

Já a determinação do custo do cultivo de *M. harttii* ajuda a balizar novas iniciativas com esse propósito no Brasil. A estrutura de custos foi similar à apresentada por Edwards et al., (2010) onde o autor também subdividiu os preços considerando a coleta dos fragmentos, a montagem da infraestrutura, a implementação do cultivo, e a manutenção e monitoramento dos animais. O autor registrou custo de \$1,36 dólares por fragmento cultivado por ano, considerando uma sobrevivência de 75% de um cultivo de 10.000 fragmentos de corais. Nós obtivemos valores que variaram entre \$4.53 USD e \$11.89 USD por nubbins produzido. Não obstante, é possível diminuir os custos, ao incrementar a produção de nubbins por saída de campo e ao otimizar os manejos de monitoramento, em função do tempo de cultivo.

Assim, este trabalho apresenta uma tecnologia que oferece uma alternativa para cultivos de corais massivos nativos do Brasil, podendo ser implementados em programas de restauração de espécies ameaçadas como *M. harttii*. Com o aumento de eventos que provocam o branqueamento e mortalidade de corais brasileiros (DUARTE *et al.*, 2020), a demanda por manejos que foquem na promoção da resiliência recifal aumenta. A transplantação de corais é uma das técnicas mais difundidas com essa finalidade (MBIJE; SPANIER; RINKEVICH, 2010). E a manutenção dos nubbins de corais nos dispositivos de cultivo vai ser um fator-chave para o sucesso dessa técnica. Assim, esse resultado abre perspectivas de investigações com a espécie: qual a melhor idade para promover essas divisões, época do ano, método, forma de obtenção de fragmentos entre outros.

Considerando que *M. harttii* é uma espécie em perigo de extinção (ICMbio/MMA, 2018), o método empregado para coleta de fragmentos do assolho marinho suprime a necessidade de manipular o coral saudável, evitando gerar maior estresse nas colônias que pode desencadear uma redução de substrato para o recrutamento natural (ABELSON, 2006; RINKEVICH, Baruch, 2005). O uso desta metodologia abre uma perspectiva para o melhoramento na obtenção de nubbins a partir de esqueletos de coral (SHAVER; SILLIMAN, 2017; TAGLIAFICO *et al.*, 2018).

Esses resultados têm implicações positivas para o cultivo da espécie (e provavelmente outras espécies desse gênero) a partir de pequenos propágulos, o que é essencial para reduzir o impacto ambiental nas colônias doadoras e potencializar o rendimento na obtenção de novos nubbins em programas de restauração ambiental. Porém, a espécie *Mussismilia harttii*, apesar de ser um coral colonial, os pólipos são separados uns dos outros (NOGUEIRA; NEVES; JOHANSSON, 2015) e

não apresentam compartimentos de nutrientes (BUDD, A. F.; STOLARSKI, 2009), de modo que esta metodologia pode ser usada em corais com morfologia facelóide, cuja fragmentação pode ocorrer por processos naturais ou antropogênicos (ARVEDLUND *et al.*, 2003).

CONCLUSÃO

Este é o primeiro trabalho que incorpora uma espécie de coral massivo endêmico brasileiro em cultivos, *in situ*, com fins de restauração recifal. Embora, nesse primeiro momento só foi validada a fase de berçários, os resultados de crescimento são encorajadores. A utilização da tecnologia de impressão 3D usando plástico biodegradável demonstrou ser viável para cultivos de *Mussismilia harttii*. Esta tecnologia permite adaptar cada berço a morfologia do coral, podendo ser aproveitado como substrato para cultivos em programas de recuperação de recifes degradados. Além disso é de fácil manipulação e rápida fabricação. Não obstante, é necessário a realização de novos estudos que determinem o tempo exato de degradação e a interação de outros organismos marinhos com os sistemas de cultivo.

Os pólipos fragmentados foram recuperados com sucesso nos berçários, mesmo após dividir em 3 partes, evidenciando a alta capacidade regenerativa da espécie e o potencial de implementação de esta metodologia em programas de restauração de recifes de coral.

REFERÊNCIAS

Abelson, A. (2006). Artificial reefs vs coral transplantation as restoration tools for mitigating coral reef deterioration: Benefits, concerns, and proposed guidelines. *Bulletin of Marine Science*, 78(1), 151–159.

Abràmoff, M. D., Magalhães, P. J., & Ram, S. J. (2004). Image processing with imageJ. *Biophotonics International*, 11(7), 36–41. <https://doi.org/10.1201/9781420005615.ax4>

Ammar, M. S. A., EL-GAMMAL, F., NASSAR, M., BELAL, A., FARAG, W., EL-MESIRY, G., EL-HADDAD, K., ORABI, A., ABDELREHEEM, A., & SHAABAN, A.

(1970). Review: Current trends in coral transplantation – an approach to preserve biodiversity. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 14(1), 43–53. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d140107>

Arvedlund, M., Craggs, J., Pecorelli, J. Coral Culture-Possible Future Trends and Directions. In: Cato, J., & Brown, C. (2003). *Marine Ornamental Species: Collection, Culture & Conservation* (First edit). Iowa State Press. 233-248

Barradas, J. I., Amaral, F. D., Hernández, M. I., Flores-montes, M. J., & Steiner, A. Q. (2012). *TOURISM IMPACT ON REEF FLATS IN PORTO DE*. 45(2), 81–88.

Barton, J. A., Willis, B. L., & Hutson, K. S. (2017). Coral propagation: a review of techniques for ornamental trade and reef restoration. *Reviews in Aquaculture*, 9(3), 238–256. <https://doi.org/10.1111/raq.12135>

Berzins, I. K., Cazaja, R., Coy, C., Watson, C. A., Kilgore, K. H., Yanong, R. P. E., Graves, S., MacLaughlin, L., & Causey, B. (2008). Chapter 41 Aquacultured coral and restoration. *Public Aquarium Husbandry Series*, 2(January 2008), 375–389.

Bongiorni, L., Giovanelli, D., Rinkevich, B., Pusceddu, A., Chou, L. M., & Danovaro, R. (2011). First step in the restoration of a highly degraded coral reef (Singapore) by in situ coral intensive farming. *Aquaculture*, 322–323, 191–200. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.09.024>

Budd, A. F., & Stolarski, J. (2009). Searching for new morphological characters in the systematics of scleractinian reef corals: Comparison of septal teeth and granules between Atlantic and Pacific Mussidae. *Acta Zoologica*, 90(2), 142–165. <https://doi.org/10.1111/j.1463-6395.2008.00345.x>

Calderon, E. N., Zilberberg, C., & e Castro, C. B. (2015). Farming of the fire-coral *Millepora alcicornis* for reef restoration purposes: The influence of inclination on growth. *Aquaculture Research*, 46(8), 2034–2036. <https://doi.org/10.1111/are.12338>

Castro, C. B., & Pires, D. O. (2001). *BRAZILIAN CORAL REEFS: WHAT WE ALREADY KNOW AND WHAT IS STILL MISSING*. 69(2), 357–371.

Duarte, G. A. S., Villela, H. D. M., Deocleciano, M., Silva, D., Barno, A., Cardoso, P. M., Vilela, C. L. S., Rosado, P., Messias, C. S. M. A., Chacon, M. A., Santoro, E. P., Olmedo, D. B., Szpilman, M., Rocha, L. A., Sweet, M., & Peixoto, R. S. (2020). Heat Waves Are a Major Threat to Turbid Coral Reefs in Brazil. *Frontiers in Marine Science*, 7(March), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00179>

Edwards, A., Guest, J., Shafir, S., Fisk, D., Gomez, E., Rinkevich, B., Heyward, A., Omori, M., Iwao, K., Dizon, R., Morse, A., Boch, C., Job, S., Bongiorno, L., Levy, G., Shaish, L., & Wells, S. (2010). Reef Rehabilitation Manual. Coral Reef Targeted Research & Capacity Building for Management Program. In *The Coral Reef Targeted Research & Capacity*.

Epstein, N., & Rinkevich, B. (2001). From isolated ramets to coral colonies: The significance of colony pattern formation in reef restoration practices. *Basic and Applied Ecology*, 2(3), 219–222. <https://doi.org/10.1078/1439-1791-00045>

Gentric, C., & Sauleau, P. (2019). An eco-friendly strategy using flax/polylactide composite to tackle the marine invasive sponge *Celtodoryx ciocalyptoides* (Burton, 1935). *Oceanologia*, 61(2), 218–226. <https://doi.org/10.1016/j.oceano.2018.10.002>

Hammer, Ø., Harper, D. A. T., & Ryan, P. D. (2001). Past: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4(1), 1–9.

Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Alam, M. M., Roychowdhury, R., & Fujita, M. (2013). Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(5), 9643–9684. <https://doi.org/10.3390/ijms14059643>

Henry, L. A., & Hart, M. (2005). Regeneration from injury and resource allocation in sponges and corals - A review. *International Review of Hydrobiology*, 90(2), 125–158. <https://doi.org/10.1002/iroh.200410759>

Horoszowski-Fridman, Y. B., Brêthes, J. C., Rahmani, N., & Rinkevich, B. (2015). Marine silviculture: Incorporating ecosystem engineering properties into reef restoration acts. *Ecological Engineering*, 82, 201–213.

<https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2015.04.104>

ICMBio/MMA. (2018). Livro Vermelho Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção: Invertebrados. Brasília, DF: ICMBio/MMA, 7, 727.

https://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/comunicacao/publicacoes/publicacoes-diversas/livro_vermelho_2018_vol7.pdf

Kikuzawa, Y. P., Toh, T. C., Ng, C. S. L., Sam, S. Q., Taira, D., Afiq-Rosli, L., & Chou, L. M. (2018). Quantifying growth in maricultured corals using photogrammetry. *Aquaculture Research*, 49(6), 2249–2255. <https://doi.org/10.1111/are.13683>

Leão, Z. M. A. N., & Kikuchi, R. K. P. (2005). A relic coral fauna threatened by global changes and human activities, Eastern Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, 51(5–7), 599–611. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2005.04.024>

Levy, G., Shaish, L., Haim, A., & Rinkevich, B. (2010). Mid-water rope nursery — Testing design and performance of a novel reef restoration instrument. *Ecological Engineering*, 36(4), 560–569. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2009.12.003>

Loya, Y., Sakai, K., Nakano, Y., & Woesik, R. Van. (2001). *Coral bleaching: the winners and the losers*. 122–131.

Magalhães, D. de P., & Ferrão-Filho, A. da S. (2008). a Ecotoxicologia Como Ferramenta No Biomonitoramento De Ecossistemas Aquáticos. *Oecologia Australis*, 12(03), 355–381. <https://doi.org/10.4257/oeco.2008.1203.02>

Marangoni, L. F. B., Pinto, M. M. de A. N., Marques, J. A., & Bianchini, A. (2019). Copper exposure and seawater acidification interaction: Antagonistic effects on biomarkers in the zooxanthellate scleractinian coral *Mussismilia harttii*. *Aquatic Toxicology*, 206, 123–133. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2018.11.005>

Mbije, N. E. J., Spanier, E., & Rinkevich, B. (2010). Testing the first phase of the “gardening concept” as an applicable tool in restoring denuded reefs in Tanzania. *Ecological Engineering*, 36(5), 713–721.

<https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2009.12.018>

Mohammed, J. S. (2016). Applications of 3D printing technologies in oceanography. *Methods in Oceanography*, 17, 97–117. <https://doi.org/10.1016/j.mio.2016.08.001>

Montalvão, G. R., Moshrefi-Torbati, M., Hamilton, A., Machado, R., & João, A. (2020).

Behaviour of 3D printed PLA and PLA-PHA in marine environments. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 424(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/424/1/012013>

Ng, C. S. L., & Chou, L. M. (2014). Rearing juvenile “corals of opportunity” in in situ nurseries - A reef rehabilitation approach for sediment-impacted environments. *Marine Biology Research*, 10(8), 833–838. <https://doi.org/10.1080/17451000.2013.853124>

Nogueira, M. M., Neves, E., & Johnsson, R. (2015). Effects of habitat structure on the epifaunal community in *Mussismilia* corals: does coral morphology influence the richness and abundance of associated crustacean fauna? *Helgoland Marine Research*, 69(2), 221–229. <https://doi.org/10.1007/s10152-015-0431-x>

Oliveira, M. D. M., Leão, Z. M. A. N., & Kikuchi, R. K. P. (2008). Cultivo de *Millepora alcicornis* como uma ferramenta para Restauração e Manejo dos Ecossistemas Recifais do Nordeste do Brasil. *Revista de Gestão Costeira Integrada*, 8(2), 183–201. <https://doi.org/10.5894/rgci148>

Page, C. A., Muller, E. M., & Vaughan, D. E. (2018). Microfragmenting for the successful restoration of slow growing massive corals. *Ecological Engineering*, 123(August), 86–94. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2018.08.017>

Pires, D. O., Castro, C. B., & Ratto, C. C. (1999). Reef coral reproduction in the Abrolhos Reef Complex, Brazil: the endemic genus *Mussismilia*. 463–471.

Pisapia, C., Burn, D., & Pratchett, M. S. (2019). Changes in the population and community structure of corals during recent disturbances (February 2016-October 2017) on Maldivian coral reefs. *Scientific Reports*, 9(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44809-9>

Pupier, C. A., Bednarz, V. N., & Ferrier-Pagès, C. (2018). Studies with soft corals - recommendations on sample processing and normalization metrics. *Frontiers in Marine Science*, 5(SEP), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fmars.2018.00348>

Rachmilovitz, E. N., & Rinkevich, B. (2017). Tiling the reef – Exploring the first step of an ecological engineering tool that may promote phase-shift reversals in coral reefs. *Ecological Engineering*, 105, 150–161. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.04.038>

Rinkevich, B. (1995). Restoration Strategies for Coral Reefs Damaged by Recreational Activities: The Use of Sexual and Asexual Recruits. In *Restoration Ecology* (Vol. 3, Issue 4, pp. 241–251).

Rinkevich, B. (2005). Conservation of coral reefs through active restoration measures: Recent approaches and last decade progress. *Environmental Science and Technology*, 39(12), 4333–4342. <https://doi.org/10.1021/es0482583>

Rinkevich, B. (2014). Rebuilding coral reefs: Does active reef restoration lead to sustainable reefs? *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 7, 28–36. <https://doi.org/10.1016/j.cosust.2013.11.018>

Rinkevich, B. (2020). Ecological engineering approaches in coral reef restoration. *ICES Journal of Marine Science*, 2100. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsaa022>

Rogers, R., de Oliveira Correal, G., de Oliveira, T. C., de Carvalho, L. L., Mazurek, P., Barbosa, J. E. F., Chequer, L., Domingos, T. F. S., de Andrade Jandre, K., Leão, L. S. D., de Andrade Moura, L., Occhioni, G. E., de Oliveira, V. M., Silva, E. S., Cardoso, A. M., de Castro e Costa, A., & Ferreira, C. E. L. (2014). Coral health rapid assessment

in marginal reef sites. *Marine Biology Research*, 10(6), 612–624.
<https://doi.org/10.1080/17451000.2013.841944>

Ruhl, E. J., & Dixon, D. L. (2019). 3D printed objects do not impact the behavior of a coral-associated damselfish or survival of a settling stony coral. *PLoS ONE*, 14(8), 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221157>

Santos, H. F., Carmo, F. L., Duarte, G., Dini-Andreote, F., Castro, C. B., Rosado, A. S., Van Elsas, J. D., & Peixoto, R. S. (2014). Climate change affects key nitrogen-fixing bacterial populations on coral reefs. *ISME Journal*, 8(11), 2272–2279.
<https://doi.org/10.1038/ismej.2014.70>

Shaver, E. C., Burkepile, D. E., & Silliman, B. R. (2018). Local management actions can increase coral resilience to thermally-induced bleaching. *Nature Ecology and Evolution*, 2(7), 1075–1079. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0589-0>

Shaver, E. C., & Silliman, B. R. (2017). Time to cash in on positive interactions for coral restoration. *PeerJ*, 2017(6). <https://doi.org/10.7717/peerj.3499>

Tagliafico, A., Rangel, S., Kelaher, B., Scheffers, S., & Christidis, L. (2018). A new technique to increase polyp production in stony coral aquaculture using waste fragments without polyps. *Aquaculture*, 484(September 2017), 303–308.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.09.021>

Tortolero-Langarica, J. J. A., Rodríguez-Troncoso, A. P., Cupul-Magaña, A. L., Alarcón-Ortega, L. C., & Santiago-Valentín, J. D. (2019). Accelerated recovery of calcium carbonate production in coral reefs using low-tech ecological restoration. *Ecological Engineering*, 128(September 2018), 89–97.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2019.01.002>

ANEXOS

Anexo 1 - Imagem ilustrativas do processo de elaboração dos cultivos experimentais de *Mussismilia harttii*. Colônia saudável na área de coleta (a). Fragmentos do coral sobre o substrato marinho (b). Fragmento de coral com pólipos vivos (c). Elaboração dos nubbins usando uma micro-retífica (d). Colagem dos nubbins nos berços de cultivo (e). Fotografia com escala e paisagem dos berços (f). Berços nas mesas de cultivo (g). Berçários de *M. harttii* (h).



Fonte: autoria própria

Anexo 2 - Síntese de experimentos realizados com cultivos de *M. harttii*.

Ref.	Objetivos	Sistema de produção	Cultivo	Preparação de nubbin	Suporte de cultivo	Tempo
Presente estudo	Avaliar duas versões do (FasT). E o número de nubbins que podem ser obtidos a partir de um pólipos doador.	In situ	Sim	Pólipos foram individualizados, cortados com mini retífica e fixados ao FASTEN usando cianoacrilato.	Fasten (dispositivo impresso em 3D)	150 dias

Santos et al., (2014)	Avaliar o efeito da temperatura em bactérias responsáveis por fixar nitrogênio (diazotrophs) que habitam <i>M. harttii</i>	Mesocosmo	Sim	Estruturas de pólipos simples ou duplos foram utilizadas como unidades de amostragem	Não mencionado	Aclimação por 15 dias e 21 dias de experimento
Santos et al., (2015)	Produzir probiótico capaz de degradar óleo e avaliar o efeito do óleo na saúde do coral e do probiótico como biorremediador	Microcosmo	Sim	Não mencionado pelos autores	Não mencionado	10 dias
Winter et al., (2016)	Avaliar a resposta a turbidez associada a temperatura e/ou luminosidade	Sistema de água do mar semiaberto	Sim	Não mencionado	Não mencionado	3-5 dias de aclimação
Fonseca et al., (2017)	Avaliar o efeito da temperatura, sozinha e combinada, com a exposição ao Cu	Mesocosmo	Sim	Os pólipos foram individualizados e colados em um suporte usando cianoacrilato	Platos de cerâmica	Aclimação por 20 dias e 12 dias de experimento

Marangon i et al., (2017)	Avaliar o efeito do Cu em biomarcadores fisiológicos	Mesocosmo	Sim	Os pólipos foram individualizados e colados em um suporte usando cianoacrilato	Platos de cerâmica	Aclimação por 20 dias e 12 dias de experimento
Marangon i et al., (2019)	Avaliar o efeito da acidificação e exposição ao Cu	Mesocosmo	Sim	Os pólipos foram individualizados e colados em um suporte usando cianoacrilato	Platos de cerâmica	Aclimação por 30 dias e 35 dias de experimento
Fonseca et al., (2019)	Avaliar o efeito da exposição aguda (96h) ao Cu	Mesocosmo and a laboratory closed system	Sim	Os pólipos foram individualizados e colados em um suporte usando cianoacrilato	Platos de cerâmica	Aclimação por 15 dias e 96h de experimento
Fonseca et al., (2019)	Avaliar o efeito combinado da temperatura e exposição ao Cu	Mesocosmo	Sim	Os pólipos foram individualizados e colados em um suporte usando cianoacrilato	Platos de cerâmica	Aclimação por 20 dias e 12 dias de experimento

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os experimentos aqui propostos demonstram a viabilidade de cultivo de *Mussismilia Harttii* usando substratos impressos com tecnologia 3D e polímeros biodegradável de fácil manejo, adaptáveis a diferentes espécies de coral e de baixo custo. Além disso, demonstra a possibilidade de fragmentar um pólipos de coral em até três partes acelerando o crescimento dele sem afetar a sobrevivência do organismo.

Coletar pólipos do assolho marinho, que teriam grande chance de morrerem por soterramento, para serem cultivados e recuperados em berçários *in situ*, representa uma importante ferramenta que poderia contribuir para evitar a extinção da espécie *Mussismilia harttii*.

Esses resultados pilotos representam a primeira fase de validação de uma tecnologia que pode ser empregada em projetos de restauração ativa a maior escala que possam contribuir na conservação da espécie *M. Harttii*.

REFERÊNCIAS

BARRADAS, Juliana Imenis *et al.* Spatial distribution of benthic macroorganisms on reef flats at Porto de Galinhas Beach (northeastern Brazil), with special focus on corals and calcified hydroids. [s. l.], v. 23, n. 2, p. 61–67, 2010.

BARRADAS, Juliana Imenis *et al.* TOURISM IMPACT ON REEF FLATS IN PORTO DE. [s. l.], v. 45, n. 2, p. 81–88, 2012.

BOSTROM-EINARSSON, L BABCOCK/ RC *et al.* Coral restoration – A systematic review of current methods, successes, failures and future directions. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 13, n. 7, p. 1–24, 2020.

BUDD, A N N F *et al.* Taxonomic classification of the reef coral family Mussidae (Cnidaria : Anthozoa : Scleractinia). [s. l.], n. Xix, p. 465–529, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.2012.00855.x>

CACCIAPAGLIA, Chris; VAN WOESIK, Robert. Reef-coral refugia in a rapidly changing ocean. [s. l.], p. 1–11, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/gcb.12851>

CASTRO, Clovis B; PIRES, Débora O. BRAZILIAN CORAL REEFS : WHAT WE ALREADY KNOW AND WHAT IS STILL MISSING. [s. l.], v. 69, n. 2, p. 357–371, 2001.

CERQUEIRA, W R P *et al.* Registro de petróleo em poríferos e cnidários durante o impacto agudo de derramamento no Nordeste brasileiro em. [s. l.], v. 16, p. 1–8, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.14808/sci.plena.2020.088001>

CORDEIRO, Ralf T.S. *et al.* Mesophotic coral ecosystems occur offshore and north of the Amazon River. **Bulletin of Marine Science**, [s. l.], v. 91, n. 4, p. 491–510, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.5343/bms.2015.1025>

DE LIMA, G. AVALIAÇÃO DO ESTADO DE CONSERVAÇÃO DO CORAL ENDÊMICO *Mussismilia harttii* (VERRILL, 1868) (CNIDARIA: ANTHOZOA) NO

BRASIL. 1–226 f. 2017. - Universidade Federal de Pernambuco, [s. l.], 2017.

DUARTE, Gustavo A.S. *et al.* Heat Waves Are a Major Threat to Turbid Coral Reefs in Brazil. **Frontiers in Marine Science**, [s. l.], v. 7, n. March, p. 1–8, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00179>

EPSTEIN, Nimrod; RINKEVICH, Baruch. From isolated ramets to coral colonies: The significance of colony pattern formation in reef restoration practices. **Basic and Applied Ecology**, [s. l.], v. 2, n. 3, p. 219–222, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1078/1439-1791-00045>

GIL-AGUDELO, Diego Luis; GARZÓN-FERREIRA, Jaime. Spatial and seasonal variation of dark spots disease in coral communities of the Santa Marta area (Colombian Caribbean). **Bulletin of Marine Science**, [s. l.], v. 69, n. 2, p. 619–629, 2001.

GOLDBERG, Jeremy; WILKINSON, Clive. Global Threats to Coral Reefs: Coral Bleaching, Global Climate Change, Disease, Predator Plagues, and Invasive Species. **Status of Coral Reefs of the World: 2004 Volume I**, [s. l.], p. 67–92, 2004.

GRILLO, Ana Carolina *et al.* Unusual high coral cover in a Southwestern Atlantic subtropical reef. **Marine Biodiversity**, [s. l.], p. 1–10, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12526-021-01221-9>

HOEGH-GULDBERG, O., MUMBY, P. J., HOOTEN, A. J., STENECK, R. S., GREENFIELD, P., GOMEZ, E.; & HATZIOLOS, M. E. Change and Ocean Acidification. **Science**, [s. l.], v. 1737, n. December 2007, p. 1737–1743, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.1152509>

HOEGH-GULDBERG, Ove. Climate change, coral bleaching and the future of the world's coral reefs. **Mar. Freshwater Res.**, [s. l.], v. 50, p. 839–66, 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1071/MF99078>

HOEGH-GULDBERG, Ove. Coral reef ecosystems and anthropogenic climate change.

Regional Environmental Change, [s. l.], v. 11, n. SUPPL. 1, p. 215–227, 2011.

Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10113-010-0189-2>

ICMBIO/MMA. Livro Vermelho Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção: Invertebrados. **Brasília, DF: ICMBio/MMA**, [s. l.], v. 7, p. 727, 2018.

Disponível

em:

https://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/comunicacao/publicacoes/publicacoes-diversas/livro_vermelho_2018_vol7.pdf

KAHNG, Samuel E *et al.* Sexual reproduction in the invasive octocoral *Carijoa riisei* in Hawaii. [s. l.], v. 82, n. 1, p. 1–17, 2008.

LABOREL-DEGUEN, Françoise *et al.* **Recifes brasileiros: o legado de laborel**. Rio de Janeiro: [s. n.], 1970.

LATYPOV, Yu Ya. Transplantation and cultivation of fragments of coral colonies of various scleractinian species on a reef in Vietnam. **Russian Journal of Marine Biology**, [s. l.], v. 32, n. 6, p. 375–381, 2006. Disponível em:

<https://doi.org/10.1134/S1063074006060071>

LEÃO, Zelinda *et al.* Brazilian coral reefs in a period of global change: A synthesis. **Brazilian Journal of Oceanography**, [s. l.], v. 64, n. Special Issue 2, p. 97–116, 2016.

Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1679-875920160916064sp2>

LEÃO, Zelinda *et al.* Status of Eastern Brazilian coral reefs in time of climate changes Status of Eastern Brazilian coral reefs in time of climate changes. [s. l.], n. October, 2010.

LEÃO, Zelinda M.A.N.; KIKUCHI, Ruy K.P. A relic coral fauna threatened by global changes and human activities, Eastern Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, [s. l.], v. 51, n. 5–7, p. 599–611, 2005. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2005.04.024>

LEÃO, Zelinda M.A.N.; KIKUCHI, Ruy K.P.; OLIVEIRA, Marília D.M. **The coral reef**

province of Brazil. Second Edied. [S. l.]: Elsevier Ltd., 2018. v. 1 Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805068-2.00048-6>

LEÃO, Zelinda M.A.N.; KIKUCHI, Ruy K.P.; TESTA, Viviane. Corals and coral reefs of Brazil. **Latin American Coral Reefs**, [s. l.], p. 9–52, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-044451388-5/50003-5>

LEVY, Gideon *et al.* Mid-water rope nursery — Testing design and performance of a novel reef restoration instrument. **Ecological Engineering**, [s. l.], v. 36, n. 4, p. 560–569, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2009.12.003>

LOURENÇO, Rafael André *et al.* Mysterious oil spill along Brazil ' s northeast and southeast seaboard (2019 – 2020): Trying to find answers and filling data gaps NBC Rio de Janeiro. **Marine Pollution Bulletin**, [s. l.], v. 156, n. April, p. 111219, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111219>

LOYA, Y *et al.* Coral bleaching : the winners and the losers. [s. l.], p. 122–131, 2001.

MBIJE, Nsajigwa E.J.; SPANIER, Ehud; RINKEVICH, Baruch. Testing the first phase of the “gardening concept” as an applicable tool in restoring denuded reefs in Tanzania. **Ecological Engineering**, [s. l.], v. 36, n. 5, p. 713–721, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2009.12.018>

MCCLANAHAN, Timothy R M C. The near future of coral reefs. [s. l.], v. 29, n. 4, p. 460–483, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0376892902000334>

MOBERG, Fredrik; FOLKE, Carl. Ecological goods and services of coral reef ecosystems. **Ecological Economics**, [s. l.], v. 29, n. 2, p. 215–233, 1999. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0921-8009\(99\)00009-9](https://doi.org/10.1016/S0921-8009(99)00009-9)

MOHAMMED, Javeed Shaikh. Applications of 3D printing technologies in oceanography. **Methods in Oceanography**, [s. l.], v. 17, p. 97–117, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mio.2016.08.001>

OKAMOTO, Mineo *et al.* Development of ceramic settlement devices for coral reef restoration using in situ sexual reproduction of corals. **Fisheries Science**, [s. l.], v. 74, n. 6, p. 1245–1253, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1444-2906.2008.01649.x>

OMORI, Makoto. Coral restoration research and technical developments: what we have learned so far. **Marine Biology Research**, [s. l.], v. 15, n. 7, p. 377–409, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/17451000.2019.1662050>

PICCIANI, Natasha. **Diversidade molecular de zooxantelas associadas a corais do gênero *Mussismilia* (Cnidaria , Scleractinia) no Brasil**. 2013. - Universidade Federal do Rio de Janeiro, [s. l.], 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.25079.42403>

PIRES, D O; CASTRO, C B; RATTO, C C. Reef coral reproduction in the Abrolhos Reef Complex , Brazil : the endemic genus *Mussismilia*. [s. l.], p. 463–471, 1999.

RAVEN, John *et al.* Ocean acidification due to increasing. **Coral Reefs**, [s. l.], v. 12/05, n. June, p. 68, 2005. Disponível em: http://eprints.ifm-geomar.de/7878/1/965_Raven_2005_OceanAcidificationDueToIncreasing_Monogr_pubid13120.pdf

RINKEVICH, B. Steps towards the evaluation of coral reef restoration by using small branch fragments. **Marine Biology**, [s. l.], v. 136, n. 5, p. 807–812, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s002270000293>

RINKEVICH, Baruch. Ecological engineering approaches in coral reef restoration. **ICES Journal of Marine Science**, [s. l.], v. 2100, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsaa022>

RINKEVICH, Baruch. Rebuilding coral reefs: Does active reef restoration lead to sustainable reefs? **Current Opinion in Environmental Sustainability**, [s. l.], v. 7, p. 28–36, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cosust.2013.11.018>

RINKEVICH, Baruch. **Restoration Strategies for Coral Reefs Damaged by Recreational Activities: The Use of Sexual and Asexual Recruits.** [S. l.: s. n.], 1995.

ROCHA, Luiz A. Patterns of distribution and processes of speciation in Brazilian reef fishes. [s. l.], p. 1161–1171, 2003.

SAMPAIO, C *et al.* New occurrences of the nonindigenous orange cup corals *Tubastraea coccinea* and *T. tagusensis* (Scleractinia: Dendrophylliidae) in Southwestern Atlantic. [s. l.], v. 8, n. 3, p. 528–530, 2012.

SHAISH, Lee *et al.* Fixed and suspended coral nurseries in the Philippines: Establishing the first step in the “gardening concept” of reef restoration. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, [s. l.], v. 358, n. 1, p. 86–97, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2008.01.024>

SHAVER, Elizabeth C.; BURKEPILE, Deron E.; SILLIMAN, Brian R. Local management actions can increase coral resilience to thermally-induced bleaching. **Nature Ecology and Evolution**, [s. l.], v. 2, n. 7, p. 1075–1079, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0589-0>

TEIXEIRA, Carolina D. *et al.* Sustained mass coral bleaching (2016 – 2017) in Brazilian turbid- zone reefs : taxonomic , cross-shelf and habitat-related trends. [s. l.], 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00338-019-01789-6>

TORTOLERO-LANGARICA, J. J.Adolfo *et al.* Accelerated recovery of calcium carbonate production in coral reefs using low-tech ecological restoration. **Ecological Engineering**, [s. l.], v. 128, n. September 2018, p. 89–97, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2019.01.002>

VERMEIJ, M.J.A. A novel growth strategy allows *Tubastrea coccinea* to escape small-scale adverse conditions and start over again. [s. l.], p. 3614230, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00338-005-0489-z>

VERON, J E N. Mass extinctions and ocean acidification : biological constraints on geological dilemmas. [s. l.], p. 459–472, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00338-008-0381-8>

WILKINSON, Clive R. review and predictions. [s. l.], 1999.

ZILBERBERG, Carla *et al.* Conhecendo os Recifes Brasileiros. *In:* [S. l.: s. n.], 20