UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL FACULDADE DE AGRONOMIA CURSO DE ZOOTECNIA

LUCAS OPITZ VIEIRA DA CUNHA

Inibição da motilidade espermática do coral endêmico *Mussismilia harttii* por meio do controle da osmolalidade: estratégia para preservação seminal

Porto Alegre 2022

LUCAS OPITZ VIEIRA DA CUNHA

Inibição da motilidade espermática do coral endêmico *Mussismilia harttii* por meio do controle da osmolalidade: estratégia para preservação seminal

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito para obtenção do grau de Zootecnista, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientador: Prof. Dr. Leandro

Cesar de Godoy

Porto Alegre

LUCAS OPITZ VIEIRA DA CUNHA

Inibição da motilidade espermática do coral endêmico *Mussismilia harttii* por meio do controle da osmolalidade: estratégia para preservação seminal

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito para obtenção do Grau de Bacharel em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Data da aprovação: 14 / 10 / 2022

Prof. Dr. Learndro Cesar de Godoy

Departamento de Zootechia

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Orientador – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Leandro Cesar Godoy

Banca – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Dra. Nayara Oliveira da Cruz

Banca - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Dra. Andrea Giannotti Galuppo

Agradecimentos

Primeiramente aos meus pais, Carlos Roberto Vieira da Cunha e Fabíola Opitz Vieira da Cunha por toda paciência, apoio e ajuda desde o colégio até onde estou hoje e até onde irei e ao meu irmão Arthur Opitz Vieira da Cunha por todos momentos de risada e parceria, amo vocês.

A uma pessoa mais do que especial e de suma importância neste momento, Maria Fernanda Ribeiro dos Passos, por todo amor, paciência, apoio e ajuda, sem ela esse momento não seria possível.

A todos os colegas e amigos do Projeto Reefbank, o qual fiz parte durante boa parte da graduação e em especial ao meu orientador e amigo Prof. Dr. Leandro Cesar Godoy, por ter me ajudado a entrar na área que sempre amei e à Cláudia Kelly Fernandes da Cruz, por ter me ajudado na realização deste trabalho.

Aos colegas e amigos da UFRGS, em especial a Renata Scavazza, que tanto me ajudou ao longo da graduação.

Aos meus amigos da Andow Gaming e UFSC por todos os dias de risada e companheirismo.

A todos os professores ministrantes das aulas do curso de Zootecnia pelos ensinamentos.

Resumo

Sabendo que a osmolalidade é um fator importante na iniciação da motilidade em espermatozoides de peixes, e considerando a ausência de conhecimento nesse campo para os corais brasileiros, esse trabalho objetivou avaliar se alterações na osmolalidade da água do mar poderiam influenciar na motilidade e viabilidade espermática do coral-couve-flor (Mussismilia harttii). A espécie foi escolhida por ser endêmica do Brasil e já estar ameaçada de extinção. No primeiro experimento, os espermatozoides foram expostos a quatro osmolalidades: 1035, 905, 776 e 646 mOsmol/kg, e em seguida avaliados quanto a motilidade e integridade de membrana. Após identificarmos 776 mOsmol/kg como a osmolalidade mais eficiente em suprimir a motilidade, os espermatozoides foram estocados em temperatura ambiente e avaliados por 24 horas (experimento 2). Quando mantidos em 776 mOsmol/kg, 45% dos espermatozoides ainda estavam móveis 19h após a desova. Esse achado pode ser útil em estratégias para conservação da espécie. A manipulação na osmolalidade da água marinha permitiu que os espermatozoides ficassem imóveis e viáveis por mais tempo, tornando possível seu transporte por grandes distancias sem a necessidade de uso de qualquer técnica de resfriamento ou criopreservação.

Palavras-chave: Recifes de coral; Espermatozoides; Motilidade espermática; Conservação; Oceano.

Abstract

Knowing that osmolality is an important factor in the initiation of motility in fish sperm, and considering the lack of knowledge in this field for Brazilian corals, this study aimed to evaluate whether changes in seawater osmolality could influence sperm motility and viability in the cauliflower coral (*Mussismilia harttii*). The species was chosen because it is endemic to Brazil and is already threatened with extinction. In the first experiment, sperm were exposed to four osmolalities: 1035, 905, 776 and 646 mOsmol/kg, and then evaluated for motility and membrane integrity. After identifying 776 mOsmol/kg as the most efficient osmolality in suppressing motility, sperm were stored at room temperature and evaluated for 24 hours (experiment 2). When maintained at 776 mOsmol/kg, 45% of the spermatozoa were still motile 19 h after spawning. This finding may be useful in strategies for the conservation of the species. Manipulating the osmolality of seawater allowed the sperm to remain immobile and viable for longer period, making it possible to transport them over great distances without the need to use any cooling or cryopreservation technique.

Keywords: Coral reefs; Spermatozoa; Sperm motility; Conservation; Ocean.

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1 — Esquema mostrando a estrutura básica do coral	9
Figura 2 — Distribuição global dos corais	10
Figura 3 — Esquemas representando a Reprodução Sexuada e Assexuada	11
Figura 4 — Teste da inibição da motilidade dos espermatozoides do coral M.	
Harttii utilizando diferentes osmolalidades	18
Figura 5 — Taxa de motilidade dos espermatozoides de M. harttii quando mant	idos
em água com 776 mOsmol/kg antes e após ativação com AMF	20
Tabela 1 — Teste de inibição da motilidade dos espermatozoides do coral M. H	larttii
utilizando diferentes osmolalidades	19

Sumário

1.	Introdução	9
2.	Objetivos	13
3.	Revisão Bibliográfica	14
4.	Material e Métodos	16
5.	Resultados e Discussão	18
6.	Considerações finais	21
	Referências	22

1. Introdução

Corais são animais cnidários da classe *Anthozoa*, formados por esqueletos calcários e corpos individuais chamados de pólipos (Timothy Richard Parsons; Lalli, 2010). Cada pólipo possui uma boca cercada de tentáculos, e é por essa boca que o coral se alimenta, excreta resíduos e desova (Figura 1). Uma das principais características dos corais é a sua coloração, a grande maioria dos pólipos são translúcidos, tendo sua coloração de fato definida pela associação com microalgas popularmente chamadas de zooxantelas, as quais são responsáveis por grande parte do alimento do coral via fotossíntese (Pires et al., 2016). Tal interação é conhecida como simbiose, pois o coral serve de abrigo e proteção em troca de auxílio na sua nutrição. Os recifes de coral são um dos ecossistemas biológicos mais biodiversos da Terra, possuindo cerca de 1400 espécies identificadas e suportando mais de 4000 espécies de peixes, totalizando aproximadamente 25% de toda a diversidade de peixes marinhos (Spalding et al., 2001).

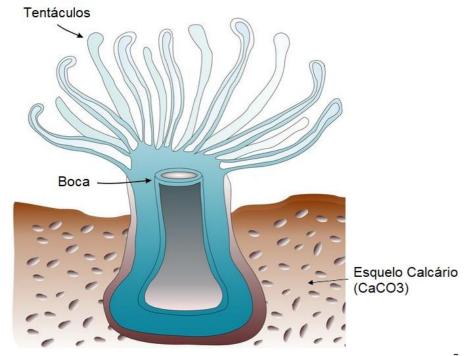


Figura 1. Esquema mostrando a estrutura básica do coral (Adaptado de LEITÃO et al., 2020)

Embora ocorram ao redor do planeta e estejam presentes em todos os oceanos (Figura 2), os corais recifais cobrem uma área de apenas 0,17% do fundo do oceano e estão presentes em apenas 1,2% das costas continentais (Leite et al., 2003). Sua estrutura é construída por organismos calcificantes que são capazes de secretar esqueletos carbonáticos através do processo de biomineralização. Por contribuem com grande parte da produção global de carbonato de cálcio são essenciais para a construção e manutenção dos recifes em todo o mundo (Bizarre et al., 2020). Tal acréscimo na produção de esqueleto associado à presença das zooxantelas é considerado um dos principais fatores a restringirem a presença de recifes de coral tropicais a baixas profundidades, pois as algas necessitam de luminosidade para realizar a fotossíntese (Spalding et al., 2015).

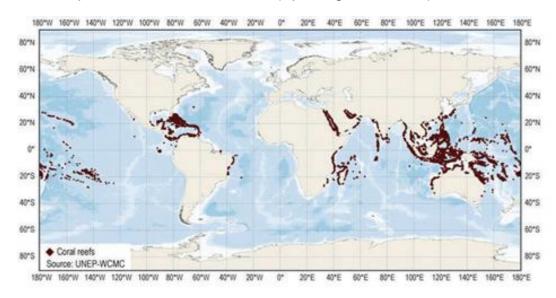


Figura 2. Distribuição global dos corais (CARDINI, 2014)

Os corais podem se reproduzir de maneira sexuada (Figura 3), produzindo espermatozoides e oócitos de forma simultânea, ou seja, produzindo gametas de forma simultânea ou de forma alternada, com a produção de um tipo de gameta por cada indivíduo de coral, sendo esses liberados na água. Quando ocorre a fecundação, uma larva de coral é formada e posteriormente assenta no substrato marinho, dando início a um novo pólipo que pode formar uma nova colônia (Pires et al., 2016). Outra forma de reprodução é a assexuada (Figura 3), que ocorre de duas maneiras, por brotamento, onde um novo pólipo surge de um indivíduo ou por fragmentação da colônia (Pires et al., 2016), e em ambos os casos os novos corais são clones do coral de origem.



Figura 3. Esquemas representando a Reprodução Sexuada (Pires et al. 2016) e a Reprodução Assexuada (adaptado de ISLAM, 2020) dos corais.

A enorme diversidade e abundância de organismos recifais geram bilhões de dólares em atividades relacionadas ao turismo (Spalding et al., 2017) e a pesca. Além disso, os recifes são importantes em termos físicos pois promovem a proteção costeira da ação das ondas e tempestades (Eliff et al., 2016). Hoje, a maioria dos corais encontram-se ameaçados de extinção (Burke, 2011). Estima-se que 27% dos recifes de coral do mundo já tenham sido degradados irreversivelmente, e a costa Brasileira possui os únicos recifes de coral do Atlântico Sul, tornando a importância da sua conservação ainda maior (Padovani e Maida, 2006).

O desenvolvimento acelerado das zonas costeiras e o excesso de exploração dos recursos marinhos podem ser causas de degradação dos recifes Brasileiros. No Brasil, mais de 18 milhões de pessoas vivem na zona costeira, especialmente no Nordeste, sendo assim uma das regiões mais povoadas do país (Marengo e Scarano, 2016) e essa parte da população depende diretamente de seus serviços ecossistêmicos. Alguns dos fatores importantes na diminuição da população de corais brasileiros são a pesca e o avanço do turismo marinho. Em relação a pesca, se trata de uma das atividades mais importantes para as zonas costeiras, e devido ao seu impacto social, econômico e cultural para as regiões, tornou-se responsável por parte dos impactos sobre os recifes. Já o avanço do turismo marinho, é uma ameaça considerando principalmente o aumento da população costeira nos meses de férias o que torna o turismo descontrolado (Pires et al, 2016). Os danos aos recifes vão desde a ancoragem em local indevido dos barcos turísticos, vazamento de óleo, lixo,

pisoteamento dos corais e utilização de protetores solares de efeito químico (Downs et al., 2015).

Tendo em vista o avanço nas pesquisas para a conservação dos corais, a inibição da motilidade pode ser mais uma alternativa nesses esforços, visto que ao inibir a movimentação dos espermatozoides estes estariam mantendo sua reserva energética intacta por mais tempo. As possibilidades de utilização dos gametas são muitas, podendo ser criopreservados para a formação de um banco genético, utilização na fertilização ex situ ou in situ, restauração de áreas já degradadas ou até a utilização de espermatozoides ou oócitos de corais mais resilientes para melhoramento da resistência de outros recifes. Sabendo de sua importância, tanto financeira quanto ambiental e social (Spalding et al., 2014), visando as alterações climáticas e as interferências antrópicas já em andamento e futuras, este trabalho teve como objetivo estudar se a alteração na osmolalidade da água do oceano afeta a motilidade dos espermatozoides do coral endêmico brasileiro *Mussismilia harttii*.

2. Objetivos

2.1 Objetivo geral

O objetivo desse trabalho foi identificar, analisar e descrever se as alterações da osmolalidade na água marinha podem ser fatores determinantes na alteração da motilidade dos espermatozoides do coral endêmico brasileiro *Mussismilia harttii*.

2.2 Objetivos específicos

- Analisar a motilidade e a integridade da membrana em diferentes osmolalidades;
- Identificar qual a osmolalidade em que ocorre a inibição da motilidade dos espermatozoides;
- o Avaliar o efeito do tempo na motilidade espermática.

3. Revisão Bibliográfica

Os corais fazem parte da base da cadeia trófica oceânica, exercendo importante papel para saúde dos mares (Houk e Musburguer, 2013). A diminuição da sua população ou extinção afetaria de maneira catastrófica o oceano, uma vez que cerca de 25% da vida marinha perderia seu habitat natural, a pesca seria altamente prejudicada, e o turismo costeiro diminuiria significativamente (Reefcause Team, 2021). Além disso, a zona costeira sofreria com erosões e aumentos constante das marés, visto que os recifes de coral servem de barreira física para o controle de tamanho e intensidade das ondas. Haveria perda de pesquisas para tratamento de doenças nos humanos, pois inúmeras substancias estão sendo testadas para criação de novos fármacos (NOAA, 2014). Ainda, provocaria um excesso de algas no fundo do oceano, pois com a diminuição da população de corais toda fauna herbívora associada desapareceria, fazendo assim como que a multiplicação das algas não fosse controlada (Pandolfi et al., 2005), afetando a produção de oxigênio (Hesford, 2021) e gerando eutrofização (Thomann e Mueller, 1987).

Segundo a última atualização da Lista Oficial das Espécies Ameaçadas de Extinção, realizada pelo ICMBio, o coral endêmico brasileiro *Mussismilia harttii* consta como "Em Perigo" (Brasil, 2022). No entanto, algumas populações já apresentam declínio acentuado e até extinção local, como em Porto de Galinhas-PE (Lima, 2017). Esta categorização é grave, visto que a *Mussismilia harttii* já foi descrita como uma das espécies mais abundantes nos recifes brasileiros (Laborel, 1967) e apresenta diminuição de 50% da população em 30 anos (Pires et al., 2016). Por ser um importante construtor recifal (Mazzei et al., 2017) e ocorrendo desde o Ceará até o Espirito Santo (Laborel, 1967) a sua conservação se faz muito necessária.

Os esforços para a conservação dos corais são muitos, e variam desde a criopreservação dos gametas, reprodução *in situ* e *ex* situ e até reprodução por microfragmentação. Todas técnicas vem apresentando bons resultados, seja na recuperação de áreas já degradas com a utilização da aquacultura de corais, popularmente conhecida como jardinagem de corais, que utiliza a microfragmentação como principal tecnologia (Schopmeyer et al., 2017); na formação de bancos de gametas com a criopreservação, formando bancos genéticos de inúmeras espécies, seja para manter a variabilidade genética ou para evitar a extinção (Toh et al., 2022); ou na utilização de tecnologias e protocolos para a criação de mesocosmos,

permitindo com que corais criados ex situ consigam desovar várias vezes ao ano (Craggs et al., 2017).

A motilidade é comumente utilizada como sendo um parâmetro fundamental de avaliação da qualidade espermática. Essa avaliação é importante pois os espermatozoides necessitam estar móveis para conseguir se deslocar, encontrar o oócito e fecundá-lo (Chauvaud et al., 1995). Nosso grupo de pesquisa tem observado que nas espécies de corais hermafroditas liberadoras de gametas, os espermatozoides são imóveis enquanto mantidos dentro do pacote. A motilidade do espermatozoide é iniciada após a dissociação do pacote e liberação dos gametas na água marinha. Para que essa ativação seja feita, a presença e concentração de certos íons é necessária, assim como oscilações sutis no pH e a osmolalidade parecem estar envolvidos no processo (Godoy, comunicação pessoal). Espermatozoides de animais de água doce e água salgada possuem mecanismos diferentes de ativação da motilidade espermática, sendo o choque osmótico um deles (Morisawa e Suzuki, 1980). Em peixes marinhos, um dos gatinhos para ativação da motilidade espermática é ocorre por choque hiper osmótico, quando o sêmen é liberado na água. Como exemplo, o Halibute do Atlântico (*Hippoglossus hippoglossus*) possui sêmen com osmolalidade que varia de 900 a 1100 mOsmol/kg. Já em peixes de água doce a ativação da motilidade se dá por choque hipo osmótico, sendo que a osmolalidade do sêmen dessas espécies, como exemplo o Robalo-legítimo (Dicentrarchus labrax) fica em torno de 300 mOsmol/kg (Dumorné et al., 2018).

Sabendo que a osmolalidade é um fator importante na iniciação da motilidade em espermatozoides de peixes (Alavi e Cosson, 2006), e considerando a ausência de conhecimento nesse campo para os corais brasileiros, esse trabalho objetivou avaliar se alterações na osmolalidade da água do mar poderiam influenciar na motilidade e viabilidade espermática do coral-couve-flor (*Mussismilia harttii*). A espécie foi escolhida por ser endêmica do Brasil e já estar na lista vermelha do IBAMA como em perigo de extinção.

4. Material e Métodos

4.1 - Coleta e Manutenção das colônias

O seguinte trabalho foi realizado através de uma parceria do Projeto Reefbank com o Coral Vivo, que monitora a desova de corais desde 2004. Colônias de *Mussismilia harttii* foram coletadas no Parque Marinho de Recife de Fora, duas semanas antes da desova, e mantidas em caixas tanque de 1000 L conectadas ao mar na Base de Pesquisa do Coral Vivo em Arraial d'Ajuda, Porto Seguro, Bahia.

4.2 - Coleta das Amostras

O estudo foi realizado com sêmen coletado da colônia denominada "Caio", no decorrer de três noites de desova. Para evitar contaminação, quando a colônia começava a liberar pacotes era retirada do tanque e colocada em um balde plástico e então monitorada.

Os pacotes contendo os gametas foram coletados logo após sua liberação e colocados em tubos Falcon de 50 mL com 10 mL de água marinha filtrada (AMF), com três pacotes por tubo. Verificando-se o rompimento dos pacotes os oócitos flutuantes eram separados utilizando uma pipeta Pasteur. Os espermatozoides depositados no fundo eram transferidos para microtubos de 2 mL.

4.3 – Análise da Motilidade e Integridade de Membrana

As amostras foram então analisadas quanto a motilidade, sendo colocadas em lâminas histológicas de vidro e a taxa de motilidade foi avaliada por microscópio óptico. A porcentagem de espermatozoides móveis no campo óptico foi registrada (Godoy et al., 2021), e para avaliar a integridade de membrana os espermatozoides foram expostos ao corante eosina, que colore apenas células com a membrana danificada, e nigrosina, responsável pelo contraste do fundo da lâmina.

4.4 – Experimento 1: supressão da motilidade espermática por meio da variação na osmolalidade da água marinha

Como os espermatozoides da espécie são coletados já com motilidade, o objetivo desse primeiro ensaio era manipular a osmolalidade da água marinha buscando manter os espermatozoides imóveis, e assim poupar sua energia e

prolongar seu tempo de vida.

Os espermatozoides foram expostos a quatro osmolalidades: 1035, 905, 776 e 646 mOsmol/kg. Para atingir as respectivas osmolalidades, água destilada foi adicionada à AMF, conforme o exemplo:

```
40 mL (volume total) → 1035 mOsmol/kg
30 mL → X
X = 776 mOsmol/kg
```

Os espermatozoides ficavam aproximadamente 5 minutos em contato com a solução teste, e em seguida AMF era utilizada para que a motilidade fosse ativada e então analisada. Para amostras com alta concentração espermática foram micropipetados 2 µL de sêmen fresco diluídos em 14 µL de Água Marinha Filtrada. Para amostras com baixa concentração espermática, 10 µL de Água Marinha Filtrada foram usados para ativação.

4.5 – Experimento 2: avaliação do efeito da osmolalidade no tempo de vida dos espermatozoides

Após a seleção da melhor osmolalidade para o controle da motilidade, as amostras foram estocadas em temperatura ambiente e observadas em microscópio óptico nos tempos 0, 15, 19 e 24h.

4.6 – Análise Estatística

Para saber se houve diferença significativa de motilidade nas amostras, foram calculados no software BioEstat, os resultados utilizando a ANOVA simples e os testes T de Student e Tukey, utilizando o valor de significância de 5%.

5. Resultados e Discussão

Visto a importância dos recifes de coral para o ecossistema marinho e o preocupante decréscimo da sua população, este estudo visou investigar se possíveis alterações na osmolalidade da água marinha podem interferir na motilidade e integridade dos espermatozoides de coral *Mussismilia harttii*. Cessar a motilidade dos espermatozoides pode ser útil como mais uma técnica para auxiliar na sua reprodução *in situ* ou ex situ.

Os resultados encontrados no primeiro experimento mostraram que os tratamentos de 1035 e 905 mOsmol/kg não obtiveram sucesso desejado na inibição da motilidade, enquanto o tratamento 646 mOsmol/kg causou choque osmótico nas células, matando a totalidade dos espermatozoides (Figura 4 e Tabela 1). Dessa forma a osmolalidade que melhor inibiu a motilidade espermática foi a de 776 mOsmol/kg (Figura 4), ao conseguir manter 92,33% dos espermatozoides imóveis.

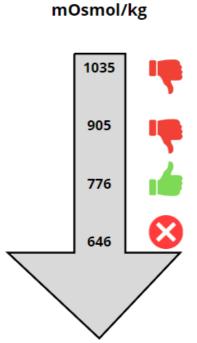


Figura 4 - Teste da inibição da motilidade dos espermatozoides do coral *M. Harttii* utilizando diferentes osmolalidades.

Tabela 1. Teste de inibição da motilidade dos espermatozoides do coral *M. Harttii* utilizando diferentes osmolalidades.

Osmolalidade (mOsmol/kg)	Motilidade (%)	Integridade de Membrana (%)
1035	96.67 ± 5.77	90 ± 5.20
905	63.33 ± 7.77	98 ± 2.00
776	7.67 ± 0.58	98 ± 1.00
646	0 ± 0.00	68.34 ± 10.69

Após obter sucesso na supressão da motilidade espermática realizamos o segundo ensaio, no qual os espermatozoides mantidos em 776 mOsmol/kg foram avaliados por 24 horas. Com os valores encontrados nos diferentes tempos de amostragem, foi possível observar que houveram mudanças significativas na motilidade em três períodos de tempo, sendo eles 0, 15 e 19h, deixando apenas o tempo de 24h sem mudanças significativas estatisticamente (Figura 5). Analisando os resultados podemos observar uma queda na motilidade dos espermatozoides conforme o tempo avança, até praticamente perderem a capacidade de se mover em 24h. A osmolalidade de 776 mOsmol/kg foi eficiente em manter quase 50% dos espermatozoides viáveis e com a membrana integra por 19 horas.

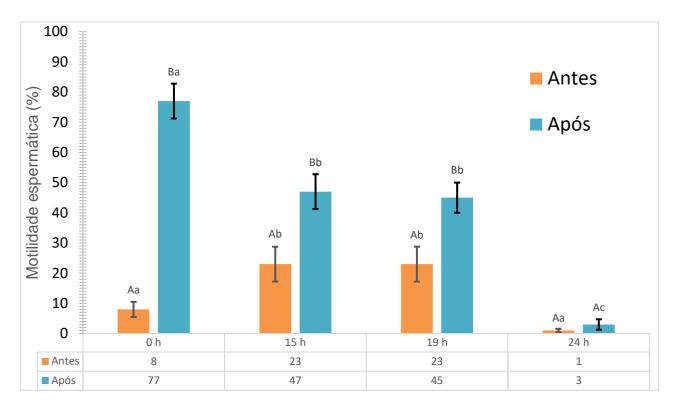


Figura 5 – Taxa de motilidade dos espermatozoides de *M. harttii* quando mantidos em água com 776 mOsmol/kg antes e após ativação com AMF

- Letras maiúsculas distintas em cada tempo indicam diferença estatística pelo teste T de Student.
- Letras minúsculas distintas ao longo do tempo indicam diferença estatística pelo teste de Tukey.

Outro fator importante descoberto nessa pesquisa foi o sucesso no prolongamento do tempo de vida dos espermatozoides de *M. harttii*. O tempo de vida médio do espermatozoide da espécie é de 16 horas no ambiente marinho (Godoy, *comunicação pessoal*). Aqui, quando mantidos em água com 776 mOsmol/kg, após 19h cerca de 45% dos espermatozoides ainda estavam móveis, e 3% deles ainda estavam vivos após 24h.

Esse achado pode ser útil em estratégias para conservação da espécie. A manipulação na osmolalidade da água marinha permitiu que os espermatozoides ficassem imóveis e viáveis por mais tempo, tornando possível seu transporte por grandes distancias sem a necessidade de uso de qualquer técnica de resfriamento ou criopreservação. Os resultados aqui encontrados podem complementar as atuais e futuras biotecnologias reprodutivas aplicadas à conservação dos corais.

6. Considerações finais

O presente teve como objetivo avaliar se a diferença de osmolalidade pode ser um fator inibitório na motilidade dos espermatozoides de coral. Como resultado, o trabalho conseguiu observar que alterações na osmolalidade da água marinha podem afetar a motilidade e a integridade da membrana dos espermatozoides do coral endêmico brasileiro *Mussismilia harttii*. Tendo em vista que são organismos muito sensíveis à mínimas variações ambientais, essas informações podem subsidiar ações favoráveis para conservação dos recifes de coral, visto que isto permite que seus gametas sejam transportados sem desperdiçar energia nem destruir sua membrana plasmática, fatores de suma importância para aumento da taxa de fecundação.

A descoberta do aumento do tempo de vida do espermatozoide quando mantido em 776 mOsmol/kg reforça a ideia de que podemos utilizar isso em favor da conservação, visto que novas tecnologias podem ser empregas junto com a utilização da mudança na osmolalidade da água, como criopreservação ou fertilização *ex situ*. Essa associação de protocolos e tecnologias é fundamental para criação de um banco genético como alternativa futura para a repopulação de áreas já degradadas.

Mais estudos na área são necessários, para avaliar se a utilização de outras tecnologias aliadas a mudança da osmolalidade podem ser efetivas e se, além das características químicas da água, também as características das colônias (seu estado de saúde, se branqueadas e se em áreas protegidas de ações antrópicas gerais) afetam a motilidade de seus espermatozoides.

Referências

- RIFFELL, J. A.; KRUG, P. J.; ZIMMER, R. K. Fertilization in the sea: the chemical identity of an abalone sperm attractant. **The Journal of Experimental Biology**, v. 205, n. Pt 10, p. 1439–1450, 1 maio 2002.
- MORITA, M. et al. Eggs regulate sperm flagellar motility initiation, chemotaxis and inhibition in the coral Acropora digitifera, A. gemmiferaand A. tenuis. **Journal of Experimental Biology**, v. 209, n. 22, p. 4574–4579, 15 nov. 2006.
- ALBRIGHT, R.; MASON, B. Projected Near-Future Levels of Temperature and pCO2 Reduce Coral Fertilization Success. **PLoS ONE**, v. 8, n. 2, p. e56468, 14 fev. 2013.
- HAGEDORN, M. et al. Oxidative Stress in Zebrafish (Danio rerio) Sperm. **PLoS ONE**, v. 7, n. 6, p. e39397, 19 jun. 2012.
- SPALDING, M.; CORINNA, R.; GREEN, E. World Atlas of Coral Reefs The most definitive and comprehensive overview yet of a vital part of our living w/orld."

 --BBC Wildlife. [s.l: s.n.]. Disponível em: https://ia600301.us.archive.org/19/items/worldatlasofcora01spal/worldatlasofcora01spal.pdf>. Acesso em: 28 set. 2022.
- ZILBERBERG, C. et al. Conhecendo os Recifes Brasileiros Rede de Pesquisas Coral Vivo Série Livros Museu Nacional. [s.l: s.n.]. Disponível em: https://numeb.furg.br/images/stories/pdf/conhecendo_os_recifes_brasileiros_versao_digital.pdf.
- BIZARRE, C.; GUILHERME, H.; PEREIRA FILHO. **PRODUÇÃO DE CARBONATO DE CÁLCIO NO RECIFE DE CORAIS SUBTROPICAL MAIS AO SUL DO ATLÂNTICO Santos 2020**. [s.l: s.n.]. Disponível em: . Acesso em: 28 set. 2022."
- SPALDING, M. D.; BROWN, B. E. Warm-water coral reefs and climate change. **Science**, v. 350, n. 6262, p. 769–771, 12 nov. 2015.
- SPALDING, M. et al. Mapping the global value and distribution of coral reef tourism. **Marine Policy**, v. 82, n. 1, p. 104–113, ago. 2017.
- ELLIFF, C.; FERNANDINO, G. **PROTEÇÃO À LINHA DE COSTA POR RECIFES DE CORAL: POTENCIAL VS. VULNERABILIDADE**. [s.l: s.n.]. Disponível em: http://www.redebraspor.org/livros/2019/Braspor%202019%20-%20Artigo%2017.pdf>. Acesso em: 29 set. 2022.
- MOJICA, C. Análise ultraestrutural e avaliação do sêmen de peixes neotropicais, Brycon orbignyanus, Rhamdia quelen e Brycon hilarii (Pisces, Teleostei). Acesso em: 29 set. 2022.

- SPALDING, M. D. et al. The role of ecosystems in coastal protection: Adapting to climate change and coastal hazards. **Ocean & Coastal Management**, v. 90, p. 50–57, mar. 2014.
- COSSON, J. et al. Studying sperm motility in marine fish: an overview on the state of the art. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 24, n. 4, p. 460–486, ago. 2008.
- CARDINI, U. et al. Benthic N2fixation in coral reefs and the potential effects of human-induced environmental change. **Ecology and Evolution**, v. 4, n. 9, p. 1706–1727, 31 mar. 2014.
- ISLAM, I. Zeolite-microfragmenting Media: A Potential Strategy to Accelerate Coral Growth. 30 out. 2020.
- THOMPSON, J. R. et al. Microbes in the coral holobiont: partners through evolution, development, and ecological interactions. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 4, 7 jan. 2015.
- US DEPARTMENT OF COMMERCE, N. O. AND A. A. **NOAA's Coral Reef Conservation Program (CRCP) Coral Facts**. Disponível em: https://coralreef.noaa.gov/education/#whatis>. Acesso em: 6 out. 2022.
- LEAL, M. C. et al. Coral aquaculture: applying scientific knowledge toex situproduction. **Reviews in Aquaculture**, v. 8, n. 2, p. 136–153, 1 nov. 2014.
- GODOY, L. et al. Spermatozoa Of The Endemic Brain-Coral Mussismilia Hispida Are Sensitive To Low Temperature Exposure. **Cryobiology**, v. 91, p. 188, dez. 2019.
- LOUISE, R. et al. **IMPACTO DA ACIDIFICAÇÃO E AUMENTO DA TEMPERATURA DA ÁGUA DO MAR SOBRE A MACROFAUNA**. [s.l: s.n.]. Disponível em: https://www.ufpe.br/documents/616030/863589/lmpacto_da_acidifica%C3%A7 ao_e_aumento_da_temperatura_da_agua_do_mar.pdf>.
- GODOY, L. et al. Southwestern Atlantic reef-building corals Mussismilia spp. are able to spawn while fully bleached. **Marine Biology**, v. 168, n. 2, 21 jan. 2021.
- **New IPCC Report (Part 5)**. Disponível em: https://johncarlosbaez.wordpress.com/2014/04/14/what-does-the-new-ipcc-report-say-about-climate-change-part-5/. Acesso em: 6 out. 2022.
- Monitoramento dos Recifes de Coral do Brasil Situação Atual e Perspectivas. [s.l: s.n.]. Disponível em: https://www.terrabrasilis.org.br/ecotecadigital/pdf/serie-biodiversidade--18-monitoramento-de-recifes-de-coral-do-brasil-situacao-atual-e-perspectivas.pdf>. Acesso em: 7 out. 2022.
- MORAES, Antonio Carlos Robert. **Contribuições para a gestão da zona costeira do Brasil: elementos para uma geografia do litoral brasileiro**. . São Paulo: Annablume. . Acesso em: 07 out. 2022. , 2007

- DOWNS, C. A. et al. Toxicopathological Effects of the Sunscreen UV Filter, Oxybenzone (Benzophenone-3), on Coral Planulae and Cultured Primary Cells and Its Environmental Contamination in Hawaii and the U.S. Virgin Islands. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 70, n. 2, p. 265–288, 20 out. 2015.
- EAKIN, C. M.; SWEATMAN, H. P. A.; BRAINARD, R. E. The 2014–2017 global-scale coral bleaching event: insights and impacts. **Coral Reefs**, v. 38, n. 4, p. 539–545, 22 jul. 2019.
- NOAA. **What Is Coral bleaching?** Disponível em: https://oceanservice.noaa.gov/facts/coral_bleach.html.
- LEITÃO, A. L. et al. Interspecies Communication in Holobionts by Non-Coding RNA Exchange. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 7, p. 2333, 27 mar. 2020.
- LEITE, A. et al. UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA INSTITUTO DE BIOLOGIA DEPARTAMENTO DE ECOLOGIA PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA. [s.l: s.n.]. Disponível em: https://core.ac.uk/download/pdf/33537102.pdf.
- GODOY, L. et al. Southwestern Atlantic reef-building corals Mussismilia spp. are able to spawn while fully bleached. **Marine Biology**, v. 168, n. 2, 21 jan. 2021.
- HOUK, P.; MUSBURGER, C. Trophic interactions and ecological stability across coral reefs in the Marshall Islands. **Marine Ecology Progress Series**, v. 488, p. 23–34, 15 ago. 2013.
- HESFORD, H. What Would Happen If There Were No Coral Reefs? Disponível em: https://reef-world.org/blog/no-coral-reefs.
- REEFCAUSE TEAM. What Would Happen If There Were No More Coral Reefs? ReefCause. Disponível em: https://conservation.reefcause.com/what-would-happen-if-there-were-no-more-coral-reefs/#:~:text=If%20coral%20reefs%20disappeared%2C%20essential>.
- NAKAMURA, M.; MORITA, M. Sperm motility of the scleractinian coral Acropora digitifera under preindustrial, current, and predicted ocean acidification regimes. **Aquatic Biology**, v. 15, n. 3, p. 299–302, 6 jun. 2012.
- MCLEOD, E. et al. Preparing to manage coral reefs for ocean acidification: lessons from coral bleaching. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 11, n. 1, p. 20–27, fev. 2013.
- TIERSCH, T. R. et al. Sperm cryopreservation in fish and shellfish. **Society of Reproduction and Fertility Supplement**, v. 65, p. 493–508, 2007.
- ALAVI, S.; COSSON, J. Sperm motility in fishes. (II) Effects of ions and osmolality: A review. **Cell Biology International**, v. 30, n. 1, p. 1–14, jan. 2006.

- TIMOTHY RICHARD PARSONS; LALLI, C. M. **Biological Oceanography : An Introduction**. [s.l: s.n.]. Disponível em: http://www.sisal.unam.mx/labeco/LAB_ECOLOGIA/OF_files/54210854-Biological-Oceanography-an-Introduction.pdf>.
- BURKE, L. Reefs at Risk: Map-Based Analyses of Threats to Coral Reefs. In: **Encyclopedia of Modern Coral Reefs**. [s.l: s.n.]. p. 918–920.
- MARENGO, J.; SCARANO, F. Impacto, vulnerabilidade e adaptação das cidades costeiras brasileiras às mudanças climáticas: Relatório Especial do Painel Brasileiro de Mudanças Climáticas. [s.l: s.n.]. Disponível em: https://ppgoceano.paginas.ufsc.br/files/2017/06/Relatorio_DOIS_v1_04.06.17.p df>.
- NOAA. What does coral have to do with medicine? Disponível em: https://oceanservice.noaa.gov/facts/coral_medicine.html.
- PANDOLFI, J. M. ECOLOGY: Enhanced: Are U.S. Coral Reefs on the Slippery Slope to Slime? **Science**, v. 307, n. 5716, p. 1725–1726, 18 mar. 2005.
- THOMANN, R. V.; MUELLER, J. A. Principles of Surface Water Quality Modeling and Control. [s.l.] HarperCollins Publishers, 1987.
- ALAVI, S.; COSSON, J. Sperm motility in fishes. (II) Effects of ions and osmolality: A review. **Cell Biology International**, v. 30, n. 1, p. 1–14, jan. 2006.
- MORISAWA, M.; SUZUKI, K. Osmolality and potassium ion: their roles in initiation of sperm motility in teleosts. **Science**, v. 210, n. 4474, p. 1145–1147, 5 dez. 1980.
- DUMORNÉ, K. et al. Effect of pH, osmolality and temperature on sperm motility of pink cusk-eel (Genypterus blacodes, (Forster, 1801)). **Aquaculture Reports**, v. 11, p. 42–46, ago. 2018.
- CHAUVAUD, L. et al. Sperm motility in turbot, Scophthalmus marimus: initiation of movement and changes with time of swimming characteristics. **Environmental Biology of Fishes**, v. 43, n. 4, p. 341–349, ago. 1995.
- MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE GANINETE DO MINISTRO PORTARIA MMA Nº 148, DE 7 DE JUNHO DE 2022. [s.l: s.n.]. Disponível em: https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Portaria/2020/P_m ma_148_2022_altera_anexos_P_mma_443_444_445_2014_atualiza_especies_ameacadas_extincao.pdf>.
- LIMA, GISLAINE VANESSA DE. AVALIAÇÃO DO ESTADO DE CONSERVAÇÃO DO CORAL ENDÊMICO Mussismilia harttii (VERRILL, 1868) (CNIDARIA: ANTHOZOA) NO BRASIL. Orientador: Prof. Dr. Carlos Daniel Pérez. 2017. Dissertação (Mestrado) Curso de Biologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017. Disponível em: https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/25918/1/DISSERTA%c3%87%c3%83O%20Gislaine%20Vanessa%20de%20Lima.pdf. Acesso em: 18 out. 2022.

- LABOREL, D. J. A revised list of brazilian scleractinian corals and description of a new species. **Postilla**, 1 jan. 1967.
- MAZZEI, E. F. et al. Newly discovered reefs in the southern Abrolhos Bank, Brazil: Anthropogenic impacts and urgent conservation needs. **Marine Pollution Bulletin**, v. 114, n. 1, p. 123–133, jan. 2017.
- SCHOPMEYER, S. A. et al. Regional restoration benchmarks for Acropora cervicornis. **Coral Reefs**, v. 36, n. 4, p. 1047–1057, 27 jun. 2017.
- TOH, E.-C. et al. Cryopreservation and Cryobanking of Cells from 100 Coral Species. **Cells**, v. 11, n. 17, p. 2668, 27 ago. 2022.