**ARÉA TEMÁTICA: Genética/Evolução**

**SUBÁREA TEMÁTICA:**

**ANÁLISE GENÉTICA DE CORAIS BRANQUEADOS DO LITORAL SUL DE PERNAMBUCO**

Jean Tácio Tôrres de Lira¹, Paulo Roberto Eleutério de Souza², Fernanda Maria Duarte do Amaral³

¹ Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Campus Recife. E-mail (JTTL): Jean.lira@ufrpe.br

² Universidade Federal de Rural Pernambuco (UFRPE), Campus Recife. E-mail (PRES): paulo.eleuterio@ufrpe.br

³ Universidade Federal de Rural Pernambuco (UFRPE), Campus Recife*.* E-mail (FMDA): fernanda.amaral@ufrpe.br

**INTRODUÇÃO**

A preocupação com a saúde dos ecossistemas recifais, que fornecem habitat e abrigo para uma diversidade de organismos marinhos, é amplamente reconhecida (Moberg; Folke, 1999). Contudo, esses ambientes enfrentam ameaças, sendo o branqueamento de corais um problema global resultante de mudanças abióticas nas águas oceânicas (Glynn, 1993). O branqueamento, causado pela expulsão das microalgas endossimbiontes, pode ter consequências graves, incluindo impactos na biodiversidade e na saúde dos corais (Szmant; Gassman, 1990; Fautin; Buddemeier, 2004; Santos et al., 2021).

No litoral sul de Pernambuco, o fenômeno do branqueamento é evidente e suscita a necessidade de compreender os mecanismos genéticos envolvidos na resistência ao estresse térmico (Glynn, 1993; Leão, Kikuchi; Oliveira, 2008; Santos et al., 2021). Embora o branqueamento tenha sido amplamente estudado, fatores genéticos ainda não foram totalmente elucidados (Burgess, 2021; Virgen-Urcelay; Donner, 2023), tornando necessário investigar a variação genética e sua influência no fenômeno (Drury; Lirman, 2021).

A conservação dos ecossistemas recifais é vital em um cenário de mudanças climáticas, e compreender os fatores genéticos pode informar estratégias de manejo e conservação mais eficazes. Portanto, a investigação de protocolos precisos de identificação genética em *S. stellata* é uma direção promissora para avançar na compreensão do fenômeno de branqueamento e na proteção dos recifes de corais.

**MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo empregou abordagens moleculares para analisar a variação genética em *Siderastrea stellata* (Verril, 1868), um coral amplamente presente no litoral sul de Pernambuco. Amostras foram coletadas na praia de Gaibu-PE, área onde colônias parcialmente branqueadas foram identificadas. O DNA genômico foi extraído usando o kit “*Wizard Genomic DNA Purification Kit*” (PROMEGA). A identificação molecular de *S. stellata* foi realizada utilizando primers específicos para a região ITS do RNA ribossomal 18s (ITS1F, ITS5F, ITSR) (Nunes, 2008). O método de RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) foi empregado para investigar a variabilidade genética entre diferentes regiões das colônias branqueadas, assim para tal, foram utilizados primers randômicos da série CAM: A01 (CCC AAG GTC C), A02 (GGT GCG GGA A), A03 (AAG ACC CCT C), A05 (CAC CAG GTG A), B04 (TGC CAT CAG T), B05 (GCG CTC ACG C) e B07 (AGA TCG AGC C) (Amavet *et al*., 2009), e os produtos da PCR foram separados em gel de agarose a 3% usando o tampão TBE. A variabilidade genética entre as amostras foi analisada pela variação no padrão de bandas apresentadas no gel de agorose a 3%.

**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

**Identificação de *Siderastrea stellata***

A Fig. 1 mostra a amplificação para identificação molecular da região ITS de *S. stellata* pela técnica da PCR convencional.



Figura 1. Produto da amplificação da região ITS de *Siderastrea stellata em gel de agarose a 1%*. Linhas 1: marcador de peso molecular *ladder* de 50 pares de bases; Linhas 2,-4: Amplicom da região ITS de *S. stellata.*

A Fig. 2 mostra o resultado da análise de RAPD utilizando os primers randômicos selecionados no presente estudo. Os primers A01, A03 e A05 foram os mais promissores em termos de amplificação de fragmentos de DNA. No entanto, não houve muita variabilidade em relação ao padrão de bandas analisadas. Essa dificuldade pode estar associada à especificidade dos primers em relação à espécie-alvo e à presença de outros organismos associados aos corais, como as zooxantelas (Santos *et al*., 2021). Além disso, a variação na amplificação de fragmentos genéticos pode estar relacionada com a presença de diferentes alelos em diferentes regiões das colônias branqueadas (Burgess, 2021). Contudo, se necessário analisar outros conjuntos de sequências de primers para uma maior certeza sobre a existência ou não da variabilidade genética que esteja associada ao branqueamento das colônias.

A01

A02

A03

A05

M

Figura 2. Análise RAPD em gel de agarose a 1,5%, utilizando primers CAM (Caiman). Linhas 1-4: Amostras de *S. Stellata* amplificadas com o primer A01; Linha 5: Controle negativo sem DNA para o primer A01; Linhas 6-9: Amostras de *S. Stellata* amplificadas com o primer A02; Linha 10: Controle negativo sem DNA para o primer A02; Linhas 11-14: Amostras de *S. Stellata* amplificadas com o primer A03; Linha 15: Controle negativo sem DNA para o primer A03; Linhas 16-19: Amostras de *S. Stellata* amplificadas com o primer A05; Linha 20: Controle negativo sem DNA do primer A05; Linha 21: Marcador de peso molecular *ladder* de 50 pb.

A complexidade dos mecanismos genéticos subjacentes ao fenômeno do branqueamento é reconhecida na literatura (Virgen-Urcelay; Donner, 2023). O sucesso da aclimatação dos corais a temperaturas crescentes e as mudanças na composição genética da comunidade podem estar contribuindo para a resistência ao branqueamento (Thompson; Van Woesik, 2009; Decarlo; Harrison, 2019). Assim, a variação genética em populações de corais pode influenciar na capacidade de sobrevivência em condições de estresse, como aumento de temperatura (Hughes et al., 2019).

É importante notar que a pesquisa está em andamento, e as limitações encontradas até o momento podem ser superadas com ajustes metodológicos e testes adicionais. A utilização de outras sequências de primers aleatórios e a otimização das condições de PCR podem contribuir para resultados mais robustos. Além disso, o sequenciamento genético de amostras selecionadas pode fornecer insights mais detalhados sobre a variação genética nas colônias estudadas.

**CONCLUSÕES**

Foi possível identificar a espécie de Siderastrea stellata nas colônias extraídas na praia de GAIBÙ-PE. Três dos 06 primers selecionados produziu bandas nas colônias analisadas, indicando possível variabilidade, porém não foi possível identificar um padrão de variação entre elas, até o momento.

**REFERÊNCIAS**

Amavet P; Vilardi J. C; Rosso E; Saidman B. Genetic and morphometric variability in *Caiman latirostris* (broad-snouted caiman), reptilia, Alligatoridae. J Exp Zool A Ecol Genet Physiol. 2009 Apr 1;311(4):258-69. doi: 10.1002/jez.523. PMID: 19195016.

Burgess, S. C; Johnston, E. C; Wyatt, A. S. J; Leichter, J. J; Edmunds, P. J. Response diversity in corals: hidden differences in bleaching mortality among cryptic *Pocillopora* species. Ecology, 102(6):e03324. 2021.

Decarlo, T. M. & Harrison, H. B. An enigmatic decoupling between heat stress and coral bleaching on the Great Barrier Reef. Peer*,* J7. 2019.

Drury, C.; Lirman, D. Genotype by environment interactions in coral bleaching. Proc. R. Soc. B. 2021.

Fautin, D; Buddemeier, R. Adaptive bleaching: A general phenomenon. Hydrobiologia. n. 530-531. p. 459-467. 2004.

Glynn, P. W. Coral reef bleaching: ecological perspective. Coral Reefs, v.129, n.1, p. 1-17, 1993.

Hughes, T.P; Kerry, J.T; Connolly, S.R; Baird, A.H; Eakin, C.M; Heron, S.F; Hoey, A.S; Hoogenboom, M.O; Jacobson, M; Liu, G; Pratchett, M.S; Skirving, W; Torda, G. Ecological memory modifies the cumulative impact of recurrent climate extremes. Nature Clim Change, n. 9, f. 40–43. 2019.

Leão, Z. M. A. N; Kikuchi, R. K. P; Oliveira, M. D. M. Branqueamento de corais nos recifes da Bahia e sua relação com eventos de anomalias térmicas nas águas superficiais do oceano. Biota Neotropica, v. 8, n. 3, p. 69-82. 2008.

Moberg, F; Folke, C. Ecological goods and services of coral reef ecosystems. Ecological Economics, v. 29, p. 215-233, 1999.

Nunes, F; Fukami, H; Vollmer, S.V; Norris, R.D; Knowlton, N. Re-evaluation of the systematics of the endemic corals of Brazil by molecular data. Coral Reefs. 27. 423-432. 2008.

Santos L. D; Silva B. C; Silva K. C; Santos R. C; Sousa E. M; Muniz R. D; Barbosa A. B.  Branqueamento de corais e outros cnidários bentônicos no costão rochoso da Praia do Forno (Arraial do Cabo, RJ) durante as anomalias térmicas das águas superficiais do oceano ocorridas nos meses de fevereiro e maio de 2019. Vértices, Campos dos Goitacazes. v. 23(2), p. 560-579. 2021.

Szmant, A. M; Gassman, N. J. The effects of prolonged ‘‘bleaching’’ on the tissue biomass and reproduction of the reef coral *Montastrea annularis*. Coral Reefs, 8, p. 217-224. 1990

Thompson, D. M; Van Woesik, R. Corals escape bleaching in regions that recently and historically experienced frequent thermal stress. Proc. Biol. Sci*.* 276, p. 2893–2901. 2009.

Virgen-Urcelay; Donner S. D. Increase in the extent of mass coral bleaching over the past half-century, based on an updated global database. PLoS One. n. 13;18(2):e0281719. Jan 2023.