



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS-CCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA-PPGAQI

Nayara Yoshimini de Oliveira

**Análise dos comportamentos sociais, alimentares e reprodutivos dos cavalos-marinhos
Hippocampus reidi, Ginsburg, 1933 em cativeiro**

Florianópolis
2025

Nayara Yoshimini de Oliveira

**Análise dos comportamentos sociais, alimentares e reprodutivos dos cavalos-marinhos
Hippocampus reidi, Ginsburg, 1933 em cativeiro**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em
Aquicultura- PPGAQI da Universidade Federal de Santa
Catarina-UFSC como requisito parcial para a obtenção do
título de Doutora em Aquicultura e Recursos Pesqueiros.

Orientadora: Profa, Dra. Mônica Yumi Tsuzuki
Coorientadora: Profa, Dra. Maria José Hotzel

Florianópolis
2025

Ficha catalográfica gerada por meio de sistema automatizado gerenciado pela BU/UFSC.
Dados inseridos pelo próprio autor.

Oliveira, Nayara Yoshimini de
Análise dos comportamentos sociais, alimentares e reprodutivos dos cavalos-marinhos *Hippocampus reidi*, Ginsburg, 1933 em cativeiro / Nayara Yoshimini de Oliveira ; orientadora, Mônica Yumi Tsuzuki, coorientadora, Maria José Hotzel , 2025.
76 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós Graduação em Aquicultura, Florianópolis, 2025.

Inclui referências.

1. Aquicultura. 2. etologia. 3. isolamento social. 4. qualidade larval. 5. sistema de pareamento. I. Tsuzuki, Mônica Yumi . II. Hotzel , Maria José . III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura. IV. Título.

Nayara Yoshimini de Oliveira

**Análise dos comportamentos sociais, alimentares e reprodutivos dos cavalos-marinhos
Hippocampus reidi, Ginsburg, 1933 em cativeiro**

O presente trabalho em nível de doutorado foi avaliado e aprovado, em 29 de Janeiro de 2025, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Profa. Mônica Yumi Tsuzuki, Dra.
Instituição Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Ana Caroliny Cerdeira Lopes, Dra.
Instituição Universidade Federal do Amazonas

Profa. Elenice Martins Brasil, Dra.
Instituição Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Maria Alcina Martins de Castro, Dra.
Instituição Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Doutora em Aquicultura e Recursos Pesqueiros.

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Profa. Mônica Yumi Tsuzuki, Dra.
Orientadora

Florianópolis, 2025

“Whits fur ye'll no go by ye!”

AGRADECIMENTOS

Primeiro de tudo, gostaria de agradecer a minha base, meu suporte maior, minha resiliência, minha família. Agradeço aos meus pais Antonio Cesar e Daniela, minhas avós Vó El e Vó Celinha, e em especial a tia Daninha, por todo amor, carinho, afeto e confiança.

Agradeço ao Peter, por me fazer sentir em casa, por todo companheirismo, amor, suporte e por todas as revisões do inglês.

Agradeço a Professora Mônica, pela orientação, pela oportunidade e por acreditar no meu trabalho. Meu muito obrigada também a família LAPOM, aos amigos de Laboratório pelas risadas, ajudas, amizade. Em especial a Rê, técnica do LAPOM, por todo acolhimento, aconselhamento e ajuda. Agradeço ao Alê pelo planejamento e montagem do sistema e ao Fernando por toda ajuda, amizade, companheirismo e almoços nos plantões do final de semana.

Agradeço a equipe cavalinhos Elen e Ianka, por todo acolhimento ao grupo, ensinamentos compartilhados, risadas, ajuda e cafezinhos. Vocês com certeza tornaram essa jornada mais fácil.

Agradeço a Professora Maria José, por aceitar minha coorientação, compartilhar todo seu conhecimento e por acreditar nas minhas ideias. Obrigada também a equipe LETA.

Agradeço aos amigos de Floripa por todo companheirismo, rolês, amizade e apoio. Em especial a Camis, por tudo, todas as conversas e cházzinhos.

Agradeço aos amigos de Glasgow. Ao Professor Colin que me recebeu e me acolheu no SCENE com todo carinho possível, sempre me incluindo no grupo e nas pesquisas. Meu muito obrigada para a Universidade de Glasgow.

Agradeço também a Professora Felicity, que compartilhou comigo todo o seu conhecimento no comportamento dos peixes, ampliou os meus horizontes e me mostrou como Glasgow é encantadora e me fez querer voltar.

Agradeço a UFSC e a todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Aquicultura-PPGAQI, que não mediram esforços para transmitir conhecimento. Agradeço ao Carlito, que sempre esteve disposto a ajudar.

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – Código de Financiamento 001, pelo fomento das bolsas de estudo.

Agradeço a incrível oportunidade de trabalhar com os cavalos-marinheiros, peixes que me ensinaram que ser sociáveis não é ruim, que paciência é uma virtude e que nunca faz bem dispensar uma comilança. Agradeço também a oportunidade de trabalhar com os Sticklebaks, que me proporcionaram momentos divertidos de coletas com belas paisagens, um pouquinho de frio e que ter personalidade faz toda diferença.

Todos que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho, meu muito obrigada!!! Gratidão!!!

RESUMO

A presente tese teve como objetivo analisar e compreender o comportamento do cavalo-marinho *Hippocampus reidi* em ambiente controlado, com foco nos aspectos sociais, alimentares, reprodutivos e na qualidade larval. Para a análise do comportamento social e alimentar, 20 cavalos-marinhos foram mantidos em aquários de 300 litros, equipados com divisórias de vidro removíveis. Esse sistema permitiu a formação de quatro aquários individuais de 75 litros para o isolamento dos peixes. Foram observadas diferenças estatisticamente significativas nos comportamentos exibidos em duas condições experimentais (isolamento social e em grupo). Na condição em grupo, houve um aumento na duração da alimentação, no comportamento de segurar e ser segurado por outro cavalo-marinho (apoio), na intrusão (disputa entre dois ou mais machos por uma fêmea) e no passeio. Já no isolamento social, verificou-se um aumento na frequência do comportamento de reagrupamento. Além disso, os eventos relacionados à alimentação, apoio e intrusão foram mais frequentes na condição em grupo. O consumo alimentar dos peixes diminuiu em aproximadamente 50% quando em isolamento, em comparação com a condição de grupo. Para investigar como o sistema de pareamento influencia a qualidade das larvas, foram avaliados dois grupos experimentais: cinco pares de cavalos-marinhos formados de maneira forçada e cinco pares que se escolheram espontaneamente. O experimento contou com dez animais de cada sexo, inicialmente mantidos em um aquário de 300 litros (70 cm de altura x 30 cm de largura x 160 cm de comprimento). Após a formação dos pares, os casais foram transferidos para aquários individuais de 75 litros (70 cm de altura x 30 cm de largura x 40 cm de comprimento). Durante o período de agrupamento, foram analisados os comportamentos reprodutivos e a monogamia da espécie. A qualidade da prole foi avaliada por meio de testes de inanição, medições de peso e tamanho das larvas, além da contagem total de larvas, que foi correlacionada com o tamanho dos progenitores. Os resultados indicaram que apenas um dos casais formados de maneira forçada conseguiu se reproduzir, enquanto quatro dos cinco casais formados espontaneamente geraram descendentes, sendo que dois deles reproduziram mais de uma vez. Houve diferenças significativas no peso e no tamanho das larvas entre as desovas analisadas, porém, não foram observadas diferenças estatísticas nos testes de inanição, nem correlações entre a quantidade de larvas e o peso ou tamanho dos reprodutores. Os resultados dos experimentos sugerem que o isolamento social pode ter efeitos deletérios no bem-estar e na sobrevivência dos cavalos-marinhos, podendo até representar risco letal para a espécie. Além disso, a formação de pares de maneira forçada pode inibir a reprodução e comprometer a capacidade de gerar descendentes em cativeiro.

Palavras-chave: Aquicultura; etologia; isolamento social; qualidade larval; sistema de pareamento.

ABSTRACT

The present thesis aimed to analyse and comprehend the behaviour of seahorses (*Hippocampus reidi*) in captivity, with a particular focus on social, feeding, and reproductive aspects, as well as larval quality. To examine social and feeding behaviour, 20 seahorses were maintained in 300-litre aquaria equipped with removable glass dividers. This system enabled the formation of four individual 75-litre aquaria, allowing for the isolation of the fish. Statistically significant differences were observed in behaviours exhibited under two experimental conditions: social isolation and group housing. In the group condition, there was an increase in feeding duration, the behaviour of holding and being held by another seahorse (support), intrusion (a competitive interaction among males for a female), and promenading. Conversely, social isolation led to a higher frequency of regrouping behaviour. Additionally, feeding-related events, support, and intrusion were more frequent in the group condition. Food consumption decreased by approximately 50% when the seahorses were placed in isolation compared to the group setting. To investigate how the pairing system influences larval quality, two experimental groups were assessed: five pairs of seahorses formed through enforced pairing and five pairs that formed spontaneously. The experiment involved ten animals of each sex, initially housed in a 300-litre aquarium (70 cm height $\times$ 30 cm width $\times$ 160 cm length). Following pair formation, the seahorses were transferred to individual 75-litre aquaria (70 cm height $\times$ 30 cm width $\times$ 40 cm length). During the grouping phase, reproductive behaviours and monogamy were analysed. Larval quality was assessed through resistance test, weight and length measurements, and total larval counts, which were correlated with parental size. The results indicated that only one of the enforced pairs successfully reproduced, whereas four of the five spontaneously formed pairs produced offspring, with two pairs reproducing more than once. Significant differences were found in larval weight and size across the analysed offspring. However, no statistically significant differences were observed in the resistance test, nor were any correlations identified between the number of larvae and the weight or size of the reproductive individuals. The findings suggest that social isolation may have detrimental effects on the well-being and survival of seahorses, potentially posing a lethal risk to the species. Furthermore, enforced pairing may inhibit reproduction and compromise the ability to produce offspring in captivity.

Keywords: aquaculture; ethology; social isolation; larval quality; pairing system.

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1:

- Tabela 1.** Etograma de cavalos-marinhos *Hippocampus reidi* adultos descrevendo os comportamentos observados. Baseado em Vincent (1994), Anderson et al. (2011) e Oliveira et al. (2014) com modificações..... 29
- Tabela 2.** Duração dos comportamentos (em segundos) e eventos (número de vezes) em cavalos-marinhos *Hippocampus reidi* em isolamento ou em grupo (n=20). Resultado do teste de Wilcoxon pareado com correção de Holm (p-valor ajustado), dados apresentados com a média 31

ARTIGO 2:

- Tabela 1.** Etograma que descreve os comportamentos reprodutivos observados em cavalos-marinhos *Hippocampus reidi* adultos. Baseado em Vincent (1994), Anderson et al. (2011) e Oliveira et al. (2014) com modificações 53
- Tabela 2.** Peso e comprimento dos casais (designados como sexo/cor do colar) de cavalos-marinhos *Hippocampus reidi* que reproduziram 55
- Tabela 3.** Comparação do comprimento das larvas das sete desovas coletadas dos cinco casais de cavalos-marinhos *Hippocampus reidi*. Resultado do teste de Dunn (valor z e p) determinado pela correção de Bonferroni. *Indica diferença significativa..... 57
- Tabela 4.** Comparação do peso das larvas das sete parições coletadas dos cinco casais de cavalos-marinhos *Hippocampus reidi*. Resultado do teste de Dunn (valor z e p) determinado pela correção de Bonferroni. *Indica diferença significativa..... 57

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO 1:

- Figura 1.** A. Disposição em “U” dos cinco aquários de 300 litros na sala, vistos de cima. B. Vista frontal de um dos cinco aquários mostra as três divisórias removíveis em cada um dos cinco aquários utilizadas para separar os cavalos-marinhos (representa um conjunto) 25
- Figura 2.** Plantas artificiais foram usadas como substrato para os cavalos-marinhos *Hippocampus reidi* segurarem 26
- Figura 3.** Análise de Componentes Principais (PCA) mostrando os comportamentos dos cavalo-marinho adultos *Hippocampus reidi* que foram mais relevantes quando os indivíduos estavam em grupos ou em isolamento social 33
- Figura 4.** Consumo alimentar (pós-larvas de camarão por dois dias) de cavalos-marinhos adultos *Hippocampus reidi* quando mantidos em grupo e em isolamento social. Os quadrados cinza representam a média dos tratamentos. O intervalo de confiança é de 95% 34
- Figura 5.** Consumo alimentar individual diário (pós-larvas de camarão - PL) de cavalos-marinhos adultos *Hippocampus reidi* (n=20) mantidos em ambiente social (Grupo) e em isolamento social 35

ARTIGO 2:

- Figura 1.** Representação do processo experimental com vinte adultos de cavalos-marinhos *Hippocampus reidi*. A representação mostra as cinco etapas experimentais, desde o período de aclimação até a separação dos casais. Etapa 1: Período de aclimação em tanque comunitário: formação dos casais. Etapa 2: Separação por sexo para parição após formação natural dos casais. Etapa 3: Experimento de fidelidade. Etapa 4: Separação por sexo para parição após experimento de fidelidade. Etapa 5: Experimento casais formados naturalmente x casais formados artificialmente ... 50
- Figura 2.** Representação da separação dos dez casais de *Hippocampus reidi* em casais forçados e casais que se escolheram. As partições estão demonstradas na representação indicando a qual casal pertence, mostrando o número de vezes (x) que o casal reproduziu e entre parênteses o número de identificação da parição . 56

Figura 3.	Gráfico de dispersão mostrando a correlação entre peso médio (g) e comprimento médio (mm) das sete parições coletadas de cinco casais de cavalos-marinhos <i>Hippocampus reidi</i>	58
Figura 4.	Gráfico de dispersão mostrando a correlação entre duração (dias) do teste de inanição e a quantidade de larvas das sete parições dos cinco casais de cavalos-marinhos <i>Hippocampus reidi</i>	59
Figura 5.	Correlação entre peso (g) e comprimento (cm) dos casais de cavalos-marinhos <i>Hippocampus reidi</i> com o quantidade de larvas paridas. Os números dos lados dos círculos no gráfico são correspondentes as parições	60

LISTA DE ABREVIACÕES

PL	Pós-larva de Camarão
♂B	Macho Branco
♀AC	Fêmea Azul Claro
♂RP	Macho Rosa/Preto
♀RB	Fêmea Rosa/Branca
♂R	Macho Rosa
♀R	Fêmea Rosa
♂PV	Macho Preto/Vermelho
♀VB	Fêmea Verde Brilhante
♂RC	Macho Roxo Claro
♀P	Fêmea Preto
♂Be	Macho Bege
♀V	Fêmea Verde
♂Ve	Macho Vermelho
♀AB	Fêmea Amarela/Branca
♂V	Macho Verde
♀B	Fêmea Branca
♂PR	Macho Preto/Roxo
♀ARB	Fêmea Azul Royal/Branco
♂RE	Macho Roxo Escuro
♀SC	Fêmea sem coleira

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO GERAL	14
1.1	AQUICULTURA E BEM-ESTAR	14
1.2	COMPORTAMENTO ANIMAL	15
1.3	SIGNATÍDEOS	17
1.4	CAVALOS-MARINHOS	18
1.5	OBJETIVOS	19
1.5.1	Objetivo Geral	19
1.5.2	Objetivos Específicos	19
2.	ESTRUTURA DA TESE	20
2.1	ARTIGO 1	21
2.1.1	INTRODUÇÃO	22
2.1.2	MATERIAIS E MÉTODOS	24
2.1.2.1	<i>Local do estudo, origem dos animais e quarentena</i>	24
2.1.2.2	<i>Manutenção dos animais</i>	24
2.1.2.3	<i>Desenho experimental e coleta dos dados</i>	27
2.1.2.4	<i>Análise estatística</i>	28
2.1.3	RESULTADOS	28
2.1.3.1	<i>Comportamentos</i>	28
2.1.3.2	<i>Alimentação</i>	34
2.1.3.3	<i>Resultados descritivos</i>	35
2.1.4	DISCUSSÃO	35
2.1.5	CONCLUSÃO	38
2.1.6	REFERÊNCIAS	39
2.2	ARTIGO 2	46
2.2.1	INTRODUÇÃO	47
2.2.2	MATERIAIS E MÉTODOS	49
2.2.2.1	<i>Local do estudo, origem dos animais e quarentena</i>	49
2.2.2.2	<i>Manutenção dos animais, biometria e avaliação do comportamento</i>	49
2.2.2.3	<i>Experimento de qualidade larval</i>	52
2.2.2.4	<i>Análise estatística</i>	52
2.2.3	RESULTADOS	53
2.2.3.1	<i>Resultados descritivos</i>	53

2.2.3.2	<i>Comprimento e peso</i>	56
2.2.3.3	<i>Número de larvas e teste de resistência</i>	59
2.2.3.4	<i>Correlação entre o tamanho do casal e número de larvas</i>	59
2.2.4	DISCUSSÃO	60
2.2.5	CONCLUSÃO	64
2.2.6	REFERÊNCIAS	64
3.	CONCLUSÕES GERAIS	70
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO GERAL	71

1.INTRODUÇÃO GERAL

1.1 AQUICULTURA E BEM-ESTAR

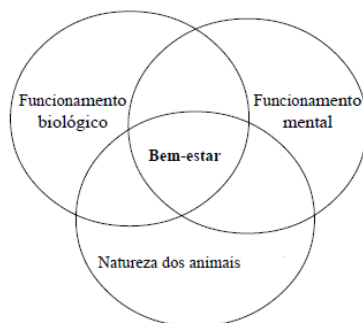
Com a diminuição dos estoques naturais de pescado houve um aumento no número de organismos criados em cativeiro (BERGQVIST; GUNNARSSON, 2013). A aquicultura cresceu muito durante os últimos anos e além de suprir a demanda comercial, também compõe uma importante ferramenta para a conservação das espécies (FALEIRO et al., 2008). A produção através da aquicultura se dá por diversos motivos como para o consumo, a conservação, a manutenção dos estoques pesqueiros, a pesquisa e a aquariofilia (HUNTIGFORD, 2012).

Com esse aumento da produção em cativeiro, houve um crescente apelo público a questão do bem-estar. Surgiu assim a necessidade de adicionar estratégias que fizessem com que o cativeiro se tornasse mais confortável e menos estressante (MELLEN; MACPHEE, 2001; KIRKWOOD, 2003; BATZINA; KARAKATSOULI, 2012). O manejo em ambiente confinado pode afetar o bem-estar animal de diversas formas, seja pelos métodos de captura, altas densidades de estocagem ou pelo transporte dos animais (VOLPATO et al., 2007). Além da restrição de espaço, limitações nas interações, e redução do poder de escolha (VOLPATO, 2007).

Por isso, foram estabelecidas as cinco liberdades do bem-estar animal, segundo as quais os animais devem estar livres de fome e sede; de desconforto; de dor, ferimentos e doenças; para expressar seu comportamento natural; e de medo e angústia. (FARM ANIMAL WELFARE COUNCIL, 1992).

O bem-estar (Figura 1) pode ser avaliado com relação aos sentimentos subjetivos, emoções e estado mental, funcionamento físico, saúde e capacidades, ou ainda pela habilidade com a qual o animal tem para expressar o comportamento natural e levar uma vida normal (FRASER et al., 1997; OLIVEIRA; GALHARDO, 2007).

Figura 1. O conceito de bem-estar animal resulta da integração de três dimensões: o funcionamento biológico, funcionamento mental e a natureza dos animais.



Fonte: Retirado de OLIVEIRA; GALHARDO (2007).

O não cumprimento de medidas de bem-estar pode acarretar em fatores estressantes, levando a uma resposta ao estresse que envolve uma série de adaptações neuroendócrinas, induzindo mudanças metabólicas e comportamentais reversíveis que tornam o animal capaz de superar ou evitar um desafio. É uma resposta benéfica a curto prazo; no entanto, a ativação prolongada da resposta ao estresse é prejudicial e leva à imunossupressão, à redução do crescimento, influenciando a reprodução, diminuindo a resistência a doenças e, eventualmente, podendo levar à mortalidade. (BARTON; IWAMA, 1991; PICKERING, 1993; HUNTINGFORD et al., 2006; VOLPATO et al., 2007; SNEDDON et al., 2016; CIJI; AKHTAR, 2021).

Quando as necessidades básicas dos animais não são atendidas de forma adequada e respeitosa, isso pode resultar em sofrimento animal, uma condição emocional que decorre de dor física, dor emocional ou desconforto, com diferentes graus de intensidade, que podem variar de leves a severos (SPINELLI, 1978).

1.2 COMPORTAMENTO ANIMAL

O estudo do comportamento animal é importante para entender o status e bem-estar das espécies e populações (SIH et al., 2004; CLEMENTS; HUNT, 2015). Além disso, pode contribuir na aquicultura para o melhoramento de protocolos de produção e manejo, validando a resposta animal às condições de cultivo e avaliando o bem-estar do animal (FALEIRO et al., 2008). Mesmo não sendo a intenção original, a psicologia forneceu *insights* sobre o ambiente cativeiro, especialmente no que se refere as estereotípias, motivação animal e comportamento apropriado para a espécie. Com isso, as alterações comportamentais se tornaram um indicativo de um distúrbio ambiental e de estresse animal (MELLEN; MACPHEE, 2001; FALEIRO et al., 2008).

Analisar os comportamentos sociais irá trazer o entendimento de que o ambiente social sempre vai apresentar um impacto significativo na evolução da variedade de características fisiológicas e também comportamentais (FARINE et al., 2015). Além disso, as interações sociais vão influenciar no comportamento do indivíduo a prazo imediato ou futuro (ROBINSON et al., 2008). Por esse motivo, haverá uma promoção do aprendizado do animal e a habilidade individual de ajustar o comportamento ao que se é observado nos outros indivíduos, ao invés de gastar energia na aprendizagem por tentativa e erro (LALAND, 2004; RENDELL et al., 2010; SHETTLEWORTH, 2010; MANASSA et al., 2013).

Animais extremamente sociáveis quando expostos a privação de interações podem apresentar sintomas de estresse, incluindo a diminuição da alimentação (HUNTINGFORD et al., 2006; GALHARDO et al., 2012, BRANDÃO et al., 2015). O comportamento alimentar é importante para monitorar a quantidade de alimento ingerido e também os hábitos alimentares (MARTINS et al. 2005). Além do mais, verificar os padrões comportamentais que acompanham a alimentação, como o forrageamento e a preferência alimentar, são importantes para aferir a qualidade de vida do animal em cativeiro (LINDSTEDT, 1971).

Além do alimentar, o comportamento reprodutivo é fundamental para compreender que algumas espécies exibem cerimônias elaboradas na formação de pares e no acasalamento (LILEY; STACEY, 1983). Exemplos de aparatos utilizados durante a corte incluem vocalizações, movimentos ritualísticos para atrair o parceiro e ornamentos para exibição (GIAQUINTO; VOLPATO, 1997; HOUCK; ARNOLD, 2003). Nesse contexto, a sequência dos comportamentos reprodutivos desempenha um papel crucial no sucesso evolutivo das espécies (HOUCK; ARNOLD, 2003), uma vez que a liberdade para expressar esses comportamentos durante o acasalamento em cativeiro pode aumentar a viabilidade da prole (JENNIONS et al., 2001).

Para os peixes, o estudo dos comportamentos é recente comparado com os outros grupos. Antigamente, pensava-se que os peixes eram seres autômatos com os comportamentos amplamente controlados por predisposições inatas e que não poderiam ser aprendidos. Está comprovado que, além de exibirem uma rica variedade de comportamentos, a aprendizagem desempenha um papel fundamental no desenvolvimento comportamental (BROWN et al., 2011).

Com as evidências crescentes de que os peixes podem experimentar estados parecidos com o medo e que evitam situações nas quais eles experimentaram condições adversas, houve um aumento nos estudos com os comportamentos destes, buscando entender essa correlação com o bem-estar (HUNTINGFORD et al., 2006).

As frentes de organização social, reprodução, comportamentos agonísticos, agressividade, influência das ondas de calor, bilateralidade, preferência e personalidade estão contribuindo para ampliar os conhecimentos sobre o assunto e verificar a aplicabilidade ao ambiente de cultivo (HUNTINGFORD, 1976; COLGAN, 1993; DUGATKIN; WILSON, 1993; KRAUSE et al., 2000; BLASER; PENALOSA, 2011; AURELIO et al., 2013; JENJAN et al., 2013; FRERET-MEURER; ALVES, 2018; DA SILVA-PINTO et al., 2020; PLANIDIN; REIMCHEN, 2022). Além do mais, com o avanço da tecnologia, também aumentou os estudos utilizando a inteligência artificial para monitorar os comportamentos definidos (PLANIDIN; REIMCHEN, 2022).

1.3 SINGNATÍDEOS

A família dos Singnatídeos, composta pelos cavalos-marinhos, peixe-cachimbo, cavalos-cachimbo e dragões-marinhos, atrai a atenção dos pesquisadores e do público (VINCENT, 1994a; VINCENT, 1994b). O carisma da família faz das espécies importantes espécies-bandeiras para ameaças e soluções na conservação marinha (VINCENT et al., 2011). Além disso, possui aspectos ecológicos e comportamentais que os fazem vulneráveis ao declínio populacional (FOSTER; VINCENT, 2004).

São peixes conhecidos por características peculiares, principalmente de reprodução, aonde os machos são os responsáveis por incubar os ovos e gestar embriões por semanas na bolsa incubadora (FOSTER; VINCENT, 2004). Os comportamentos reprodutivos também são diferenciados, podendo haver a poligamia, monogamia por período reprodutivo, ou monogamia para o resto da vida. Além disso, as fêmeas podem ser disputadas pelos machos, ou vice-versa (LOURIE et al., 1999a; LOURIE et al., 1999b; WOODS, 2000; KVARNEMO et al., 2000; WILSON et al., 2003; FOSTER; VINCENT, 2004; SILVEIRA, 2009.)

Os Singnatídeos são encontrados em corais, macroalgas, manguezais, estuários e lagoas (FRERET-MEURER; ANDREATA, 2008; KOLDEWEY; MARTIN-SMITH, 2010; VINCENT et al., 2011). São bem conhecidos por sua morfologia altamente especializada e a diversidade de formas morfológicas encontradas neste grupo dificultou os esforços para compreender suas origens evolutivas e padrão de diversificação (WILSON; ORR, 2011).

1.4 CAVALOS-MARINHOS

Os cavalos-marinhos (Gênero *Hippocampus*), diferente de outros peixes, permanecem grande parte da vida adulta associados a substratos devido a sua limitada capacidade de natação (FRERET-MEURER et al., 2012; HARASTI et al., 2014). Apresentam a cabeça formando um ângulo em relação ao eixo longitudinal do corpo, anéis ósseos ao redor do corpo, e uma cauda preênsil para se segurar ao substrato (FOSTER; VINCENT, 2004). Normalmente habitam locais de fácil acesso às populações humanas, o que os tornam suscetíveis à exploração comercial e aos impactos antropogênicos (ROSA et al. 2007).

São um ótimo exemplo de animais sociáveis. Na natureza, estes peixes são encontrados em populações com diferentes quantidades de indivíduos no grupo (FOSTER; VINCENT, 2004), podendo apresentar a mesma quantidade de fêmeas e machos, ou uma pequena variação com mais machos ou mais fêmeas (ROSA et al., 2007; FRERET-MEURER; ANDREATA, 2008; VINCENT et al., 2011).

A reprodução é muito característica e além disso, possuem uma estrutura social que envolve a formação de laços afetivos entre os casais. Por esse motivo, a seleção do parceiro é importante para as espécies (FOSTER; VINCENT, 2004).

No Brasil, ocorrem três espécies de cavalos-marinhos: *Hippocampus erectus* (PERRY, 1810), *H. reidi* (GINSBURG, 1933) e *H. patagonicus* (PIACENTINO; LUZZATTO, 2004). As três estão categorizadas como quase ameaçadas a extinção (IUCN, 2024), principalmente devido a sobre-exploração para a medicina tradicional, o comércio para o aquarismo e a degradação ambiental (KOLDEWEY; MARTIN-SMITH, 2010; VINCENT et al., 2011). Milhões de cavalos-marinhos são coletados globalmente por ano, a maioria por métodos de pesca não seletivos, por bycatch ou até mesmo manualmente (KONING; HOEKSEMA, 2021).

Hippocampus reidi, conhecido como cavalo-marinho-do-focinho-longo, está entre as espécies do gênero mais difundidas em aquários sendo também muito procurada pelo comércio internacional (ROSA et al., 2002; ROSA et al., 2005). *H. reidi* é encontrado principalmente em áreas rasas e costeiras, como estuários, recifes, manguezais e bancos de algas (ROSA et al., 2007).

Por conta da sobre-exploração da espécie, uma das ferramentas consideradas importantes para a sua conservação é a aquicultura (BRANDÃO et al., 2021). Vários trabalhos foram realizados com a aquicultura de *H. reidi*, em relação à sobrevivência, o crescimento, a fisiologia e a histologia (OLIVOTTO et al., 2008; WILLADINO et al., 2012; MELO-VALENCIA et al., 2013; SOUZA-SANTOS et al., 2013; NOVELLI et al., 2015; HORA et al.,

2016, HORA et al., 2018; CASTRO et al., 2023; SOUTO-NETO et al., 2024). No entanto, um dos principais obstáculos na produção ainda é a qualidade da prole ligada a qualidade dos reprodutores e a baixa taxa de sobrevivência de larvas e juvenis (OLIVOTTO et al., 2008; PLANAS et al., 2017a; PLANAS et al., 2020b).

Estudar o comportamento dos cavalos-marinhos em cativeiro, especialmente a corte, seleção dos pares e interações no grupo, é vantajoso porque ajuda a compreender as características determinadas pela biologia e ecologia da espécie (FLYNN; RITZ, 1999). No mais, as observações comportamentais são consideradas não invasivas e podem fornecer informações importantes sobre as respostas ao cativeiro, além disso, representam uma contribuição benéfica para a melhoria dos protocolos de cultivo dos cavalos-marinhos, determinando condições de produção adequadas e prevenindo problemas relacionados com o bem-estar (FALEIRO et al., 2008).

1.5 OBJETIVOS

1.5.1 Objetivo Geral

Avaliar como o ambiente de cultivo influência nos comportamentos sociais, alimentares e reprodutivos do cavalo-marinho-de-focinho-longo *Hippocampus reidi*.

1.5.2 Objetivos Específicos

- Verificar como o isolamento social influência nos comportamentos dos cavalos-marinhos;
- Avaliar como a privação física social influência no consumo de alimento dos cavalos-marinhos;
- Analisar como o comportamento reprodutivo é influenciado pelo ambiente cativo;
- Verificar se a escolha do parceiro melhora a qualidade das larvas do cavalo-marinho.

2. ESTRUTURA DA TESE

A tese está dividida em dois capítulos. Cada capítulo corresponde a um artigo. Os artigos estão formatados de acordo com as normas da revista Applied Animal Behaviour Science e Aquaculture International.

“O efeito do isolamento físico no comportamento social e alimentar em cavalos marinhos *Hippocampus reidi*, ginsburg, 1933” a ser submetido à Applied Animal Behaviour Science.

“Sucesso reprodutivo e qualidade da desova: como o sistema de pareamento influencia a reprodução de cavalos-marinhos *Hippocampus reidi* em cativeiro” a ser submetido à Aquaculture International.

2.1 ARTIGO 1:

O EFEITO DO ISOLAMENTO FÍSICO NO COMPORTAMENTO SOCIAL E ALIMENTAR EM CAVALOS MARINHOS *HIPPOCAMPUS REIDI*, GINSBURG, 1933

Nayara Yoshimini de Oliveira^{1*}, Maria José Hötzel², Mônica Yumi Tsuzuki¹

¹Laboratório de Peixes e Ornamentais Marinhos (LAPOM), Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil

²Laboratório de Etologia Aplicada e Bem-estar Animal (LETA), Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil

RESUMO

O comportamento animal é um tema de pesquisa recente em peixes ornamentais marinhos, especialmente na compreensão dos comportamentos sociais. O cavalo-marinho *Hippocampus reidi* é um excelente exemplo de animal social mantido em isolamento para fins de aquário ou pesquisa. O presente estudo teve como objetivo analisar e comparar os comportamentos e o consumo alimentar de cavalos-marinhos quando colocados em duas condições de cativeiro: em isolamento físico social e em contexto de grupo. Os cavalos-marinhos (n=20) foram mantidos em aquários de 300 litros com divisórias de vidro removíveis, possibilitando a formação de um conjunto de quatro aquários individuais de 75 litros para isolamento dos peixes. Houve diferenças estatísticas em alguns comportamentos apresentados nas duas condições: para a duração da alimentação, segurar outro cavalo-marinho - apoio, ser segurado por outro cavalo-marinho - apoio, intrusão e passeio foram maiores na condição em grupo, e reagrupamento maior no isolamento social; e os eventos em alimentação, segurar outro cavalo-marinho – apoiar, intrusão e segurando, foram maiores no grupo. O consumo alimentar diminuiu 50% quando os peixes foram colocados em isolamento em comparação com a condição de grupo. Houve também uma tentativa de reagrupamento, com alguns cavalos-marinhos tentando passar pela divisória de vidro para se aproximarem de outro cavalo-marinho. A coloração dos animais mudou muito rapidamente do amarelo para o marrom muito escuro, e houve aumento do batimento opercular quando os animais foram submetidos ao isolamento, indicando estresse. Este estudo mostrou que o isolamento de curto prazo pode levar a mudanças comportamentais que indicam estresse e redução no consumo de alimentos em cavalos-marinhos adultos *Hippocampus reidi*. Isto sugere que o isolamento a longo prazo pode ter efeitos deletérios no bem-estar e sobrevivência dos cavalos-marinhos ou mesmo efeitos letais na espécie. Portanto,

os animais desta espécie devem ser sempre mantidos em grupos, tanto para fins de aquário como de pesquisa.

Palavras-chave: Aquicultura, Cativeiro, Etologia, Isolamento, Batimento opercular, Peixes Ornamentais Marinhos, Estresse

2.1.1 INTRODUÇÃO

Ao longo dos anos, houve uma mudança considerável nas atitudes do público em relação à manutenção dos animais em cativeiro, baseada na compreensão da capacidade de consciência e, portanto, do sofrimento animal gerado pelo confinamento (Kirkwood, 2003).

Uma área de pesquisa que está aumentando com esta mudança é o comportamento animal, incluindo o comportamento dos peixes. Anteriormente vistos como seres autômatos, o comportamento dos peixes era compreendido como algo amplamente controlado por predisposições inatas. Esta falácia foi corrigida e esclarecido que, além de apresentar uma rica variedade de comportamentos, alguns bastante sofisticados, a aprendizagem desempenha um papel fundamental no desenvolvimento comportamental (Brown e Laland, 2011).

Como resultado, há agora uma maior compreensão dos comportamentos sociais. A principal e mais básica definição que rege os comportamentos sociais são as interações de qualquer tipo entre membros da mesma espécie (Robinson et al., 2008).

O ambiente social sempre terá um impacto significativo na evolução de diversas características fisiológicas e comportamentais (Farine et al., 2015). Essas interações influenciarão o comportamento do indivíduo no prazo imediato ou futuro (Robinson et al., 2008). Quanto mais complexas forem as interações, melhor será o desenvolvimento do sistema nervoso, proporcionando estimulação neural e aumentando o número de conexões sinápticas (Young et al., 1999; Dunlap et al., 2006). Além disso, haverá uma promoção da aprendizagem e da capacidade de ajustar o comportamento ao que é observado em outros indivíduos, em contraste com o gasto de tempo e energia na aprendizagem apenas através de tentativa e erro (Laland, 2004; Rendell et al., 2010; Shettleworth, 2010; Manassa et al., 2013).

Em relação aos peixes, o primeiro comportamento social lembrado sendo muito característico é a formação de cardumes (Kasumyan e Pavlov, 2018). No entanto, o comportamento social inclui comportamento reprodutivo, interações cooperativas e dominação social (Tanaka et al., 2018). A sociabilidade influencia uma variedade de comportamentos, tais

como comportamento antipredatório, procura de alimentos, escolha de parceiro sexual e níveis de agressão (Brown e Laland, 2003).

O isolamento social é muito praticado, especialmente em aquários e condições experimentais, onde os animais são frequentemente separados e testados individualmente. Por isso, é necessário compreender as necessidades dos animais para evitar situações graves e alterações comportamentais devido ao isolamento (Huntingford et al., 2006). Animais extremamente sociáveis expostos à privação de interações podem apresentar sinais que incluem perda de cor ou mobilidade, propensão ao medo, redução da capacidade de aprendizagem, diminuição da motivação para expressar diferentes comportamentos, diminuição do consumo de alimentos, redução da capacidade de tomada de decisão, agressividade e diminuição do bem-estar (Barlow, 1968; McKaye e Barlow, 1976; Franck et al., 1985; Gómez-Laplaza e Morgan, 2000; Gonçalves-de-Freitas e Mariguela, 2006; Huntingford et al., 2006; Galhardo et al., 2012; Brandão et al., 2015).

Os cavalos-marinhos são um ótimo exemplo de animais sociais, muitas vezes isolados em situações de cativeiro. No seu habitat natural, estes peixes são encontrados em pares ou grupos com diferentes números de indivíduos (Vincent e Sadler, 1995; Freret-Meurer e Andreato, 2008). As populações podem ter o mesmo número de fêmeas e machos ou apresentar uma ligeira variação com mais machos ou fêmeas (Rosa et al., 2007; Freret-Meurer e Andreato, 2008; Vincent et al., 2011).

No Brasil, existem três espécies de cavalos-marinhos: *Hippocampus erectus* (Perry, 1810), *Hippocampus reidi* (Ginsburg, 1933) e *Hippocampus patagonicus* (Piacentino e Luzzatto, 2004). Todas as três estão classificadas como quase ameaçadas a extinção (IUCN, 2024) devido à sobreexploração, ao comércio para a criação de aquários e à degradação ambiental (Koldewey e Martin-Smith, 2010; Vincent et al., 2011). Milhões de cavalos-marinhos são coletados anualmente em todo o mundo (Koning e Hoeksema, 2021). A aquicultura é considerada uma importante ferramenta para a conservação desses peixes (Brandão et al., 2021).

Vários estudos foram realizados com a aquicultura de *Hippocampus reidi* em relação à sobrevivência, crescimento, fisiologia e histologia (Olivotto et al., 2008; Willadino et al., 2012; Melo-Valencia et al., 2013; Souza-Santos et al. 2013, Novelli et al. 2015; Hora et al., 2015; Hora et al., 2018; Castro et al., 2023; Souto-Neto et al., 2024). Porém, estudos comportamentais com esta espécie são escassos. Compreender o comportamento pode ajudar a verificar as necessidades dos animais e minimizar os efeitos dos estressores, aumentando o

bem-estar, fornecendo uma base para técnicas futuras, preenchendo lacunas e correlacionando com pesquisas publicadas e futuras (Flynn e Ritz, 1999; Faleiro et al., 2008).

O presente estudo comparou o comportamento e o consumo alimentar de *Hippocampus reidi* mantidos em cativeiro em isolamento social ou em grupos.

2.1.2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1.2.1 Local do estudo, origem dos animais e quarentena

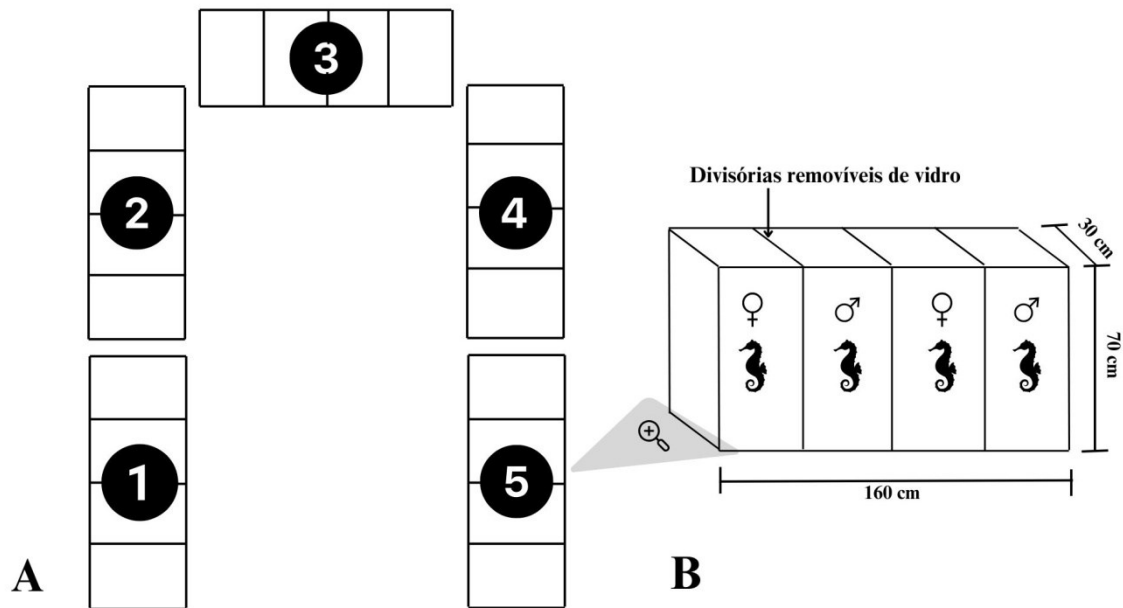
O estudo foi realizado no Laboratório de Peixes e Ornamentais Marinhos (LAPOM) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, Brasil, com aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFSC N° 8113200123).

Os cavalos-marinhos foram coletados no Estado do Espírito Santo (Vitória-ES, Brasil, 20°19' S, 40°20' W) em maio de 2023, com autorização para fins científicos do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO/Brasil - N°76002-1). Os indivíduos foram transportados de avião até Florianópolis e do aeroporto até o LAPOM de carro. Na chegada ao laboratório até a distribuição aos aquários, todos os animais apresentavam coloração escura, o que pode indicar estresse de transporte (Wright et al., 2007). Poucas horas após serem colocados nos aquários, a coloração mudou para um amarelo brilhante. Depois disso, os cavalos-marinhos passaram por um período de quarentena (20 dias) para eliminação de possíveis patógenos.

2.1.2.2 Manutenção dos animais

Os cavalos-marinhos foram mantidos em cinco aquários de 300 litros (70cm de altura x 30cm de largura x 160cm de comprimento) conectados a um sistema de recirculação com temperatura controlada, UV, skimmer e filtro biológico para manter a qualidade da água. O sistema foi colocado em formato de “U” (Figura 1.A). Cada um dos cinco aquários de 300 litros (altura 70cm x largura 30cm x comprimento 160cm) possuía três divisórias de vidro removíveis (Figura 1.B), formando um conjunto de quatro aquários de 75 litros (altura 70cm x largura 30cm x comprimento 40cm) cada. Desta forma, foram obtidos 20 aquários com as divisórias.

Figura 1. A. Disposição em “U” dos cinco aquários de 300 litros na sala, vistos de cima. B. Vista frontal de um dos cinco aquários mostra as três divisórias removíveis em cada um dos cinco aquários utilizadas para separar os cavalos-marinhos (representa um conjunto).



Fonte: Elaborado pelos autores.

Os parâmetros da água foram mantidos de acordo com Hora et al. (2016), com temperatura $24,8 \pm 0,6$ °C, salinidade 35 ± 0 ppt, pH 8 ± 0 , nitrito $0,4 \pm 0$ mg/l, amônia total $0,2 \pm 0$ mg/l e oxigênio dissolvido $7,26 \pm 0$ mg/l. A temperatura e o oxigênio dissolvido foram medidos com o oxímetro AT-170 (Alfakit, Florianópolis), amônia e nitrito com o kit de análise de água também da Alfakit, pH com pHmetro de bancada (Mylabor, São Paulo) e salinidade com um refratômetro. Em todos os aquários foram colocadas plantas artificiais como substrato para os cavalos-marinhos segurarem (Figura 2).

Figura 2. Plantas artificiais foram usadas como substrato para os cavalos-marinhos *Hippocampus reidi* segurarem.



Fonte: Elaborado pelos autores.

Para evitar qualquer influência de fatores externos, os animais foram mantidos em sala isolada de qualquer luz externa, com fotoperíodo mantido em 12 horas de luz. A sala permanecia fechada durante o dia para evitar o fluxo de pessoas, e somente durante o período de alimentação o responsável pela manutenção diária (sifonamento das fezes e restos de comida e alimentação dos peixes) tinha acesso à sala. Pós-larvas de camarão inteiro congelado *Litopenaeus vannamei* foram usadas para alimentadar os cavalos-marinhos duas vezes ao dia.

Durante o período de aclimação, os cavalos-marinhos foram colocados juntos em um dos aquários de 300 litros. Linhas coloridas foram colocadas nos animais como um colar para identificar os indivíduos. Todo o processo foi filmado para verificar a adaptabilidade dos indivíduos ao colar e analisar os comportamentos apresentados para montar o etograma. Os machos foram separados das fêmeas, seguidos de quinze dias para permitir que possíveis machos grávidos pudessem dar à luz. Isso ajudou a evitar qualquer influência nos comportamentos observados e evitou que a gravidez contribuísse para o aumento da inatividade do macho durante o experimento.

2.1.2.3 Desenho experimental e coleta de dados

Dez cavalos-marinhos machos e dez fêmeas ($n=20$) foram utilizados no experimento, que durou uma semana e ocorreu em julho de 2023. Cavalos-marinhos de tamanhos semelhantes (comprimento total: $16,21 \pm 1,17$ cm, peso: $20,58 \pm 3,25$ g; média $\pm$ desvio padrão) foram selecionados para manter o lote mais homogêneo para que todos os peixes estivessem em estágios de vida semelhantes, evitando cavalos-marinhos muito pequenos ou grandes. Seguindo o protocolo de Lourie (2003), tanto machos quanto fêmeas estavam aptos para reprodução.

Após a seleção, iniciou-se o experimento de isolamento social separando os cavalos-marinhos individualmente. Os animais foram dispostos aleatoriamente nos aquários de 75 litros, mantendo sempre a disposição de dois machos e duas fêmeas por conjunto de quatro aquários (intercalando machos e fêmeas) (Figura 1.B). Os animais também podiam ver uns aos outros e sentir a presença de outros indivíduos através de feromônios à medida que a água recirculava pelo sistema. Pós-larvas de camarão inteiro congelado *Litopenaeus vannamei* foram utilizadas para alimentar os cavalos-marinhos duas vezes ao dia às 9h e às 16h.

Os mesmos cavalos-marinhos foram utilizados no isolamento social e em grupo. Os cavalos-marinhos foram mantidos isolados por dois dias para prevenir a mortalidade, pois alguns indivíduos em condições isoladas apresentavam baixa taxa de ingestão alimentar, batimento opercular alto e cor muito escura, todos sinais de estresse (Wright et al., 2007; Freret-Meurer et al., 2020). Após o experimento de isolamento social, os vinte cavalos-marinhos foram colocados juntos (aquário de 300 litros) para registrar seu comportamento no grupo. O comportamento de cada indivíduo do grupo foi registrado por mais dois dias. Todo o processo foi filmado por câmeras (Intelbras, Brasil) colocadas em frente aos aquários para posterior análise. O número de pós-larvas consumidas por cada indivíduo em ambas as condições (isolamento e grupo) foi contado para análise do consumo alimentar.

As contagens do batimento opercular (movimento opercular) foram realizadas durante 1 minuto em indivíduos que apresentavam uma taxa de alimentação mais baixa e uma cor extremamente escura. A contagem dos batimentos também foi realizada quando os animais estavam no grupo para posterior comparação.

Para as análises comportamentais, o mesmo observador analisou as filmagens para reduzir “erros interpessoais”. Os comportamentos observados nos vídeos de cada cavalo-marinho foram registrados em uma tabela. Como os cavalos-marinhos apresentam quase ou nenhuma atividade noturna (Freret-Meurer et al., 2012), as observações incluíram vídeos feitos durante as 12 horas de luz, totalizando assim 24 horas de observações. A regra de amostragem

foi ad libitum. Os comportamentos foram registrados continuamente, tanto isoladamente quanto em grupo. Cada comportamento foi medido em duração (o tempo desde o início do comportamento até o término) e eventos (o número de vezes que o comportamento ocorreu).

2.1.2.4 Análise estatística

As análises dos dados estatísticos foram feitas utilizando o pacote de software estatístico R 4.4.0 (R Core Team, 2018) no RStudio 2024.4.1-748 (RStudio Team, 2016). Foram comparados o número de ocorrências (eventos) e a duração dos estados comportamentais dos mesmos cavalos-marinhos durante o isolamento e no grupo. Para isso, foram utilizados uma combinação de testes estatísticos adequados à natureza dos dados. Primeiramente, foi verificada a normalidade dos dados pelo teste de Shapiro-Wilk ($p > 0,05$). Em seguida, foi aplicado o teste de Wilcoxon pareado, pois os dados eram dependentes (os mesmos indivíduos foram testados em duas condições). Após a realização do teste de Wilcoxon pareado, utilizou-se a correção de Holm para ajustar os p-valores e controlar a taxa de erro tipo I resultante de múltiplas comparações. Esta abordagem minimizou a probabilidade de falsos positivos, aumentando a confiabilidade dos resultados. Além das análises anteriores, foi realizado uma Análise de Componentes Principais (PCA) para identificar padrões de comportamento e explorar a estrutura multivariada dos dados. Dessa forma, foi possível visualizar quais comportamentos estão mais fortemente associados e como os tratamentos (grupo ou isolamento social) influenciam na variabilidade comportamental. A escolha do PCA mostrou-se útil para identificar tendências gerais no conjunto de dados e auxiliar na interpretação dos principais fatores que contribuem para as diferenças entre as condições experimentais.

Para a análise dos dados de consumo alimentar de cada indivíduo nas duas condições (grupo e isolamento social), a normalidade dos dados foi inicialmente avaliada por meio do teste de Shapiro-Wilk ($p > 0,05$). Com base no pressuposto de normalidade e no fato de os mesmos peixes terem sido testados em ambas as condições, o teste t pareado foi utilizado para comparar os dados.

2.1.3 RESULTADOS

2.1.3.1 Comportamentos

Os vídeos da fase de aclimação foram utilizados para a criação do etograma (Tabela 1) que serviu de base para as análises.

Tabela 1. Etograma de cavalos-marinhos *Hippocampus reidi* adultos descrevendo os comportamentos observados.

Categoria Geral	Comportamentos	Definição
Comportamentos individuais	Segurando	O cavalo-marinho usa a cauda para permanecer preênsil em qualquer substrato.
	Sentado	O cavalo-marinho fica encostado no fundo do aquário, usando a cauda como apoio.
	Nadando	Movimento na coluna d'água, subindo e descendo. Movimento lateral ao vidro do aquário.
	Caminhando	O cavalo-marinho se move com a cauda arrastando no vidro do fundo do aquário.
	Dançando	O cavalo-marinho sobe e desce na coluna d'água balançando a cauda de um lado para o outro. Geralmente olhando diretamente para o vidro do aquário. O comportamento acontece perto da hora da alimentação.
Comportamentos Sociais	Bombeando	O macho contrai a barriga, abrindo a bolsa.
	Cópula	O macho e a fêmea sobem juntos na coluna d'água, tocando seus poros genitais para colocar os ovos na bolsa do macho.
	Passeio	Macho e fêmea posicionados lado a lado movem-se próximos ao fundo do tanque e sobre/ao redor dos substratos. Frequentemente, abaixam a cabeça, posicionando o focinho próximo ao tronco.
	Rejeição	O macho entrelaça a cauda da fêmea, chamando-a para um passeio, mas ela se recusa, largando a cauda.
	Perseguição	O macho nada atrás da fêmea, às vezes segurando a fêmea com a cauda. Pode ocorrer com um ou mais machos ao mesmo tempo.
	Chacoalhando	Após a cópula, o macho e a fêmea agitam seus corpos.
	Intrusão	Movendo-se entre outros dois cavalos-marinhos. Disputa entre dois ou mais machos por uma fêmea, os machos cercam a fêmea.
	Segurando outro cavalo-marinho - Luta	Um cavalo-marinho entrelaça outro indivíduo pela cauda, que faz movimentos tentando escapar. Pode ser acompanhado de “cabeçadas”.
	Lutando	A tentativa de um cavalo-marinho preso de se libertar da cauda de outro cavalo-marinho.
	Segurando outro cavalo-marinho - Apoio	Um cavalo-marinho entrelaça com a cauda outro indivíduo, usando-o como substrato.
	Sendo segurado por outro cavalo-marinho – Apoio	Um cavalo-marinho serve de suporte, substrato para outro cavalo-marinho. O cavalo-marinho que serve de apoio não tenta sair.
	Entrelaçamento	Um ou mais indivíduos entrelaçados pela cauda. Geralmente em posição de repouso.
Tentativa de interação	Clique	Um cavalo-marinho realiza o movimento de captura sem a presença de alimento. A cabeça inclina-se para cima instantaneamente, o hióide se projeta, a boca se abre. Associado a um som de clique.
	Reagrupamento	Ao ser separado, o cavalo-marinho tenta de alguma forma superar a barreira de vidro para interagir com o outro cavalo-marinho. Eles podem colocar a ponta da cauda nas aberturas do vidro.

Fonte: Baseado em Vincent (1994), Anderson et al. (2011) e Oliveira et al. (2014) com modificações.

Houve um aumento no número de comportamentos observados quando os cavalos-marinhos estavam no grupo. O grupo influenciou a presença de comportamentos reprodutivos (cópula, rejeição, passeio, bombeamento, chacoalhando e perseguição), antagônicos (intrusão, segurar outro cavalo-marinho – lutar e lutando) e interativos (segurar outro cavalo-marinho – apoio, ser segurado por outro cavalo-marinho – suporte, entrelaçamento). Dentro das duas condições (isolamento e grupo), houve diferenças ($p < 0,05$) nos comportamentos específicos: na duração, alimentação, segurar outro cavalo-marinho - apoio, ser segurado por outro cavalo-marinho - apoiar, intrusão, passear e reagrupamento; para os eventos, alimentação, segurar outro cavalo-marinho – apoiar, intrusão e segurando (Tabela 2).

Tabela 2. Duração dos comportamentos (em segundos) e eventos (número de vezes) em cavalos-marinhos *Hippocampus reidi* em isolamento ou em grupo (n=20). Resultado do teste de Wilcoxon pareado com correção de Holm (p-valor ajustado), dados apresentados com a média.

	Média Grupo	Média Isolamento	p-valor
Duração total da gravação dos comportamentos (em segundos)	1730344	1728201	
Eventos (número)			
Segurando	30.5	20.9	0.03
Nadando	21.9	17.4	1
Intrusão	7.7	0	0.01
Alimentação	5	4	0.02
Perseguição	4.8	0	0.24
Bombeando	3	0	0.10
Passeio	3	0	0.06
Sentado	2.7	4.2	1
Caminhando	2.4	2.5	1
Dançando	2.3	0.1	0.06
Segurando outro cavalo-marinho - suporte	1.6	0	0.02
Clique	1.5	0	1
Segurando outro cavalo-marinho - luta	1.5	0	1
Sendo segurado por outro cavalo-marinho – suporte	1.4	0	0.06
Chacoalhando	1	0	1
Cópula	1	0	1
Entrelaçamento	1	0	1
Lutando	1	0	1
Rejeição	1	0	1
Reagrupamento	0	2.1	0.06
Duração (em segundos)			
Segurando	72216	76982	0.82
Intrusão	7902	0	0.001
Nadando	5684	6116	1
Alimentação	977	692	0.02
Perseguição	815	0	0.20
Passeio	732	0	0.01
Sentado	462	2182	0.53
Caminhando	321	365	1
Bombeando	210	0	0.06
Segurando outro cavalo-marinho - luta	101	0	1
Sendo segurado por outro cavalo-marinho - suporte	83	0	0.03
Dançando	78	12	0.20
Segurando outro cavalo-marinho - suporte	68	0	0.02
Lutando	67	0	1
Chacoalhando	54	0	1
Entrelaçamento	6	0	1
Rejeição	6	0	1
Cópula	2	0	1
Clique	1	0	1
Reagrupamento	0	163	0.03

Fonte: Elaborado pelos autores.

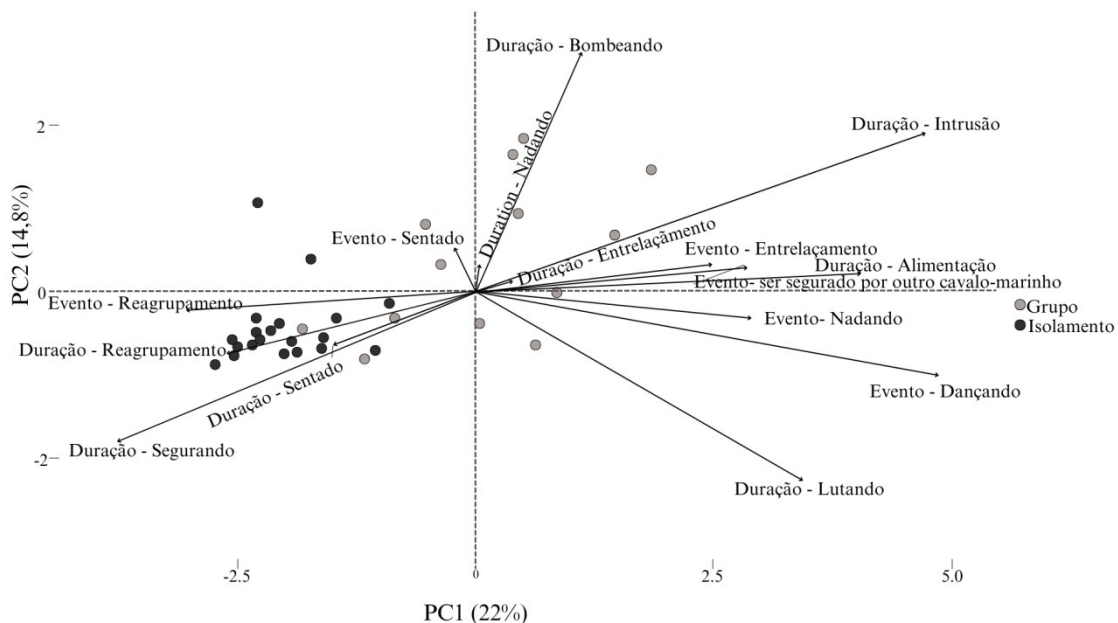
Quando isolados ou em grupo, os cavalos-marinhos passaram a maior parte do tempo na posição segurando, sendo a natação o segundo comportamento mais observado isoladamente. Quando isolados, os cavalos-marinhos nadaram brevemente e depois permaneceram na posição segurando por longos períodos.

Durante a análise dos vídeos, também foi possível observar que os comportamentos sociais eram sempre exibidos pelos mesmos indivíduos. Alguns cavalos-marinhos, quando colocados em grupos, não apresentaram quaisquer comportamentos sociais.

O comportamento de reagrupamento foi o único que ocorreu apenas no isolamento social. Além disso, foi possível observar que o clique ocorreu apenas na condição de grupo. Ao reduzir a dimensionalidade para facilitar a visualização dos dados, o PCA mostrou que a variabilidade nas duas primeiras dimensões foi de 36,8% (soma da primeira e segunda dimensões), o que explica a duração e os eventos dos comportamentos que foram mais importantes para os animais quando em grupos e isolados (Figura 3).

O agrupamento dos pontos nos diferentes quadrantes indica que os peixes apresentaram comportamentos diferentes nas duas condições. A proximidade dos pontos indica semelhança nos comportamentos apresentados pelos cavalos-marinhos em isolamento (Figura 3). Também foi possível observar que três indivíduos, quando mantidos em grupo, apresentavam comportamentos semelhantes aos observados em isolamento, provavelmente indicando uma gama limitada de comportamentos sociais. A distribuição e concentração dos pontos dos comportamentos em isolamento no quadrante inferior esquerdo indicam que a resposta comportamental nesta condição foi mais homogênea, denotando menor variação e amplitude dos comportamentos exibidos.

Figura 3. Análise de Componentes Principais (PCA) mostrando os comportamentos dos cavalo-marinho adultos *Hippocampus reidi* que foram mais relevantes quando os indivíduos estavam em grupos ou em isolamento social.



Fonte: Elaborado pelos autores.

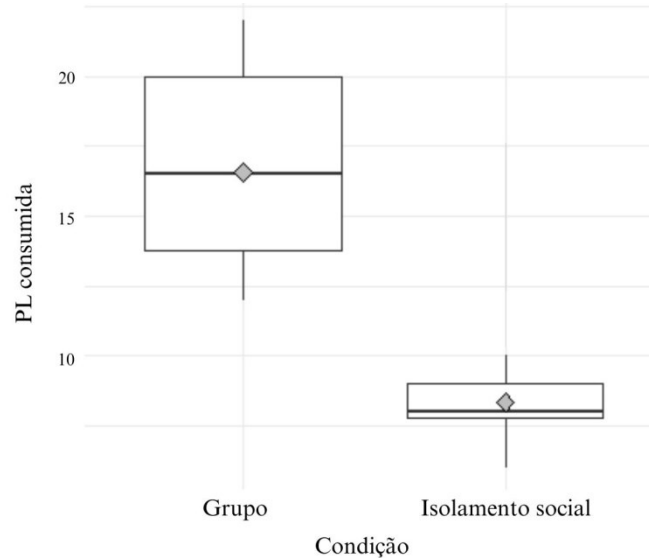
Alguns comportamentos como intrusão (duração), bombeamento (duração), entrelaçamento (duração e eventos), alimentação (duração) e ser segurado por outro cavalo-marinho - suporte (eventos) ficaram localizados no quadrante superior do lado direito do gráfico PCA, indicando altos valores de correlação, tanto em PC1 quanto em PC2. Já dançando (eventos), a lutando (duração) e a natação (eventos) ficaram no quadrante inferior direito, apresentando valores positivos no PC1 mas negativos no PC2, o que significa uma maior relevância do comportamento no primeiro componente (PC1). Os comportamentos reagrupamento (duração e eventos), segurando (duração) e sentado (duração) localizaram-se no lado esquerdo do eixo PC1, mesmo lado com maior localização dos pontos dos animais quando isolados, o que significa uma correlação positiva entre o comportamento e a condição. Pontos e setas em lados opostos significam uma correlação negativa.

Na condição de grupo, a intrusão (duração) e a dança (eventos) foram os comportamentos mais relevantes. Durante o isolamento, o comportamento mais relevante foi segurando (duração).

2.1.3.2 Alimentação

A quantidade de alimento ingerido diferiu entre as condições de isolamento social e de grupo ($p < 0,05$). Os cavalos-marinhos consumiram 50% menos pós-larvas de camarão (PL) em isolamento social do que em grupo (Figura 4).

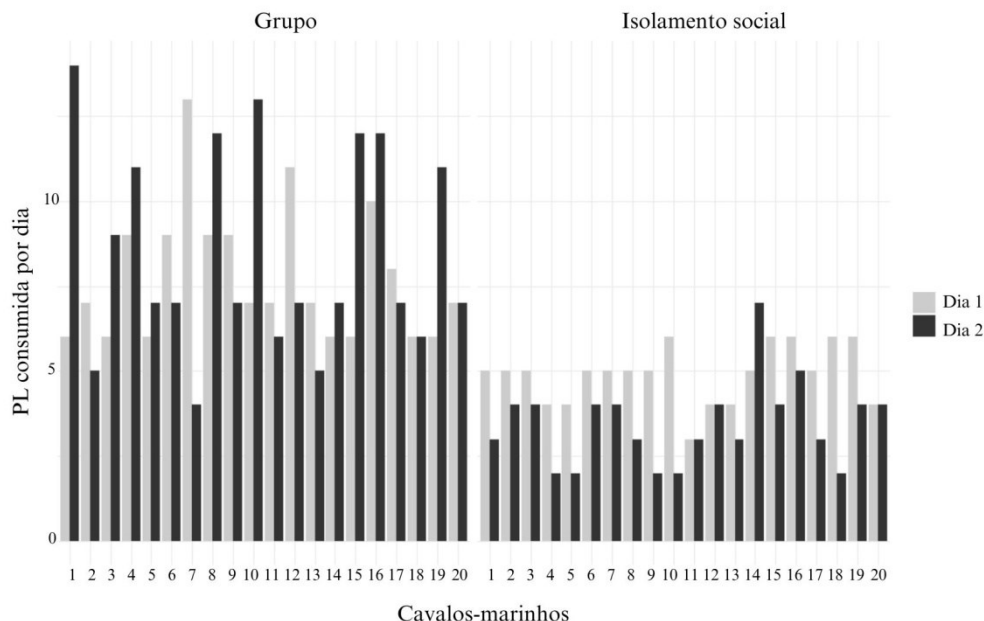
Figura 4. Consumo alimentar (pós-larvas de camarão por dois dias) de cavalos-marinhos adultos *Hippocampus reidi* quando mantidos em grupo e em isolamento social. Os quadrados cinza representam a média dos tratamentos. O intervalo de confiança é de 95%.



Fonte: Elaborado pelos autores.

Houve diferença estatística na duração e eventos da alimentação ($p < 0,05$). Quando em grupo, todos os indivíduos investiram mais tempo na alimentação, mesmo sendo apenas duas refeições diárias. Os cavalos-marinhos demonstraram interesse pela comida por mais tempo e voltaram para comer com mais frequência. Durante o isolamento foi possível observar uma diminuição gradual na quantidade de alimento consumido do primeiro para o segundo dia, quando os animais consumiam apenas uma a duas pós-larvas de camarão por período de alimentação (Figura 5).

Figura 5. Consumo alimentar individual diário (pós-larvas de camarão - PL) de cavalos-marinhos adultos *Hippocampus reidi* (n=20) mantidos em ambiente social (Grupo) e em isolamento social.



Fonte: Elaborado pelos autores.

2.1.3.3 Resultados descritivos

Durante o segundo dia do experimento de isolamento, o batimento opercular de dois cavalos-marinhos, um macho e uma fêmea, aumentou. Ambos apresentavam mais de 65 batimentos por minuto. Após ingressar no grupo, o batimento opercular voltou ao normal, em torno de 45 batimentos por minuto, e a coloração dos indivíduos voltou a um amarelo vivo.

2.1.4 DISCUSSÃO

Os resultados do experimento demonstraram que os cavalos-marinhos são animais altamente sociáveis e que colocá-los em isolamento, mesmo que por um curto período, pode resultar em mudanças significativas no seu comportamento. Considerando a forma como os indivíduos desta espécie são encontrados na natureza, em pares ou grupos (Vincent e Sander, 1995; Rosa et al., 2007; Freret-Meurer e Andreatta, 2008), os resultados destacam a importância de manter em grupo os cavalos-marinhos em cativeiro.

Foi possível observar que os cavalos-marinhos quando em isolamento tentam interagir através dos pequenos vãos entre as divisórias de vidro removíveis, os indivíduos colocavam a cauda no vão tentando passar para o outro lado da divisória. Isso demonstra uma preferência pela companhia de outro indivíduo e uma motivação para tentar reagrupar, mesmo mantendo os químicos na água (a mesma água sendo recirculada) e contato visual. Olla e Samet (1974)

também observaram uma tentativa de reaproximação na tainha *Mugil cephalus* separadas do grupo. Isto também foi evidenciado por Gomez-Laplaza e Morgan (1991) com o peixe-anjo *Pterophyllum scalare*, que também é um peixe sociável.

As observações comportamentais apoiaram a importância da presença do co-específico na motivação alimentar. Os cavalos-marinhos passavam mais tempo se alimentando e voltavam com mais frequência em busca de alimento quando estavam em grupos do que isolados. Isso está de acordo com os achados de Martins et al. (2006) e Ojelade et al. (2022), que observaram que o bagre africano *Clarias gariepinus* reduziu gradativamente a ingestão alimentar sob isolamento social. Além disso, Brandão et al. (2015) observaram que a falta de estímulo social pode prejudicar a capacidade do *Cichlasoma paranaense* de ver o alimento, fazendo com que peixes isolados demorassem mais para consumir suas refeições. No presente estudo, indivíduos socialmente isolados ainda conseguiam se ver através do vidro, o que poderia servir como estímulo visual na hora de comer. Olla e Samet (1974) observaram que o início da alimentação era mais rápido quando *Mugil cephalus* em isolamento conseguia observar a alimentação em grupo. Porém, os resultados indicaram que este estímulo visual é insuficiente para incentivar a alimentação em cavalos-marinhos, pois houve uma redução significativa no consumo de alimento quando os animais foram isolados.

Abreu et al. (2022) mostraram que a anedonia (perda de prazer) no peixe-zebra *Danio rerio* reflete na perda de interesse pela comida e também em hipofagia. Da mesma forma, a redução do consumo alimentar na condição de isolamento social também poderia estar associada à anedonia. Alternativamente, uma redução no consumo alimentar poderia estar relacionada ao menor gasto energético associado à redução do repertório comportamental observado durante o isolamento social. Schneider (2004) explicou que comportamentos complexos e variados, tais como interações sociais e comportamentos reprodutivos, requerem um elevado custo energético. Ward et al. (2006) demonstraram que a competição intraespecífica pode estimular os peixes a comer mais e a passar mais tempo procurando por alimento. Os resultados também mostraram que a competição em grupo por comida poderia estimular os cavalos-marinhos a comer mais.

Após o isolamento, quando os cavalos-marinhos foram colocados no grupo, os comportamentos mais observados foram reprodutivos e agonísticos, como intrusão, perseguição e passeio, todos iniciados pelos machos. Comportamentos observados no grupo social, como organização social, estrutura social, seleção de parceiros reprodutivos e sistemas de cuidado parental são inibidos quando os animais são isolados (Pitcher, 1979; Kappeler et al., 2019). Por exemplo, o isolamento social afetou o comportamento reprodutivo em guppies

Poecilia reticulata (Barbosa et al., 2013), e os peixes ciclídeos *Haplochromis burtoni* apresentaram atividade sexual maior quando reagrupados (Anders, 1978).

A Análise de Componentes Principais (PCA) melhorou a visualização dos dados ao apresentar os comportamentos mais relevantes no grupo (intrusão - duração e dança - eventos) e isoladamente (segurando - duração). Os cavalos-marinhos apresentaram mais comportamentos em ambiente social, pois apresentavam comportamentos reprodutivos, competitivos e interativos. Porém, alguns indivíduos não demonstraram comportamento social quando estavam no grupo. Isso pode estar associado a traços de personalidade, ao período de isolamento, à adaptação ao cativeiro ou decorrentes do estado fisiológico do animal (Huntingford et al., 2006; Cavallino et al., 2023). A inibição de comportamentos sociais em alguns cavalos-marinhos pode estar associada ao estresse resultante do isolamento anterior. Maximino et al. (2010) e Kleinhappel et al. (2019) mostraram que o isolamento afetou a atividade e a sociabilidade no Zebrafish *Danio rerio*.

O comportamento de clique foi observado quando os animais estavam em grupos, indicando comunicação. O clique foi realizado durante comportamentos reprodutivos e de cortejo, conforme relatado anteriormente por Oliveira et al. (2014). O comportamento também foi observado juntamente com comportamentos agonísticos, apoiando Colson et al. (1998) que nos cavalos-marinhos da espécie *Hippocampus zosterae*, foi associado a comportamentos agonísticos entre machos.

Apesar da ausência de diferença significativa, a duração dos comportamentos indicando atividade foi maior quando os animais foram isolados. O comportamento de natação durou mais tempo quando os indivíduos estavam isolados do que no grupo. Isso pode estar relacionado à busca pelo co-específico e à tentativa de reagrupamento. A caminhada também durou mais tempo quando os animais foram isolados. Gomez-Laplaza e Morgan (1991) identificaram uma maior taxa de movimento e mais atividade quando o peixe-anjo *Pterophyllum scalare* foi colocado em isolamento porque o peixe procurava por outros indivíduos da mesma espécie. No presente estudo, os cavalos-marinhos nadaram por um tempo e depois permaneceram por muito tempo segurando, o que pode estar associado à busca por outros indivíduos da mesma espécie, deixando-os mais cansados e necessitando de mais tempo de descanso.

Os comportamentos apresentados pelos cavalos-marinhos em isolamento, como perda do apetite, perda de interesse pela comida, maior movimentação ou longo período de imobilidade, são considerados fatores estimulados por uma condição estressante (Gonçalves-de-Freitas e Mariguela, 2006; Huntingford et al., 2006). A falta de estímulo social pode afetar

negativamente o bem-estar das espécies gregárias (Huntingford et al., 2006). Saraiva et al. (2019) também citaram que o isolamento social é um estressor que pode afetar o comportamento e as respostas fisiológicas dos peixes em cativeiro. O contexto social afeta diretamente as respostas comportamentais e de estresse em diferentes espécies de peixes, como *Oncorhynchus mykiss* (Øverli et al., 2002), *Archocentrus nigrofasciatus* (Earley et al., 2006) e *Oreochromis mossambicus* (Galhardo e Oliveira, 2014).

O batimento opercular é uma medida não invasiva para identificar estresse em peixes. Por exemplo, Hokin et al. (2024) relataram estresse em *Paralichthys olivaceus* medindo o batimento opercular quando os peixes foram colocados em aquários com altas temperaturas. Os batimentos operculares em cavalos-marinhos da espécie *Hippocampus reidi* em cativeiro são de 45 batimentos/min e 64 batimentos/min em condições estressantes (Freret-Meurer et al., 2020). Neste estudo, os cavalos-marinhos tiveram um batimento opercular de 65 batimentos/min no segundo dia do experimento, indicando uma resposta de estresse à privação social. Freret-Meurer et al. (2020) também sugeriram uma aclimação de mais de 24 horas para que o batimento opercular em cavalos-marinhos voltasse ao normal após a exposição a estressores. No presente estudo, cavalos-marinhos isolados não foram manuseados para a junção ao grupo, pois a divisória de vidro que os separava foi removida. Após a junção, o batimento opercular voltou ao normal (45 batimentos/min), confirmando que o aumento do batimento opercular foi devido ao isolamento social e não ao manejo.

A coloração dos animais mudou muito rapidamente de amarelo para marrom muito escuro quando submetidos ao isolamento. Essa mudança de cor (Miller e Mitchell, 2009) e aumento do batimento opercular foram indicativos de estresse. Por esse motivo, foi feita a escolha por um período de isolamento de dois dias para evitar causar mais estresse desnecessário e arriscar a perda dos indivíduos.

2.1.5 CONCLUSÃO

Este estudo mostrou que o isolamento de curto prazo pode levar a mudanças comportamentais que indicam estresse e redução no consumo de alimentos em cavalos-marinhos adultos *Hippocampus reidi*. Isto sugere que o isolamento a longo prazo pode ter efeitos deletérios no bem-estar e sobrevivência dos cavalos-marinhos ou mesmo efeitos letais na espécie. Portanto, os animais desta espécie devem ser sempre mantidos em grupos, tanto para fins de aquário como de pesquisa.

2.1.6 REFERÊNCIAS

- Abreu, M. S., Costa, F., Giacomini, A. C., Demin, K. A., Zabegalov, K. N., Maslov, G. O., Kositsyn, Y. M., Petersen, E. V., Strekalova, T., Rosemberg, D. B., Kalueff, A. V., 2022. Towards modeling anhedonia and its treatment in zebrafish. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 25(4), 293-306.
<https://doi.org/10.1093/ijnp/pyab092>
- Anders, F., 1978. The effect of social isolation on the aggressive and sexual behaviour in a cichlid fish, *Haplochromis burtoni*. *Behaviour*, 65(1-2), 43-61.
<https://doi.org/10.1163/156853978x00521>
- Anderson, P. A., Berzins, I. K., Fogarty, F., Hamlin, H. J., Guillette Jr, L. J., 2011. Sound, stress, and seahorses: the consequences of a noisy environment to animal health. *Aquaculture*, 311(1-4), 129-138. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.11.013>
- Barlow, G. W.. 1968. Dither: a way to reduce undesirable fright behavior in ethological studies. *Zeitschrift für Tierpsychologie*, 25, 313–318.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0310.1968.tb00018.x>
- Brandão, M. L., Braithwaite, V. A., Gonçalves-de-Freitas, E., 2015. Isolation impairs cognition in a social fish. *Applied Animal Behaviour Science*, 171, 204–210.
<https://doi.org/10.1016/j.applanim.2015.08.026>
- Brandão, M. L., Dorigão-Guimarães, F., Bolognesi, M. C., Gauy, A. C. D. S., Pereira, A. V. S., Vian, L., Carvalho, T. B., Gonçalves-de-Freitas, E., 2021. Understanding behaviour to improve the welfare of an ornamental fish. *Journal of Fish Biology*, 99(3), 726-739.
<https://doi.org/10.1111/jfb.14802>
- Barbosa, M., Ojanguren, A. F., Magurran, A. E., 2013. Courtship display persists despite early social deprivation. *Ethology*, 119(6), 496-502.
<https://doi.org/10.1111/eth.12087>
- Brown C, Laland, K., 2003. Social learning in fishes: a review. *Fish and fisheries*. 4, 280–288.
<https://doi.org/10.1046/j.1467-2979.2003.00122.x>
- Cavallino, L., Rincón, L., Scaia, M. F., 2023. Social behaviors as welfare indicators in teleost fish. *Frontiers in Veterinary Science*, 10, 1050510.
<https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1050510>
- Castro, J. J. P, de Carvalho, C. V. A., Passini, G., Lehrback, B. D. C., da Silva, C. A., Neto, R. R., Hora, M. S. C., Tsuzuki, M. Y., 2023. Feeding longsnout seahorse *Hippocampus reidi* broodstock at different frequencies influences production of eggs and quality of the offspring. *Aquaculture International*, 1-16.
<https://doi.org/10.1007/s10499-023-01364-5>

Colson, D. J., Patek, S. N., Brainerd, E. L., Lewis, S. M., 1998. Sound production during feeding in Hippocampus seahorses (Syngnathidae). *Environmental Biology of Fishes*, 51, 221-229.

<https://doi.org/10.1023/A:1007434714122>

Dunlap, K.D., Castellano, J.F., Prendaj, E., 2006. Social interaction and cortisol treatment increase cell addition and radial glia fiber density in the diencephalic periventricular zone of adult electric fish, *Apteronotus leptorhynchus*. *Horm. Behav.* 50, 10-17.

<https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2006.01.003>

Earley, R. L., Edwards, J. T., Aseem, O., Felton, K., Blumer, L. S., Karom, M., Grober, M. S., 2006. Social interactions tune aggression and stress responsiveness in a territorial cichlid fish (*Archocentrus nigrofasciatus*). *Physiology & Behavior*, 88(4-5), 353-363.

<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2006.04.002>

Farine, D.R., Montiglio, P.O. Spiegel, O., 2015. From individuals to groups and back: the evolutionary implications of group phenotypic composition. *Trends. Ecol. Evol.* 30: 609-621.

<https://doi.org/10.1016/j.tree.2015.07.005>

Faleiro, F., Narciso, L., Vicente, L., 2008. Seahorse behaviour and aquaculture: how to improve *Hippocampus guttulatus* husbandry and reproduction?. *Aquaculture*, 282(1-4), 33-40.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.05.038>

Flynn, A. J., Ritz, D. A., 1999. Effect of habitat complexity and predatory style on the capture success of fish feeding on aggregated prey. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 79(3), 487-494.

<https://doi.org/10.1016/10.1017/S0025315498000617>

Franck, D., Hannes, R. P., Lanffermann, H., & Ribowski, A., 1985. Effects of social isolation on aggressiveness in fish with special reference to the swordtail (*Xiphophorus helleri*). *Behavioural Processes*, 10, 415-427.

[https://doi.org/10.1016/0376-6357\(85\)90041-5](https://doi.org/10.1016/0376-6357(85)90041-5)

Freret-Meurer, N. V., Fernández do Carmo, T., Cabiró, G., 2021. Opercular beat: A non-invasive and rapid method to detect stress in seahorses. *Journal of Applied Aquaculture*, 33(4), 291-299.

<https://doi.org/10.1080/10454438.2020.1810841>

Freret-Meurer, N. V., Andreato, J. V., 2008. Field studies of a Brazilian seahorse population, *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 51, 543-551.1233-1251.

<https://doi.org/10.1590/S1516-89132008000400012>

Freret-Meurer, N. V., Andreato, J. V., Alves, M. A. S., 2012. Activity rate of the seahorse *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933 (Syngnathidae). *Acta ethologica*, 15, 221-227.

<https://doi.org/10.1007/s10211-012-0125-1>

Galhardo, L., Vitorino, A., Oliveira, R. F., 2012. Social familiarity modulates personality trait in a cichlid fish. *Biology Letters*, 8, 936-938.

<https://doi.org/10.1098/rsbl.2012.0500>

Galhardo, L., Oliveira, R. F., 2014. The effects of social isolation on steroid hormone levels are modulated by previous social status and context in a cichlid fish. *Hormones and Behavior*, 65(1), 1-5.
<https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2013.10.010>

Gómez-Laplaza, L. M., Morgan, E., 1991. Effects of short-term isolation on the locomotor activity of the angelfish (*Pterophyllum scalare*). *Journal of Comparative Psychology*, 105(4), 366.
<https://doi.org/10.1037/0735-7036.105.4.366>

Gómez-Laplaza, L. M., Morgan, E., 2000. The effect of time spent in isolation on the response to novel nonsocial stimulation in the angelfish *Pterophyllum scalare*. *Canadian Journal of Zoology*, 78, 530–537.
<https://doi.org/10.1139/z99-240>

Gonçalves-de-Freitas, E., Mariguela, T. C., 2006. Social isolation and aggressiveness in the Amazonian juvenile fish *Astronotus ocellatus*. *Brazilian Journal of Biology*, 66, 233–238.
<https://doi.org/10.1590/S1519-69842006000200007>

Hora, M. D. S. C., Joyeux, J. C., Rodrigues, R. V., de Sousa-Santos, L. P., Gomes, L. C., Tsuzuki, M. Y., 2016. Tolerance and growth of the longsnout seahorse *Hippocampus reidi* at different salinities. *Aquaculture*, 463, 1-6.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.05.003>

Hora, M. D. S. C., Joyeux, J. C., Tsuzuki, M. Y., 2018. Stocking density for the seahorse *Hippocampus reidi* in the pelagic phase and insights on the benthic phase in culture conditions. *Aquaculture*, 484, 268-271.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.11.022>

Hokin, M., Miyata, T., Kumon, K., Oshima, S. I., 2024. Noninvasive health monitoring of fish using optical ventilation signals. *Remote Sensing Applications: Society and Environment*, 33, 101105.
<https://doi.org/10.1016/j.rsase.2023.101105>

Huntingford, F. A., Adams, C., Braithwaite, V. A., Kadri, S., Pottinger, T. G., Sandøe, P., Turnbull, J. F., 2006. Current issues in fish welfare. *Journal of Fish Biology*, 68, 332–372.
<https://doi.org/10.1111/j.0022-1112.2006.001046.x>

IUCN, 2019. The IUCN Red List of Threatened Species. <http://www.redlist.org> (accessed 17 June 2024).

Kappeler, P. M., Clutton-Brock, T., Shultz, S., Lukas, D., 2019. Social complexity: patterns, processes, and evolution. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 73, 1-6.
<https://doi.org/10.1007/s00265-018-2613-4>

Kasumyan, A. O., Pavlov, D. S., 2018. Evolution of schooling behavior in fish. *Journal of Ichthyology*, 58, 670-678.
<https://doi.org/10.1134/S0032945218050090>

Kirkwood, J. K., 2003. Welfare, husbandry and veterinary care of wild animals in captivity: changes in attitudes, progress in knowledge and techniques. *International Zoo Yearbook*, 38(1), 124-130.

<https://doi.org/10.1111/j.1748-1090.2003.tb02072.x>

Kleinhappel, T. K., Pike, T. W., Burman, O. H., 2019. Stress-induced changes in group behaviour. *Scientific Reports*, 9(1), 17200. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-53661-w>

Koldewey, H. J., Martin-Smith, K. M., 2010. A global review of seahorse aquaculture. *Aquaculture*, 302(3-4), 131-152.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.11.010>

Koning, S., Hoeksema, B. W., 2021. Diversity of seahorse species (*Hippocampus* spp.) in the international aquarium trade. *Diversity*, 13(5), 187.

<https://doi.org/10.3390/d13050187>

Laland, K. N., 2004. Social learning strategies. *Animal Learning & Behavior*, 32, 4e14.

<https://doi.org/10.3758/BF03196002>

Lourie, S. A., 2003. Measuring seahorses. Technical Report, 4. Project Seahorse.

Manassa, R. P., McCormick, M. I., Chivers, D. P., 2013. Socially acquired predator recognition in complex ecosystems. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 67, 1033-1040.

<https://doi.org/10.1007/s00265-013-1528-3>

Martins, C. I. M., Trenovski, M., Schrama, J. W., Verreth, J. A. J., 2006. Comparison of feed intake behaviour and stress response in isolated and non-isolated African catfish. *Journal of Fish Biology*, 69(2), 629-636.

<https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2006.01121.x>

Maximino, C., de Brito, T. M., da Silva Batista, A. W., Herculano, A. M., Morato, S., Gouveia Jr, A., 2010. Measuring anxiety in zebrafish: a critical review. *Behavioural brain research*, 214(2), 157-171.

<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.05.031>

Melo-Valencia, A. F., Ospina-Salazar, G. H., Gómez-León, J., Cortés-Pineda, F. A., 2013. Effect of salinity on the survival and growth of seahorse fry *Hippocampus reidi* ginsburg in captivity. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras-INVEMAR*, 42(1), 193-201.

<https://doi.org/10.25268/bimc.invemar.2013.42.1.69>

McKaye, K. R., Barlow, G. W., 1976. Competition between color morphs of the Midas cichlid, *Cichlasoma citrinellum*, in Lake Jiloá, Nicaragua. *Investigations of the Ichthyofauna of Nicaraguan lakes*, 34, 465-475.

Miller, S. M., Mitchell, M. A., 2009. Ornamental fish. In *Manual of exotic pet practice* (pp. 39-72). WB Saunders.

Novelli, B., Socorro, J. A., Caballero, M. J., Otero-Ferrer, F., Segade-Botella, A., Molina Domínguez, L., 2015. Development of seahorse (*Hippocampus reidi*, Ginsburg 1933): histological and histochemical study. *Fish Physiology and Biochemistry*, 41.

<https://doi.org/10.1007/s10695-015-0082-5>

Olla, B. L., Samet, C., 1974. Fish-to-fish attraction and the facilitation of feeding behavior as mediated by visual stimuli in striped mullet, *Mugil cephalus*. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 31(10), 1621-1630.

<https://doi.org/10.1139/f74-204>

Ojelade, O., Iyasere, O., Durosaro, S., Abdulraheem, I., Akinde, A., 2022. Social isolation impairs feed intake, growth and behavioural patterns of catfish under culture conditions. *Animal*, 16(5), 100521.

<https://doi.org/10.1016/j.animal.2022.100521>

Oliveira, T. P. R., Ladich, F., Abed-Navandi, D., Souto, A. S., Rosa, I. L., 2014. Sounds produced by the longsnout seahorse: a study of their structure and functions. *Journal of Zoology*, 294(2), 114-121.

<https://doi.org/10.1111/jzo.12160>

Olivotto, I., Avella, M. A., Sampaolesi, G., Piccinetti, C. C., Ruiz, P. N., Carnevali, O. 2008. Breeding and rearing the longsnout seahorse *Hippocampus reidi*: rearing and feeding studies. *Aquaculture*, 283(1-4), 92-96.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.06.018>

Øverli, Ø., Pottinger, T. G., Carrick, T. R., Øverli, E., Winberg, S., 2002. Differences in behaviour between rainbow trout selected for high-and low-stress responsiveness. *Journal of Experimental Biology*, 205(3), 391-395.

<https://doi.org/10.1242/jeb.205.3.391>

Pitcher, T., 1979. Sensory information and the organization of behaviour in a shoaling cyprinid fish. *Animal Behaviour*, 27, 126-149.

[https://doi.org/10.1016/0003-3472\(79\)90133-7](https://doi.org/10.1016/0003-3472(79)90133-7)

Rendell, L., Boyd, R., Cownden, D., Enquist, M., Eriksson, K., Feldman, M. W., Fogarty, L., Ghirlanda, S., Lillicrap, T., Laland, K. N. (2010). Why copy others? Insights from the social learning strategies tournament. *Science*, 328(5975), 208-213.

<https://doi.org/10.1126/science.1184719>

Robinson, G. E., Fernald, R. D., Clayton, D. F., 2008. Genes and social behavior. *Science*, 322(5903), 896-900.

<https://doi.org/10.1126/science.1159277>

Rosa, I. L., Oliveira, T. P., Castro, A. L., Moraes, L. E., Xavier, J. H., Nottingham, M. C., Dias, T. L. P., Bruto-Costa, L. V., Araujo, M. E., Birolo, A. B., Mai, A. C. G., Monteiro-Neto, C., 2007. Population characteristics, space use and habitat associations of the seahorse *Hippocampus reidi* (Teleostei: Syngnathidae). *Neotropical Ichthyology*, 5, 405-414.

<https://doi.org/10.1590/S1679-62252007000300020>

Saraiva, J. L., Arechavala-Lopez, P., 2019. Welfare of fish—no longer the elephant in the room. *Fishes*, 4(3), 39.

<https://doi.org/10.3390/fishes4030039>

- Schneider, J. E., 2004. Energy balance and reproduction. *Physiology & behavior*, 81(2), 289-317.
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2004.02.007>
- Shettleworth, S. J., 2009. *Cognition, evolution, and behavior*. Oxford university press.
- Souza-Santos, L. P., Regis, C. G., Mélo, R. C., Cavalli, R. O., 2013. Prey selection of juvenile seahorse *Hippocampus reidi*. *Aquaculture*, 404, 35-40.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.04.017>
- Souto-Neto, J. A., David, D. D., Zanetti, G., Sua-Cespedes, C., Freret-Meurer, N. V., Moraes, M. N., Assis, L. V. M., de Lauro Castrucci, A. M., 2024. Light-specific wavelengths differentially affect the exploration rate, opercular beat, skin color change, opsin transcripts, and the oxi-redox system of the longsnout seahorse *Hippocampus reidi*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 288, 111551.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2023.111551>
- Tanaka, H., Frommen, J. G., Koblmüller, S., Sefc, K. M., McGee, M., Kohda, M., Atawa, S., Hori, M., Taborsky, M., 2018. Evolutionary transitions to cooperative societies in fishes revisited. *Ethology*, 124(11), 777-789.
<https://doi.org/10.1111/eth.12813>
- Vincent, A. C., 1994. Seahorses exhibit conventional sex roles in mating competition, despite male pregnancy. *Behaviour*, 128(1-2), 135-151.
<https://doi.org/10.1163/156853994X00082>
- Vincent, A. C., Sadler, L. M., 1995. Faithful pair bonds in wild seahorses, *Hippocampus whitei*. *Animal behaviour*, 50(6), 1557-1569.
[https://doi.org/10.1016/0003-3472\(95\)80011-5](https://doi.org/10.1016/0003-3472(95)80011-5)
- Vincent, A. C., Foster, S. J., Koldewey, H. J., 2011. Conservation and management of seahorses and other Syngnathidae. *Journal of fish biology*, 78(6), 1681-1724.
<https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2011.03003.x>
- Ward, A. J., Webster, M. M., Hart, P. J., 2006. Intraspecific food competition in fishes. *Fish and Fisheries*, 7(4), 231-261.
<https://doi.org/10.1111/j.1467-2979.2006.00224.x>
- Willadino, L., Souza-Santos, L. P., Mélo, R. C., Brito, A. P., Barros, N. C., Araújo-Castro, C. M., Galvão, B. D., Gouveia, A., Regis, C. G., Cavalli, R. O., 2012. Ingestion rate, survival and growth of newly released seahorse *Hippocampus reidi* fed exclusively on cultured live food items. *Aquaculture*, 360, 10-16.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.06.025>
- Wright, K. A., Woods, C. M. C., Gray, B. E., Lokman, P. M., 2007. Recovery from acute, chronic and transport stress in the pot-bellied seahorse *Hippocampus abdominalis*. *Journal of Fish Biology*, 70(5), 1447-1457.
<https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2007.01422.x>

Young, D., Lawlor, P. A., Leone, P., Dragunow, M., During, M. J., 1999. Environmental enrichment inhibits spontaneous apoptosis, prevents seizures and is neuroprotective. *Nature medicine*, 5(4), 448-453.
<https://doi.org/10.1038/7449>

2.2 ARTIGO 2:

SUCESSO REPRODUTIVO E QUALIDADE DA DESOVA: COMO O SISTEMA DE PAREAMENTO INFLUENCIA A REPRODUÇÃO DE CAVALOS-MARINHOS *HIPPOCAMPUS REIDI* EM CATIVEIRO

Nayara Yoshimini de Oliveira^{1*}, Maria José Hötzel², Mônica Yumi Tsuzuki¹

¹Laboratório de Peixes e Ornamentais Marinhos (LAPOM), Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil

²Laboratório de Etologia Aplicada e Bem-estar Animal (LETA), Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil

RESUMO

Quando os animais são trazidos para o cativeiro, podem ocorrer mudanças nos comportamentos reprodutivos e no sucesso reprodutivo. Os cavalos-marinhos podem formar vínculos, por isso o sistema de acasalamento é essencial para o sucesso reprodutivo da espécie. Buscando analisar como o sistema de pareamento influencia a qualidade das larvas de *Hippocampus reidi* (Ginsburg, 1933), cinco pares de cavalos-marinhos foram forçados e cinco pares que os animais se escolheram foram utilizados. Para o experimento foram usados dez machos e dez fêmeas, os animais foram mantidos em um aquário de 300 litros (altura 70cm x largura 30cm x comprimento 160cm), e quando separados em casais, os cavalos-marinhos foram mantidos em dez aquários de 75 litros (altura 70cm x largura 30cm x comprimento 40cm). Todo o experimento foi filmado com uma câmera externa. Quando os cavalos-marinhos estavam todos juntos em grupo, os comportamentos reprodutivos e a monogamia foram analisados. Para verificar a qualidade da parição, as larvas passaram por teste de inanição, e foram pesadas e medidas. Além disso, a quantidade total de larvas foram contadas e correlacionadas com o tamanho do casal. Apenas um casal forçado reproduziu. Quatro dos casais não forçados reproduziram e dois dos casais reproduziram mais de uma vez. Os resultados mostraram diferença significativa entre o peso e o tamanho das larvas nas amostras das desovas. Não houve diferença estatística entre o teste de inanição e a quantidade de larvas, nem houve correlação com o peso e o tamanho dos reprodutores. Foi possível observar a presença de monogamia entre os cavalos-marinhos. Concluindo, forçar os pares de *Hippocampus reidi* pode resultar na inibição da reprodução e na incapacidade de gerar descendentes em cativeiro.

Palavras-chave: Escolha do parceiro, Qualidade larval, Comportamento reprodutivo, Tamanho, Peso, Teste de Inanição,

2.2.1 INTRODUÇÃO

Com o aumento do número de animais mantidos em cativeiro, houve um aumento na preocupação pública sobre a forma como os animais eram tratados. O comportamento animal foi uma das frentes de pesquisa que cresceu proporcionalmente com esse aumento da preocupação pública (Kirkwood 2003; Brown et al. 2011). O comportamento refere-se aos movimentos e ações dos animais que respondem a influências externas ou estímulos internos. A análise do mesmo fornece informações essenciais sobre a saúde física, psicológica e o bem-estar dos animais (Huntingford 2012).

O comportamento reprodutivo é de grande importância para o sucesso evolutivo dos animais. Os animais exibem vários comportamentos reprodutivos, e o sucesso reprodutivo ocorre através de uma sequência comportamental que envolve a escolha do parceiro, a corte, o acasalamento e, finalmente, o nascimento da prole (Houck e Arnold 2003). Segundo Roberts e Gosling (2004) e Jones e Ratterman (2009), a escolha do parceiro adequado aumentará a compatibilidade entre os indivíduos, evitando efeitos adversos na reprodução e no sucesso reprodutivo.

Diversos tipos de cortejo são exibidos na natureza pelos animais, como vocalizações, movimentos ritualísticos para atrair um parceiro e ornamentos sexuais (Giaquinto e Volpato 1997; Houck e Arnold 2003). Esta sequência de comportamentos de acasalamento mostra uma forte associação entre a preferência do parceiro e o aumento da viabilidade da prole, e pode correlacionar-se negativamente quando a reprodução não acontece com o parceiro escolhido (Jennions et al. 2001).

Além disso, características externas são relevantes para os padrões de acasalamento, sendo as mais importantes a razão sexual operacional (OSR), ou seja, o número de fêmeas e machos capazes de acasalar; e a competição intra-sexual, onde mais de um macho ou fêmea compete para ser escolhido pelo parceiro em potencial (Emlen e Oring 1976). Nos peixes, algumas espécies podem exibir elaboradas cerimônias de formação de pares e de acasalamento. Pode haver preparação de ninhos para desova, defesa do território e cuidado parental de ovos e juvenis (Liley e Stacey 1983).

Os peixes são criados por diversos motivos: para consumo, conservação da espécie, manutenção dos estoques pesqueiros, pesquisa e aquariofilia (Huntingford 2012). Quando

inseridos em âmbito de cativeiro, os comportamentos reprodutivos dos peixes podem ser restringidos devido ao espaço, e os pares são forçados sem levar em consideração a seleção dos parceiros pelos próprios animais (Jones e Ratterman 2009).

Os cavalos-marinhos são conhecidos pela sua reprodução muito característica, onde os machos incubam os ovos e prestam cuidados aos embriões em desenvolvimento dentro da bolsa incubadora (Stölting e Wilson 2007). Espera-se que, o tamanho dos juvenis reflita tanto o tamanho inicial dos oócitos, quanto a taxa de crescimento embrionário, que está relacionada ao fornecimento paterno de condições essenciais importantes, principalmente nutricionais, para o desenvolvimento embrionário (Faleiro et al. 2016). Como resultado, quando em cativeiro, o sucesso reprodutivo desses peixes pode ser afetado de diversas maneiras, alterando a fecundidade, a fertilidade, o tamanho dos ovos e a sobrevivência da prole (Faleiro e Narciso 2013).

A monogamia foi o primeiro padrão reprodutivo apresentado para os cavalos-marinhos (Kvarnemo et al. 2000; Foster e Vincent 2004), mas a poligamia também ocorre (Lourie et al. 1999a; Woods 2000; Silveira 2009). Além disso, as espécies podem ter papéis sexuais convencionais ou invertidos quando as fêmeas competem pelos machos (Wilson et al. 2003). A seleção do parceiro é importante, pois os cavalos-marinhos podem estabelecer pares monogâmicos para toda a vida ou que durem pelo menos uma estação reprodutiva (Foster e Vincent 2004).

No Brasil ocorrem três espécies de cavalos-marinhos: *Hippocampus erectus* (Perry 1810), *H. reidi* (Ginsburg 1933) e *H. patagonicus* (Piacentino e Luzzatto 2004). Todas as três são categorizadas como quase ameaçadas a extinção (IUCN 2024) devido à sobreexploração, pelo comércio aquarista e à degradação ambiental (Koldewey e Martin-Smith 2010; Vincent et al. 2011). A aquicultura é vital para a conservação desses peixes (Brandão et al. 2021).

Vários estudos têm sido realizados com a aquicultura de *H. reidi* para melhorar as condições de cultivo e tornar a espécie comercialmente viável. (Olivotto et al. 2008; Willadino et al. 2012; Melo-Valencia et al. 2013; Souza-Santos et al. 2013; Novelli et al. 2015; Hora et al. 2016, Hora et al. 2018; Castro et al. 2024). Porém, um dos principais obstáculos na produção é a baixa taxa de sobrevivência de larvas e juvenis muitas vezes atrelado a qualidade dos reprodutores (Olivotto et al. 2008, Planas et al. 2017a; Planas et al. 2020b).

Estudos comportamentais com *H. reidi* em cativeiro são escassos. Compreender o comportamento pode ajudar a aumentar o bem-estar, melhorar a reprodução e a qualidade da prole, verificar as necessidades dos animais, minimizando os efeitos dos fatores estressores, fornecendo uma base para técnicas futuras, além de preencher auxiliar no preenchimento de

lacunas e correlacionar com pesquisas publicadas e futuras (Flynn e Ritz 1999; Faleiro et al. 2008).

Portanto, o presente estudo teve como objetivo verificar o sistema de pareamento do cavalo-marinho *H. reidi* em cativeiro, analisando se a monogamia é mantida e verificando como a seleção do parceiro influencia na qualidade da prole.

2.2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.2.2.1 Local do estudo, origem dos animais e quarentena

O estudo foi realizado no Laboratório de Peixes e Ornamentais Marinhos (LAPOM) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, Brasil, com aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFSC N° 8113200123).

Cavalos-marinhos adultos foram coletados no Espírito Santo (Vitória-ES, Brasil, 20°19' S, 40°20' W) com autorização do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO/Brasil - N°76002-1). Os animais passaram por um período de quarentena (20 dias) para eliminação de possíveis patógenos.

2.2.2.2 Manutenção dos animais, biometria e avaliação do comportamento

Foram utilizados 20 cavalos-marinhos, sendo dez machos e dez fêmeas. Foram realizadas biometrias prévias nos indivíduos. O comprimento total foi $16,21 \pm 1,61$ cm (média $\pm$ desvio padrão) e o peso $20,23 \pm 3,70$ g. Seguindo o protocolo de Lourie (2003), tanto machos quanto fêmeas estavam aptos para reprodução.

Os cavalos-marinhos foram mantidos em um aquário de 300 litros (altura 70cm x largura 30cm x comprimento 160cm) e, quando separados em casais por 44 dias, foram mantidos em dez aquários de 75 litros (altura 70cm x largura 30cm x comprimento 40cm). Todos os aquários (75 e 300 litros) foram conectados a um sistema de recirculação com temperatura controlada, esterilização por UV, skimmer e filtro biológico para manter a qualidade da água.

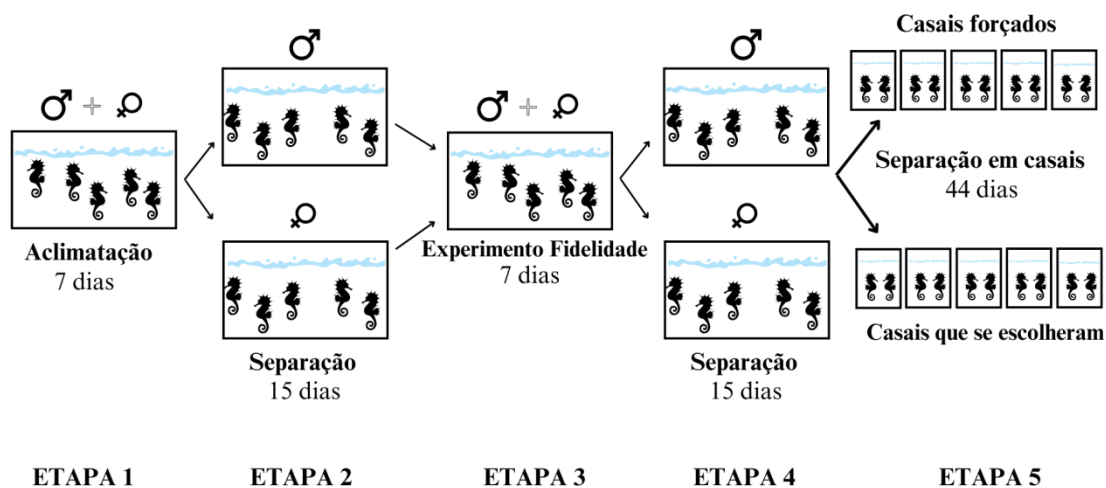
Os parâmetros de qualidade da água foram mantidos de acordo com Hora et al. (2016), com temperatura de $24,8 \pm 0,6$ °C (média $\pm$ desvio padrão), salinidade 35 ± 0 ppt, pH 8 ± 0 , nitrito $0,4 \pm 0$ mg/l, amônia total $0,2 \pm 0$ mg/l e oxigênio dissolvido $7,26 \pm 0$ mg/l. A temperatura e o oxigênio dissolvido foram medidos com um oxímetro AT-170 (Alfakit, Florianópolis), amônia e nitrito com o kit de análise (Alfakit, Florianópolis), pH com pHmetro de bancada

(Mylabor, São Paulo) e salinidade com um refratômetro. Em todos os aquários, plantas artificiais foram colocadas como substrato para os cavalos-marinhos.

Para evitar qualquer influência de fatores externos ao experimento, os animais foram mantidos em sala isolada de qualquer luz externa, com fotoperíodo mantido em 12 horas de luz e 12 horas de escuro. A sala permanecia fechada durante o dia para evitar o fluxo de pessoas, e somente durante o período de alimentação, o responsável pela manutenção diária (sifonar as fezes e restos de comida, e alimentar os peixes) tinha acesso à sala. Pós-larvas de camarão marinho inteiro congelado *Litopenaeus vannamei* foram providas aos cavalos-marinhos duas vezes ao dia.

Para as análises comportamentais as filmagens foram analisadas pelo mesmo observador buscando reduzir “erros interpessoais”. Como os cavalos-marinhos apresentam atividade sexual matutina (Vincent e Sadler 1995), as observações incluíram os comportamentos analisados durante este período.

Figura 1. Representação do processo experimental com vinte adultos de cavalos-marinhos *Hippocampus reidi*. A representação mostra as cinco etapas experimentais, desde o período de aclimação até a separação dos casais. Etapa 1: Período de aclimação em tanque comunitário: formação dos casais. Etapa 2: Separação por sexo para parição após formação natural dos casais. Etapa 3: Experimento de fidelidade. Etapa 4: Separação por sexo para parição após experimento de fidelidade. Etapa 5: Experimento casais formados naturalmente x casais formados artificialmente.



Fonte: Elaborado pelos autores.

Etapas experimentais:

Etapa 1: Período de aclimação em tanque comunitário: formação dos casais

Durante o período de aclimação (sete dias), os peixes foram colocados juntos no aquário de 300 litros para evitar qualquer estresse que pudesse dificultar a adaptação ao cativeiro. Foram utilizadas linhas com um padrão de colaração em miçangas como colares para

identificar os indivíduos. Os animais foram monitorados por câmeras filmadoras (Intelbras, Brasil), sendo as filmagens gravadas. Nesse período, já observou-se a ocorrência dos comportamentos reprodutivos, sistema de pareamento e formação dos casais. Por conta disso, os vídeos foram analisados e foram registrados os casais formados por seleção pelos próprios animais.

Etapa 2: Separação por sexo para parição após formação natural dos casais

Após ficarem juntos por 7 dias, os cavalos-marinhos foram separados em machos e fêmeas e esperou-se 15 dias para que ocorresse o nascimento das larvas dos machos que eventualmente engravidaram durante a etapa 1.

Etapa 3: Experimento de fidelidade

Como durante o período de aclimação já houve a formação de casais, foi feito um experimento para testar a fidelidade e monogamia dos cavalos-marinhos que consistiu em juntar novamente todos os cavalos-marinhos ao grupo por um período de sete dias (Figura 1). Portanto, essa junção foi feita com o intuito de visualizar se os pares formados anteriormente durante a aclimação, após passar por um período separados, manteria a fidelidade ao parceiro escolhido previamente. Para que a cor dos colares não fosse um fator de identificação visual, o padrão de cores foi alterado durante o período de separação dos machos e fêmeas. Novamente, os vídeos foram analisados e registro-se se os casais que mantiveram a fidelidade ou que trocaram de par, se houve a formação de novos casais e os comportamentos reprodutivos.

Etapa 4: Separação por sexo para parição após experimento de fidelidade

Depois disso, os animais foram separados novamente e foi esperado mais 15 dias para o nascimento das larvas.

Etapa 5: Experimento casais formados naturalmente x casais formados artificialmente

Durante o período de espera, os vídeos foram analisados e posteriormente foram selecionados cinco pares, considerando como critérios se já havia acontecido a reprodução entre o casal ou se houve exibição prévia de comportamentos de corte. Os outros cinco pares restantes foram escolhidos entre os indivíduos que não apresentavam nenhuma interação e comportamentos reprodutivos. A intenção era juntar a) cinco casais que já haviam se escolhido previamente, e b) forçar a formação dos outros cinco casais.

Os casais foram distribuídos aleatoriamente nos dez aquários de 75 litros. Todo o processo foi filmado para verificar a adaptabilidade dos indivíduos com o casal e monitorar os comportamentos reprodutivos, de cópula e de parto. Os casais foram mantidos juntos por aproximadamente 44 dias.

2.2.2.3 Experimento de qualidade larval (teste de inanição e medição das larvas)

Para verificar a viabilidade da prole, assim que nasceram, as larvas foram coletadas do aquário parental e o número total foi contado. Cem larvas foram transferidas para um sistema com aquários de 20 litros para o teste de inanição, sendo portanto 50 larvas por aquário, em duplicata.

Os aquários possuíam aeração leve e termostato para a manutenção da temperatura constante em 25 graus, e a salinidade foi mantida em 35 ppt. As larvas não foram alimentadas durante o teste e eram observadas diariamente às 9h e às 16h. Larvas mortas eram contabilizadas e retiradas do aquário. As larvas foram consideradas mortas quando não apresentaram nenhum sinal de resposta quando estimuladas com uma pipeta.

Além disso, amostras contendo 14 indivíduos foram coletadas da prole recém parida para pesagem e medição. As larvas foram eutanasiadas com choque hipotérmico, transferidas para placas de Petri, fotografadas e pesadas (Planas 2022). Para a medição biométrica, as larvas foram levemente secas com papel toalha. As medidas de comprimento foram feitas de acordo com a metodologia de Lourie et al. (1990a), sendo o comprimento padrão definido para cavalos-marinhos como a soma do comprimento da cabeça + comprimento do tronco + comprimento da cauda. Um estereoscópico binocular com uma câmera USB Dino-Eye acoplada foi usado para a medição. As medidas foram feitas utilizando o software DinoCapture 2.0. O peso foi aferido em balança analítica de precisão (0,001 g).

2.2.2.4 Análise estatística

As análises estatísticas dos dados foram realizadas no pacote de software estatístico R 4.4.0 (R Core Team, 2018) no RStudio 2024.4.1-748 (RStudio Team, 2016).

O teste de Kruskal-Wallis foi utilizado para comparar peso, comprimento, duração em dias e número de larvas em sete amostras de desovas de cinco casais de cavalos-marinhos. O teste é uma alternativa não paramétrica e mostrou-se adequado porque a normalidade não foi atendida, verificada pelo teste de Shapiro-Wilk. O teste de Kruskal-Wallis avaliou se houve diferença significativa entre as medianas das amostras. Após identificar diferença significativa pelo Kruskal-Wallis, aplicou-se o teste de Dunn para comparações múltiplas para determinar

quais amostras apresentavam diferenças significativas entre si, ajustando os valores de p pelo método de Bonferroni para controlar o erro tipo I.

Para avaliar a relação entre o peso e comprimento dos casais dos cavalos-marinhos (machos e fêmeas) e o número de larvas geradas, utilizou-se o coeficiente de correlação de Pearson. A escolha deste teste foi justificada pelos resultados do teste Shapiro-Wilk, que indicou que as variáveis analisadas seguem distribuição normal. O coeficiente de Pearson foi apropriado para medir a força e a direção da relação linear entre as variáveis, assim permitindo avaliar se existe correlação significativa entre o peso e comprimento dos casais com o número de larvas.

2.2.3 RESULTADOS

2.2.3.1 Resultados descritivos

Os vídeos da fase de aclimação foram utilizados para criar um etograma (Tabela 1) com os comportamentos reprodutivos e de corte observados.

Tabela 1. Etograma que descreve os comportamentos reprodutivos observados em cavalos-marinhos *Hippocampus reidi* adultos.

Comportamentos	Definição
Bombeando	O macho contrai a barriga, abrindo a bolsa.
Cópula	O macho e a fêmea sobem juntos na coluna d'água, tocando seus poros genitais para colocar os ovos na bolsa do macho.
Passeio	Macho e fêmea posicionados lado a lado movem-se próximos ao fundo do tanque e sobre/ao redor dos substratos. Frequentemente, abaixam a cabeça, posicionando o focinho próximo ao tronco.
Rejeição	O macho entrelaça a cauda da fêmea, chamando-a para um passeio, mas ela se recusa, soltando a cauda.
Perseguição	O macho nada atrás da fêmea, às vezes segurando a fêmea com a cauda. Pode ocorrer com um ou mais machos ao mesmo tempo.
Chacoalhando	Após a cópula, o macho e a fêmea chacoalhando seus corpos.
Intrusão	Movendo-se entre os outros dois cavalos-marinhos. Disputa entre dois ou mais machos por uma fêmea, os machos cercam a fêmea.
Segurando outro cavalo-marinho	Um cavalo-marinho entrelaça outro indivíduo pela cauda, que faz movimentos tentando escapar. Pode ser acompanhado de “cabeçadas”.
Lutando	A tentativa de um cavalo-marinho preso de se libertar da cauda de outro cavalo-marinho.
Iluminando	Mudança de cor demonstrando interesse reprodutivo. A parte da barriga fica mais branca.

Fonte: Baseado em Vincent (1994b), Anderson et al. (2011) e Oliveira et al. (2014) com modificações.

Durante o período de aclimação (Etapa 1), a primeira análise dos vídeos que ocorreu quando os cavalos-marinhos estavam agrupados em um tanque comunitário mostrou, a formação de três casais cujos macho engravidaram: sexo/padrão de cores do colar – 1) macho preto/vermelho - ♂PV + fêmea verde brilhante - ♀VB; 2) macho rosa - ♂R + fêmea rosa - ♀R; 3) macho roxo claro - ♂RC + fêmea preta - ♀P). Houve a presença de comportamentos de corte em outros indivíduos, porém sem a cópula. Foi possível observar que um ou mais machos cortejavam as mesmas fêmeas. Mesmo as fêmeas que já haviam copulado também foram cortejadas. Porém, a cópula dessas fêmeas com outros machos além dos respectivos pares não aconteceu. Durante todo o período foram as fêmeas que fizeram a seleção e escolheram o parceiro reprodutivo, e foram os machos que iniciaram a corte. Além disso, a reprodução geralmente ocorria na manhã seguinte a junção no grupo e passados 7 dias os cavalos-marinhos não reproduziam mais. Apenas duas fêmeas não apresentaram comportamento reprodutivo.

Quando os cavalos-marinhos foram separados por sexo (Etapa 2), os machos foram colocados no mesmo aquário para que pudesse acontecer as parições e para que não houvesse mais cópulas com as fêmeas. Devido a isso, as larvas não foram coletadas porque alguns indivíduos pariram no mesmo dia, dificultando a identificação da paternidade das larvas.

Quando ocorreu a segunda junção dos cavalos-marinhos no grupo (Etapa 3), observou-se que dos três casais observados na Etapa 1, apenas um permaneceu fiel e engravidou novamente, o casal 1) ♂PV + ♀VB. Os outros dois casais exibiram comportamentos reprodutivos com os mesmos parceiros mas não reproduziram. Os machos dos casais ainda cortejaram outras fêmeas, e as fêmeas dos casais eram cortejadas por outros machos, mas não copularam. Formou-se um novo casal; 4) macho branco - ♂B + fêmea azul claro - ♀AC, ocorrendo a cópula e a gravidez do macho. Porém, quando ocorreu o nascimento, foi observado em vídeo que nasceram poucas larvas, em torno de 30, sendo a menor desova observada. O macho (♂B) deste casal também era o menor macho do grupo, pesando 16 g e medindo 14 cm. A fêmea (♀AC) pesava 19 g e media 13 cm (Tabela 2).

Quando realizou-se a separação em casais na Etapa 5, os casais escolhidos naturalmente foram: 4) ♂B + ♀AC; 5) macho rosa/preto - ♂RP + fêmea rosa/branca - ♀RB; 2) ♂R + ♀R; 1) ♂PV + ♀VB, e 3) ♂RC + ♀P. Os casais forçados foram: 6) macho bege - ♂Be + fêmea verde - ♀V; 7) macho vermelho - ♂Ve + fêmea amarela/branca - ♀AB; 8) macho verde - ♂V + fêmea branca - ♀B; 9) macho preto/roxo - ♂PR + fêmea azul royal/branco - ♀ARB; 10) macho roxo escuro - ♂RE + fêmea sem coleira - ♀SC.

Entre os casais formados naturalmente, nos primeiros sete dias, quatro casais reproduziram: 4) ♂B + ♀AC; 5) ♂RP + ♀RB; 1) ♂PV + ♀VB, e 3) ♂RC + ♀P). Após o

nascimento das larvas, dois casais: 4) ♂B + ♀AC e; 5) ♂RP + ♀RB reproduziram novamente. Os outros dois casais: 1) ♂PV + ♀VB, e 3) ♂RC + ♀P não reproduziram novamente, e um casal: 2) ♂R + ♀R não reproduziu. Entre os casais forçados, apenas um casal 6) ♂Be + ♀V reproduziu nos primeiros sete dias. Após a parição, o casal não voltou a reproduzir. Os outros quatro casais não reproduziram.

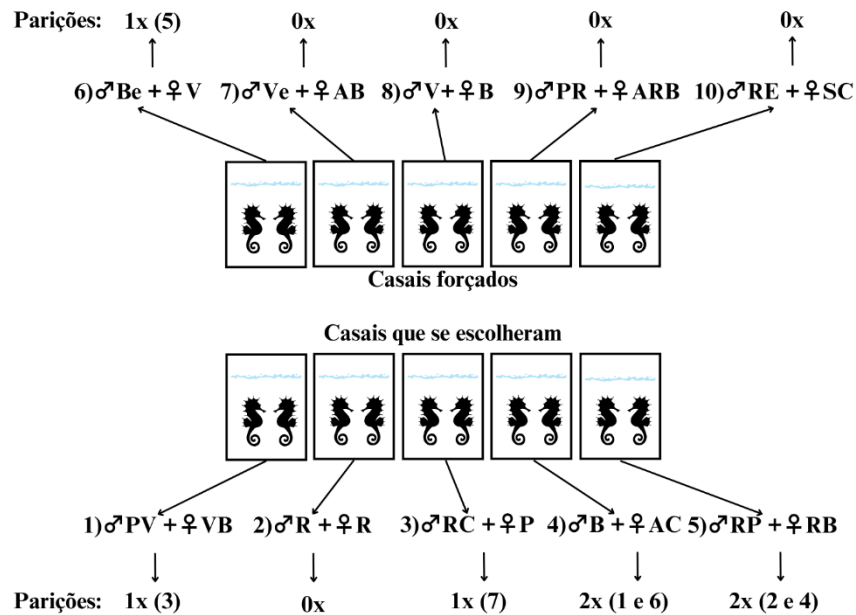
Tabela 2. Peso e comprimento dos casais (designados como sexo/cor do colar) de cavalos-marinhos *Hippocampus reidi* que reproduziram.

Casais	Peso(g)	Comprimento (cm)	Peso (g)	Comprimento (cm)
	♂	♂	♀	♀
4) ♂Branco + ♀Azul claro	16,16	14,5	19,6	13,8
5) ♂Rosa/preto + ♀Rosa/branco	20,9	16,5	19,24	17,7
1) ♂Preto/vermelho + ♀Verde brilhante	24,38	17,7	19,24	17,2
3) ♂Roxo claro + ♀Preto	21,72	16	19,22	16,9
6) ♂Bege + ♀Verde	22,39	16	17,73	16,5

Fonte: Elaborado pelos autores.

Portanto, foram coletadas sete parições de cinco casais: as parições 1 e 6 foram do casal 4) ♂B + ♀AC, e as parições 2 e 4 do casal 5) ♂RP + ♀RB. Esses dois casais foram os que reproduziram duas vezes durante o experimento. A parição 3 foi do casal 1) ♂PV + ♀VB e a parição 7 do casal 3) ♂RC + ♀P. A única parição do casal forçado, 6) ♂Be + ♀V, foi a número 5 (Figura 2).

Figura 2. Representação da separação dos dez casais de *Hippocampus reidi* em casais forçados e casais que se escolheram. As parições estão demonstradas na representação indicando a qual casal pertence, mostrando o número de vezes (x) que o casal reproduziu e entre parênteses o número de identificação da parição.



Fonte: Elaborado pelos autores.

Durante todo o experimento, nos casais que mantiveram os pares, foi possível observar uma interação maior, mesmo quando os machos estavam grávidos. A cópula ocorreu sempre no dia seguinte à junção ao grupo, e após 7 dias sem reprodução, os cavalos-marinhos não se reproduziram mais. Foi possível observar uma diminuição dos comportamentos de cortejo com o passar dos dias; a partir do quinto dia os comportamentos tornaram-se mais escassos e ausentes.

Ao final do experimento (Etapa 5), o grupo foi unido uma última vez, e apenas os casais, 4) ♂B + ♀AC e, 5) ♂RP + ♀RB, permaneceram fiéis aos seus respectivos pares.

2.2.3.2 Comprimento e peso

A análise de Kruskal-Wallis revelou diferenças significativas no comprimento das larvas entre as parições dos casais de cavalos-marinhos ($\chi^2 = 38,707$, $p < 0,001$). O teste post hoc de Dunn com correção de Bonferroni identificaram que as parições 1 e 3; 1 e 5; 1 e 6; 1 e 7; 2 e 3 apresentaram diferenças significativas em relação ao comprimento (Tabela 3).

Tabela 3. Comparação do comprimento das larvas das sete desovas coletadas dos cinco casais de cavalos-marinhos *Hippocampus reidi*. Resultado do teste de Dunn (valor z e p) determinado pela correção de Bonferroni. *Indica diferença significativa.

Parições	1	2	3	4	5	6
Casais	4)♂B+♀AC	5)♂RP+♀RB	1)♂PV+♀VB	5)♂RP+♀RB	6)♂Be+♀V	4)♂B+♀AC
2	-1.997224					
5)♂RP+♀RB	0.4809					
3	-5.247283	-3.250058				
1)♂PV+♀VB	0.0000*	0.0121*				
4	-2.452498	-0.455274	2.794784			
5)♂RP+♀RB	0.1490	1.0000	0.0545			
5	-4.150637	-2.153413	1.096645	-1.698139		
6)♂Be+♀V	0.0003*	0.3285	1.0000	0.9396		
6	-4.456368	-2.459144	0.790914	-2.003870	-0.305731	
4)♂B+♀AC	0.0001*	0.1462	1.0000	0.4734	1.0000	
7	-3.864844	-1.867620	1.382438	-1.412346	0.285792	0.591523
3)♂RC+♀P	0.0012*	0.6491	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000

Fonte: Elaborado pelos autores.

Também houve diferenças no peso ($\chi^2 = 97$, $p < 0,001$). As parições 1 e 3; 1 e 4; 1 e 5; 1 e 6; 1 e 7; 2 e 6; 2 e 7; 3 e 7; 4 e 7; 5 e 7 apresentaram diferenças significativas (Tabela 4).

Tabela 4. Comparação do peso das larvas das sete parições coletadas dos cinco casais de cavalos-marinhos *Hippocampus reidi*. Resultado do teste de Dunn (valor z e p) determinado pela correção de Bonferroni. *Indica diferença significativa.

Parições	1	2	3	4	5	6
Casais	4)♂B+♀AC	5)♂RP+♀RB	1)♂PV+♀VB	5)♂RP+♀RB	6)♂Be+♀V	4)♂B+♀AC
2	-1.365790					
5)♂RP+♀RB	1.0000					
3	-4.097372	-2.731581				
1)♂PV+♀VB	0.0004*	0.0662				
4	-4.097372	-2.731581	0.000000			
5)♂RP+♀RB	0.0004*	0.0662	1.0000			
5	-4.097372	-2.731581	0.000000	0.000000		
6)♂Be+♀V	0.0004*	0.0662	1.0000	1.0000		
6	-6.828954	-5.463163	-2.731581	-2.731581	-2.731581	
4)♂B+♀AC	0.0000*	0.0000*	0.0662	0.0662	0.0662	
7	-8.194745	-6.828954	-4.097372	-4.097372	-4.097372	-1.365790
3)♂RC+♀P	0.0000*	0.0000*	0.0004*	0.0004*	0.0004*	1.0000

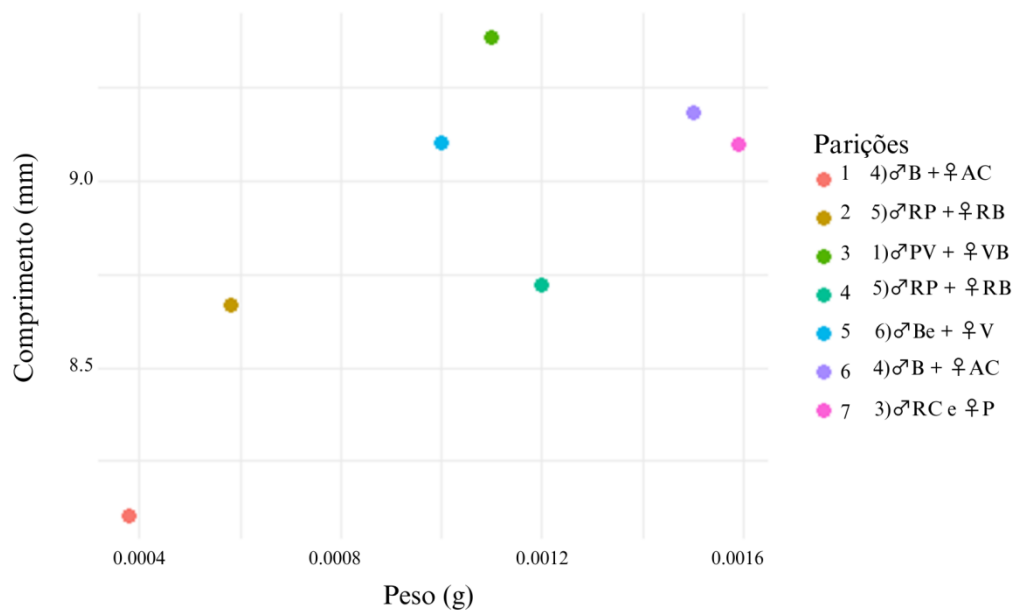
Fonte: Elaborado pelos autores.

A parição 5 do casal 6) ♂Be + ♀V teve diferença significativa no comprimento e peso das larvas quando comparada as desovas 1 e 7. Não houve diferença significativa entre as demais parições.

As parições 1 e 6 do casal 4) ♂B + ♀AC; 2 e 4 do casal 5) ♂RP + ♀RB são dos mesmos casais que reproduziram duas vezes. Houve diferença significativa da primeira para a segunda parição (1 e 6) para o comprimento das larvas e também para o peso, indicando uma melhoria na segunda parição em relação à primeira. Para 2 e 4 não houve diferença, os comprimentos e peso das larvas foram semelhantes em ambas as parições.

Mesmo não havendo diferença estatística comparando com todas as outras amostras, foi possível observar que as maiores larvas em tamanho eram da parição 3 e em peso eram das parições 6 e 7 (Figura 3).

Figura 3. Gráfico de dispersão mostrando a correlação entre peso médio (g) e comprimento médio (mm) das sete parições coletadas de cinco casais de cavalos-marinhos *Hippocampus reidi*.



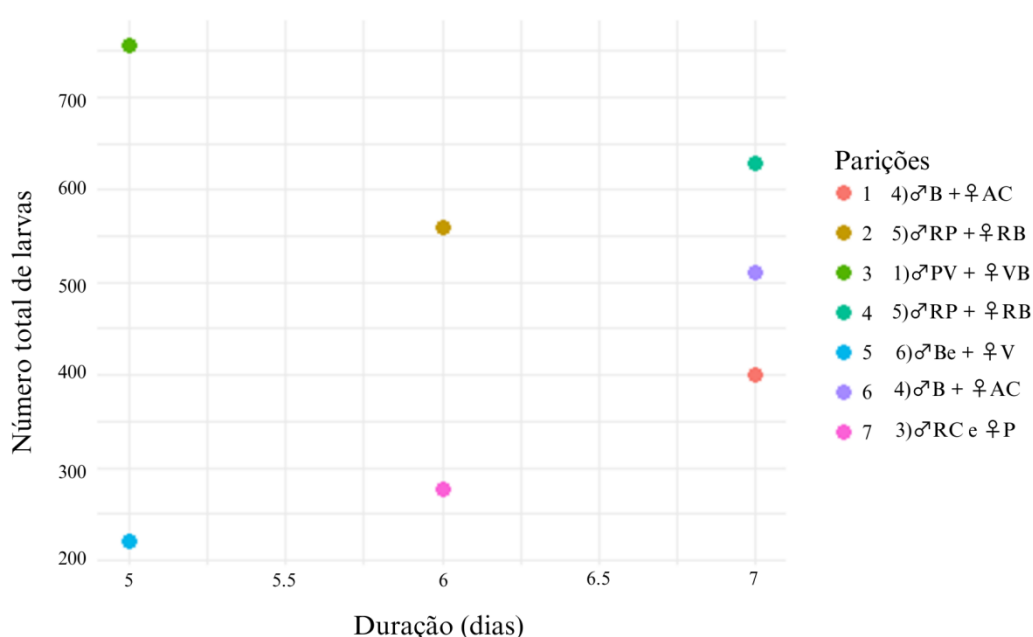
Fonte: Elaborado pelos autores.

Também é possível observar que a correlação média de peso e comprimento médio nas parições 6 e 7 foram melhores com larvas grandes e pesadas. Na desova 1, as larvas eram pequenas e leves.

2.2.3.3 Número de larvas e teste de resistência

A análise estatística, da quantidade de larvas por parição e do tempo que as larvas levaram para morrer (em dias) no teste de inanição, não revelou diferenças significativas entre as partições analisadas. Isto sugere que o forçamento do casal não influenciou o número de larvas produzidas. Portanto, os resultados indicam que as variações observadas no número de larvas não são estatisticamente relevantes e podem indicar homogeneidade nas respostas reprodutivas dos cavalos-marinhos.

Figura 4. Gráfico de dispersão mostrando a correlação entre duração (dias) do teste de inanição e a quantidade de larvas das sete partições dos cinco casais de cavalos-marinhos *Hippocampus reidi*.



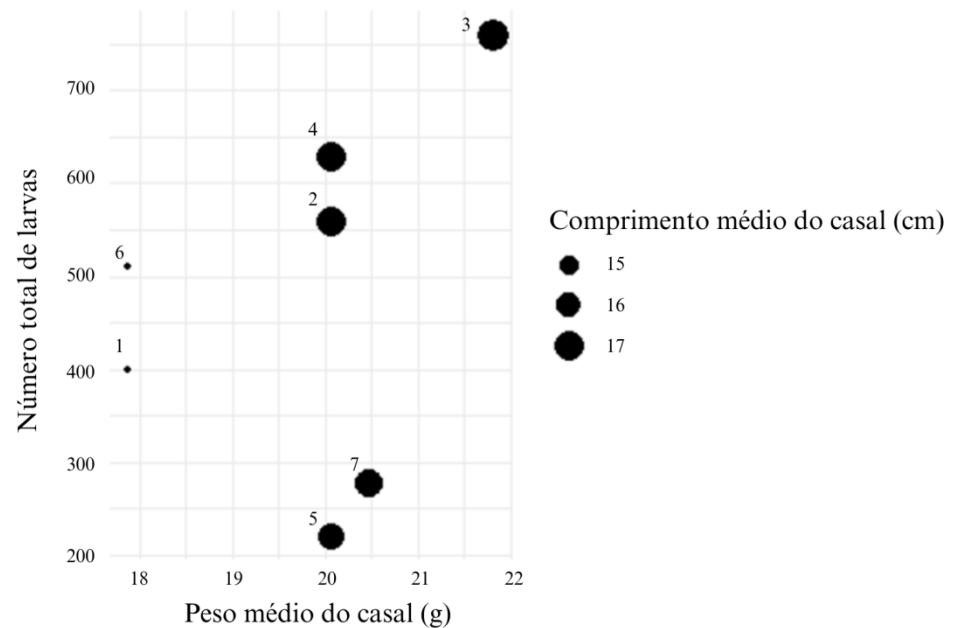
Fonte: Elaborado pelos autores.

Embora não havendo diferença estatística, observou-se que a amostra da partição 5 do casal 6) ♂Be + ♀V foi numericamente menor em quantidade de larvas e menor em dias de duração no teste de inanição. A figura 4 também mostra um aumento no número de larvas das amostras da desova 2 para 4, assim como nas amostras 1 para 6 (que são as amostras dos mesmos casais que reproduziram duas vezes). A amostra 3 teve o maior número de larvas, mas no teste de inanição durou menos dias.

2.2.3.4 Correlação entre tamanho do casal e número de larvas

Não houve correlação entre o número de larvas e o comprimento ($p = 0,25$) ou o peso ($p = 0,69$) dos machos e o comprimento ($p = 0,56$) ou o peso ($p = 0,24$) das fêmeas (Figura 5).

Figura 5. Correlação entre peso (g) e comprimento (cm) dos casais de cavalos-marinhos *Hippocampus reidi* com o quantidade de larvas paridas. Os números dos lados dos círculos no gráfico são correspondentes as parições.



Fonte: Elaborado pelos autores.

Portanto, para o comprimento ou peso do casal, o número de larvas é estatisticamente semelhante e não depende do tamanho do casal.

2.2.4 DISCUSSÃO

Neste estudo foi possível observar que embora o número de machos e fêmeas fosse o mesmo, alguns indivíduos (duas fêmeas) não apresentaram comportamento reprodutivo durante o experimento. Isto pode ser explicado pelo fato de alguns cavalos-marinhos parecerem ser sexualmente capazes, mas ainda não atingiram a maturidade sexual. Isso também foi observado por Silveira e Fontoura (2010), que relataram a dificuldade de visualizar a maturidade das fêmeas e também sugeriram monitorar o acasalamento, se há produção de ovos e respostas aos estímulos de desova. Hora e Joyeux (2009) relataram que as fêmeas de *H. reidi* atingem a maturidade sexual com 109 dias de idade e com uma média de tamanho de 8,38 cm. No presente estudo, pelo fato dos animais serem provenientes da natureza, seria difícil prever a idade das fêmeas. Porém, levando em consideração o tamanho médio para a maturidade das fêmeas que seria 8,38 cm segundo Hora e Joyeux (2009), todas as fêmeas do experimento estavam acima deste tamanho (média 15,79 cm).

Além disso, Masonjones e Lewis (2000) explicaram a receptividade sexual em fêmeas de cavalos-marinhos *H. zosteræ* e mostraram que as fêmeas precisam de um investimento de tempo relativamente longo para se prepararem para acasalar com os machos. Lin et al. (2012) observaram que a competição de acasalamento entre os machos pode influenciar a eficiência reprodutiva, afetando a preparação dos gametas das fêmeas, fator que pode estar correlacionado com a não reprodução de duas fêmeas durante o experimento.

Desta forma, a razão sexual operacional (OSR) pode ter influenciado a forma como os animais realizaram a corte. Vincent (1994a) cita que há uma tendência de machos não pareados competirem pelas fêmeas para obter o acasalamento. Vincent (1994a) e Fourie (1997) mostraram que nas espécies *H. fuscus* e *H. capensis*, os cavalos-marinhos exibem papéis sexuais convencionais, onde os machos cortejam as fêmeas e os machos iniciam o processo de cortejo. Com *H. reidi* em cativeiro foi possível observar as fêmeas sendo disputadas por mais de um macho, e os machos competindo por mais de uma fêmea. Foram as fêmeas que fizeram a seleção e escolheram o parceiro reprodutivo, e foram os machos que iniciaram a corte durante todo o período do experimento. Esses comportamentos também foram observados com a mesma espécie por Silveira (2009). Além do mais, Masonjones e Lewis (1996) e Masonjones e Rose (2019), observaram em *H. zosteræ* que após 7 dias juntos, se não houvesse reprodução, os casais não reproduziriam mais. Isto corrobora com o observado em *H. reidi*.

De acordo com Foster e Vincent (2004), a maioria das espécies de cavalos-marinhos exibem a monogamia. No presente estudo foi possível observar que dois casais permaneceram fiéis aos seus parceiros, mantendo a monogamia por mais de um ciclo reprodutivo. Os demais casais optaram por trocar de pares, sendo que o cativeiro pode ter sido o principal fator. Silveira (2009) verificou a poligamia em *H. reidi* e considerou que o cativeiro pode ter influenciado na escolha. Esse fato pode ser explicado porque na natureza, os cavalos-marinhos vão possuir uma interação social menor e uma baixa competição por acasalamento e em cativeiro o oposto é evidenciado (Vincent 1994a). Lourie et al. (1999b) e Woods (2000) também observaram que *H. fuscus* e *H. abdominalis* não demonstraram monogamia em cativeiro.

Com relação ao sucesso reprodutivo, segundo Foster e Vincent (2004), os indicadores de boa reprodução são o número de descendentes e o seu tamanho. Silveira (2009) encontrou em média 392,54 recém-nascidos por gestação com comprimento médio de 0,6 mm. Isto corrobora com os resultados do presente estudo que mostram que as larvas nasceram com uma média de 8 mm de tamanho e o número de larvas paridas ficou entre 221 (menor parição) e 756 (maior parição). Levando em consideração o peso, a parição mais leve (1) apresentou média de 0,38 mg e a mais pesada 1,59 mg (7). Planas et al. (2020a) mostraram que, recém-nascidos de

H. reidi com dietas pré-reprodutivas pesavam entre 0,22 mg a 0,28 mg. Castro et al. (2024) trabalhando com dietas dos reprodutores da mesma espécie, mostraram que as larvas nasceram com média de 1,8 mg. Larvas da parição 6, que é a segunda do menor casal, pesavam 1,5 mg, demonstrando uma melhoria na segunda parição do casal. Houve também aumento de peso (0,58 mg) da parição 2 para 1,1 mg da parição 4, oriundas do mesmo casal. Isso demonstra que, os casais que escolheram naturalmente seus parceiros e tiveram mais de uma reprodução, apresentaram melhoria na qualidade e na quantidade de larvas paridas, o que pode estar relacionado à formação de vínculo entre o par. Espera-se que os vínculos auxiliem no desempenho reprodutivo (Vincent 1995). Vincent (1994b) mostrou que quanto mais tempo os casais passarem juntos, maior será a capacidade do macho de produzir uma desova maior. O reforço dos vínculos do casal também facilita a sincronização reprodutiva entre os indivíduos do casal (Vincent 1995).

A relação entre o peso e tamanho dos reprodutores (machos e fêmeas) e o número de larvas não apresentou diferença significativa. Silveira (2009) não encontrou correlação entre o número de larvas e o comprimento dos machos de *H. reidi*. Entretanto, outros autores mostraram uma correlação entre o tamanho do macho e da bolsa com o tamanho da parição de *H. abdominalis* e *H. guttulatus* (Woods 2007; Faleiro et al. 2016). Já Vincent e Giles (2003) demonstraram que o tamanho da prole apresentou relação linear positiva com o peso e altura da fêmea, não apresentando correlação expressiva com o tamanho do macho em *H. whitei*. Já Lin et al. (2012), demonstraram que os pares jovens (menores também em tamanho) de cavalos-marinhos *H. erectus*, apresentaram menor tamanho de parição, baixa sobrevivência das larvas e crescimento da prole, quando comparados com os pares mais velhos (maiores em tamanho). No entanto, os pares mais jovens poderiam melhorar sua eficiência reprodutiva em partições sucessivas, aumentando o tamanho da parição e a taxa de sobrevivência das larvas.

Embora espera-se que, a capacidade da bolsa incubadora do macho seja o principal fator determinante para o tamanho da parição, o tamanho dos recém-nascidos está principalmente relacionado com o tamanho da fêmea e do ovo (Foster e Vincent 2004). Machos e fêmeas tentarão otimizar seu potencial reprodutivo, tentando não desperdiçar ovos ou espaço na bolsa incubadora. Este é um dos benefícios de encontrar um parceiro com capacidade reprodutiva semelhante (Faleiro et al. 2016). Silveira (2009) relatou a ocorrência de ovos caindo no fundo do aquário, tendo ultrapassado a capacidade da bolsa do macho em *H. reidi* em armazenar ovos. No presente estudo, não houve ovos no fundo do aquário, o que confirma que a capacidade da bolsa do macho não foi ultrapassada. Dzyuba et al. (2006) demonstraram que, tanto machos quanto fêmeas, e a qualidade dos cavalos-marinhos progenitores irão influenciar

a sobrevivência e a taxa de crescimento do *H. kuda*. Já Lin et al. (2012) relatam que o tamanho da prole está correlacionado com o investimento das fêmeas e o tamanho dos ovos, o tempo de gestação e o fornecimento de nutrientes dos machos.

Com isso, a resistência das larvas estaria diretamente correlacionada com a qualidade nutricional das reservas vitelinas, que está diretamente ligada à qualidade do casal (Shan et al. 2008). Castro et al. (2024) demonstraram com *H. reidi* que quando os casais são alimentados com uma maior frequência e melhor nutridos, as larvas tornam-se mais resistentes, sobrevivendo 96 horas em inanição. Novelli et al. (2015) relataram que, a mesma espécie contém reservas vitelinas por até 48 horas. O teste de inanição do presente estudo, mostrou larvas de cavalos-marinhos que duraram até uma semana. Existe uma correlação entre o tamanho dos ovos e a quantidade de reserva vitelina, onde fêmeas maiores podem produzir ovos maiores (Faleiro e Narciso 2013). No presente experimento, na primeira parição, o casal com menor tamanho apresentou 400 larvas que, no teste de inanição, duraram 7 dias; na segunda desova o número de larvas aumentou para 510 larvas que também duraram 7 dias. Isto demonstra a capacidade das fêmeas menores de produzir ovos maiores e também a capacidade de parições sucessivas em aumentar a quantidade da prole.

Embora tenha ocorrido a parição de um casal forçado, a não reprodução dos demais casais formados artificialmente mostraram a importância do sistema de pareamento nesta espécie de cavalo-marinho, onde forçar os casais pode levar ao fracasso do acasalamento e a não geração de larvas. Por esse motivo, os comportamentos reprodutivos, incluindo a corte e a escolha do parceiro, são essenciais para o sucesso dos animais criados em cativeiro (Mills e Vevers 1989). O salmão-do-Atlântico *Salmo salar*, por exemplo, pode experimentar uma redução de até 50% no sucesso reprodutivo quando em cativeiro devido à redução dos comportamentos de corte (Fleming et al. 1997). Já em *Gadus morhua* a não competição pelos parceiros, a não opção de escolha pelos parceiros e outros componentes dos sistemas de acasalamento podem afetar negativamente a taxa de ovos a serem fertilizados e o sucesso do desenvolvimento de ovos e larvas fertilizados (Rowe e Hutchings 2003).

Mais estudos são necessários, especialmente em longo prazo, para compreender como o sistema de acasalamento influencia a qualidade das larvas de *H. reidi*. Porém, no presente estudo foi possível observar a necessidade do sistema de pareamento, que, correlacionado com outros estudos como de nutrição (Castro et al. 2024; Sousa et al. 2024), poderia aumentar a sobrevivência e a qualidade de larvas desta espécie em cativeiro.

2.2.5 CONCLUSÃO

Em conclusão, forçar os casais de *Hippocampus reidi* pode resultar na inibição da reprodução e na incapacidade de gerar descendentes. Assim, o sistema de pareamento e os comportamentos de corte e reprodutivos são essenciais para melhorar a qualidade das larvas de *Hippocampus reidi* em cativeiro. No mais, as parições sucessivas dos mesmos casais formados naturalmente, podem melhorar a qualidade da prole.

2.2.6 REFERÊNCIAS

- Anderson PA, Berzins IK, Fogarty F, Hamlin HJ, Guillette LJ (2011) Sound, stress, and seahorses: the consequences of a noisy environment to animal health. *Aquaculture* 311(1-4), 129-138.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.11.013>
- Brandão ML, Dorigão-Guimarães F, Bolognesi MC, Gauy ACDS, Pereira AVS, Vian L, Carvalho TB, Gonçalves-de-Freitas E (2021) Understanding behaviour to improve the welfare of an ornamental fish. *Journal of Fish Biology* 99(3), 726-739.
<https://doi.org/10.1111/jfb.14802>
- Brown C, Laland K, Krause J (2011) *Fish cognition and behavior*. John Wiley & Sons.
- Castro JJP, de Carvalho CVA, Passini G, Lehrback BDC, da Silva CA, Neto RR, Hora MSC, Tsuzuki MY (2024) Feeding longsnout seahorse *Hippocampus reidi* broodstock at different frequencies influences production of eggs and quality of the offspring. *Aquaculture International* 32(4), 4045-4060.
<https://doi.org/10.1007/s10499-023-01364-5>
- Dzyuba B, Van Look KJ, Cliffe A, Koldewey HJ, Holt WV (2006) Effect of parental age and associated size on fecundity, growth and survival in the yellow seahorse *Hippocampus kuda*. *Journal of experimental biology* 209(16), 3055-3061.
<https://doi.org/10.1242/jeb.02336>
- Emlen ST, Oring LW (1977) Ecology, sexual selection, and the evolution of mating systems. *Science* 197(4300), 215-223.
<https://doi.org/10.1126/science.327542>
- Faleiro, F., Narciso, L., Vicente, L., 2008. Seahorse behaviour and aquaculture: how to improve *Hippocampus guttulatus* husbandry and reproduction?. *Aquaculture*, 282(1-4), 33-40.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.05.038>
- Faleiro F, Almeida AJ, Ré P, Narciso, L (2016) Size does matter: an assessment of reproductive potential in seahorses. *Animal Reproduction Science* 170, 61-67.
<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2016.04.011>

Faleiro F, Narciso L (2013) The disadvantages of mating outside home: How breeding in captivity affects the reproductive success of seahorses?. *Journal of Sea Research* 78, 85-90.
<https://doi.org/10.1016/j.seares.2012.10.004>

Fleming IA, Lamberg A, Jonsson B (1997) Effects of early experience on the reproductive performance of Atlantic salmon. *Behavioral Ecology*, 8(5), 470-480.
<https://doi.org/10.1093/beheco/8.5.470>

Flynn AJ, Ritz DA (1999) Effect of habitat complexity and predatory style on the capture success of fish feeding on aggregated prey. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 79(3), 487-494.
<https://doi.org/10.1017/S0025315498000724>

Foster SJ, Vincent ACJ (2004) Life history and ecology of seahorses: implications for conservation and management. *J Fish Biol* 65: 1-61.
<https://doi.org/10.1111/j.0022-1112.2004.00429.x>

Fourie D (1997) Sex-roles and the influence of size on mating competition in the Knysna seahorse, *Hippocampus capensis*. Doctoral dissertation, Honours Thesis, University of Stellenbosch.

Giaquinto PC, Volpato GL (1997) Chemical communication, aggression, and conspecific recognition in the fish Nile tilapia. *Physiology & Behavior* 62(6), 1333-1338.
[https://doi.org/10.1016/S0031-9384\(97\)00358-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9384(97)00358-8)

Huntingford F (2012) *The study of animal behaviour*. Springer Science & Business Media.

Hora MDSC, Joyeux JC (2009) Closing the reproductive cycle: growth of the seahorse *Hippocampus reidi* (Teleostei, Syngnathidae) from birth to adulthood under experimental conditions. *Aquaculture* 292(1-2), 37-41.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.03.034>

Hora MDSC, Joyeux JC, Rodrigues RV, de Sousa-Santos LP, Gomes LC, Tsuzuki MY (2016) Tolerance and growth of the longsnout seahorse *Hippocampus reidi* at different salinities. *Aquaculture* 463, 1-6.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.05.004>

Hora MDSC, Joyeux JC, Tsuzuki MY (2018) Stocking density for the seahorse *Hippocampus reidi* in the pelagic phase and insights on the benthic phase in culture conditions. *Aquaculture* 484, 268-271.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.11.042>

Houck LD, Arnold SJ (2003) Courtship and mating behavior. *Reproductive biology and phylogeny of Urodela*, pp. 383-424.

IUCN (2019). The IUCN Red List of Threatened Species. <http://www.redlist.org> (accessed 17 June 2024).

Jennions MD, Moller AP, Petrie M (2001) Sexually selected traits and adult survival: a meta-analysis. *The Quarterly Review of Biology* 76(1), 3-36.

<https://doi.org/10.1086/393743>

Jones AG, Ratterman NL (2009) Mate choice and sexual selection: what have we learned since Darwin?. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106(supplement_1), 10001-10008.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0901129106>

Kirkwood JK (2003) Welfare, husbandry and veterinary care of wild animals in captivity: changes in attitudes, progress in knowledge and techniques. *International Zoo Yearbook* 38(1), 124-130.
<https://doi.org/10.1111/j.1748-1090.2003.tb02072.x>

Koldewey HJ, Martin-Smith KM (2010) A global review of seahorse aquaculture. *Aquaculture* 302(3-4), 131-152.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.02.018>

Kvarnemo C, Moore GI, Jones AG, Nelson WS, Avise JC (2000) Monogamous pair bonds and mate switching in the Western Australian seahorse *Hippocampus subelongatus*. *Journal of Evolutionary Biology* 13(6), 882-888.
<https://doi.org/10.1046/j.1420-9101.2000.00232.x>

Liley NR, Stacey NE (1983) 1 hormones, pheromones, and reproductive behavior in fish. In *Fish physiology*, Academic Press, v. 9, pp. 1-63.

Lourie SA, Pritchard JC, Casey SP, Ky TS, Hall HJ, Vincent ACJ (1999a) The taxonomy of Vietnam's exploited seahorses (family Syngnathidae). *Biol. J. Linn. Soc* 66: 231-256.
<https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1999.tb01891.x>

Lourie SA, Vincent ACJ, Hall HJ (1999b) *Seahorses: An identification guide to the world's species and their conservation*. London: Project Seahorse.

Lourie SA (2003) *Measuring seahorses. Technical Report, 4. Project Seahorse*.

Lin Q, Li G, Qin G, Lin J, Huang L, Sun H, Feng P (2012) The dynamics of reproductive rate, offspring survivorship and growth in the lined seahorse, *Hippocampus erectus* Perry, 1810. *Biology Open* 1(4), 391-396.
<https://doi.org/10.1242/bio.2012108>

Masonjones HD, Lewis SM (1996) Courtship behavior in the dwarf seahorse, *Hippocampus zosterae*. *Copeia* 634-640.
<https://doi.org/10.2307/1447542>

Masonjones HD, Lewis SM (2000) Differences in potential reproductive rates of male and female seahorses related to courtship roles. *Animal Behaviour* 59(1), 11-20.
<https://doi.org/10.1006/anbe.1999.1269>

Masonjones HD, Rose E (2019) When more is not merrier: Using wild population dynamics to understand the effect of density on ex situ seahorse mating behaviors. *Plos one* 14(7), e0218069.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218069>

Melo-Valencia AF, Ospina-Salazar GH, Gómez-León J, Cortés-Pineda FA (2013) Effect of salinity on the survival and growth of seahorse fry *Hippocampus reidi* ginsburg in captivity. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras-INVEMAR* 42(1), 193–201. <https://doi.org/10.25268/bimc.invemar.2013.42.1.69>

Mills D, Vevers G (1989) *The Tetra Encyclopedia of Tropical Freshwater Fishes*. Tetra Press.

Novelli B, Socorro JA, Caballero MJ, Otero-Ferrer F, Segade-Botella A, Molina Domínguez L (2015) Development of seahorse (*Hippocampus reidi*, Ginsburg 1933): histological and histochemical study. *Fish Physiology and Biochemistry* 41, 1233–1251. <https://doi.org/10.1007/s10695-015-0082-4>

Oliveira TPR, Ladich F, Abed-Navandi D, Souto AS, Rosa IL (2014) Sounds produced by the longsnout seahorse: a study of their structure and functions. *Journal of Zoology* 294(2), 114–121. <https://doi.org/10.1111/jzo.12165>

Olivotto I, Avella MA, Sampaolesi G, Piccinetti CC, Ruiz PN, Carnevali O (2008) Breeding and rearing the longsnout seahorse *Hippocampus reidi*: rearing and feeding studies. *Aquaculture* 283(1–4), 92–96. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.07.026>

Planas M, Burhans R, Simões N (2017a) Seahorses and pipefish. In: *Marine Ornamental Species Aquaculture*, p. 299–326.

Planas M, Olivotto I, González MJ, Laurà R, Zarantoniello M (2020) A multidisciplinary experimental study on the effects of breeders diet on newborn seahorses (*Hippocampus guttulatus*). *Frontiers in Marine Science* 7, 638. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00638>

Planas M, Olivotto I, González MJ, Laurà R, Angeletti C, Amici A, Zarantoniello M (2020b) Pre-breeding diets in the seahorse *Hippocampus reidi*: how do they affect fatty acid profiles, energetic status and histological features in newborn? *Frontiers in Marine Science* 8, 688058. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.688058>

Planas M (2022) Implications of holdfast availability and patchiness on juvenile seahorse (*Hippocampus reidi*) condition and welfare: Simulations in captivity. *Aquaculture, Fish and Fisheries* 2(6), 552–561. <https://doi.org/10.1002/aff2.85>

Roberts SC, Gosling LM (2004) Manipulation of olfactory signaling and mate choice for conservation breeding: a case study of harvest mice. *Conservation Biology* 18(2), 548–556. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2004.00196.x>

Rowe S, Hutchings JA (2003) Mating systems and the conservation of commercially exploited marine fish. *Trends in Ecology & Evolution* 18(11), 567–572. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2003.09.004>

Shan X, Quan H, Dou S (2008) Effects of delayed first feeding on growth and survival of rock bream *Oplegnathus fasciatus* larvae. *Aquaculture* 277(1–2), 14–23.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.02.010>

Silveira RB (2009) Sobre o comportamento sexual do cavalo-marinho *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933 (Pisces: Syngnathidae) em laboratório. *Biociências (On-line)* 17(1).

Silveira RB, Fontoura NF (2010) Fecundity and fertility of the longsnout seahorse, *Hippocampus reidi* (Teleostei: Syngnathidae), in tropical Brazil. *Revista Brasileira de Biociências* 8(4).

Souza-Santos LP, Regis CG, Mélo RC, Cavalli RO (2013) Prey selection of juvenile seahorse *Hippocampus reidi*. *Aquaculture* 404, 35–40.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.04.009>

Sousa EMO, de Oliveira N, da Silva IA, Ozório RÁ, Lopes EM, Martins ML, Tsuzuki MY (2025) Use of the microalgae *Tisochrysis lutea* in a “green water” system increases the absorption area in the intestine of larvae of the seahorse *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933. *Fish Physiology and Biochemistry* 51(1), 1–12.
<https://doi.org/10.1007/s10695-024-01428-0>

Stölting KN, Wilson AB (2007) Male pregnancy in seahorses and pipefish: beyond the mammalian model. *BioEssays* 29(9), 884–896.
<https://doi.org/10.1002/bies.20626>

Vincent ACJ (1994a) Operational sex ratio in seahorses. *Behaviour* 128(1–2), 153–167.
<https://doi.org/10.1163/156853994X00410>

Vincent ACJ (1994b) Seahorse exhibit conventional sex roles in mating competition, despite male pregnancy. *Behaviour* 128(1–2), 135–151.
<https://doi.org/10.1163/156853994X00401>

Vincent AC, Sadler LM (1995) Faithful pair bonds in wild seahorses, *Hippocampus whitei*. *Animal Behaviour* 50(6), 1557–1569.
[https://doi.org/10.1016/0003-3472\(95\)80011-5](https://doi.org/10.1016/0003-3472(95)80011-5)

Vincent ACJ, Giles BG (2003) Correlates of reproductive success in a wild population of *Hippocampus whitei*. *Journal of Fish Biology* 63, 344–355.
<https://doi.org/10.1046/j.1095-8649.2003.00164.x>

Vincent AC, Foster SJ, Koldewey HJ (2011) Conservation and management of seahorses and other Syngnathidae. *Journal of Fish Biology* 78(6), 1681–1724.
<https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2011.03003.x>

Wilson AB, Ahnesjö I, Vincent AC, Meyer A (2003) The dynamics of male brooding, mating patterns, and sex roles in pipefishes and seahorses (family Syngnathidae). *Evolution* 57(6), 1374–1386.
<https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2003.tb00345.x>

Willadino L, Souza-Santos LP, Mélo RC, Brito AP, Barros NC, Araújo-Castro CM, Galvao DB, Gouveia A, Regis CG, Cavalli RO (2012) Ingestion rate, survival and growth of newly released seahorse *Hippocampus reidi* fed exclusively on cultured live food items. *Aquaculture* 360, 10–16.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.06.015>

Woods CMC (2000) Preliminary observations on breeding and rearing the seahorse *Hippocampus abdominalis* (Teleostei: Syngnathidae) in captivity. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 34, 475–485.

<https://doi.org/10.1080/00288330.2000.9516952>

3. CONCLUSÕES GERAIS

O presente estudo mostrou que o isolamento de curto prazo pode levar a mudanças comportamentais que indicam estresse e redução no consumo de alimentos em cavalos-marinhos adultos da espécie *Hippocampus reidi*. Isto sugere que o isolamento a longo prazo pode ter efeitos deletérios no bem-estar e sobrevivência dos cavalos-marinhos ou mesmo efeitos letais nas espécies. Portanto, os animais desta espécie devem ser sempre mantidos em grupos, tanto para fins de aquário como de pesquisa.

Além disso, forçar os casais de *Hippocampus reidi* pode resultar na não reprodução e na incapacidade de gerar descendentes. Assim, o sistema de acasalamento e os comportamentos de corte são importantes para melhorar a qualidade das larvas de *Hippocampus reidi* em cativeiro.

No entanto, mais pesquisas com os comportamentos dos cavalos-marinhos *Hippocampus reidi* são necessárias, principalmente visando experimentos em cativeiro a longo prazo para compreender as modificações comportamentais que o cativeiro propicia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO GERAL

- AURÉLIO, M.; FALEIRO, F.; LOPES, V. M.; PIRES, V.; LOPES, A. R.; PIMENTEL, M. S.; REPOLHO, T.; BAPTISTA, M.; NARCISO, L.; ROSA, R. Physiological and behavioral responses of temperate seahorses (*Hippocampus guttulatus*) to environmental warming. **Marine biology**, v. 160, p. 2663-2670, 2013.
- BARTON, B. A.; IWAMA, G. K. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. **Annual Review of fish diseases**, v. 1, p. 3-26, 1991.
- BATZINA, A.; KARAKATSOULI, N. The presence of substrate as a means of environmental enrichment in intensively reared gilthead seabream *Sparus aurata*: Growth and behavioral effects. **Aquaculture**, v. 370, p. 54-60, 2012.
- BERGQVIST, J.; GUNNARSSON, S. Finfish aquaculture: Animal welfare, the environment, and ethical implications. **Journal of Agricultural and Environmental Ethics**, v. 26, n. 1, p. 75-99, 2013.
- BLASER, R. E.; PENALOSA, Y. M. Stimuli affecting zebrafish (*Danio rerio*) behavior in the light/dark preference test. **Physiology & behavior**, v. 104, n. 5, p. 831-837, 2011.
- BRANDÃO, M. L.; BRAITHWAITE, V. A.; GONÇALVES-DE-FREITAS, E. Isolation impairs cognition in a social fish. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 171, p. 204–210, 2015.
- BRANDÃO, M. L.; DORIGÃO-GUIMARÃES, F.; BOLOGNESI, M. C.; GAUY, A. C. D. S.; PEREIRA, A. V. S.; VIAN, L.; CARVALHO, T. B.; GONÇALVES-DE-FREITAS, E. 2021. Understanding behaviour to improve the welfare of an ornamental fish. **Journal of Fish Biology**, v. 99, n. 3, p. 726-739, 2021.
- BROWN, C.; LALAND, K.; KRAUSE, J. **Fish cognition and behavior**. John Wiley & Sons, 2011.
- CASTRO, J. J. P.; DE CARVALHO, C. V. A.; PASSINI, G.; LEHRBACK, B. D. C.; DA SILVA, C. A.; NETO, R. R.; TSUZUKI, M. Y. Feeding longsnout seahorse *Hippocampus reidi* broodstock at different frequencies influences production of eggs and quality of the offspring. **Aquaculture International**, v. 32, n. 4, p. 4045-4060, 2024.
- CIJI, A.; AKHTAR, M. S. Stress management in aquaculture: A review of dietary interventions. **Reviews in Aquaculture**, v. 13, p. 4, n. 2190-2247, 2021.
- CLEMENTS, J. C.; HUNT, H. L. Marine animal behaviour in a high CO₂ ocean. **Marine Ecology Progress Series**, v. 536, p. 259-279, 2015.
- COLGAN, P. The motivational basis of fish behaviour. In: **The behaviour of teleost fishes**. Boston, MA: Springer US, 1993. p. 23-46.

COUNCIL, F. A. W. FAWC updates the five freedoms. **Veterinary Record.**, v. 131, p. 357, 1992.

DA SILVA-PINTO, T.; SILVEIRA, M. M.; DE SOUZA, J. F.; MOREIRA, A. L. P.; VIEIRA, E. A.; LONGO, G. O.; LUCHIARI, A. C. Damsel fish face climate change: Impact of temperature and habitat structure on agonistic behavior. **PLoS One**, v. 15, n. 6, p. e0235389, 2020.

DUGATKIN, L. A.; WILSON, D. S. Fish behaviour, partner choice experiments and cognitive ethology. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 3, p. 368-372, 1993.

FALEIRO, F.; NARCISO, L.; VICENTE, L. Seahorse behaviour and aquaculture: how to improve *Hippocampus guttulatus* husbandry and reproduction? **Aquaculture**, v. 282, n. 1-4, p. 33-40, 2008.

FARINE, D. R.; MONTIGLIO, P. O.; SPIEGEL, O. From individuals to groups and back: the evolutionary implications of group phenotypic composition. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 30, n.10, p. 609-621, 2015.

FLYNN, A. J.; RITZ, D. A. Effect of habitat complexity and predatory style on the capture success of fish feeding on aggregated prey. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 79, n. 3, p. 487-494, 1999.

FOSTER, S. J; VINCENT, A. C. J. Life history and ecology of seahorses: implications for conservation and management. **Journal of Fish Biology**, v. 65, p. 1-61, 2004.

FRASER, D.; WEARY, D. M.; PAJOR, E. A.; MILLIGAN, B. N. A scientific conception of animal welfare that reflects ethical concerns. **Animal welfare**, v. 6, n. 3, p. 187-205, 1997.

FRERET-MEURER, N. V.; ANDREATA, J. V. Field studies of a Brazilian seahorse population, *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, p. 543-551, 2008.

FRERET-MEURER, N. V.; ANDREATA, J. V.; ALVES, M. A. S. Activity rate of the seahorse *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933 (Syngnathidae). **Acta Ethologica**, v. 15, p. 221-227, 2012.

FRERET-MEURER, N. V.; ALVES, M. A. S. Personality in the longsnout seahorse, *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933: Are males shyer than females?. **Behavioural processes**, v. 157, p. 106-110, 2018.

GALHARDO, L.; VITORINO, A.; OLIVEIRA, R. F. Social familiarity modulates personality trait in a cichlid fish. **Biology Letters**, v. 8, n. 6, p. 936-938, 2012.

GIAQUINTO, P. C.; VOLPATO, G. L. Chemical communication, aggression, and conspecific recognition in the fish Nile tilapia. **Physiology & Behavior**, v. 62, n. 6, p. 1333-1338, 1997.

HARASTI, D.; MARTIN-SMITH, K.; GLADSTONE, W. Ontogenetic and sex-based differences in habitat preferences and site fidelity of White's seahorse *Hippocampus whitei*. **Journal of fish biology**, v. 85, n. 5, p. 1413-1428, 2014.

HOUCK, L. D.; ARNOLD, S. J. Courtship and mating behavior. **Reproductive biology and phylogeny of Urodela**, v. 1, p. 383-424, 2003.

HORA, M. D. S. C.; JOYEUX, J. C.; RODRIGUES, R. V.; DE SOUSA-SANTOS, L. P.; GOMES, L. C.; TSUZUKI, M. Y. Tolerance and growth of the longsnout seahorse *Hippocampus reidi* at different salinities. **Aquaculture**, v. 463, p. 1-6, 2016.

HORA, M. D. S. C.; JOYEUX, J. C.; TSUZUKI, M. Y. Stocking density for the seahorse *Hippocampus reidi* in the pelagic phase and insights on the benthic phase in culture conditions. **Aquaculture**, v. 484, p. 268-271, 2018.

HUNTINGFORD, F. A. The relationship between anti-predator behaviour and aggression among conspecifics in the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. **Animal Behaviour**, v. 24, n. 2, p. 245-260, 1976.

HUNTINGFORD, F. A.; ADAMS, C.; BRAITHWAITE, V. A.; KADRI, S.; POTTINGER, T. G.; SANDØE, P.; TURNBULL, J. F. Current issues in fish welfare. **Journal of fish biology**, v. 68, n. 2, p. 332-372, 2006.

HUNTINGFORD, F. (Ed.) **The study of animal behaviour**. Springer Science & Business Media, 2012.

IUCN. **The IUCN Red List of Threatened Species**. Disponível em: <<http://www.redlist.org>>. Acesso em: 17 jun. 2024.

JENJAN, H.; MESQUITA, F.; HUNTINGFORD, F.; ADAMS, C. Respiratory function in common carp with different stress coping styles: a hidden cost of personality traits?. **Animal Behaviour**, v. 85, n. 6, p. 1245-1249, 2013.

JENNIONS, M. D.; MOLLER, A. P.; PETRIE, M. Sexually selected traits and adult survival: a meta-analysis. **The Quarterly Review of Biology**, v. 76, n. 1, p. 3-36, 2001.

KIRKWOOD, J. K. Welfare, husbandry and veterinary care of wild animals in captivity: changes in attitudes, progress in knowledge and techniques. **International Zoo Yearbook**, v. 38, n. 1, p. 124-130, 2003.

KRAUSE, J.; BUTLIN, R. K.; PEUHKURI, N.; PRITCHARD, V. L. The social organization of fish shoals: a test of the predictive power of laboratory experiments for the field. **Biological Reviews**, v. 75, n. 4, p. 477-501, 2000.

KONING, S.; HOEKSEMA, B. W. Diversity of seahorse species (*Hippocampus* spp.) in the international aquarium trade. **Diversity**, v. 13, n. 5, p. 187, 2021.

KOLDEWEY, H. J.; MARTIN-SMITH, K. M. A global review of seahorse aquaculture. **Aquaculture**, v. 302, n. 3-4, p. 131-152, 2010.

- KVARNEMO, C.; MOORE, G. I.; JONES, A. G.; NELSON, W. S.; AVISE, J. C. Monogamous pair bonds and mate switching in the Western Australian seahorse *Hippocampus subelongatus*. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 13, n. 6, p. 882-888, 2000.
- LALAND, K. N. Social learning strategies. **Animal Learning & Behavior**, v. 32, p. 4e14, 2004.
- LILEY, N. R.; STACEY, N. E. 1 hormones, pheromones, and reproductive behavior in fish. Em: **Fish physiology**. Academic Press, 1983. p. 1-63.
- LINDSTEDT, K. J. Chemical control of feeding behavior. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology**, v. 39, n. 3, p. 553-581, 1971.
- LOURIE, S.A.; PRITCHARD, J.C.; CASEY, S.P.; KY, T.S.; HALL H.J.; VINCENT A.C.J. The taxonomy of Vietnam's exploited seahorses (family Syngnathidae). **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 66, n. 2, p. 231-256, 1999a.
- LOURIE, S.A.; VINCENT, A.C.J.; HALL, H.J. Seahorses: An identification guide to the world's species and their conservation. London: Project Seahorse, 1999b.
- MANASSA, R. P.; MCCORMICK, M. I.; CHIVERS, D. P. (2013). Socially acquired predator recognition in complex ecosystems. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 67, p. 1033-1040, 2013.
- MARTINS, C. I. M.; SCHRAMA, J. W.; VERRETH, J. A. J. The consistency of individual differences in growth, feed efficiency and feeding behaviour in African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) housed individually. **Aquaculture Research**, v. 36, p. 1509–1516, 2005.
- MELLEN, J.; MACPHEE, M. S. Philosophy of environmental enrichment: past, present, and future. **Zoo Biology**, v. 20, n. 3, p. 211-226, 2001.
- MELO-VALENCIA, A. F.; OSPINA-SALAZAR, G. H.; GÓMEZ-LEÓN, J.; CORTÉS-PINEDA, F. A. Effect of salinity on the survival and growth of seahorse fry *Hippocampus reidi* ginsburg in captivity. **Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras-INVEMAR**, v. 42, n. 1, p. 193-201, 2013.
- NOVELLI, B.; SOCORRO, J. A.; CABALLERO, M. J.; OTERO-FERRER, F.; SEGADE-BOTELLA, A.; MOLINA DOMÍNGUEZ, L. Development of seahorse (*Hippocampus reidi*, Ginsburg 1933): histological and histochemical study. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 41, p. 1233-1251, 2015.
- OLIVOTTO, I.; AVELLA, M. A.; SAMPAOLES, G.; PICCINETTI, C. C.; RUIZ, P. N.; CARNEVALI, O. Breeding and rearing the longsnout seahorse *Hippocampus reidi*: rearing and feeding studies. **Aquaculture**, v. 283, n. 1-4, p. 92-96, 2008.
- OLIVEIRA, R.F.; GALHARDO, L. Sobre a aplicação do conceito de bem-estar a peixes teleósteos e implicações para a piscicultura. **Revista Brasileira Zootecnia**, v. 36, n. 2, p. 77-86, 2007.

PLANAS, M.; OLIVOTTO, I.; GONZÁLEZ, M. J.; LAURÀ, R.; ZARANTONIELLO, M. A multidisciplinary experimental study on the effects of breeders diet on newborn seahorses (*Hippocampus guttulatus*). **Frontiers in Marine Science**, v. 7, p. 638, 2020b.

PLANAS, M.; BURHANS, R.; SIMÕES, N. Seahorses and pipefish. **Marine Ornamental Species Aquaculture**, p. 299-326, 2017a.

PLANIDIN, N. P.; REIMCHEN, T. E. Behavioural responses of threespine stickleback with lateral line asymmetries to experimental mechanosensory stimuli. **Journal of Experimental Biology**, v. 225, n. 2, p. jeb243661, 2022.

PICKERING, A. D. Growth and stress in fish production. Em: **Genetics in aquaculture**. Elsevier, 1993. p. 51-63.

RENDELL, L.; BOYD, R.; COWNDEN, D.; ENQUIST, M.; ERIKSSON, K.; FELDMAN, M. W.; FOGARTY, L.; GHIRLANDA, S.; LILLICRAP, T.; LALAND, K. N. Why copy others? Insights from the social learning strategies tournament. **Science**, v. 328, n. 5975, p. 208-213, 2010.

ROBINSON, G. E.; FERNALD, R. D.; CLAYTON, D. F. Genes and social behavior. **Science**, v. 322, n. 5903, p. 896-900, 2008.

ROSA, I. L.; DIAS, T. L.; BAUM, J. K. Threatened fishes of the world: *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933 (Syngnathidae). **Environmental Biology of Fishes**, v. 64, n. 4, 2002.

ROSA, I. L.; OLIVEIRA, T. P.; CASTRO, A. L.; MORAES, L. E.; XAVIER, J. H.; NOTTINGHAM, M. C.; DIAS, T. L. P.; BRUTO-COSTA, L. V.; ARAUJO, M. E.; BIROLO, A. B.; MAI, A. C. G.; MONTEIRO-NETO, C. Population characteristics, space use and habitat associations of the seahorse *Hippocampus reidi* (Teleostei: Syngnathidae). **Neotropical Ichthyology**, v. 5, p. 405-414, 2007.

ROSA, I. M.; ALVES, R. R.; BONIFÁCIO, K. M.; MOURÃO, J. S.; OSÓRIO, F. M.; OLIVEIRA, T. P.; NOTTINGHAM, M. C. Fishers' knowledge and seahorse conservation in Brazil. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 1, p. 1-15, 2005.

SHETTLEWORTH, S. J. **Cognition, evolution, and behavior**. Oxford university press, 2009.

SIH, A.; BELL, A.; JOHNSON, J. C. Behavioral syndromes: an ecological and evolutionary overview. **Trends in ecology & evolution**, v. 19, n. 7, p. 372-378, 2004.

SILVEIRA, R. B. Sobre o comportamento sexual do cavalo-marinho *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933 (Pisces: Syngnathidae) em laboratório. **Biociências (On-line)**, v. 17, n. 1, 2009.

SNEDDON, L. U.; WOLFENDEN, D. C.; THOMSON, J. S. Stress management and welfare. Em: **Fish physiology**. Academic Press, 2016. p. 463-539.

SOUZA-SANTOS, L. P.; REGIS, C. G.; MÉLO, R. C.; CAVALLI, R. O. Prey selection of juvenile seahorse *Hippocampus reidi*. **Aquaculture**, v. 404, p. 35-40, 2013.

- SOUTO-NETO, J. A.; DAVID, D. D.; ZANETTI, G.; SUA-CESPEDES, C.; FRERET-MEURER, N. V.; MORAES, M. N.; DE LAURO CASTRUCCI, A. M. (2024). Light-specific wavelengths differentially affect the exploration rate, opercular beat, skin color change, opsin transcripts, and the oxi-redox system of the longsnout seahorse *Hippocampus reidi*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 288, p. 111551, 2024.
- SPINELLI, J. S. Reducing pain in laboratory animals. **Laboratory animal science**, v. 37, 1987.
- VINCENT, A. C. J. Operational sex ratio in seahorses. **Behavior**, v. 128, n. 1-2, p. 153-167. 1994a.
- VINCENT, A. C. J. Seahorse exhibit convencional sex roles in mating competition, despite male pregnancy. **Behaviour**, v. 128, n. 1-2, p. 135-151, 1994b.
- VINCENT, A. C.; FOSTER, S. J.; KOLDEWEY, H. J. Conservation and management of seahorses and other Syngnathidae. **Journal of fish biology**, v. 78, n. 6, p. 1681-1724, 2011.
- VOLPATO, G. L. Considerações metodológicas sobre os testes de preferência na avaliação do bem-estar em peixes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 53-61, 2007.
- VOLPATO, G.L.; GONÇALVES-DE-FREITAS, E.; FERNANDES-DE-CASTILHO, M. Insights into the concept of fish welfare. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 75, n. 2, p. 165-171, 2007.
- WILSON, A. B.; ORR, J. W. The evolutionary origins of Syngnathidae: pipefishes and seahorses. **Journal of Fish Biology**, v. 78, n. 6, p. 1603-1623, 2011.
- WILSON, A. B.; AHNESJO, I.; VINCENT, A. C.; MEYER, A. The dynamics of male brooding, mating patterns, and sex roles in pipefishes and seahorses (family Syngnathidae). **Evolution**, v. 57, n. 6, p. 1374-1386, 2003.
- WILLADINO, L.; SOUZA-SANTOS, L. P.; MÉLO, R. C.; BRITO, A. P.; BARROS, N. C.; ARAÚJO-CASTRO, C. M.; CAVALLI, R. O. Ingestion rate, survival and growth of newly released seahorse *Hippocampus reidi* fed exclusively on cultured live food items. **Aquaculture**, v. 360, p. 10-16, 2012.
- WOODS, C. M. C. Preliminary observations on breeding and rearing the seahorse *Hippocampus abdominalis* (Teleostei: Syngnathidae) in captivity. **New Zealand Journal of Marine and freshwater research**, v. 34, n. 3, p. 475-485, 2000.