

LARISSA MONTEIRO DE VASCONCELOS

**EVIDÊNCIAS GENÉTICAS DA OCORRÊNCIA DE MONOGAMIA
PARA HIPPOCAMPUS REIDI GINSBURG, 1933
(SYNGNATHIDAE: TELEOSTEI) NO ESTUÁRIO DO RIO
MAMANGUAPE (PARAÍBA, BRASIL)**

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA

CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA

CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

João Pessoa

2015

LARISSA MONTEIRO DE VASCONCELOS

**EVIDÊNCIAS GENÉTICAS DA OCORRÊNCIA DE MONOGAMIA
PARA HIPPOCAMPUS REIDI GINSBURG, 1933
(SYNGNATHIDAE: TELEOSTEI) NO ESTUÁRIO DO RIO
MAMANGUAPE (PARAÍBA, BRASIL)**

Trabalho - Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas (Trabalho Acadêmico de conclusão de Curso), como requisito parcial à obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas da Universidade Federal da Paraíba.

Nome do(a) Orientador(a):

Prof.^a Dr.^a Ierecê Maria de Lucena Rosa

Co-orientador (a): Msc. Gabriela Rocha Defavari

João Pessoa

2015

LARISSA MONTEIRO DE VASCONCELOS

**EVIDÊNCIAS GENÉTICAS DA OCORRÊNCIA DE MONOGAMIA
PARA HIPPOCAMPUS REIDI GINSBURG, 1933
(SYNGNATHIDAE: TELEOSTEI) NO ESTUÁRIO DO RIO
MAMANGUAPE (PARAÍBA, BRASIL)**

Trabalho – Monografia apresentada ao
Curso de Ciências Biológicas, como
requisito parcial à obtenção do grau de
Bacharel em Ciências Biológicas da
Universidade Federal da Paraíba.

Data: _____

Resultado: _____

BANCA EXAMINADORA:

Gabriela Rocha Defavari, Msc, UFPB

Brígida Thaís Luckwu de Lucena, Prof. Dr.^a, UEPB

Josias Xavier Dr.^a, UFPB

Catálogo na publicação
Universidade Federal da Paraíba
Biblioteca Setorial do CCEN
Maria Teresa Macau - CRB 15/176

V331e Vasconcelos, Larissa Monteiro de.
Evidências genéticas da ocorrência de monogamia para
Hippocampus reidi ginsburg, 1933 (Syngna thidae : Teleleoste)
no estuário do Rio Mamanguape (Paraíba, Brasil) /
Larissa Monteiro de Vasconcelos. - João Pessoa, 2015.
52p. : il.-

Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) –
Universidade Federal da Paraíba.
Orientadora: Profª Drª Irecê Maria de Lucena Rosa.

1. Cavalos- marinhos. 2. Sistema de acasalamento.
3. Microsatélites. Título.

À minha família, por todo o apoio e pelo amor incondicional que me devotam diariamente. Em especial, ao meu avô José Francisco (in memoriam), o mais interessado e encantado pela beleza dos cavalos-marinhos.

AGRADECIMENTOS

À toda minha família, e em especial aos meus pais, Maria José e Sérgio Medeiros, por sempre me apoiarem nas minhas decisões, pelo amor, paciência, dedicação e por todos os esforços feitos em prol do meu desenvolvimento acadêmico. Ao meu irmão, Leonardo Monteiro, por ser um exemplo na minha vida pessoal e profissional. Meu amor incondicional a todos vocês, que foram e são os grandes responsáveis por esse passo na minha vida.

À minha orientadora, Dra Irecê Lucena Rosa, por ter me acompanhado desde os primeiros anos da graduação. Obrigada pela confiança e por me ensinar a andar com as próprias pernas.

À minha co-orientadora, Gabriela Rocha Defavari, por todos os conhecimentos que me foram passados, em campo e em laboratório. Pela grande paciência e preocupação com o desenvolvimento do trabalho.

À Dra^a Maria Raquel Moura Coimbra, por ter aceitado participar dessa pesquisa, pela disponibilidade diária, pelos ensinamentos, puxões de orelha, risadas, paciência e, sobretudo, por me receber de braços abertos para a nova caminhada que está começando.

À Fundação O Boticário de Proteção à Natureza e ao CNPQ, pelo suporte financeiro, sem o qual esse projeto não seria executado.

Às pessoas mais queridas da Barra de Mamanguape: seu Arlindo, o “cientista de mundo” que possibilitou a execução desse trabalho e D. Lora, por ter cuidado de mim e por toda a preocupação durante os meses de coleta. Sem a ajuda de vocês, boa parte dessa pesquisa não teria sido realizada.

À todos do Laboratório de Peixes: ecologia e conservação (LAPEC), pela convivência durante esses anos, pelas noites dormidas no laboratório e por tornarem o dia a dia bem mais prazeroso: Jéssyca Oliveira, Camilla Rayane, Josias Xavier, Paula Honório, Shaka Furtado, Rebeca Guimarães, Aline Moraes, Patrícia Kelly, Luana Aires, Kassiano Santos, Juliana Nogueira e, por último, mas que merece um agradecimento especial pelo companheirismo em campo – Souto Neto. Meu muitíssimo obrigado a vocês, cuja maioria os laços são mantidos dentro e fora da UFPB.

À todo o pessoal do LAGA – Laboratório de Genética Aplicada (UFRPE), por todos os ensinamentos, por me receberem de braços abertos e estarem sempre dispostos a me ajudar: professora Raquel, Mondrian, Suzy, Marcos, Ana Odete, Genison, Hozana, Manu e em especial, a Raquel Ventura, Emilly e Sandrinha, por além de tudo, terem me recebido em suas casas, e a Patrícia e Karine: Muito obrigada pela convivência dentro e fora da universidade, meninas!

Aos amigos- irmãos que a vida me deu: Érika Guedes, Filipe Oliveira, Cleyton César, Rafael Ataíde e Vanessa Moraes, por me acompanharem em todos os momentos, por entenderem minhas ausências e mesmo assim estarem sempre presentes. *“I’ll be there for you... cause you’re there for me too”*.

À Rafaela Rodrigues, por toda a preocupação, cuidado e carinho. Por estar sempre disposta a me ouvir e ajudar.

Às amigas que tornam meus dias mais leves e felizes: Fátima Teles, Aércia Cordeiro, Renata Vaz, Renata Barbosa, Lívia Oliveira, Geadelande Delgado, Caio César e Filipe Dantas.

À Ieda Zaparolli, pelos conselhos, discussões biológicas e por toda a amizade.

À Camilla Falconi, pelas conversas, ajudas de contexto, por toda a atenção e incentivo, seja de Recife ou da Índia.

À Bellany Carvalho, Ana Raquel e Geadelande, pela amizade e hospedagem em Recife.

À Sávio Torres de Farias e Ariadne Furtado, pelos conselhos acadêmicos e pessoais.

E a todos aqueles que de alguma forma participaram da minha vida durante a graduação: muito obrigada!

RESUMO

Os singnatídeos apresentam uma variedade de padrões de acasalamento que vão desde a monogamia à poliginia e poliandria. Embora a maioria dos cavalos marinhos até então estudados sejam monogâmicos, nenhum estudo de análise de maternidade havia sido feito para *Hippocampus reidi*. A descoberta de novas características ligadas ao sexo e a ausência de informações genéticas para essa espécie, estimularam o interesse de estudar o padrão de acasalamento genético desses peixes. No presente estudo, 3 *loci* microssatélite foram usados para avaliar 120 filhotes de 8 machos grávidos coletados na Paraíba, Brasil. Em todos os casos, os genótipos dos indivíduos da mesma prola foram consistentes com uma única mãe, indicando que *H. reidi* geneticamente monogâmico.

.

Palavras chave: cavalo-marinho; sistema de acasalamento; microssatélites;

ABSTRACT

Syngnathid fishes (pipefishes, seahorses, and seadragons) exhibit a wide array of mating systems ranging from monogamy to polygyny or polyandry. Although several seahorse species have also been shown to be genetically monogamous with pair-bond formation during a breeding season, parentage analysis has not yet been applied to the longsnout seahorse *Hippocampus reidi*. The discovery of novel-sex related characteristics and the lack of genetic reproductive information for this species, stimulated the study of the mating pattern of these individuals. For this study, three polymorphic microsatellite loci were employed to assess biological parentage of 150 offspring from 10 pregnant males collected in Paraíba, Brazil. In all cases, the genotypes of progeny within a clutch were consistent with a single mother indicating that males mate singly, and that *H. reidi* is genetically monogamous.

Key-words: seahorse; genetic mating system;

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Exemplar de <i>Hippocampus reidi</i> em ambiente natural, espécie foco do presente estudo. Fonte: Acervo Lapec.....	15
Figura 2. Foz do Rio Mamanguape, PB e as subáreas amostradas. Pe = Camboa Peixe-boi. Ta = Camboa Tanques. Fonte: Google Earth.....	22
Figura 3. Altura do cavalo marinho obtido do topo da coroa à ponta da cauda. Imagem adaptada de MAI & ROSA, 2009	23
Figura 4. Tanques rede instalados próximos à margem oeste da camboa Peixe-boi. Foto: Acervo Lapec/UFPB	24
Figura 5. Ilustração da técnica <i>fin clipping</i> . a) obtida de Lourie et al. 2003. b) execução da metodologia citada. Foto: Acervo Lapec/UFPB.....	25
Figura 6. Filhote recém-nascido de <i>H. reidi</i> fotografado em aquário com fundo escalonado. Fonte: Acervo Lapec/UFPB.	25
Figura 7. Marcações utilizadas durante a pesquisa. A) fita colorida; B) VIE vizualizado sob luz ultravioleta; C) VIE vizualizado sob luz natural. Foto: Acervo LAPEC/UFPB	27
Figura 8. Gel de agarose a 1% com brometo de etídio vizualizado sob luz ultravioleta. Marcador de 10 pb. Formação de bandas específicas dentro da amplitude esperada para todos os loci. A) Hhip2; B) Hgu5; C)Hgut4	30
Figura 9. Gel de acrilamida mostrando a separação dos alelos	30
Figura 10. Eletroferogramas obtidos pelo sequenciamento automático do locus Hgu4	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Loci, motivos de repetições/fluorescências, primers forward e reverse, temperatura de anelamento e tamanho esperado (pb)	28
Tabela 2. Informações sobre os cavalos marinhos monitorados e suas respectivas proles	32
Tabela 3. Genótipos parentais por loci	33
Tabela 4. Genótipos dos embriões de cada prole agrupados por frequência em que aparecem nos indivíduos	34

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
1.1- Os cavalos-marinhos	12
1.2- A reprodução em <i>Hippocampus</i> sp em relação aos demais peixes	15
1.3- Marcadores microssatélites	18
2. OBJETIVOS	20
2.1. OBJETIVO GERAL	20
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
3. MATERIAIS E MÉTODOS	21
3.1.Das coletas em campo	21
3.2- Das análises genéticas	27
4. RESULTADOS	29
6. DISCUSSÃO	35
5. CONCLUSÃO	40
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	40
7. REFERÊNCIAS	41

1. INTRODUÇÃO

1.1 - Os cavalos-marinhos

Os cavalos-marinhos são peixes ósseos (teleósteos) que juntamente com os cavalos-cachimbo, peixes-cachimbo e dragões-do-mar, constituem a família Syngnathidae (KUITER, 2000; LOURIE et al., 1999; 2004).

A família Syngnathidae está tradicionalmente incluída na ordem Gasterosteiformes, que agrupa onze famílias em duas subordens: Gasterosteroidei e Syngnathoidea. Sendo a supracitada família pertencente a esta última subordem (NELSON, 2006), que engloba cerca de 300 espécies marinhas, de águas doces e salobras (FROSE & PAULY, 2010).

A maioria dos singnatídeos detêm aspectos singulares quanto à sua reprodução e morfologia: apresentam em comum uma forma excepcional de reprodução – no qual os machos são responsáveis pela incubação da prole (WILSON et al., 2001), e formas morfológicas altamente especializadas e diversificadas (WILSON & ORR, 2011).

Dentre os peixes ósseos, aqueles vulgarmente conhecidos como cavalos marinhos, estão inseridos em um único gênero: *Hippocampus spp.*. Estes são caracterizados por apresentarem distribuição esparsa (VINCENT, 1996), ocupando ambientes costeiros de águas temperadas e tropicais entre latitudes 50° N e 50° S (LOURIE et al., 2004) frequentemente associados a áreas rasas e protegidas das correntes em ambientes recifais, estuarinos ou em bancos de fanerógamas marinhas (Lourie et al., 1999). Apresentam baixa mobilidade, pequenas áreas vitais, baixa fecundidade, cuidado parental prolongado e monogamia social (FOSTER & VINCENT, 2004; VINCENT, 1996).

Quanto à morfologia, os cavalos marinhos não apresentam nadadeiras pélvicas e anais, sendo sua cauda completamente preênsil, auxiliando a associação do animal aos mais diversos substratos de apoio; apresentam corpo completamente envolto por anéis ósseos, a cabeça formando um ângulo de 90° com o eixo do corpo e uma boca na extremidade de um focinho tubular (KUITER, 2000; NELSON, 2006). Tais animais apresentam-se como predadores de emboscada, utilizando o focinho tubular para sugar as presas (FOSTER e VINCENT, 2004). O macho possui uma elaborada e complexa

bolsa incubadora onde os ovos são depositados pela fêmea, através de seu ovopositor (VINCENT, 1996; LOURIE et al., 2004).

No que diz respeito a conservação, são peixes ameaçados globalmente devido à degradação de seus habitats naturais e à sobre-exploração (LOURIE et al., 2004; MAI e ROSA, 2009; ROSA et al., 2005), caracterizando-se como um dos poucos peixes marinhos não comestíveis. O comércio desses animais foi documentado inicialmente na Ásia, possuindo pelo menos 32 países envolvidos, que vão desde o Equador à Itália e Estados Unidos (VINCENT, 1996). Os principais fins da comercialização desses animais estão relacionados não só a aquariofilia, mas à sua importância na medicina tradicional e à venda como suvenires (LOURIE et al., 1999; ROSA et al., 2010; VINCENT, 1996;)

Por estas razões, 38 das 48 espécies registradas para o gênero *Hippocampus* foram incluídas na lista vermelha da IUCN (2014), alocadas nas categorias “vulneráveis à extinção” e “deficiente de dados”. Em 2004, todo o gênero foi incluído no Apêndice II da Convenção sobre o Comércio Internacional das Espécies da Fauna e Flora Selvagens em Perigo de Extinção (CITES), o que requer o monitoramento e controle do comércio desses animais por parte dos países signatários (*non-detriment findings*; art. IV da convenção). No Brasil, um dos maiores exportadores de indivíduos vivos para fins de aquarismo no mundo e o maior da América Latina (BAUM e VINCENT, 2005), os cavalos-marinhos estão presentes na Lista Nacional de Espécies de Invertebrados Aquáticos e Peixes Sobre-Exploradas ou Ameaçadas de Sobre-Exploração, de acordo com a Instrução Normativa nº 05 de 21 de maio de 2004 do Ministério do Meio Ambiente, instrumento legal que prevê a elaboração de um Plano de Gestão. Uma proposta de Plano Nacional de Gestão para o uso sustentável dos cavalos-marinhos foi publicada em 2011 (DIAS NETO, 2011), sendo ainda necessário avanços em relação à construção do que seria o Plano definitivo.

Três espécies de cavalos-marinhos são registradas para o Brasil: *Hippocampus erectus* Perry, 1810 e *H. reidi* Ginsburg, 1933 e *H. patagonicus* Piacentino & Luzzatto, 2004 (LOURIE et al., 1999; DIAS et al., 2002; DIAS & ROSA, 2003; ROSA et al., 2002, SILVEIRA et al., 2014). As três figuram no cenário nacional como vulneráveis à extinção, de acordo com a portaria Portaria nº 445, de 17 de dezembro de 2014, do Ministério do Meio Ambiente. *H. patagonicus* é comercializado principalmente na

forma seca, enquanto *H. reidi* é comercializado principalmente na forma viva para fins de aquarismo (ROSA, 2005; ROSA et al., 2006; ROSA et al., 2012), embora a comercialização da sua forma seca também seja registrada (ROSA et al., 2010; DIAS NETO, 2011).

A espécie foco do presente estudo é *Hippocampus reidi*, que apresenta uma distribuição restrita ao Atlântico Ocidental, desde Cabo Hatteras, sul da Carolina do Norte (CARVALHO-FILHO, 1999; LOURIE et al., 1999; MICHAEL, 2001), até o sul do Brasil (ROSA, et al., 2002; ROSA, 2005). Em território brasileiro, embora seja a espécie predominante nas regiões Norte e Nordeste do país (ROSA et al., 2007), seu limite de distribuição vai do Pará ao Rio Grande do Sul (CHAO et al., 1982, ROSA, 2005);

Os cavalos-marinhos merecem reconhecimento não só pelo seu status de conservação, mas por serem considerados animais carismáticos e por isso utilizados como “espécie bandeira” (VINCENT et al., 2011; YASUÉ et al., 2012), com a sua imagem podendo ser utilizada para diversas ações de apelo conservacionista, como por exemplo, a conservação de manguezais, recifes de corais e outras espécies de peixes (LOURIE et al., 2004; MAI e ROSA, 2009; SHOKRI, et al., 2009; ROSA et al., 2005; MARTIN-SMITH & VINCENT, 2006; ROSA e ALVES, 2007).

Em nível mundial, são escassos os estudos em ambiente natural sobre cavalos-marinhos, sendo este aspecto considerado como um dos sérios impedimentos para a sua conservação e manejo (FOSTER e VINCENT, 2004).

Entender o sistema de acasalamento de uma espécie tem impactos positivos na sua conservação, uma vez que espécies com diferentes sistemas de acasalamento requerem diferentes estratégias de manejo (FRANKHAM et al., 2008) e o conhecimento do sistema de acasalamento para cada espécie ameaçada é importante para a elaboração de um mecanismo de conservação mais efetivo (WOODALL et al., 2011), dada a influência deste em uma série de fatores que vão desde a sustentabilidade da população à manutenção da diversidade genética populacional e, conseqüentemente, o potencial evolutivo de toda a espécie (FRANKHAM et al., 2002; CHAPMAN et al., 2004).

Dessa forma, estudar o sistema de acasalamento de *H. reidi*, contribuirá para ampliar o conhecimento acerca da seleção sexual no gênero *Hippocampus*, além de fornecer dados inéditos sobre a espécie.

Figura 1. Exemplar do cavalo marinho *Hippocampus reidi* em ambiente natural. Foto: Acervo Lapec/UFPB.



1.2- A reprodução em *Hippocampus* sp em relação aos demais peixes

É amplamente aceito que a estrutura do sistema de acasalamento dos vertebrados é influenciada por uma série de variáveis ecológicas e biológicas, como a disponibilidade e distribuição de recursos alimentares e locais de reprodução, condições climáticas, pressão de predadores, competição intra e interespecífica, densidade populacional, distribuição espacial e temporal de parceiros sexuais, duração do ritual de corte (EMLEN e ORING, 1977; KWIATKOWSKI e SULLIVAN, 2002) e pela morfologia dos indivíduos, especialmente aquelas relacionadas à reprodução (SOGABE et al., 2008).

O sistema de acasalamento de uma espécie pode ou não estar relacionado ao tipo de cuidado parental que esta apresenta (THRESHER, 1984), sendo resultante da interação dos interesses reprodutivos de cada sexo, onde um deles será o determinante e acabará por moldar qual será a melhor forma de garantir o sucesso reprodutivo. Na manutenção de qualquer um dos sistemas, seja ele poligâmico ou monogâmico, os ganhos obtidos com a quantidade de parceiros por um dos sexos devem exceder as perdas que o outro venha a sofrer (WITTENBERGER & TILSON, 1980).

Os modos de reprodução nos peixes podem variar de autofertilização a padrões monogâmicos; de espécies que liberam seus gametas em águas abertas e não apresentam cuidado parental, a peixes que carregam e nutrem sua prole internamente até o nascimento (DEWOODY e AVISE, 2001). Os peixes marinhos são os vertebrados com modos de reprodução e padrões de acasalamento mais diversificados (WHITEMAN e CÔTÉ, 2004). O cuidado parental, quando presente nesses teleósteos, é realizado de forma predominante pelos machos (VINCENT et al., 1992).

Os síngnatídeos possuem representantes que variam desde a monogamia social nos cavalos marinhos e nos peixes cachimbo (*Hippichthys penicillus*, *Corythoichthys haematopterus*)(GRONELL, 1984) a poliginandria em *Syngnathus floridae*, *S. typhle*, *S. leptorhynchus* e *S. abaster*, e ainda a ocorrência de poliandria em *Nerophis ophidion* e *S. scovelli* (JONES e AVISE, 1997a, 1997b; JONES et al., 1999; MATSUMOTO e YANAGISAWA, 2001; McCOY et al., 2001; WILSON 2009; HÜBNER et al., 2013).

Quanto à sua reprodução, o macho fornece todo o cuidado pós-zigótico à prole, com a fêmea depositando os ovos diretamente no macho, em áreas especializadas para incubação ou, como já foi dito, em uma bolsa incubadora, que pode se localizar no abdômen ou na cauda (KVARNEMO et al., 2000; BREDER & ROSEN, 1966).

Nos cavalos marinhos, os machos apresentam uma bolsa fechada, com uma pequena abertura muscular pela qual a fêmea deposita os ovos através do ovopositor, para serem fecundados, sendo o macho responsável pela proteção, nutrição, aeração e osmorregulação dos embriões até o nascimento destes (VINCENT, 1994a; JONES e AVISE, 2001; WILSON, 2003). O período de gestação é de aproximadamente duas semanas, variando com a temperatura. O tamanho da prole varia de 200 a 1000 neonatos e os filhotes nascem com uma morfologia semelhante à de indivíduos adultos, totalmente independentes e permanecendo à deriva na coluna d'água até que possam se

prender a um substrato de apoio (LOURIE et al., 1999, 2004; FOSTER e VINCENT, 2004; DIAS NETO, 2011; ROSA et al., 2007), apresentando-se como presas bastante vulneráveis durante a sua fase planctônica, diferentemente dos indivíduos adultos (LOURIE et al., 1999)

A espécie utilizada nesse estudo, *H. reidi*, produz entre 213 (SILVEIRA, 2005) e 1.500 filhotes por gestação (FEZER, G. F. com. pess., 2009, retirada de DIAS NETO, 2011), com altura média de 0,6 cm (SILVEIRA, 2005; ROSA et al., 2007).

Ainda no aspecto reprodutivo, os cavalos marinhos apresentam uma particularidade entre os indivíduos da sua família: apresentam papel sexual convencional. Apesar da complexidade da bolsa incubadora em relação aos demais síngnatídeos, são os machos que competem de forma mais intensa pelo acesso às fêmeas, apresentando durante o ritual de corte, comportamentos mais agressivos na presença de outro macho do que o faz as fêmeas na presença de outra fêmea (VINCENT, 1990; VINCENT et al., 1992; VINCENT e SADLER, 1995; KVARNEMO et al., 2000). O papel sexual reverso ocorre quando as fêmeas competem entre si pelo acesso aos parceiros. O padrão do papel sexual, seja este convencional ou não, e consequentemente o sexo sobre o qual a seleção sexual irá agir primariamente, é determinado pelo viés da *razão sexual operacional* (do inglês, OSR – *operational sex ratio*), cuja definição é dada pela proporção de machos e fêmeas receptivos em um dado período de tempo (EMLEN & ORING, 1977). A OSR resulta de diferenças nos potenciais reprodutivos entre os sexos, taxas de mortalidade e nascimento, longevidade reprodutiva, dentre outros. Tais fatores, por sua vez, são determinados pelas diferenças no investimento parental e restringidos por fatores comportamentais, ecológicos, fisiológicos e filogenéticos (EMLEN & ORING, 1977; VINCENT et al., 1992). Por isso o cuidado uniparental desempenhado pelo macho não deve ser entendido como sinônimo de reversão no papel sexual, haja visto que mesmo nas espécies em que os machos apresentam um maior custo reprodutivo em relação às fêmeas no que diz respeito ao seu crescimento e risco de predação, tais gastos podem não ultrapassar os gastos energéticos, como produção e hidratação dos ovos, empregados por sua parceira para cada embrião.

Em certos casos, a monogamia social não necessariamente reflete a monogamia genética (Wilson e Martin-smith, 2007). É comum espécies que são socialmente monogâmicas apresentarem-se geneticamente poligâmicas (Whitler et al., 2004).

A identificação do parentesco biológico em espécies com fertilização interna, tais como *Syngnathus scovelli* (JONES e AVISE, 1997a), *Syngnathus floridae* (JONES e AVISE, 1997b), *Syngnathus typhle* (JONES et al., 1999), *Hippocampus angustus* (JONES et al., 1998a), *H. subelongatus* (JONES et al., 1998; KVARNEMO et al., 2000; JONES et al., 2003), *H. abdominalis* (WILSON e MARTIN-SMITH, 2007) *H. guttulatus* (WOODALL et al., 2011) e *H. zosterae* (ROSE et al., 2014) foi feita com o uso de marcadores moleculares (DEWOODY e AVISE, 2001). Dentre estes marcadores, destacam-se os microssatélites (do inglês, SSR - Simple Sequence Repeat, ou STRs, Single Tandem Repeat).

Entre os singnatídeos, os cavalos-marinhos tendem a ser os menos sexualmente dimórficos. Assim, o sistema de acasalamento pode refletir uma seleção sexual aparentemente fraca. No entanto, Oliveira et al. (2010) descreveram novos caracteres de dimorfismo sexual para *H. reidi*, que até então se resumiam a diferenças no tamanho.

1.3- Marcadores microssatélites

Microssatélites são sequências curtas, de dois a seis nucleotídeos, repetidas lado a lado e distribuídas ao longo do genoma nuclear eucarioto, em regiões codificantes e não codificantes (JARNE e LAGODA, 1996).

Apresentam uma série de vantagens sobre os demais marcadores: são abundantes, cobrem extensivamente o genoma, possuem natureza multialélica, necessitam de pequenas quantidades de DNA para análise, são de fácil detecção por PCR (reação em cadeia da polimerase), têm herança do tipo mendeliana e de codominância (LIMA, 1998; MOREIRA, 1999).

Os marcadores microssatélites já provaram ser poderosas ferramentas para genética de populações e de grande aplicação na biologia da conservação (ELLEGREEN, 2004) devido ao seu alto polimorfismo e padrão de herança codominante (SINGH, 2012). Tais locus também se apresentaram úteis para análises

parentais seja com a finalidade de fornecer dados para reproduções em cativeiro (Castro et al., 2004) ou para estudos de sistemas de acasalamento genético (AVISE et al., 2002; JONES e AVISE, 2001).

Uma das maiores dificuldades na utilização de microssatélites para o estudo dos padrões de diversidade genética e filogeográficos de espécies nativas é a necessidade de obtenção de primers específicos para cada espécie estudada, sendo uma alternativa, o uso de marcadores já desenvolvidos para espécies filogeneticamente próximas.

Amplificações de marcadores microssatélites de uma espécie para outra já foram estudadas em vários grupos de peixes: Ciclídeos (ZARDOYA et al., 1996; LANGEN et al., 2011), Salmonidae (SCRIBNER et al., 1996), Ciprinídeos (ZHANG et al., 1995; MOHINDRA et al., 2001; LAL et al., 2004), Singnatídeos (SINGH et al., 2012; DEFAVARI, 2010; GALBUSERA et al., 2007).

Até 2014, quatro espécies de cavalos marinhos tiveram seus sistemas de acasalamento desvendados por estes marcadores: *H. subelongatus* (JONES et al., 1998; KVARNEMO et al., 2000; JONES et al., 2003), *H. abdominalis* (WILSON & MARTIN-SMITH, 2007) *H. guttulatus* (WOODALL et al., 2011) e *H. zosterae* (ROSE et al. 2014).

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

O presente trabalho teve como objetivo geral estudar o sistema de acasalamento do cavalo-marinho *Hippocampus reidi* em ambiente natural, tendo como objeto de estudo espécimes da APA da Barra do Rio Mamanguape, Paraíba, Brasil.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar a maternidade de filhotes do cavalo-marinho *Hippocampus reidi* em ambiente natural, através de testes com marcadores moleculares microssatélites, baseado no número de alelos maternos encontrados por prole;
- Determinar o número de fêmeas que contribuem com óvulos durante uma gestação;
- Avaliar possíveis relações entre sistema de acasalamento genético e a evolução do dimorfismo sexual.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1- Das coletas em campo

As coletas em campo foram realizadas no estuário do rio Mamanguape, localizado na Área de Proteção Ambiental da Barra do Rio Mamanguape. A APA foi criada pelo Decreto Federal nº 924 de 10 de setembro de 1993, totalizando uma área de 14.640 hectares e um perímetro de 80.158,368 m², localizada na porção norte do estado da Paraíba, nos municípios de Rio Tinto, Marcação (PALUDO e KLONOWSKI, 1999) e Lucena, formada pelos estuários dos rios Mamanguape, Miriri e Estivas (ALVES e NISHIDA, 2003), totalizando 24 km de extensão do estuário como um todo, a partir da costa até a sede do município de Rio Tinto (PALUDO e KLONOWSKI, 1999). Tal estuário é composto por camboas (braços do rio principal que adentram ao manguezal), croas (bancos areno-lodosos), apicuns (áreas desprovidas de vegetação típica de mangue) e uma barreira de recifes areníticos que se estendem em direção perpendicular à sua desembocadura (NISHIDA, 2000). Além de abrigar mais de 6000 hectares de manguezal (ROSA e SASSI, 2002)

Dentro do estuário, as buscas foram conduzidas em duas camboas, denominadas pela população local, como Camboa do Peixe-boi e Camboa dos Tanques (Figura2), durante o pico da estação reprodutiva da espécie, que ocorre de novembro a fevereiro (ROSA et al., 2007). Estudos recentes com *H. reidi* demonstraram que essas duas áreas apresentam maiores densidades de cavalos-marinhos (TENÓRIO, 2008; DINIZ, 2008; e DEFAVARI, 2010). Todas essas áreas são margeadas por vegetação típica de mangue, como as espécies arbóreas *Rhizophora mangle*, *Avicennia germinans*, *A. schaueriana*, *Laguncularia racemosa* e *Conocarpus erectus* (PALUDO e KLONOWSKI, 1999).

O presente estudo foi realizado na estação reprodutiva de 2013 à 2014.

Figura 2. Foz do Rio Mamanguape, PB e as subáreas amostradas. Pe = Camboa Peixe-boi. Ta = Camboa Tanques. Fonte: Google Earth.



A busca por indivíduos grávidos foi feita através de censos subaquáticos diurnos, paralelos às margens das subáreas, por meio de mergulhos livres, em marés de quadratura, no período da maré baixa. As coordenadas do local de avistagem do animal foram registradas através de um GPS (Garmim Map 60CSx). Para cada local de encontro, foi coletada uma pequena quantidade de água para verificação da salinidade em laboratório. Foram coletados dados sobre o comportamento do animal, substrato de apoio utilizado por este e a altura do corpo, sendo esta última observação feita *a priori* em campo e *a posteriori* em laboratório. Os indivíduos tiveram tal medida, que vai do topo da coroa a ponta da cauda (VINCENT e GILES, 2003) (Figura 2), obtida com uso do software Image Tool ®. Em campo, as informações foram anotadas em planilhas de PVC, tomando o devido cuidado para que os indivíduos encontrados não fossem retirados por completo da água.

Figura 3. Altura do cavalo marinho obtido do topo da coroa à ponta da cauda. Imagem adaptada de MAI & ROSA, 2009.



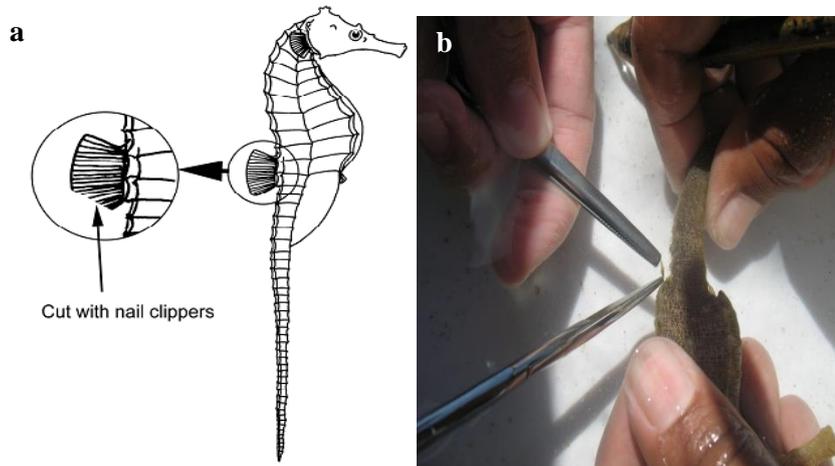
Para acompanhar o período de gestação, os machos grávidos coletados foram mantidos em estruturas denominadas “tanques-rede” (Figura 4). Tais estruturas são feitas de cano PVC (30 x 30 x 45 cm) que servem como base de apoio para amarrar bóias e outros objetos que permitem a estabilidade deste dentro da água. Nesses canos, foi amarrada uma malha de 0,5 mm, fina o suficiente para impedir a dispersão dos filhotes após o nascimento. Os tanques foram instalados com ajuda de um pescador local, próximo à margem oeste da camboa Peixe-boi, onde eram monitorados diariamente até o nascimento dos filhotes. As expedições diárias para monitorar os animais foram realizadas no período da manhã. A temperatura da água, a salinidade e a presença ou não de filhotes dentro dos tanques foram verificadas.

Figura 4. Tanques rede instalados próximos à margem oeste da camboa Peixe-boi.
Foto: Acervo Lapec/UFPB.



Após o nascimento dos filhotes, com auxílio de pinça e tesoura, a porção mais posterior da nadadeira dorsal do genitor foi coletada, uma técnica não letal conhecida como *fin clipping* (LOURIE, 2003) (Figura 5). Para fins de esterilização, esses utensílios, antes do uso, foram lavados com hipoclorito de sódio, em seguida embebidos em água destilada e, por fim, limpos com álcool 70%, para evitar a contaminação da amostra de tecido que seria coletado.

Figura 5. a) ilustração da técnica *fin clipping*, obtida de Lourie et al. 2003. b) execução da metodologia citada. Foto: Acervo Lapec/UFPB..



O número de indivíduos nascidos em cada prole foi registrado. Trinta indivíduos aleatórios foram fotografados em aquário com fundo escalonado para posterior verificação do comprimento em laboratório (Figura 6) e 15 indivíduos foram coletados e armazenados em álcool 96%, assim como a amostra da nadadeira do macho, para posterior genotipagem. Após a realização desses procedimentos, o macho e o restante da prole, foram liberados no mesmo local em que o macho foi capturado.

Figura 6. Filhote recém-nascido de *H. reidi* fotografado em aquário com fundo escalonado. Fonte: Acervo Lapec/UFPB.

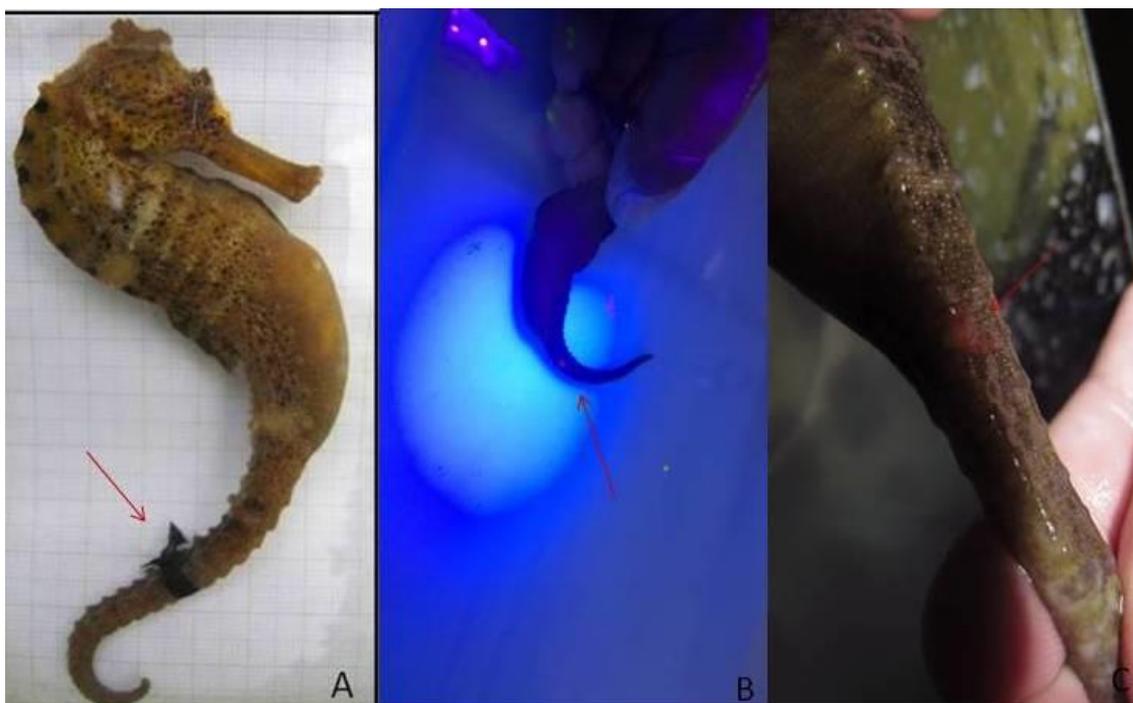


Para avaliar e/ou acompanhar os mesmos indivíduos durante toda a estação reprodutiva, estes foram marcados para serem reavistados e monitorados em uma nova gravidez. De acordo com estudos prévios em cavalos marinhos, o ritual de corte dura cerca de três dias, ocorrendo pela manhã (VINCENT, 1994). Dessa forma, associado ao fato de que os animais de cativeiro de *H. reidi* poderiam reiniciar os comportamentos de acasalamento de 24 a 48 horas após a liberação da prole (SILVEIRA, 2005), as buscas para reavistar os indivíduos marcados aconteciam de três a cinco dias após a soltura destes, que seria em média o tempo necessário para que estes estivessem novamente grávidos e que tal estado reprodutivo fosse visivelmente perceptível.

Devido à sua morfologia diferenciada (nadadeiras reduzidas e corpo envolto por anéis ósseos) e a susceptibilidade a doenças, os cavalos marinhos se apresentam como animais de difícil marcação (VINCENT e SADLER, 1995).

Inicialmente, os machos cuja gravidez e nascimento da prole foram acompanhados, foram marcados com uma fita colorida amarrada na cauda (Figura 7a). Na metade do estudo, a forma de marcação foi modificada e passou-se a usar um polímero colorido, o Elastômero Fluorescente de Implante Visível (VIE), injetado subcutaneamente com auxílio de uma seringa nos anéis do tronco e da cauda (MORGAN e MARTIN-SMITH, 2004; WOODS e MARTIN-SMITH, 2004; CURTIS, 2006) (Figuras 7b e 7c).

Figura 7. Marcações utilizadas durante a pesquisa. A) fita colorida; B) VIE visualizado sob luz ultravioleta; C) VIE visualizado sob luz natural. Foto: Acervo LAPEC/UFPB



3.2- Das análises genéticas

As análises genéticas foram conduzidas no Laboratório de Genômica Ambiental (LAGEA), na Universidade Federal de Pernambuco, sob coordenação do professor Dr. Rodrigo Augusto Torres, e no Laboratório de Genética Aplicada (LAGA), na Universidade Federal Rural de Pernambuco, sob coordenação da professora Dr^a Maria Raquel Moura Coimbra.

A extração do DNA genômico total das amostras de nadadeiras e dos filhotes coletados foi realizada ora com base no protocolo de fenol:clorofórmio, descrito por Sambrook et al. (1989), incluindo a utilização da solução de digestão de Aljanabi e Martinez (1997) e sem a etapa da adição de sal na precipitação do DNA, como sugerido por Lourie et al. (2005), ora com o kit de extração Qiagen ®.

Após a extração, realizou-se a quantificação do DNA presente em cada amostra por meio da análise comparativa com amostras de DNA de concentração conhecida

(marcador λ), submetidos à eletroforese durante 25 minutos em gel de agarose a 1% corado com brometo de etídio e visualizado sob luz ultravioleta.

Para genotipagem dos indivíduos, foram utilizados três loci de microssatélites desenvolvidos para *H. guttulatus* (*Hgu12* e *Hgu5*) e *H. hippocampus* (*Hhip2*) (PARDO et al., 2007; VLIET et al., 2009), transferidos com sucesso para *H. reidi* por Defavari (2010).

O coquetel para a realização da PCR, de volume final de 10 μ L, foi composto por 2,5 a 42 ng de DNA genômico, tampão para PCR 1X (10mM de Tris-HCl, 50mM de KCl, 1,5mM pH 8.3), 1,5 μ M de MgCl₂ para os loci *Hhip2* e *Hgu5*, e 2,5 μ M de MgCl₂ para o locus *Hgut4* 200 μ M de cada dNTP, 1 μ M de cada primer fluorescente *reverse*, 1 μ M do primer *forward* não fluorescente e 1U de *Taq* polimerase. As reações foram realizadas nas seguintes condições: desnaturação a 94°C por 4 minutos; 35 ciclos sucessivos de desnaturação a 94 °C por 30s, temperatura de hibridação específica de cada par de iniciador (Tabela 1) por 30 segundos, extensão a 72 °C por 1 minuto e, por fim, extensão final a 72 °C por 60 minutos.

Tabela 1. Loci, motivos de repetições/fluorescências, primers forward e reverse, temperatura de anelamento e tamanho esperado (pb).

<i>Locus</i>	Motivos de repetição/ Fluorescência	Primers (5' - 3')	Ta°C	Tamanho pb
<i>Hhip2</i>	(ATCT) ₁₉ /LED	F:GACTCGGGGTTAAGGCAGAAGG R:AGATGGATGGACAGACGGACATA	64	208-252
<i>Hgu5</i>	(TGCG) ₄ (TG) ₆ C(GT) ₄ A(TG) ₃ /FAM	F:GTGTGTTGGATTGCTGGATG R: ATGACAAGTGCCTGAGCGTA	64	154-190
<i>Hgut4</i>	(GATA) ₂₅ /PET	F: GCCGCATACACTGGACCGCATC R:TGCGAGCTACGTGAGGGAGAACATC	64	108-172

Após a PCR, 3 μ l de cada amostra foram visualizados em gel de agarose sob luz ultravioleta e o tamanho do amplicon foi estimado a partir de um marcador de peso molecular de 10 pb (Invitrogen). Tais amostras foram posteriormente avaliadas em gel de acrilamida a 5% por 1 hora e 25 minutos para confirmar a nítida separação dos alelos.

Os produtos de PCR marcados com primers fluorescentes foram diluídos na proporção 1:10 e misturados de acordo com diferentes fluorescências, de forma que a proporção final foi de 1µl de cada uma das três ampliações, acrescidos a 7 µl de água ultra pura, totalizando 10µl. Em seguida, as amostras foram desnaturadas por 5 min a 95°C em formamida e os alelos, separados por eletroforese no sequenciador automático ABI 3500. O tamanho dos fragmentos foi estimado com base no marcador interno GS600LIZ (Applied Biosystems) e no Software GeneMarker 2.6.4(Applied Biosystems).

Após a genotipagem dos loci microssatélites, o genótipo maternal de cada filhote foi reconstruído a partir dos genótipos da prole e do macho. Caso os genótipos dos filhotes de uma prole contivessem mais de dois alelos de origem não paterna em um mesmo locus, seria considerada a ocorrência de múltipla maternidade.

Para reconstrução do genótipo materno, utilizou-se o software GERUD 2.0 (JONES, 2005).

4. RESULTADOS

No total, oito machos grávidos foram acompanhados durante o período de estudo. O tamanho das proles variou de 563 a 1379 indivíduos com comprimento médio variou de 0,62 a 0,71 cm, enquanto o comprimento médio dos machos grávidos analisados variou de 12,5 a 17,05 cm. Os dados sobre os indivíduos, bem como sobre suas proles, podem ser vistos na tabela 2. Nenhum macho marcado foi reencontrado grávido. Dessa forma, não foi possível obter dados acerca de uma gestação consecutiva.

As extrações de DNA foram bem sucedidas para a maioria das amostras, apresentando concentrações de 4 a 25 µg/µl, à exceção de alguns filhotes cujas extrações não lograram êxito. Os testes das PCRs em gel de agarose e de acrilamida demonstraram que a amplificação dos três loci foram bem sucedidas para o estudo de paternidade de *H. reidi*, como pode ser observado pela formação de bandas específicas nas figura 8 e 9.

Para os oito cavalos marinhos encontrados, nenhuma prole apresentou mais de dois alelos maternos por locus, demonstrando a ocorrência de uma única herança materna na prole (tabela 3). Na população amostrada não foi detectada ocorrência de acasalamentos múltiplos por parte da fêmea, com cada genótipo feminino apresentando-se único (tabela 4).

O número de embriões amostrado foi suficiente para estabelecer um índice de confiabilidade elevado. Aumentar a quantidade de juvenis coletados não elevaria esse número a valores significativos.

Figura 8. Gel de agarose a 1% com brometo de etídio visualizado sob luz ultravioleta. Marcador de 10 pb. Formação de bandas específicas dentro da amplitude esperada para todos os loci. A) Hhip2; B) Hgu5; C) Hgut4.

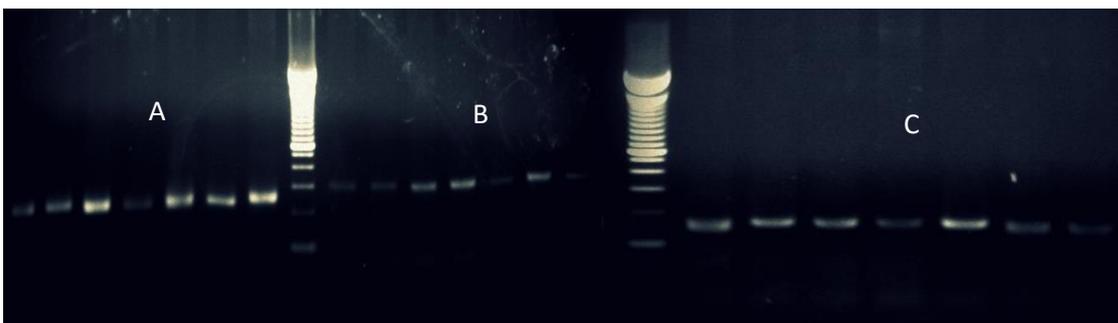


Figura 9. Gel de acrilamida mostrando a separação dos alelos.



Figura 10. Eletroferogramas obtidos pelo sequenciamento automático do *locus* Hgu4. A) pai heterozigoto. B) filhote homozigoto, indicando que a genitora compartilha um alelo com o pai.

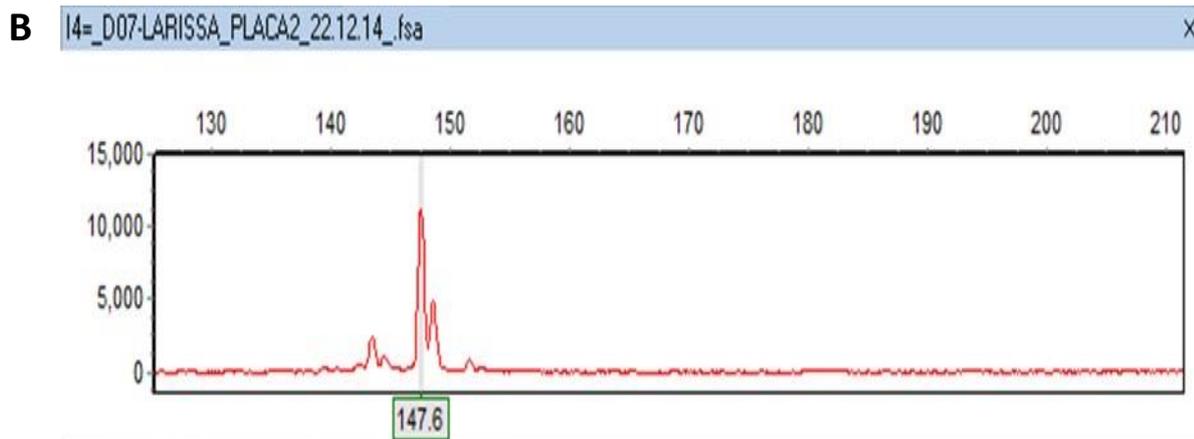
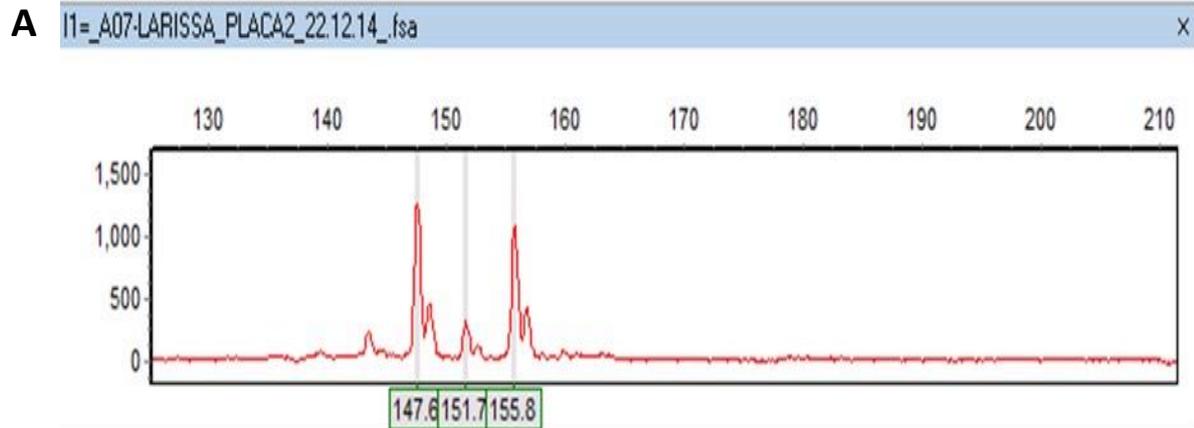


Tabela 2. Informações sobre os cavalos-marinhos monitorados e das suas respectivas proles.

<i>CM</i>	<i>Prole</i>	<i>Mês de captura</i>	<i>Ponto amostral (GPS)</i>	<i>Salinidade no local de captura</i>	<i>Sustrato/comportamento</i>	<i>Atura do pai (cm)</i>	<i>n^a de indivíduos por prole</i>	<i>Altura média dos filhotes (cm)</i>
1	a	Novembro/ano	Peixe-boi 0286468; 9250348	39,5	Raiz do mangue/parado	17,05	685	0,69
2	b	Novembro/ano	Peixe-boi 0286477; 9250285	37,5	Coluna d'água/nadando	14,5	407	0,63
3	c	Dezembro/ano	Peixe-boi 0286474; 9250362	38	Raiz do mangue/parado	12,8	850	0,70
4	d	Dezembro/ano	Peixe-boi 0286450; 9250419	38	Raiz do mangue/parado	15,3	1379	0,69
5	e	Dezembro/ano	Tanques 0285230; 9250933	35,5	Coluna d'água/nadando	16,0	732	0,66
6	f	Dezembro/ano	Peixe-boi 0286503; 9250355	35	Coluna d'água/nadando	14,2	352	0,65
7	g	Janeiro/ano	Tanques	36	Lama/parado	14,5	- *	-
8	h	Fevereiro/ano	Peixe boi 0286469; 9250368	38	Galho/parado	12,5	563	0,62

*Não foi possível realizar a contagem dos filhotes.

Tabela 3. Genótipos parentais por loci.

<i>Prole</i>	<i>N^a de embriões genotipados</i>	<i>Genótipo paterno para:</i>			<i>Genótipo materno</i>		
		Hgu5	Hhip2	Hgut4	Hgu5	Hhip2	Hgut4
A	15	286/294	224/232	148/160	292/286	232/232	**/**
B	15	278/282	**/**	132/164	266/286	**/**	132/148
C	15	286/294	232/240	116/164	282/294	248/232	162/124
D	15	286/296	232/232	126/156	294/298	216/232	148/136
E	15	286/292	220/220	148/156	278/292	244/220	144/148
F	15	282/286	236/248	152/156	294/286	216/212	180/144
G	15	280/286	236/244	156/164	300/292	252/236	144/132
H	15	282/294	228/256	148/160	282/304	224/240	160/168

** = alelos não identificados.

Tabela 4. Genótipos dos embriões de cada prole agrupados por frequência em que aparecem nos indivíduos.

Prole	Genótipos		
	Hgu5	Hhip2	Hgut4
A	286/286 ⁽⁶⁾	232/232 ⁽⁶⁾	-*
	286/294 ⁽⁵⁾	224/232 ⁽⁷⁾	-
	292/294 ⁽²⁾	n.o=2	-
	n.o.* = 2		-
B	266/278 ⁽⁴⁾	-	148/164 ⁽⁷⁾
	278/286 ⁽²⁾	-	132/132 ⁽³⁾
	266/282 ⁽⁴⁾	-	132/148 ⁽⁴⁾
	282/286 ⁽²⁾	-	132/164 ⁽¹⁾
n.o=3			
C	282/286 ⁽³⁾	232/240 ⁽⁵⁾	116/124 ⁽²⁾
	282/294 ⁽⁴⁾	232/232 ⁽⁵⁾	116/162 ⁽¹⁾
	294/294 ⁽³⁾	240/248 ⁽⁵⁾	162/162 ⁽³⁾
	286/294 ⁽⁴⁾		162/124 ⁽⁹⁾
n.o= 1			
D	286/294 ⁽⁷⁾	232/232 ⁽⁸⁾	136/156 ⁽¹⁰⁾
	286/296 ⁽⁷⁾	216/232 ⁽⁵⁾	148/156 ⁽⁴⁾
	286/296 ⁽¹⁾	n.o= 2	n.o= 1
E	286/292 ⁽¹⁰⁾	220/220 ⁽⁸⁾	144/148 ⁽⁶⁾
	278/286 ⁽⁵⁾	220/244 ⁽⁵⁾	148/148 ⁽²⁾
		n.o= 2	148/156 ⁽⁵⁾
		144/156 ⁽²⁾	
F	282/294 ⁽⁷⁾	216/236 ⁽²⁾	152/180 ⁽⁶⁾
	286/286 ⁽⁴⁾	212/248 ⁽⁷⁾	144/156 ⁽⁵⁾
	282/286 ⁽³⁾	212/236 ⁽⁶⁾	144/152 ⁽⁴⁾
	286/294 ⁽¹⁾		
G	286/300 ⁽⁷⁾	236/252 ⁽²⁾	144/164 ⁽⁷⁾
	286/292 ⁽⁵⁾	244/252 ⁽³⁾	132/164 ⁽⁴⁾
	280/292 ⁽³⁾	236/236 ⁽⁹⁾	n.o=4
H	294/304 ⁽⁶⁾	224/256 ⁽⁶⁾	148/168 ⁽⁴⁾
	282/294 ⁽⁴⁾	228/256 ⁽³⁾	160/168 ⁽⁸⁾
	282/304 ⁽⁵⁾	228/240 ⁽⁶⁾	148/160 ⁽³⁾

*n.o=genótipos não foram claramente obtidos.

6. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos com as análises dos embriões e seus respectivos parentais demonstraram que *Hippocampus reidi* comportou-se de forma monogâmica ao longo de uma gestação, recebendo óvulos de uma única fêmea.

Acredita-se que a turbidez da água e a retirada das raízes do manguezal por parte dos pescadores podem ter atrapalhado a coleta de cavalos-marinhos ou dos que haviam sido marcados e soltos, impedindo o reencontro destes, já que eles se escondem entre as raízes. Além disso, na maré cheia, estes se deslocavam para lugares mais fundos com menor visibilidade. Por isso, a captura destes era mais comum durante a maré seca e em dias de pouco vento.

Todas as espécies de cavalos marinhos estudadas *in situ* aparentaram ser monogâmicas dentro de um ciclo reprodutivo, com o macho aceitando ovos de apenas uma única fêmea, sendo elas: *H. capensis* (GRANGE e CRETCHLEY, 1995), *H. whitei* (VINCENT e SADLER, 1995), *H. subelongatus* (JONES et al., 1998), *H. zosterae* (ROSE et al, 2014). Para os estudos *ex situ*, *H. fuscus* (VINCENT, 1990) e *H. zosterae* (MASONJONES e LEWIS, 1996), apresentaram-se monogâmicos, enquanto *H. abdominalis* (WOODS, 2000) e *H. subelongatus* (KVARNEMO et al., 2000; JONES et al., 2003), apresentaram troca de parceiro durante uma estação reprodutiva. Para *H. reidi*, a descoberta da monogamia da espécie figura como um dado inédito.

Nos cavalos marinhos, ambos os sexos estão predispostos a trocar seus parceiros (KVARNEMO, 2000). Como demonstrado por Woods 2000 e Kvarnemo 2000, sempre que os machos trocam de fêmeas, o fazem objetivando fêmeas maiores ou de tamanho igual ao seu, numa tentativa de aumentar o sucesso reprodutivo. No entanto, como o foco da maioria dos estudos relacionados à reprodução de *Hippocampus spp.* está direcionado aos machos, não se sabe se as trocas acontecem por fatores como deserção, morte das fêmeas, ou se estas encontraram novos parceiros ou, ainda, os machos o fazem para aumentar os índices de fecundidade.

A monogamia é um sistema de acasalamento raro que é comumente registrado para aves, mesmo que seja apenas de forma social e não necessariamente genética

(LACK, 1968; GRIFFITH et al., 2002), sendo raramente documentada nos peixes, principalmente em habitats de águas doce e recifes de corais (BARLOW, 1986).

A formação de pares estáveis parece ser limitada pela necessidade do cuidado biparental. Porém, outros fatores parecem estar envolvidos na manutenção da monogamia nos peixes marinhos (WHITEMAN e CÔTÉ, 2004).

O cuidado parental pode apresentar certo custo, dentre eles: redução de oportunidades de forrageio (TRIVERS, 1972), aumento da mortalidade dentre os adultos (MAGNHAGEN e VESTERGAARD, 1991) comprometimento da habilidade de atrair novos parceiros, resultando na perda de oportunidades de acasalamento (TRIVERS, 1972; BALSHINE-EARN e EARN, 1998). Embora, recentemente, tenha sido proposto que o cuidado paterno fornecido à prole pode aumentar a preferência dos machos pela fêmea (TALLAMY, 2000).

Provavelmente, a monogamia age para aumentar o sucesso reprodutivo de peixes que vivem em baixa densidade, possuem baixa mobilidade e que dependem da camuflagem como defesa contra predação (BARLOW, 1984, 1988; VINCENT & SADLER, 1995), como é o caso dos cavalos marinhos. Nesse aspecto, pode-se citar o *efeito de familiaridade* (“mate familiarity effect”) descrito por BLACK (1996), que preconiza que a monogamia seja proveitosa para ambos os sexos quando o fato de se acasalar com o mesmo parceiro confere aumento do sucesso reprodutivo.

A baixa densidade encontrada para a maioria das espécies de cavalos-marinhos figura-se como uma barreira espacial para a poligamia, aumentando o gasto energético dos indivíduos para encontrar novos parceiros, visto que esses, em relação a indivíduos que vivem em densidades maiores, precisam percorrer distâncias maiores para realizar tal feito (EMLEN & ORING, 1977). No entanto, mesmo em baixas densidades, a sobreposição de áreas vitais pode ser entendida como uma oportunidade para a ocorrência de poligamia nesses animais. Burt (1943) definiu área vital como sendo o espaço em que os indivíduos realizam suas atividades diárias, como busca por alimento, cuidado à prole e acasalamento. Como foi demonstrado por Vincent et al. 2005, as áreas vitais dos cavalos marinhos estão sobrepostas. Isto é, machos e fêmeas, pareados ou não, tem contato com outros indivíduos do mesmo sexo, que por sua vez também podem ou não estar pareados.

Os cavalos- marinhos são conhecidos como um dos vertebrados mais sedentários (VINCENT et al., 2005). Assim, sendo monogâmicos, tais animais não precisam deslocar-se por grandes distâncias para conseguir novos parceiros, além disso, por possuírem baixo número de predadores naturais quando na fase adulta, as condições são favoráveis para que estes indivíduos mantenham fidelidade de sítio (FOSTER e VINCENT, 2004). Mai e Rosa 2009, reavistaram os mesmos pares de cavalos marinhos durante seu estudo de campo, como um indicativo de um padrão monogâmico para *H. reidi*. Além desses fatores, os machos não precisam deslocar-se em busca de locais para reprodução, visto que carregam os embriões consigo durante a gestação (VINCENT et al., 2005).

A duração do comportamento de corte desses animais também corrobora os resultados obtidos para esse estudo e para os demais estudos de monogamia em cavalos marinhos. Longos cortejos, como é o caso desses animais, cujo ritual de corte dura cerca de 3 dias (VINCENT, 2002), diminuem a possibilidade de um número elevado de acasalamentos, especialmente quando ocorre a guarda do parceiro (VINCENT et al., 2004). Para os cavalos marinhos, Vincent e Sadler (1995) relatam que a guarda do parceiro é uma forma de reforçar a ligação entre o par durante o período de gravidez do macho, como uma forma de confirmar que seus parceiros ainda estão presentes para uma nova cópula. Isso ocorre por meio de encontros diários durante as primeiras horas do dia, com os indivíduos repetindo parte dos comportamentos realizados durante a corte. Além disso, esses encontros fornecem informação à fêmea sobre o estágio de gravidez em que o macho se encontra, permitindo-a sincronizar a preparação dos ovos com o período do parto do parceiro, diminuindo assim, o intervalo entre os cruzamentos, uma vez que estas não podem hidratar seus ovos instantaneamente para ocorrência de uma nova cópula, nem reter seus ovos hidratados por um longo período.

Como mencionado anteriormente, espécimes de cativeiro de *H. reidi* podem acasalar-se de 24 a 48 horas após a liberação da prole (SILVEIRA, 2005). para outras espécies, como *H. fuscus*, o tempo de espera é de 9 horas (VINCENT, 1995). Dessa forma, a troca de parceiro a cada gestação pode ser dispendiosa para os animais, pois estes teriam que reiniciar todo o ritual de corte, prolongando o tempo para uma segunda gestação (VINCENT, 1992).

Aspectos morfológicos também contribuem para a determinação do sistema de acasalamento de uma espécie: Cavalos-marinhos, *Hippocampus* spp. e os peixes cachimbo *Syngnathus typhle* e *Corythoichthys haematopterus*., são os únicos singnatídeos já estudados quanto à estrutura ovariana. Os resultados obtidos revelam que a anatomia dos ovários de *Hippocampus* spp. e *C. haematopterus*, ambos monogâmicos, são similares e diferem da estrutura apresentada por *S. typhle*, espécie poligâmica. O crescimento folicular de *S. typhle* ocorre de forma assincrônica, com folículos em vários estágios de desenvolvimento presentes ao mesmo tempo. Isso permite que as fêmeas levem menos tempo para maturar os ovos e estejam prontas para copular em um intervalo de tempo menor e com uma maior quantidade de parceiros, diferindo das fêmeas de *Hippocampus* spp. e *C. haematopterus*, cujo desenvolvimento dos folículos se dá de forma sincrônica. Assim, as fêmeas desses indivíduos maturam seus ovos, depositam-os no macho e só estarão prontas para uma nova cópula quando seus folículos e, conseqüentemente seus ovos, maturarem novamente (SOGABE et al., 2008; WALLACE e SELMAN., 1981; BEGOVAC e WALLACE., 1987).

Tradicionalmente, a monogamia vem sendo considerada como o pareamento de dois indivíduos durante um ou mais eventos reprodutivos (WITTENBERGER e TILSON, 1980). No entanto, a monogamia social não necessariamente reflete a monogamia genética (WILSON e MARTIN-SMITH, 2007). É comum espécies que são socialmente monogâmicas apresentarem-se geneticamente poligâmicas (WHITLER et al., 2004). Sendo esta primeira definida como a associação comportamental de longo termo entre um macho e uma fêmea, não levando em consideração a existência ou não uma associação exclusiva entre dois indivíduos (WITTENBERG e TILSON, 1989; REICHARD, 2003), enquanto a monogamia genética, em contrapartida, refere-se a uma associação exclusiva, entre um único macho e uma única fêmea, identificada normalmente por meio de análises parentais moleculares (REICHARD, 2003).

Silveira (2010) relata a cópula de um macho com duas fêmeas diferentes em menos de 24 horas. No entanto, nesse mesmo evento, a autora questiona se os óvulos da segunda fêmea foram de fato inseridos na bolsa do macho durante essa suposta segunda cópula, tornando-se evidente a necessidade de estudos genéticos associados a estudos comportamentais.

Searcy e Yasukawa (2005) reitera o conceito de monogamia genética como uma associação de sucesso reprodutivo entre um macho e uma fêmea e que se diferencia dos demais sistemas de acasalamento não só pela quantidade de parceiros, como pela ação da seleção sexual: nos sistemas poliginícos, onde um macho possui duas ou mais parceiras, a seleção sexual tende a ser mais intensa nos indivíduos do sexo masculino, enquanto que nos sistemas poliandricos, onde uma fêmea detém mais de um parceiro, o sexo feminino estará sob influência de maior intensidade de seleção sexual, diferente desses dois sistemas, na monogamia, a seleção sexual não age de forma específica em nenhum dos sexos, sendo considerada fraca em ambas e por isso redução no dimorfismo sexual.

Apesar de características de dimorfismo sexual terem sido descritos por Oliveira et al, (2010), que incluem a presença de quilha proeminente e pigmentada, presente apenas em machos, e máculas dorsolaterais cuja presença é predominante neste mesmo sexo, estes podem não ter relação alguma com a seleção sexual. Huxley (1938) cunhou o termo *epigamia* para designar os caracteres que aumentam a fertilidade de um acasalamento e que possuem um valor seletivo para a espécie como um todo. Ele especulou que o surgimento dessas diferenças sexuais pode estar ligado ao fato de constituir uma forma de indução ou de atração da parceira à cópula, ou ainda de manutenção do par pelo tempo necessário para o cuidado da prole. Para os cavalos marinhos, como o cuidado é feito de forma uniparental pelo macho, a primeira alternativa seria mais aceitável.

5. CONCLUSÃO

Ao término do trabalho pode-se concluir que:

- Apesar do baixo número amostral, os machos de *H. reidi* acasalaram-se com uma única fêmea por gestação, apresentando-se geneticamente monogâmicos;
- O baixo dimorfismo sexual apresentado por *H. reidi*, apesar dos novos caracteres descobertos, pode ser justificado pela ocorrência de monogamia, corroborando a ação não intensa da seleção sexual em sistemas monogâmicos.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Há uma carência de dados para todo o gênero *Hippocampus*, principalmente no que diz respeito à dados genéticos.

A ênfase na monogamia de *H. reidi*, considerando sua ocorrência no Brasil, seria mais um atributo para colocá-lo como espécie bandeira.

Além disso, a fragilidade com a qual estes indivíduos são removidos de suas estruturas/substratos de apoio, denotam um alerta à preservação dos ambientes de manguezal.

Estudos posteriores devem verificar se um mesmo indivíduo acasala-se com uma mesma fêmea durante todo o ciclo reprodutivo e aumentar o número amostral do presente trabalho. No entanto, a descoberta de que *H. reidi* apresenta-se geneticamente monogâmico implica na ampliação do conhecimento da biologia reprodutiva desse animal como também em impactos relacionados à sua reprodução em cativeiro, que vem se mostrando uma alternativa à retirada desses animais do ambiente natural quando tal prática se destina a fins de aquarismo e a venda como indivíduos secos.

7. REFERÊNCIAS

ALVES, R.R.N.; NISHIDA, A.K. 2003. **Aspectos socioeconômicos e percepção ambiental dos catadores de caranguejo-uçá *Ucides cordatus cordatus* (L. 1763) (Decapoda, Brachyura) do estuário do rio Mamanguape, Nordeste do Brasil.** *Interciencia* (Caracas), Venezuela, v. 28(1), p. 36-43.

BARLOW, G. W. 1984. **Patterns of monogamy among teleost fishes.** *Archiv fur Fisch. Wissenschaft* 35, 75–123.

BARROS, A. T. **Taxonomia e análise da estrutura populacional comercializada de cavalos-marinhos (Syngnathidae: Teleostei: Hippocampus) no Brasil.** 2005. Dissertação (Mestrado em Zoologia) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2005.

BAUM, J. K.; VINCENT, A. C. J. 2005. **Magnitude and inferred impacts of the seahorse trade in Latin America.** *Environmental Conservation*. v. 32 p. 305-319.

BEGOVAC, P.C. & WALLACE, R.A. 1988. Stages of oocyte development in the pipefish, *Syngnathus scovelli*. *J. Morphol.* 197,353–369.

BLACK, J.M. 1996. **Partnerships in birds: The Study of Monogamy.** Oxford University Press, Oxford, UK. 420 pp.

BLUMER, L. S. 1982. **A bibliography and categorization of bony fishes exhibiting parental care.** *Zool. J. Linn. Soc.* 76:1–22.

BRASIL. 2004. **Ministério do Meio Ambiente. Lista Nacional das Espécies de Invertebrados Aquáticos e Peixes Sobreexplotadas ou Ameaçadas de Sobreexploração.** Instrução Normativa nº 05, de 21 de Maio de 2004. **Diário Oficial da União n. 102: 136-142.**

BREDER, C. M.; ROSEN, D.E. 1966. **Modes of reproduction in fishes.** Natural History Press, New York.

BURT, W. H. 1943. **Territoriality and home range concepts as applied to mammals.** *Journal of Mammalogy* 24:346–352.

CARVALHO-FILHO, A. 1999. **Peixes: Costa Brasileira**. 3 ed. São Paulo: Editora Melro. 320p.

CASTRO, A. L. C.; DINIZ, A. F.; MARTINS, I. Z.; VENDEL, A. L.; OLIVEIRA, T. P. R.; ROSA, I. L. 2008. Assessing diet composition of seahorses in the wild using a non destructive method: *Hippocampus reidi* (Teleostei: Syngnathidae) as a study-case. **Neotropical Ichthyology**. v. 6 n° 4, p. 637-644.

CHAO, L. N.; PEREIRA, L. E.; VIEIRA, J. P. 1982. **Relação alimentar dos peixes estuarinos e marinhos da Lagoa dos Patos e região costeira adjacente, Rio Grande do Sul, Brasil**. Atlântica, v. 5, p. 67-75.

CHAPMAN, D.D; PRODOHL, P.A.; GELSLEICHTER. J; MANIRE, C.A.; SHIVJI, M.S. 2004. **Predominance of genetic monogamy by females in a hammerhead shark, *Sphyrna tiburo* : implications for shark conservation**. Molecular Ecology 13: 1965-1974.

CITES - **Convention on Internacional Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora**. Apêndice II 2004. <http://www.cites.org/eng/app/appendices.php>

DEFAVARI, G.R. 2010. **Estrutura genética de *Hippocampus reidi* (Teleostei: Syngnathidae) da costa do nordeste brasileiro**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa. 92p.

DEWOODY, J.A. & AVISE, J.C. 2001. Genetic perspectives on the natural history of fish mating systems. **J. Hered.** 92:167-172.

DIAS NETO, J. (org.) 2011. **Proposta de Plano Nacional de Gestão para o uso sustentável de cavalos-marinhos do Brasil**. Brasília: Ibama. 104p.

DIAS, T. L. P.; ROSA, I. L. 2003. **Habitat preferences of a seahorse species, *Hippocampus reidi*, (Teleostei:Syngnathidae) in Brazil**. Aqua Journal of Ichthyology and Aquatic Biology, v. 6, n. 4, p. 165.

DIAS, T. L., ROSA, I. L. & BAUM, J. K. 2002. **Threatened fishes of the world: *Hippocampus erectus* Perry, 1810 (Syngnathidae)**. Environmental Biology of Fishes v. 65, p. 326.

- DINIZ, A.F. 2008. **Preferência alimentar do cavalo-marinho *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933 (Teleostei: Syngnathidae) em ambiente natural.** Monografia de graduação. Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa. 32p.
- ELLEGREN, H. 2004. **Microsatellites: simple sequences with complex evolution.** Nat Rev Genet 5:435–445.
- EMLEN, S.T . & ORING, L.W . 1977. **Ecology, sexual selection, and the evolution of mating systems.** Science 197: 215-223.
- FOSTER, S. J. & VINCENT, A.C. J. 2004. **Life history and ecology of seahorse: implications for conservation and management.** J. Fish. Biol. 65: 1-61.
- FRANKHAM, R.; BALLOU, J.D.; BRISCOE, D.A. 2008. **Fundamentos da Genética da Conservação.** Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética. 262p.
- FROESE, R. & PAULY, D. 2010. FishBase. Disponível em: www.fishbase.org.
- GALBUSERA, P.H.A.; GILLEMOT, S.; JOUK, P.; TESKE, P.R.; HELLEMANS, B. VOLCKAERT, F.A.M.J. 2007. **Isolation of microsatellite markers for the endangered Knysna seahorse *Hippocampus capensis* and their use in the detection of a genetic bottleneck.** Mol. Ecol. Notes 7(4):638– 640.
- GRANGE, N.; CRETCHLEY, R. 1995. **A preliminary investigation of the reproductive behaviour of the Knysna seahorse *Hippocampus capensis* Boulanger, 1900.** South African Journal of Aquatic Sciences 21,103–104.
- GRIFFITH, S.C.; OWENS, I.P.F.; THUMAN, K.A. 2002. **Extra pair paternity in birds: a review of interspecific variation and adaptive function.** Mol Ecol. 11:2195–2212.
- GRONELL, A.M. 1984. **Courtship, spawning and social organization of the pipefish, *Corythoichthys intestinalis* (Pisces: Syngnathidae) with notes on two congeneric species.** Z Tierpsychol 65: 1-24.
- HÜBNER, K.; GONZALEZ-WANGUERMERT, M.; DIEKMANN, O.E.; SERRÃO E.A. 2013. **Genetic evidence for polygynandry in the Black-Striped pipefish *Syngnathus abaster*: A microsatellite-based parentage analysis.** Journal of Heredity 104: 791–797.

- HUXLEY, J. S. 1938. **Darwin's theory of sexual selection**. Am. Nat. 72, 416.
- IUCN. World Conservation Union. 2008. **"IUCN red list of threatened species"**. Versão 2014.3 <<http://www.redlist.org>>.
- JAMES, P.L.; HECK, K.L.J. 1994 **The effects of habitat complexity and light intensity on ambush predation within a simulated seagrass habitat**. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. v.176, p187-200.
- JARNE, P.; LAGODA, P.J.L. 1996. **Microsatellites, from molecules to populations and back**. Trends in Ecology & Evolution, Vol.11, No.10, (October 1996), pp. 424-429, ISSN 0169- 5347.
- JONES A.G.; MOORE, G. I.; KVARNEMO, C.; WALKER, D.; AVISE, J. C. 2003. **Sympatric speciation as a consequence of male pregnancy in seahorses**.
- JONES, A.G. & AVISE, J.C. 1997a. **Microsatellite analysis of maternity and the mating system in the Gulf pipefish *Syngnathus scovelli*, a species with male pregnancy and sex-role-reversal**. Molecular Ecology 6: 203-213.
- JONES, A.G. & AVISE, J.C. 1997b. **Polygynandry in the dusky pipefish *Syngnathus floridae* revealed by microsatellite DNA markers**. Evolution 51: 1611-1622.
- JONES, A.G. 2005. **GERUD 2.0: a computer program for the reconstruction of parental genotypes from half-sib progeny arrays with known or unknown parents**. Molecular Ecology Notes 5: 708–711.
- JONES, A.G.; AVISE, J.C. 2001. **Mating Systems and Sexual Selection in Male-pregnant Pipefishes and Seahorses: Insights from Microsatellite-Based Studies of Maternity**. The Journal of Heredity 92 (2): 150-158.
- JONES, A.G.; KVARNEMO, C.; MOORE, I.; SIMMONS, L.W.; AVISE, J.C. 1998. **Microsatellite evidence for monogamy and sex-biased recombination in the Western Australian seahorse *Hippocampus angustus***. Molecular Ecology 7: 1497-1505.
- JONES, A.G.; ROSENVIST, G.; BERGLUND, A. AVISE, J.C. 1999. **The genetic mating system of a sex-role-reversed pipefish (*Syngnathus typhle*): a molecular inquiry**. Behavioral Ecology Sociobiology 46: 357-365.

KUITER, R.H. 2000. **Seahorses, Pipefishes and Their Relatives: A Comprehensive Guide to Syngnathiformes**. Chorleywood, UK: TMC Publishing. 240p.

KVARNEMO, C.; MOORE, G.I.; JONES, A.G.; NELSON, W.S.; AVISE, J.C. 2000. **Monogamous pair bonds and mate switching in the Western Australian seahorse *Hippocampus subelongatus***. *Journal of Evolutionary Biology* 13: 882-888.

LACK D. 1968. **Ecological adaptations for breeding in birds**. London: Methuen.

LAL, K.K.; CHAUHAN, T.; MANDAL, A.; SINGH, R.K.; KHULBE, L.; PONNIAH, A.G.; MOHINDRA, V. 2004. **Identification of microsatellite DNA markers for population structure analysis in Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton-Buchanan, 1882)**. *J Appl Ichthyol* 20(2):87–91.

LANGEN, K.; SCHWARZER, J.; KULLMANN, H.; BAKKER, T.C.M.; THÜNKEN, T. 2011. **Microsatellite support for active inbreeding in a cichlid fish**. *PLoS One* 6(9):e24689.

LOURIE, S. 2003. Fin-clipping procedure for seahorses. **Project Seahorse Technical Bulletin** No. 3, Version 1.1. Project Seahorse, Fisheries Centre, University of British Columbia. 4 p.

LOURIE, S.A., VINCENT, A.C.J.; HALL, H.J. 1999. **Seahorses: an identification guide to the world's species and their conservation**. Project Seahorse. 214p.

LOURIE, S.A.; FOSTER, S.J.; COOPER, E.W.T; VINCENT, A.C.J. 2004. **A Guide to the Identification of Seahorses**. Washington D.C.: Project Seahorse and TRAFFIC North America. University of British Columbia and World Wildlife Fund. 114p.

LOURIE, S.A.; GREEN, D.M.; VINCENT, A.C.J. 2005. **Dispersal, habitat differences, and comparative phylogeography of South East Asian sea-horses (Syngnathidae:Hippocampus)**. *Mol Ecol* 14:1073–1094

MCCOY, E.E.; JONES, A.G.; AVISE, J.C. 2001. **The genetic mating system and tests for cuckoldry in a pipefish species in which males fertilize eggs and brood offspring externally**. *Mol Ecol*. 10:1793–1800.

MAI, A. C. G.; ROSA, I. L. 2009. **Aspectos ecológicos do cavalo-marinho *Hippocampus reidi* no estuário Camurupim/Cardoso, Piauí, Brasil, fornecendo**

subsídios para a criação de uma Área de Proteção Integral. Biota Neotrop. v. 9. n. 3. p. 85-91.

MAGNHAGEN, C.; VESTERGAARD, K. 1991. **Risk taken in relation to reproductive investments and future reproductive opportunities; field experiments on nest guarding common gobies *Pomatoschistus microps*.** Behavioral Ecology 2: 351-359.

MARTIN-SMITH, K.M.; VINCENT, A.C.J. 2006. **Exploitation and trade in Australian seahorses, pipehorses, sea dragons and pipefishes (Family Syngnathidae).** Oryx v.40, p141-151.

MASONJONES, H. D.; LEWIS, S. M. 2000. **Differences in potential reproductive rates of male and female seahorses related to courtship roles.** Animal Behaviour 59: 11–20.

MATSUMOTO, K.; YANAGISAWA, Y. 2001. **Monogamy and sex role reversal in the pipefish *Corythoichthys haematopterus*.** Animal Behaviour 61: 163–170.

MCCOY E. E.; JONES A.G.; AVISE J.C. 2001. **The genetic mating system and tests for cuckoldry in a pipefish species in which males fertilize eggs and brood offspring externally.** Molecular Ecology 10: 1793–1800.

MICHAEL, S. W. 2001. **Reef fishes: a guide to their identification, behavior, and captive care.** Vol 1. 2 ed. Neptune City: T. F. H. Publications. 624p

MOBLEY, K.B.; SMALL, C.M.; JONES, A.G. 2011. **Genetics and genomics of syngnathidae.** Journal of Fish Biology **78**: 1624-1646.

MOHINDRA, V.; MISHRA, A.; PALANICHAMY, M.; PONNIAH, A.G. 2001. **Cross-species amplification of *Catla catla* microsatellite locus in *Labeo rohita*.** Indian J Fish 48(1):103–108.

MOREIRA, H.L.M. 1999. **Análise da estrutura de plantéis e diversidade genética de estoques de reprodutores de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) estimadas por microssatélites.** 1999. 112f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Porto Alegre.

NELSON, J.S. 2006. **Fishes of the world.** 4rd Ed. John Wiley and Sons, New York.

USA. 601p.

NISHIDA, A. K. **Catadores de moluscos do litoral paraibano. Estratégias de subsistência e formas de percepção.** 2000. Tese de doutorado- UFSCar.

OLIVEIRA, T.P.R.; CASTRO, A.L.C.; ROSA, I.M.L. 2010. **Novel sex-related characteristics of the longsnout seahorse *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933.** Neotropical Ichthyology 8 (2): 373-378.

PALUDO, D.; KLONOWSKY, V.S. 1999. **Barra de Mamanguape - PB: Estudo do impacto do uso de madeira de manguezal pela população extrativista e da possibilidade de reflorestamento e manejo dos recursos madeireiros.** Série Cadernos da Reserva da Biosfera da Mata Atlântica. Conselho Nacional da Reserva da Biosfera da Mata Atlântica, São Paulo, 55pp.

PARDO, B.G.; LÓPEZ, A.; MARTÍNEZ, P.; BOUZA, C. 2007. **Novel microsatellite loci in the threatened European long-snouted seahorse (*Hippocampus guttulatus*) for genetic diversity and parentage analysis.** Conserv Genet 8: 1243-1245.

REICHARD, U.H.; BOESCH, C. editors. 2003. **Monogamy: mating strategies and partnerships in birds, humans and other mammals.** Cambridge: Cambridge University Press.

ROSA, I.L. 2005. **National Report - Brazil.** In: Bruckner, A.W.; Fields, J.D.; Daves, N. (eds) **The Proceedings of the International Workshop on CITES Implementation for Seahorse Conservation and Trade.** NOAA Technical Memorandum NMFS-OPR-35. 1 ed. vol 1. Silver Spring, p46-53

ROSA, I. L.; ALVES, R. R. N. 2007. **Pesca e comércio de cavalos-marinhos (Syngnathidae: Hippocampus) no Norte e Nordeste do Brasil: subsídios para a conservação e manejo.** In: ALBUQUERQUE, U. P. de; ALVES, A. G. C.; ARAÚJO, T. A. de S. (Org.). Povos e Paisagens. Recife: Núcleo de populações em ecologia e etnobotânica aplicada, p. 115-134.

ROSA, I. L.; ALVES, R. R. N.; BONIFÁCIO, K. M.; MOURÃO, J. S.; OSÓRIO, F. M.; OLIVEIRA, T. P. R.; NOTTINGHAM, M. C. 2005. **Fishers' knowledge and seahorse conservation in Brazil.** Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine, v. 1, n. 12.

ROSA, I. L.; DIAS, T. L. P.; BAUM, J. K. 2002. **Threatened fishes of the world: *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933 (Syngnathidae)**. Environmental Biology of Fishes, v. 64, p. 378.

ROSA, I.L.; SAMPAIO, C.L.; BARROS, A.T. 2006. **Collaborative monitoring of the ornamental trade of seahorses and pipefishes (Teleostei: Syngnathidae) in Brazil: Bahia state as a case study**. Neotropical Ichthyology. v.4, n. 2, p 247-252.

ROSA, R. S.; SASSI, R. 2002. **Estudo da Biodiversidade da Área de Proteção Ambiental Barra do Rio Mamanguape**. Relatório Final do Projeto apresentado ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa. 371p.

ROSE, E.; SMALL, C.M; SAUCEDO, H.A. HARPER, C. JONES, A.G. 2014. **Genetic evidence for monogamy in the Dwarf seahorse, *Hippocampus zosterae***. Journal of Heredity.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E.; MANIATIS, T. 1989. **Molecular Cloning: A Laboratory Manual**. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY

SCRIBNER, K.T.; GUST, J.R.; FIELDS, R.L. 1996. **Isolation and characterization of novel amplification salmon microsatellite loci: cross-species and population genetic applications**. Can J Fish Aquat Sci 53:833–841.

SHOKRI, M.R.; GLADSTONE, W.; JELBART, J. 2009. **The effectiveness of seahorses and pipefish (Pisces: Syngnathidae) as a flagship group to evaluate the conservation value of estuarine seagrass beds**. Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems 19: 588–595.

SILVEIRA, R. B. 2005. **Dinâmica populacional do cavalo-marinho *Hippocampus reidi* no manguezal de Maracaípe, Ipojuca, Pernambuco, Brasil**. Tese (Doutorado). Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2005.

SILVEIRA, R. B.; FONTOURA, N.R. 2010. **Fecundity and fertility of the longsnout seahorse, *Hippocampus reidi* (Teleostei: Syngnathidae), in tropical Brazil**. R. bras. Bioci., Porto Alegre, v. 8, n. 4, p. 362-367.

SILVEIRA, R.B.; RAMIREZ, S.R.; SILVA, J.R.S.; OLIVEIRA, C. 2014. **Morphological and molecular evidence for the occurrence of three *Hippocampus* species (Teleostei: Syngnathidae) in Brazil.**

SINGH, K.V.; GOPALAKRISHNAN, A.; LAKRA, W.S.; SOBTI, R.C. 2012. **Microsatellite loci to determine population structure in the yellow seahorse (*Hippocampus kuda*) and the three-spotted seahorse (*H. trimaculatus*).** Mar Biodiv. doi. 10.1007/s12526-012-0122-7.

SOGABE, A.; MATSUMOTO, K.; OHASHI, M.; WATANABE, A., TAKATA, H.; MURAKAMI, Y.; OMORI, K.; YANAGISAWA, Y. 2008. **A monogamous pipefish has the same type of ovary as observed in monogamous seahorses.** Biol. Lett. 4: 362–365.

TALLAMY, D.W. 2000. **Sexual selection and evolution of exclusive paternal care in arthropods.** Animal Behaviour 60: 559- 567

TENÓRIO, G. D. 2008. **Aspectos da biologia do cavalo-marinho *Hippocampus reidi* na Área de Proteção Ambiental da Barra do Rio Mamanguape, Paraíba.** Monografia de graduação. Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa. 48p.

TRIVERS, R. L. 1972. **Parental Investment and Sexual Selection** - In: Campbell, B. (ed), Sexual Selection and The descent of man 13-179.

TUMULTY, J.; MORALES, V.; SUMMERS, K. 2014. **The biparental care hypothesis for the evolution of monogamy: experimental evidence in an amphibian.** Behavioral Ecology 25(2), 262–270.

VINCENT, A.C.J. 1990. **Reproductive ecology of seahorses.** P.H.D. Thesis, University of Cambridge. 107pp.

VINCENT, A. C. J. 1994. **Seahorses exhibit conventional sex roles in mating competition, despite male pregnancy.** Behavior 128: 135-151.

VINCENT, A.C.J. 1995. **A role for daily greetings in maintaining seahorse pairs bonds.** Anim Behav 49: 258-260.

VINCENT, A.C.J. 1996. **The International Trade in Seahorse.** Cambridge: Traffic International. 163p.

- VINCENT, A.C.J.; AHNESJO, I.; BERGLUND, A.; ROSENQVIST, G. 1992. **Pipefishes and seahorses: are they all sex role reversed?** Trends Ecol. Evol.7: 237-241.
- VINCENT, A.C.J.; FOSTER, S.J.; KOLDEWEY, H.J. 2011. **Conservation and management of seahorses and other Syngnathidae.** Journal of Fish Biology 78: 1681–1724.
- VINCENT, A. C. J. & GILES B. G. 2003. The Fisheries Society of the British Isles. **Journal of Fish Biology** 63, 344–355.
- VINCENT, A.C.J.; SADLER, L.A., 1995. **Faithful pair bonds in wild seahorses, Hippocampus whitei.** Animal Behaviour 50: 1557–1569.
- VLIET, M.S.V; DIEKMANN, O.E.; SERRÃO, E.T.A. 2009. **Highly polymorphic microsatellite markers for the short-snouted seahorse (Hippocampus hippocampus), including markers from a closely related species the long-snouted seahorse (Hippocampus guttulatus).** Conservation Genet Resour (Technical Note).
- WALLACE, R. A. & SELMAN, K. 1981. **Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts.** Am. Zool.21, 325–343.
- WHITEMAN, E.A; CÔTÉ, I.M. 2004. **Monogamy in marine fishes.** Biol. Rev. 79: 351-375.
- WILSON A.B. 2009. **Fecundity selection predicts Bergmann’s rule in syngnathid fishes.** Molecular Ecology 18: 1263–1272.
- WILSON, A. B., ORR, J. W. **The evolutionary origins of Syngnathidae: pipefishes and seahorses.** 2011. Journal of Fish Biology 78: 1603 – 1623
- WILSON, A. B., VINCENT, A., AHNESJO, I. & MEYER, A. 2001. **Male pregnancy in seahorses and pipefishes (family Syngnathidae): rapid diversification of paternal brood pouch morphology inferred from a molecular phylogeny.** Journal of Heredity 92:159 – 166.
- WILSON, A.B.; AHNESJO, I.; VINCENT, A. C. J.; MEYER, A. 2003. **The dynamics of male brooding, mating patterns, and sex roles in Pipefishes and seahorses (family syngnathidae).** Evolution 57(6): 1374–1386.

WILSON, A.B.; MARTIN-SMITH, M. 2007. **Genetic monogamy despite social promiscuity in the pot-bellied seahorse (*Hippocampus abdominalis*)**. *Molecular Ecology* 16: 2345–2352.

WOODALL L. C.; HEATHER K. J.; SHAW P. W. 2011. Serial monogamy in the European long-snouted seahorse *Hippocampus guttulatus*. *Conservation Genetics* 12: 1645–1649.

WOODS, C. M. C. **Preliminary observations on breeding and rearing the seahorse *Hippocampus abdominalis* (Teleostei: Syngnathidae) in captivity**. 2000. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* v.34, p475-485.

WITTENBERGER, J.F. & TILSON, R. L. .1980. **The evolution of monogamy: hypotheses and tests**. *Annual Review of Ecology & Systematics* 11, 197–232

WOODALL L. C.; HEATHER K. J.; SHAW P. W. 2011. **Serial monogamy in the European long-snouted seahorse *Hippocampus guttulatus***. *Conservation Genetics* 12: 1645–1649.

YASUÉ, M.; NELLAS, A.; VINCENT, A.C.J. 2012. **Seahorses helped drive creation of marine protected areas, so what did these protected areas do for the seahorses?** *Environmental Conservation* 39: 183–193