

**GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO**  
**SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO**  
**AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS**  
**INSTITUTO DE PESCA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA**

**PROPOSTA E VALIDAÇÃO DE UM SISTEMA DE ESCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL PARA AVALIAÇÃO DE RESERVAS ENERGÉTICAS EM CAVALOS-MARINHOS-DE-FOCINHO-LONGO *Hippocampus reidi* (Ginsburg, 1933)**

**Bruna Larissa Maganhe**

**Orientador: Prof. Dr. Eduardo Gomes Sanches**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca - APTA - SAA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Aquicultura e Pesca.

**São Paulo**

**Abril – 2023**

**GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO**  
**SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO**  
**AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS**  
**INSTITUTO DE PESCA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA**

**PROPOSTA E VALIDAÇÃO DE UM SISTEMA DE ESCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL PARA AVALIAÇÃO DE RESERVAS ENERGÉTICAS EM CAVALOS-MARINHOS-DE-FOCINHO-LONGO *Hippocampus reidi* (Ginsburg, 1933)**

**Bruna Larissa Maganhe**

**Orientador: Prof. Dr. Eduardo Gomes Sanches**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca - APTA - SAA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Aquicultura e Pesca.

**São Paulo**

**Abril – 2023**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao Instituto de Pesca pela oportunidade de aprimoramento pessoal e profissional, possibilitando a realização deste e tantos outros projetos; agradeço ao meu orientador, Eduardo Gomes Sanches, por ter apoiado e incentivado as minhas ideias e teorias malucas, por todo suporte, correções, presença e, sobretudo, reconhecimento.

Agradeço ao Aquário de Ubatuba e toda sua equipe por terem me acolhido e acreditado no meu trabalho, me permitido pôr em prática diversos projetos que buscaram, de alguma forma, impulsionar a conservação de animais marinhos no Brasil.

Agradeço à minha família e a todos aqueles que me apoiaram ao longo deste período e me inspiraram a buscar sempre mais como profissional. Em especial, agradeço ao Rodrigo Eiji Kurokawa, que foi quem me apresentou oficialmente ao universo dos cavalos-marinhos.

E a todos que direta ou indiretamente fizeram parte desta etapa, o meu muito obrigada.

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO  
SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO  
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS  
**INSTITUTO DE PESCA**  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA

## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

“PROPOSTA E VALIDAÇÃO DE UM SISTEMA DE ESCORE DE  
CONDIÇÃO CORPORAL PARA AVALIAÇÃO DE RESERVAS  
ENERGÉTICAS EM CAVALOS MARINHOS DO FOCINHO LONGO  
*Hippocampus reidi* (Ginsburg, 1933)“

**AUTOR:** Bruna Larissa Maganhe


**ORIENTADOR:** Prof. Dr. Eduardo Gomes Sanches

Aprovada como parte das exigências para obtenção do título de  
MESTRE EM AQUICULTURA E PESCA, Área de Concentração em  
Aquicultura, pela Comissão Examinadora:



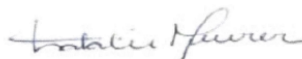
---

Prof. Dr. Eduardo Gomes Sanches

 Documento assinado digitalmente  
FABRICIO MENEZES RAMOS  
Data: 23/03/2023 13:05:59-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

---

Prof. Dr. Fabricio Meneses Ramos



---

Prof.ª Dr.ª Natalie Villar Freret Meurer

Data da realização: 23 de março de 2023



---

Presidente da Comissão Examinadora  
Prof. Dr. Eduardo Gomes Sanches

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Elaborada pelo Núcleo de Comunicação Científica. Instituto de Pesca, São Paulo

R163b Maganhe, Bruna Larissa.  
Proposta e validação de um sistema de escore de condição corporal para avaliação de reservas energéticas em cavalos-marinhos-de-focinho-longo *Hippocampus reidi* (Ginsburg, 1933) / Bruna Larissa Maganhe – São Paulo, 2023.  
v; 64f.; 5t., 14f.

Dissertação (mestrado) apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca – APTA - Secretaria de Agricultura e Abastecimento.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Gomes Sanches.

1. *Syngnathidae*. 2. Conservação. 3. Status de saúde. 4. Condição corporal. 5. Reservas energéticas.

I. Sanches, Eduardo Gomes. II. Título.

CDD 591.77

Permitida a cópia parcial, desde que citada a fonte – O autor

## SUMÁRIO

RESUMO .....	1
ABSTRACT .....	2
INTRODUÇÃO GERAL.....	3
OBJETIVO GERAL .....	11
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	11
REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL .....	12
ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO .....	19
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	58

## RESUMO

No comércio ornamental, a alta demanda por cavalos-marinhos no início dos anos 2000, seguidos pela regulamentação de sua comercialização pela CITIES em 2004, impulsionou os estudos sobre a manutenção em cativeiro destas espécies. Ainda assim, medidas que visem sanar ou minimizar os efeitos da elevada mortalidade nas fases iniciais de cultivo, aspectos relacionados às demandas nutricionais e fontes alimentares adequadas representam as principais lacunas de conhecimento na criação do gênero. No aspecto nutricional, dada sua conformação morfológica, existe expressiva dificuldade na avaliação das reservas corporais e condição física em cavalos-marinhos. Neste cenário, metodologias que qualifiquem a condição corporal podem ser grandes aliadas no estudo de populações e sua interação com recursos restritos, ou ainda, no ambiente *ex-situ*, auxiliar na adequação do manejo nutricional sobre o status de saúde, facilitando o desenvolvimento de protocolos de cultivo. Vários índices têm sido propostos para medir a condição corporal em diferentes espécies. Para peixes, convencionalmente adota-se o uso do Fator de Condição, um índice morfométrico que prevê que indivíduos de um determinado comprimento, exibindo maior peso, estão em melhores condições. No entanto, além da clara discrepância morfológica quando comparados a peixes teleósteos de formato fusiforme, os animais do gênero *Hippocampus* possuem características que limitam o uso de fórmulas que envolvam proporção peso-comprimento. Neste cenário, a metodologia de escore de condição corporal (ECC) apresenta-se como uma alternativa de alta praticidade e baixo custo, possibilitando a aferição do status de saúde sem a necessidade de captura ou abate. Pela sua aceitação como ferramenta na avaliação em animais selvagens, vários sistemas de ECC espécie-específicos já foram desenvolvidos, e, recentemente, vêm sendo adaptados à organismos marinhos. Após validado, um ECC desenvolvido com base na anatomia singular dos cavalos-marinhos pode ser uma ferramenta de grande importância em sua conservação.

**Palavras-chave:** Syngnathidae; Conservação; Status de saúde; Condição corporal; Reservas energéticas

## ABSTRACT

In the ornamental trade, the high demand for seahorses in the early 2000s, followed by the regulation of its commercialization by the CITES in 2004, boosted studies on the maintenance of these species in captivity. Yet, measures aimed at minimizing the effects of high mortality in the early stages, aspects related to nutritional demands and adequate food sources still represent the main knowledge gaps in the rearing protocols for the genus. In the nutritional aspect, given its morphological conformation, there is significant difficulty in assessing body reserves and physical condition in seahorses. In this scenario, methodologies that qualify the body condition can be great allies in the study of populations and their interaction with restricted resources. Yet, in the *ex-situ* environment, these methodologies could help enhance nutritional protocols regarding the health status of the individuals. Several indexes have been proposed to measure body condition in different species. For fish, the Condition Factor is conventionally used as a morphometric index and predicts that individuals of a given length, exhibiting greater weight, are in better condition. However, in addition to the clear morphological discrepancy when compared to spindle-shaped teleost fish, animals of the genus *Hippocampus* have anatomical characteristics that limit the use of formulas involving weight-to-length ratio. In this scenario, the body condition score (BCS) methodology presents itself as a highly practical and low-cost alternative, enabling the measurement of health status without the need for capture or euthanasia. Due to its acceptance as a tool in the evaluation of wild animals, several species-specific BCS systems have already been developed, and, recently, they have been adapted to marine organisms. Once validated, a BCS developed based on the unique anatomy of seahorses can be a very important tool in its conservation.

**Keywords:** Syngnathidae; Conservation; Health status; Body condition; Energy reserves



## INTRODUÇÃO GERAL

Os cavalos-marinhos são peixes pertencentes à família Syngnathidae, as quais podem ser encontradas em todo o mundo, em águas tropicais e subtropicais, contando com cerca de 46 espécies descritas (Koldewey e Martin-Smith, 2010). Sua ocorrência abrange uma grande diversidade de ecossistemas, podendo ser encontrados em recifes de coral, manguezais, estuários ou bancos de algas (Ulfa e Pratomo, 2018). Grande parte das espécies de cavalos-marinhos (*Hippocampus* sp.) estão sob algum grau de ameaça, principalmente devido à degradação do habitat e à sobrepesca (Koning e Hoeksema, 2021). A pesca direta ou indireta pode afetar indivíduos, populações e espécies de cavalos-marinhos de várias maneiras, seja por efeito direto, por meio de injúrias ou óbito, ou ainda, pela interrupção da estrutura social, reduzindo as taxas reprodutivas (Vincent, Foster e Koldewey, 2011). Além da pesca, alterações na estrutura física do habitat, qualidade da água, ruído, presença de espécies invasoras ou mudanças climáticas são fatores determinantes na sobrevivência do gênero.

Na costa brasileira, são descritas atualmente três espécies distintas de cavalos-marinhos, o *Hippocampus reidi* Ginsburg (1933), o *Hippocampus erectus* Perry (1810), e mais recentemente, o *Hippocampus patagonicus* Piacentino e Luzzatto (2004) (Silveira et al. 2014). Todas as espécies de abrangência nacional encontram-se classificadas como “vulnerável” na lista brasileira de animais ameaçados de extinção (MMA, 148/2022), e, globalmente, como “quase ameaçado” (*H. reidi*) e “vulnerável” (*H. erectus* e *H. patagonicus*) na Lista Vermelha da União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN, 2016). No Brasil, os cavalos-marinhos são comercializados em vários pontos da costa e até em localidades interioranas. Seu comércio envolve desde a coleta de animais secos, que são comercializados para diversas finalidades, até a venda de animais vivos para fins de aquarismo e ornamentação (Mai e Rosa, 2009).

O comércio de peixes do gênero *Hippocampus* teve início ainda nos primórdios da indústria internacional de aquários, somados à demanda paralela de espécimes secos no mercado chinês (Koning e Hoeksema, 2021). Das 46 espécies de *Hippocampus* reconhecidas, 27 estão representadas no comércio internacional (Koldewey e Martin-Smith, 2010; Koning e Hoeksema, 2021). Dentre estas, cinco espécies de cavalos-marinhos (*H. trimaculatus*, *H. spinosissimus*, *H. kelloggi*, *H. kuda* e *H. algiricus*) representam mais de 90% do comércio mundial para o gênero, sendo a maioria comercializada como espécimes secos coletados na natureza (Foster et al., 2016). De acordo com o banco de dados de

comércio da Convenção sobre o Comércio Internacional das Espécies Silvestres Ameaçadas de Extinção (CITES), há pelo menos 70 países ou áreas que atuam como fontes e/ou consumidores de cavalos-marinhos e o volume anual de mercado é em média 7 milhões indivíduos (Zhang et al., 2017). Considerando somente dados de importação da União Europeia (UE), entre 1997-2003, mais de 142.000 indivíduos vivos de *Hippocampus* foram exportados. Entre 2004-2018, após a entrada em vigor da CITES dado ao grau de ameaça do gênero, um total de quase 680.000 indivíduos vivos foram registrados como importados e mais de 1.090.000 como exportados, sendo os Estados Unidos o maior importador de *Hippocampus* vivo, além de países como Canadá, Japão e Cingapura (Koning e Hoeksema, 2021). Apesar do aumento na demanda no início dos anos 2000, após 2004, quando a regulamentação da CITES foi implementada, foi evidente a mudança no mercado quanto a origem dos espécimes, havendo aumento significativo de animais provindos de cultivos em ambiente controlado.

De forma geral, o comércio tem impulsionado a pesquisa científica em cavalos-marinhos, sendo o *H. kuda* e o *H. reidi*, espécies que estão mais bem representadas, ambos alvos frequentes de estudos científicos no domínio da aquicultura (Cohen et al., 2017). Neste sentido, são inúmeras as pesquisas voltadas às condições de cultivo em ambiente controlado (Hora e Joyeux, 2009; Willadino, et al., 2012; Hettiarachchi e Edirisinghe, 2017; Planas, 2021). De forma complementar, o avanço da exploração sobre estas espécies também estimulou o volume de estudos voltados ao monitoramento de populações selvagens, buscando definir os impactos das crescentes ameaças sobre a densidade populacional e interações no ambiente natural (Goffredo, Piccinetti e Zaccanti, 2004; Carmo et al., 2022; Silveira et al., 2022).

No Brasil, o *H. reidi* é a espécie mais explorada pelo comércio (Rosa, Sampaio e Barros, 2006). Assim, considerando que a espécie vem apresentando declínios populacionais preocupantes nos últimos anos, além das questões comerciais, a manutenção de populações em cativeiro é de suma importância para sua conservação. Somado ao acompanhamento das populações naturais, sua manutenção em cativeiro auxilia na promoção estudos voltados ao entendimento da espécie e práticas de educação ambiental (da Hora, 2009; Vincent, Foster e Koldewey, 2011).

Apesar dos avanços recentes no desenvolvimento de protocolos de cultivo voltados para o *H. reidi*, ainda assim, as principais lacunas de conhecimento se concentram na elevada mortalidade nas fases iniciais de cultivo, em aspectos relacionados às demandas

nutricionais e fontes alimentares adequadas (Koldewey e Martinsmith, 2010; Willadino et al., 2012; Novelli et al., 2016). No aspecto nutricional, dada a conformação morfológica dos peixes do gênero *Hippocampus*, existe expressiva dificuldade na avaliação das reservas corporais e condição física, sendo necessário a definição de critérios quantitativos e qualitativos que indiquem a real condição das reservas energéticas ou condição corporal dos animais (Melo-Valencia et al., 2013; Sánchez-Cardozo et al., 2014).

Neste cenário, metodologias que qualifiquem a condição corporal podem ser grandes aliadas na avaliação no estudo de populações e sua interação com recursos restritos, sazonalidade e capacidade de suporte do habitat, fatores primordiais no acompanhamento de populações selvagens (Joblon et al., 2014; Mcwilliams e Wilson, 2015; Kamerman et al., 2017; Clark et al., 2018). No ambiente *ex-situ*, estas metodologias podem ainda auxiliar na adequação do manejo nutricional sobre o status de saúde, facilitando o desenvolvimento de protocolos assertivos para a manutenção da espécie (Laflamme, 2012; Wijeyamohan et al., 2014).

### *Condição corporal*

A condição corporal é um indicador-chave de saúde no nível individual ou populacional, uma vez que está intimamente relacionada a importantes variáveis de aptidão, como crescimento, reprodução, comportamento e sobrevivência (Gubiani et al., 2020). Assim, é frequentemente utilizada para avaliar a saúde ou bem-estar fisiológico das populações de peixes como uma medida indireta dos efeitos de fatores abióticos, incluindo ações de manejo da pesca (Cade et al., 2008). Comumente, o termo é utilizado para designar as reservas energéticas de um indivíduo (Labocha et al., 2014); neste sentido, prevê-se que animais com melhor condição corporal tenham mais reservas de energia (em termos de gordura e/ou proteína), permitindo-lhes suportar períodos mais longos de escassez de alimentos e apresentar maior sobrevivência e sucesso reprodutivo em comparação com animais em má condição corporal (Gubiani et al., 2020). Ao comparar a condição corporal dos peixes, é possível avaliar mudanças na disponibilidade de presas, sucesso da predação ou ainda, a inadequação da dieta ou não adaptação do animal ao ambiente controlado.

Vários índices têm sido propostos para medir a condição corporal e indicar o estado nutricional e fisiológico em diferentes espécies (Labocha et al., 2014; Gubiani et al., 2020). Dentre as alternativas, podem-se citar os métodos diretos ou destrutivos, onde os animais são abatidos (como os índices hepatossomático ou gonado-somático, por exemplo) ou

aqueles classificados como indiretos, ou não destrutivo, quando os animais não são abatidos (Gubiani et al., 2020). Geralmente, os índices indiretos visam determinar a massa de um indivíduo em relação ao seu tamanho corporal. Entre eles, os mais simples são os chamados "índices de proporção", sendo considerada a proporção de massa corporal dividida pelo comprimento do corpo.

Para peixes em geral, adota-se o uso do Fator de Condição, um índice morfométrico determinado com base no princípio de que indivíduos de um determinado comprimento, exibindo maior peso, estão em melhores condições; nesta metodologia, o comprimento do corpo é levantado ao poder de três, e assume-se que a massa e o comprimento aumentam isometricamente (Froese, 2006). Diversos autores, no entanto, discutem o emprego do método dado a não singularidade na morfologia das diversas espécies existentes. Geladakis et al. (2018), por exemplo, discute que, apesar dos caracteres morfométricos terem sido tradicionalmente usados para descrever a estrutura populacional de peixes, a variação da forma do corpo, muitas vezes induzida pelo ambiente, pode somente fornecer um bom registro da estrutura populacional em curto prazo; fatores não relacionados a influências ambientais ou genéticas na morfologia corporal, no entanto, podem enviesar a amostragem e o uso de características morfométrica para discriminação das populações. De forma complementar, Froese (2006) e Froese et al. (2011) argumentam que, uma vez que a condição corporal de um indivíduo pode ser influenciada por inúmeros fatores, como sexo, estação do ano e grau de desenvolvimento gonadal, a relação peso-comprimento pode não ser a mesma entre diferentes populações.

Indivíduos tipicamente diferem em acúmulo de massa corporal, dependendo não apenas do seu estado nutricional, mas do seu fenótipo ou ajustes metabólicos promovidos por fatores ambientais (Lazaro-Côté et al., 2021). Além da clara discrepância morfológica quando comparados a outros peixes teleósteos, se tratando de uma espécie bentônica associada a ambientes recifais, manguezais ou bancos de alga, os animais do gênero *Hippocampus* possuem limitada capacidade natatória, apresentando nadadeiras relativamente pequenas e em menor número (Lourie et al., 2004; Manning et al., 2019). Neste cenário, somente a ausência de uma nadadeira caudal, bem como o advento de uma cauda longa e musculosa e a presença de anéis ósseos em substituição às escamas já são fatores suficientes a se ponderar na adaptação de dados e fórmulas que envolvam proporção peso-comprimento quando comparado à outras espécies de formato fusiforme (Porter et al., 2013; Neutens, 2016; Manning et al., 2019). Neste cenário, a metodologia de escore de condição corporal (ECC) apresenta-se como uma alternativa de alta praticidade,

pois além de consistir em uma técnica não invasiva, possibilita a aferição do status de saúde de animais de vida livre sem a necessidade de captura ou abate (Ojeda-Adame et al., 2020; Kongsurakan et al., 2020; Walden et al., 2022).

### *Escore de condição corporal*

Tipicamente adotados em sistemas de produção, o ECC compreende uma ferramenta importante para a gestão pecuária visando otimizar a produção, programas de alimentação, reprodução e bem-estar dos animais (Gosh et al., 2019). Nestes sistemas, a metodologia envolve palpação da coluna vertebral e porção lombares, sentindo-se o tônus muscular e cobertura dos ossos. A partir de padrões pré-estabelecidos, são definidas pontuações que podem variar de 1 a 5 ou de 1 a 10, a depender da metodologia proposta. Atualmente, já foram descritas metodologias específicas para diversos grupos de animais domésticos, incluindo bovinos (Qiao et al., 2021), ovinos (Carlos et al., 2015), equinos (Jensen et al., 2016) e caprinos (Gosh et al., 2019).

O escore de condição corporal é uma ferramenta subjetiva que visa permitir recomendações relacionadas ao estado nutricional e a saúde geral em uma gama de espécies (Joblon et al., 2014; Clark et al., 2018; Schiffmann et al., 2020). Podendo ser adotado em diferentes sistemas de produção, o modelo de escore de condição corporal vem ganhando espaço em estudos ecológicos de populações selvagens, incluindo modelos adaptados a organismos aquáticos, podendo ser utilizada em estudos de populações e sua interação com recursos restritos, sazonalidade e capacidade de suporte do habitat (Joblon et al., 2014; Mcwilliams e Wilson, 2015; Kamerman et al., 2017; Clark et al., 2018). No regime *ex-situ*, o status de saúde é o principal motivo para que o ECC seja aplicado, visto que em condições de cativeiro, várias espécies apresentam-se propensas a obesidade ou raquitismo dado a inadequação da dieta ofertada ou a não adaptação da espécie aos cuidados humanos (Laflamme, 2012; Wijeyamohan et al., 2014).

Seguindo a estrutura dos primeiros sistemas de pontuação estabelecidos para animais domésticos, a maioria dos protocolos existentes consiste em cinco ou mais categorias, onde a pontuação 1 representa a mais pobre, e 5 a mais alta condição corporal (Laflamme, 2012; Schiffmann et al., 2020). Para cada pontuação, os índices fornecem uma descrição, comumente combinado com uma fotografia ou projeção pictórica a ser seguida. Na avaliação de animais selvagens, em ambos ambientes *in-situ* e *ex-situ*, a parte pictórica é muitas vezes enfatizada devido à sua praticabilidade em condições de campo, onde o

tempo de leitura muitas vezes não é assegurado e o indivíduo sob investigação tem de ser categorizado rapidamente e sem contato físico (Morfeld et al. 2014; Schiffmann et al., 2020).

Pela sua aceitação como ferramenta no controle de peso em animais selvagens sob cuidado humano, como em zoológico, vários sistemas de pontuação visual espécie-específicos já foram desenvolvidos, inclusive para espécies de morfologias mais desafiadoras, como quelônios e crocodilianos (Joblon et al., 2014; Morfeld et al. 2014; Clark et al., 2018; Schiffmann et al., 2020). Recentemente, os modelos vêm sendo adaptados à organismos marinhos, com ênfase em mamíferos, como baleias, golfinhos e focas (Joblon et al., 2014; Warren, 2021; Wachtendonk et al., 2022), quelônios (Thomson et. al, 2009) e aves (Clements e Sanchez, 2015), espécies para as quais, normalmente, a avaliação por meio de proporção corporal não é possível ou suficiente. Em peixes, Clark et al. (2018) apresentou uma proposta de avaliação por pontuação de escore para Zebrafish (*Danio rerio*). Apesar de sua ampla aplicabilidade, não foram encontrados relatos em literatura de modelos que tenham sido desenvolvidos para teleósteos marinhos.

Para garantir a efetividade do método, se faz necessário que os sistemas de pontuação passem por um processo de validação a fim de garantir a confiabilidade e consistência dos resultados, uma vez que a consideração de áreas do corpo não altamente correlacionadas com o padrão desejado pode fornecer resultados enviesados (Schiffmann et al., 2020). Além de características específicas do grupo avaliado e medições morfométricas padrão, várias técnicas de validação podem ser utilizadas em diversos táxons, dentre elas, a determinação da quantidade de gordura subcutânea por ultrassonografia, análise de bioimpedância, medição dos níveis séricos de triglicerídeos, medição direta do conteúdo de gordura corporal ou a quantidade de gordura renal e/ou hepática (Morfeld et al. 2014; Schiffmann et al., 2020; Carpio et al., 2015).

A distribuição de gordura, associada à reserva energética, desempenha um papel importante no status de saúde das populações, permitindo-lhes suportar períodos mais longos de escassez de alimentos e apresentar maior sobrevivência e sucesso reprodutivo em comparação com animais em má condição corporal (Gubiani et al., 2020). Apesar disso, o aumento da gordura intra-abdominal/visceral promove um alto risco de obesidade, diabetes e outras doenças metabólicas, mesmo em peixes (Moraes et al., 2018). Muitos estudos mostraram que o armazenamento e a distribuição de gordura estão relacionados à idade, sexo, hormônios, síntese de gordura, transporte de decomposição de gordura, dentre outros fatores (Zhang et al., 2020). Em peixes, os principais pontos de acúmulo se

dão principalmente em forma de tecido adiposo intraperitoneal, tecido adiposo intraperitoneal mais músculo, fígado e tecido adiposo subcutâneo (Xu et al., 2021).

Em cavalos-marinhos *Hippocampus reidi*, Novelli et al. (2015) apontam que as reservas energéticas podem ser encontradas em forma de tecido adiposo perivisceral, gotículas lipídicas no intestino anterior e posterior e armazenamento de lipídios no fígado, sendo estes bons indicadores de validação para um sistema de escore de condição corporal. Vale ressaltar, no entanto, que os dados avaliados pelo autor compreendem amostragens ao longo dos primeiros 30 dias de vida, não havendo relatos em literatura que apontem avaliação de deposições ou reservas lipídicas diferentes da reserva hepática em indivíduos adultos.

Após validado, um ECC desenvolvido com base na anatomia singular dos cavalos-marinhos do gênero *Hippocampus* pode ser uma ferramenta de grande importância na conservação de populações de vida livre, sendo passível inferir impacto ambiental, capacidade de carga do ambiente, disponibilidade de alimento e saúde das populações (Joblon et al., 2014; Mcwilliams e Wilson, 2015; Kamerman et al., 2017; Clark et al., 2018). Ainda, em ambiente controlado, a técnica permite a avaliação da adequação do manejo, assertabilidade das dietas empregadas e status de saúde, facilitando o desenvolvimento de protocolos efetivos de manutenção da espécie sob cuidados humanos (Laflamme, 2012; Wijeyamohan et al., 2014).

Após estabelecido, acredita-se que um modelo desenvolvido a partir do *H. reidi*, por exemplo, possa ser possivelmente aplicável para outros animais do gênero que apresentem morfologia similar, como por exemplo, *H. erectus* e *H. patagonicus*, comuns à costa brasileira. Ainda, a metodologia de ECC possivelmente pode ser desenvolvida, validada e aplica para outros organismos aquáticos que apresentem morfologias desafiadoras, como animais dos gêneros *Ostraciidae*, *Tetraodontiformes* e *Muraenidae* no meio aquático, além de uma infinidade de espécimens terrestres.

A combinação de diferentes abordagens e conhecimentos pode fornecer uma compreensão holística, permitindo preencher lacunas no monitoramento em áreas remotas ou com espécies de difícil acesso (Peacock et al., 2020). O gerenciamento eficaz de fauna selvagem requer informações precisas e oportunas sobre o status e as tendências de mudança da população. Assim, o monitoramento da saúde das populações, incluindo doenças, condição corporal e tendências e demografia, é fundamental. Neste sentido, a

metodologia de ECC apresenta-se como uma ferramenta primordial e inovadora como alternativa na avaliação de reservas energéticas em organismos aquáticos.



## OBJETIVO GERAL

O objetivo do presente estudo foi propor uma escala de escore de condição corporal visando a avaliação qualitativa das reservas energéticas em cavalos-marinhos da espécie *Hippocampus reidi*, bem como medidas de validação da metodologia proposta.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Desenvolver um sistema de pontuação de escore de condição corporal aplicável para a espécie *Hippocampus reidi* buscando uma padronização na avaliação qualitativa de reservas corporais na espécie;
2. Avaliar os efeitos das categorias de escore de condição corporal nos aspectos histológicos das gônadas, fígado e intestino de *Hippocampus reidi* mantidos sob cuidados humanos;
3. Avaliar os efeitos das categorias de escore de condição corporal no tamanho e conformação dos órgãos dos sistemas digestório e reprodutor de *Hippocampus reidi* mantidos sob cuidados humanos;
4. Avaliar os efeitos das categorias de escore de condição corporal no perfil e proporção de ácidos graxos acumulados em amostras de tecido cutâneo de *Hippocampus reidi* mantidos sob cuidados humanos;
5. Avaliar a correlação de dados morfométricos e índices de proporção corporal em relação as categorias de escore visando validação da metodologia proposta.

## REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL

- Cade, B. S., Terrell, J. W., Porath, M. T. 2008. Estimating fish body condition with quantile regression. *North American Journal of Fisheries Management*, 28(2): 349-359. <https://doi.org/10.1577/M07-048.1>
- Carlos, M. M. L., Leite, J. H. G. M., Chaves, D. F., Vale, A. M., Façanha, D. A. E., Melo, M. M., Soto-Blanco, B. 2015. Blood parameters in the Morada Nova sheep: influence of age, sex and body condition score. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 25(4): 950-955.
- Carmo, T. F. D., Santos, L. N. D., Bertoncini, Á. A., Freret-Meurer, N. V. 2022. Population structure of the seahorse *Hippocampus reidi* in two Brazilian estuaries. *Ocean and Coastal Research*, 70. <https://doi.org/10.1590/2675-2824070.21016tfdc>
- Carpio, A. J., Guerrero-Casado, J., Ruiz-Aizpurua, L., Tortosa, F. S., Vicente, J. 2015. Interpreting faecal nitrogen as a non-invasive indicator of diet quality and body condition in contexts of high ungulate density. *European journal of wildlife research*, 61: 557-562. <https://doi.org/10.1007/s10344-015-0927-3>
- Clark, T. S., Pandolfo, L. M., Marshall, C. M., Mitra, A. K., Schech, J. M. 2018. Body condition scoring for adult zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 57(6): 698-702. <https://doi.org/10.30802/AALAS-JAALAS-18-000045>
- Clements, J., Sanchez, J. N. 2015. Creation and validation of a novel body condition scoring method for the Magellanic penguin (*Spheniscus magellanicus*) in the zoo setting. *Zoo Biology*, 34(6): 538-546. <https://doi:10.1002/zoo.21241>.
- Cohen, F. P., Valenti, W. C., Planas, M., Calado, R. 2017. Seahorse aquaculture, biology and conservation: knowledge gaps and research opportunities. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 25(1): 100-111. <https://doi:10.1080/23308249.2016.1237469>
- Foster, S., Wiswedel, S., Vincent, A. 2016. Opportunities and challenges for analysis of wildlife trade using CITES data—seahorses as a case study. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 26(1): 154-172. <https://doi.org/10.1002/aqc.2493>
- Froese, R. Cube law, condition factor and weight length relationships: History, meta-analysis and recommendations. 2006. *Journal of Applied Ichthyology*, 22(4): 241-253. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0426.2006.00805.x>

Froese, R., Tsikliras, A.C. and Stergiou, K.I. Editorial note on weight-length relations of fishes. 2011. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 41(4): 261-263. <http://dx.doi.org/10.3750/AIP2011.41.4.01>.

Geladakis, G., Nikolioudakis, N., Koumoundouros, G., Somarakis, S. 2018. Morphometric discrimination of pelagic fish stocks challenged by variation in body condition. *ICES Journal of Marine Science*, 75(2): 711-718. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsx186>

Ghosh, C. P., Datta, S., Mandal, D., Das, A. K., Roy, D. C., Roy, A., Tudu, N. K. 2019. Body condition scoring in goat: Impact and significance. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 7(2): 554-560. <https://www.entomoljournal.com/archives/2019/vol7issue2/PartJ/7-2-62-202.pdf>

Goffredo, S., Piccinetti, C., Zaccanti, F. 2004. Volunteers in marine conservation monitoring: a study of the distribution of seahorses carried out in collaboration with recreational scuba divers. *Conservation Biology*, 18(6): 1492-1503. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2004.00015.x>

Gubiani, É. A., Ruaro, R., Ribeiro, V. R., Fé, Ú. M. G. D. S. 2020. Relative condition factor: Le Cren's legacy for fisheries science. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 32. <https://doi.org/10.1590/S2179-975X13017>

Hettiarachchi, H. A. S. U, Edirisinghe, U. 2017. Captive breeding of *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933 (Longsnout Seahorse) in Sri Lanka under artificial conditions. *Tropical Agricultural Research*, 29(1): 77–89. <http://doi.org/10.4038/tar.v29i1.8299>

da Hora, M. D. S. C., Joyeux, J. C. 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.2009.03.023>

Jensen, R. B., Danielsen, S. H., Tauson, A. H. 2016. Body condition score, morphometric measurements and estimation of body weight in mature Icelandic horses in Denmark. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 58(1): 19-23. <https://doi.org/10.1186/s13028-016-0240-5>

Joblon, M. J., Pokras, M. A., Morse, B., Harry, C. T., Rose, K. S., Sharp, S. M., Moore, M. J. 2014. Body condition scoring system for delphinids based on short-beaked common dolphins (*Delphinus delphis*). *Journal of Marine Animals and their Ecology*, 7:5-13.

- Labocha, M. K., Schutz, H., Hayes, J. P. 2014. Which body condition index is best?. *Oikos*, 123(1): 111-119. <http://dx.doi.org/10.1111/j.16000706.2013.00755.x>.
- Lazaro-Côté, A., Faught, E., Jackson, L. J., Vijayan, M. M. 2021. Wild longnose dace downstream of wastewater treatment plants display an obese phenotype. *Environmental Pollution*, 285:117363.
- Kammerman, T. Y., Davis, L., Capobianco, J. 2017. Development of a body condition scoring tool for the spotted eagle ray, *Aetobatus narinari*. *The Elasmobranch Husbandry Manual II*, pp.147.
- 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>
- Kongsurakan, P., Chaiyarat, R., Nakbun, S., Thongthip, N., Anuracpreeda, P. 2020. Monitoring body condition score of reintroduced banteng (*Bos javanicus* D'Alton, 1923) into Salakphra Wildlife Sanctuary, Thailand. *Peer Journal*, 8, e9041. <https://doi.org/10.7717/peerj.9041>
- 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>
- Laflamme, D. P. 2012. Companion animals symposium: obesity in dogs and cats: what is wrong with being fat?. *Journal of animal science*, 90(5):1653-1662. <http://doi.org/10.2527/jas.2011-4571>
- Lourie, S. A., Foster, S. J., Cooper, E. W., Vincent, A. C. 2004. A guide to the identification of seahorses. *Project Seahorse and TRAFFIC North America*, 114: 1-120.
- Mai, A. C. G., Rosa, I. M. D. 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 Neotropica*, 9: 85-91. <http://www.biotaneotropica.org.br/v9n3/en/abstract?article+bn01209032009>
- Manning, C. G., Foster, S. J., Vincent, A. C. J. 2019. A review of the diets and feeding behaviours of a family of biologically diverse marine fishes (Family Syngnathidae). *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 29(2): 197-221. <https://doi.org/10.1007/s11160-019-09549-z>

- McWilliams, M., Wilson, J. A. 2015. Home range, body condition, and survival of rehabilitated raccoons (*Procyon lotor*) during their first winter. *Journal of Applied Animal Welfare Science*, 18(2): 133-152. <https://doi.org/10.1080/10888705.2014.950733>
- Melo-Valencia, A. F., Ospina-Salazar, G. H., Gómez-León, J., Cortés-Pineda, F. A. 2013. Efecto de la salinidad en la supervivencia y crecimiento de crías de caballito de mar *Hippocampus reidi* Ginsburg en cautiverio. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, 42(1): 193-201.
- Moraes, A. C., Prado, E. J., Foz, E. P., Barbuio, R., Faria, V. P., Belo, M. A. 2018. Esteatose hepática altera acúmulo celular em tilápias do Nilo durante aerocistite infecciosa. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 38: 1570-1576. <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-5533>
- Morfeld, K. A., Lehnhardt, J., Alligood, C., Bolling, J., Brown, J. L. 2014. Development of a body condition scoring index for female African elephants validated by ultrasound measurements of subcutaneous fat. *PloS one*, 9(4): e93802. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093802>
- Neutens, C. 2016. Transforming tails into tools: from evolutionary morphology of prehensile tails in syngnathid fishes to exploring bio-inspiration potentials (Doctoral dissertation, Ghent University).
- 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: 1233-1251. <https://doi10.1007/s10695-015-0082-5>
- Novelli, B., Otero-Ferrer, F., Diaz, M., Socorro, J. A., Caballero, M. J., Domínguez, L. M., Moyano, F. J. 2016. Digestive biochemistry as indicator of the nutritional status during early development of the long snouted seahorse (*Hippocampus reidi*). *Aquaculture*, 464, 196-204. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.06.037>
- Ojeda-Adame, R. A., Hernández-Hurtado, H., Ramírez-Martínez, M. M., Iñiguez-Davalos, L. I. 2020. A Body Condition Score for Crocodylians. *South American Journal of Herpetology*, 16(1): 10-15. <https://doi.org/10.2994/SAJH-D-18-00074.1>

Olivotto, I., Planas, M., Simões, N., Holt, G. J., Avella, M. A., Calado, R. 2011. Advances in breeding and rearing marine ornamentals. *Journal of the World Aquaculture Society*, 42(2), 135-166. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2011.00453.x>

Planas, M. 2021. Carry-over effects of pre-breeding diets on seahorse (*Hippocampus reidi*) reproductive success. *Aquaculture*, 533: 736148. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736148>

Porter, M. M., Novitskaya, E., Castro-Ceseña, A. B., Meyers, M. A., McKittrick, J. 2013. Highly deformable bones: unusual deformation mechanisms of seahorse armor. *Acta biomaterialia*, 9(6): 6763-6770. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.02.045>

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*, 4: 247-252. <https://doi.org/10.1590/S1679-62252006000200010>

Qiao, Y., Kong, H., Clark, C., Lomax, S., Su, D., Eiffert, S., Sukkarieh, S. 2021. Intelligent perception for cattle monitoring: A review for cattle identification, body condition score evaluation, and weight estimation. *Computers and Electronics in Agriculture*, 185: 106143. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2021.106143>

Sánchez-Cardozo, L. M., Ospina-Salazar, G. H., Santos-Acevedo, M., López-Navarro, J., Gómez-León, J. 2014. Efecto de la dieta en el crecimiento y supervivencia de crías de caballito de mar *Hippocampus reidi* en condiciones de laboratorio. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, 43(1): 7-22.

Schiffmann, C., Clauss, M., Hoby, S., Hatt, J. M. 2020. Weigh and see—Body mass recordings versus body condition scoring in European zoo elephants (*Loxodonta africana* and *Elephas maximus*). *Zoo biology*, 39(2): 97-108. <https://doi.org/10.1002/zoo.21525>

Silveira, R. B., Siccha-Ramirez, R., Silva, J. S., Oliveira, C. 2014. Morphological and molecular evidence for the occurrence of three *Hippocampus* species (Teleostei: Syngnathidae) in Brazil. *Zootaxa*, 3861(4): 317-332.

<http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.3861.4.2>

Silveira, R. B., Silva, J. R. S., Santos, L., Martins, J. C., Garcia, A. L., Montes, M. A., Vidal, M. D. 2022. Avaliação dos Parâmetros Populacionais de Cavalos-marinhos em Áreas com

e sem Turismo em Áreas Marinhas Protegidas Federais no Nordeste do Brasil. *Biodiversidade Brasileira-BioBrasil*: 12(4).

Thomson, J. A., Burkholder, D., Heithaus, M. R., Dill, L. M. 2009. Validation of a rapid visual-assessment technique for categorizing the body condition of green turtles (*Chelonia mydas*) in the field. *Copeia*, 2009(2): 251-255. <https://doi.org/10.1643/CE-07-227>

Ulfah, F., Pratomo, A. 2018. Sustainability of seahorses: Lessons learned of local wisdom from Bintan Islands, Riau Islands Province. In *E3S Web of Conferences* (Vol. 47: p. 07001). EDP Sciences. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/20184707001>

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:10.1111/j.1095-8649.2011.03003.x>

Wachtendonk, R., Calambokidis, J., Flynn, K. 2022. Blue whale body condition assessed over a 14-year period in the NE Pacific: annual variation and connection to measures of ocean productivity. *Frontiers in Marine Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.847032>

Walden, M. A., Jania, R., Kinney, M. E., Devan-Song, A., Drake, K. K., Esque, T. C., Shoemaker, K. T. 2022. Computed tomography for measuring body fat reserves in the threatened mojave desert tortoise (*Gopherus agassizii*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 53(2): 412-423. <https://doi.org/10.1638/2020-0168>

Warren, J. 2021. A comparison of statistical techniques for evaluating body condition in New Zealand leopard seals (*Hydrurga leptonyx*) using citizen science data (Doctoral dissertation, University of York).

Wijeyamohan, S., Treiber, K., Schmitt, D., Santiapillai, C. 2015. A visual system for scoring body condition of Asian elephants (*Elephas maximus*). *Zoo Biology*, 34(1): 53-59. <https://doi.org/10.1002/zoo.21181>

Willadino, L., Souza-Santos, L. P., Mélo, R. C., Brito, A. P., Barros, N. C., Araújo-Castro, C. M., 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>

Xu, H., Bi, Q., Pribytkova, E., Wei, Y., Sun, B., Jia, L., Liang, M. 2021. Different lipid scenarios in three lean marine teleosts having different lipid storage patterns. *Aquaculture*, 536: 736448. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736448>

Zhang, Y. Y., Ryu, B. M., Qian, Z. J. 2017. A review-biology, aquaculture and medical use of seahorse, *Hippocampus* spp. *Annual Research & Review in Biology*, 1-12. <https://doi:10.9734/ARRB/2017/34152>

Zhang, Y., Zhang, J., Ren, Y., Lu, R., Yang, L., Nie, G. 2020. Tracing the evolution of fatty acid-binding proteins (FABPs) in organisms with a heterogeneous fat distribution. *FEBS Open bio*, 10(5): 861-872.



**ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO**

**PROPOSAL AND VALIDATION OF A BODY CONDITION SCORE SYSTEM FOR THE  
EVALUATION OF ENERGY RESERVES IN THE LONG-SNOURED SEAHORSE**

***Hippocampus reidi* (Ginsburg, 1933)**

Artigo redigido nas normas do periódico científico

***Aquaculture***

QUALIS A1

# **PROPOSTA E VALIDAÇÃO DE UM SISTEMA DE ESCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL PARA AVALIAÇÃO DE RESERVAS ENERGÉTICAS EM CAVALOS-MARINHOS-DO-FOCINHO LONGO *Hippocampus reidi* (Ginsburg, 1933)**

MAGANHE, B.L.<sup>1,2</sup>; KUROKAWA, R. E.<sup>1</sup>; CAMILO, L. O.<sup>1,2</sup>; GALLO NETO, H.<sup>1</sup>; SANCHES, E.G.<sup>2</sup>

(1) Aquário de Ubatuba. Ubatuba/SP, Brasil

(2) Laboratório de Piscicultura Marinha, Instituto de Pesca. Ubatuba/SP, Brasil

## **\*Autor correspondente:**

Bruna Larissa Maganhe (brunamaganhe@live.com)

Aquário de Ubatuba

Rua Guarani, 859

Ubatuba, São Paulo 11689-046, Brasil

Contato: (+55) 19-99947-3966

## **Orcid:**

Bruna Larissa Maganhe (0000-0001-9064-8596), Laura de Oliveira Camilo (0000-0001-9228-970X), Rodrigo E. Kurokawa (0000-0001-6732-5502), Hugo Gallo Neto (0000-0001-7769-5638), Eduardo Gomes Sanches (0000-0001-9976-9271)

brunamaganhe@live.com, rodrigoeiji47@gmail.com, oliveiracamilo.laura@gmail.com, hugo@aquariodeubatuba.com.br, eduardo.sanches2005@gmail.com

## **DECLARAÇÕES**

### **Conflitos de interesse**

Os autores declaram não ter interesses conflitantes.

### **Disponibilidade de dados e materiais**

Os dados que suportam os achados deste estudo estão disponíveis com o autor correspondente mediante solicitação.

### **Contribuições dos autores**

B.L.M. e R.E.K. foram responsáveis pela coleta de dados, análises estatísticas, interpretação dos dados e redação do artigo. L.O.C. auxiliou na análise e interpretação dos dados. H.G.N. auxiliou na análise, interpretação dos dados e apoio financeiro. E.G.S. foi responsável pelo desenho do estudo, interpretação dos dados, análises estatísticas e supervisão do estudo. Todos os autores leram e aprovaram o manuscrito final.

## Resumo

Globalmente, mais de 1 bilhão de peixes ornamentais são comercializados em uma indústria multimilionária. Neste mercado, vem ocorrendo um incremento na demanda por cavalos-marinhos do gênero *Hippocampus* estimulando os estudos sobre a manutenção em cativeiro destas espécies. No aspecto nutricional, dada a conformação dos cavalos-marinhos, há dificuldades na avaliação das reservas corporais e condição física, sendo necessário a definição de critérios que indiquem a real condição das reservas energéticas destes animais. Assim, este estudo propõe o desenvolvimento e validação de um sistema de pontuação da condição corporal (ECC) aplicável a cavalos-marinhos da espécie *Hippocampus reidi*. Para isso, o ganho de peso e parâmetros biométricos de 31 cavalos-marinhos adultos foram monitorados semanalmente por um período de 150 dias. Além disso, foi conduzida análise histológica dos órgãos do sistema digestório e reprodutor de parte dos animais amostrados visando caracterizar e validar as categorias propostas. Neste estudo, propõe-se que os animais sejam avaliados quanto à cobertura muscular abdominal, estreitamento torácico, contraste entre a região dorsal e abdominal e cobertura muscular entre os anéis do tronco, seguindo projeções pictóricas anexas a este trabalho. Ao comparar os dados obtidos com o fator de condição (k), notou-se que a anatomia única dos cavalos-marinhos requer análises adaptadas à morfologia da espécie, uma vez que houve baixa correlação dos dados morfométricos e discrepância nos resultados entre àqueles propostos e os apontados pela metodologia convencional. Em relação à conformação histológica dos órgãos, foi possível observar diferenças marcantes quanto ao tamanho e acúmulo de gordura no fígado e grau de desenvolvimento das gônadas dos animais avaliados, indicando que, quanto maior o ECC, melhores as condições de reserva e potencial reprodutivo avaliados. A metodologia de ECC apresentou-se como uma alternativa de alta praticidade, simplicidade e baixo custo, sendo uma ferramenta inovadora na avaliação de reservas energéticas em organismos aquáticos.

**Palavras-chaves:** Aquicultura; Syngnathidae; Conservação; Status de saúde; Reserva hepática

# PROPOSAL AND VALIDATION OF A BODY CONDITION SCORE SYSTEM FOR THE EVALUATION OF ENERGY RESERVES IN THE LONG-SNOUDED SEAHORSE *Hippocampus reidi* (Ginsburg, 1933)

## Abstract

Globally, over 1 billion ornamental fish are traded in a multi-million industry each year. In this sector, an increasing demand for fish of the genus *Hippocampus* have been stimulating studies regarding captive breeding and maintenance of the species. Considering the nutritional aspect, given the conformation of seahorses, there are several issues associated to the evaluation of body reserves and physical condition, being necessary the definition of specific criteria that indicates the real condition of body energy reserves for those animals. Thus, this study proposes the development and validation of a body condition scoring system (BCS) applicable to seahorses of the species *Hippocampus reidi*. For this study, weight gain and biometric parameters of 31 seahorses were weekly monitored for a period of 150 days. Additionally, histological analysis of organs of the digestive and reproductive tract were carried out aiming the characterization and validation of the scoring system. In this study, it is proposed that animals should be evaluated for abdominal muscle coverage, thoracic narrowing, contrast between the dorsal and abdominal region and muscle coverage between dorsal rings, following pictorial projections attached to this work. When comparing the data with the condition factor (k), it was noted that the unique anatomy of seahorses requires analysis adapted to the morphology of the species, since there was a low correlation for morphometric data and discrepancy in the results between those proposed and those indicated by the conventional methodology. Regarding the histological analysis, it was possible to observe differences regarding size and accumulation of fat in the liver and degree of development of the gonads of the animals evaluated, pointing out that, the higher the BCS, the better in terms of energy reserves and reproductive potential. The BCS methodology presents itself as an alternative of high practicality, simplicity and low cost, being an innovative tool for the evaluation of energy reserves in aquatic organisms.

**Keywords:** Aquaculture; Syngnathidae; Conservation; Health status; Hepatic reserve

## 1. INTRODUÇÃO

Globalmente, a comercialização de organismos ornamentais marinhos gera milhares de empregos e envolve cifras de centenas de milhares de dólares (Domínguez e Botella, 2014; Rhyne et al., 2017). Neste mercado, a alta demanda por cavalos-marinhos do gênero *Hippocampus* no início dos anos 2000, seguidos pela regulamentação de sua comercialização pela Convenção sobre o Comércio Internacional das Espécies Silvestres Ameaçadas de Extinção (CITES) em 2004, impulsionou os estudos sobre a manutenção em cativeiro destas espécies (Ollivoto et al., 2011; Koning e Hoeksema, 2021). Desta forma, são inúmeras as pesquisas voltadas às condições de cultivo de *Hippocampus* sp. em ambiente controlado (Hora e Joyeux, 2009; Willadino, et al., 2012; Hettiarachchi e Edirisinghe, 2017; Planas, 2021). Ainda assim, medidas que visem sanar ou minimizar os efeitos da elevada mortalidade nas fases iniciais de cultivo, aspectos relacionados às demandas nutricionais e fontes alimentares adequadas representam as principais lacunas de conhecimento na criação de cavalos-marinhos (Koldewey e Martinsmith, 2010; Willadino et al., 2012; Novelli et al., 2016).

No aspecto nutricional, dada a conformação esquelética e particularidades anatômicas e fisiológicas dos peixes do gênero *Hippocampus*, existe expressiva dificuldade na avaliação das reservas corporais e condição física, sendo necessário a definição de critérios quantitativos e qualitativos para que se indique a real condição das reservas energéticas destes animais (Melo-Valencia et al., 2013; Sánchez-Cardozo et al., 2014). Metodologias que qualifiquem a condição corporal podem ser grandes aliadas na avaliação e adequação do manejo nutricional sobre o status de saúde, facilitando o desenvolvimento de protocolos assertivos para a manutenção da espécie (Laflamme, 2012; Wijeyamohan et al., 2014). Neste cenário, a metodologia de escore de condição corporal (ECC), uma alternativa de alta praticidade e baixo custo, pode ser adotada para espécies de morfologias variadas, representando uma técnica não invasiva e que possibilita a aferição do status de saúde sem a necessidade de captura (Ojeda-Adame et al., 2020; Kongsurakan et al., 2020; Walden et al., 2022).

O escore de condição corporal é uma ferramenta de avaliação qualitativa que visa, a partir da aferição visual das reservas energéticas, apontar recomendações principalmente quanto ao estado nutricional em uma gama de espécies (Joblon et al., 2014; Clark et al., 2018; Schiffmann et al., 2020). Comumente adotado em sistemas de produção animal, o ECC vem se popularizando em estudos ecológicos na avaliação de animais selvagens,

incluindo modelos recentemente adaptados à organismos aquáticos (Joblon et al., 2014; Clark et al., 2018). A metodologia vem sendo de grande valia no estudo de populações e sua interação com recursos restritos, sazonalidade e capacidade de suporte do habitat (Joblon et al., 2014; McWilliams e Wilson, 2015; Kamerman et al., 2017; Clark et al., 2018).

Após submetido a um processo de validação, um ECC desenvolvido com base nas características anatômicas dos cavalos-marinhos do gênero *Hippocampus* pode ser um instrumento de grande importância no monitoramento de populações de vida livre, permitindo a avaliação de impacto ambiental, capacidade de carga do ambiente e disponibilidade de alimento sobre a saúde das populações (Joblon et al., 2014; McWilliams e Wilson, 2015; Kamerman et al., 2017; Clark et al., 2018). Ainda, no regime *ex-situ*, o ECC pode complementar a avaliação do status de saúde, uma vez que, em condições controladas, é comum que as espécies sejam propensas a obesidade ou raquitismo, dado a inadequação das dietas ou a não adaptação ao cativeiro (Laflamme, 2012; Wijeyamohan et al., 2014).

Assim, nossa hipótese é que, a partir do acompanhamento de dados biométricos a médio prazo, o desenvolvimento de um modelo de escore de condição corporal possa mensurar qualitativamente as reservas energéticas em *Hippocampus reidi* (Ginsburg, 1933). Neste sentido o objetivo deste estudo foi elaborar e validar um sistema de pontuação de ECC aplicável para cavalos-marinhos, adotando o *H. reidi* como modelo biológico.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### *2.1. Obtenção de dados*

Dados biométricos foram coletados através da avaliação de 31 exemplares adultos de *H.reidi*, incluindo 11 machos e 20 fêmeas, pertencentes ao plantel do Aquário de Ubatuba, Brasil. Dentre os animais avaliados, 10 indivíduos, nascidos e criados na instituição até idade adulta, foram submetidos a análise clínica e conformação histológica dos órgãos para validação da metodologia. A obtenção e manutenção dos exemplares e todas as práticas executadas estão sob aprovação das licenças de uso e manejo da espécie SISBIO 81285-1 e pelo comitê de ética do Instituto de Pesca CEUA IP 01.0696.2022.

Para o grupo submetido somente às análises biométricas, 12 fêmeas e 9 machos foram mantidos em um recinto de 580L em recirculação, provido de sistema de suporte à vida dimensionados de forma a garantir as condições adequadas à manutenção da espécie, com salinidade 27psu, temperatura 25°C, pH 8,2 e compostos nitrogenados sempre

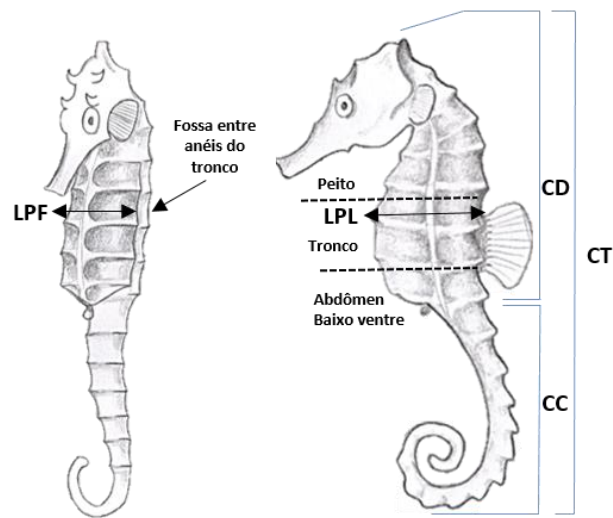
próximos a zero, contando com filtragem biológica, filtro físico (200µm), *skimmer*, filtro UV e trocadores de calor. Machos e fêmeas foram mantidos em um único grupo, sendo possível o acasalamento; no entanto, não foram observados machos grávidos no período de avaliação biométrica ou fotográfica. Para o grupo, a dieta seguiu o protocolo nutricional pré-estabelecido na instituição, consistindo, no entanto, em taxas de ingestão diárias ligeiramente superiores de forma a se induzir uma variação no ganho de peso e deposição de massa. A dieta consistia em pós-larvas congeladas de camarão *Litopenaeus vannamei* e, em dias alternados, *Artemia* sp. enriquecidas com microalga *Nannochloropsis oculata* na proporção de 5mL por litro por 1 hora e *Artemia* sp. enriquecidas com emulsão lipídica comercial (Bio-viv Continnum®) na proporção de 1 gota por litro, por 1 hora. Para este grupo, somente avaliações biométricas foram realizadas.

Em paralelo, os demais animais (8 fêmeas e 2 machos, todos irmãos de mesma prole) foram mantidos em um sistema de recirculação de água de 600L, igualmente equipado, mantendo-se os parâmetros de qualidade de água dentro das margens já especificadas. De forma similar, machos e fêmeas foram mantidos em um mesmo recinto, sendo registrados nascimentos frequentes. Para este grupo de 10 animais, os indivíduos foram avaliados e categorizados conforme a metodologia proposta, e em seguida, abatidos em sobredosagem de óleo de cravo (*Eugenia caryophyllata*) visando a avaliação clínica e histológica para fins de validação da metodologia de classificação. Durante o período experimental, este grupo de animais foi submetido a dietas testes não relacionadas a este estudo, mas que corroboraram em diferentes condições corporais atreladas às diferentes taxas de aceitação aos itens alimentares.

Todos os exemplares de *H. reidi* foram submetidos a registro fotográfico da condição corporal e avaliação biométrica semanalmente, por um período experimental de 150 dias. As biometrias semanais foram realizadas em jejum e conduzidas com auxílio de paquímetro universal, com precisão de 0,05mm, sendo registrados comprimento total (CT), comprimento caudal (CC) e comprimento dorsal (CD), largura de peito lateral (LL) e frontal (LF), além do peso corporal (PC) por meio de balança de precisão comercial portátil (0,01g).

Para a biometria, os animais foram manipulados à seco, sem procedimento anestésico, mantendo-se a cabeça em um ângulo de 90° e cauda completamente esticada, de forma a se padronizar as medidas; os dados de CD e LL foram padronizados para a região que compreende o comprimento entre a coroa e final da inserção da nadadeira dorsal e medida de largura peitoral acima da inserção da nadadeira dorsal, respectivamente

(Fig.1 e 2). Todo o procedimento foi realizado por profissional treinado, de forma que o tempo de exposição fora da água fosse o menor possível. Os animais utilizados no estudo foram todos identificados individualmente por um conjunto de características fenotípicas, como padrões de manchas e coloração, de forma que os dados gerados ao longo do período experimental representassem dados individuais. A capacidade de reconhecimento dos animais a nível individual foi testada previamente ao estudo pelo percentual de acerto no reconhecimento por diferentes observadores.



**Figura 1.** Regiões anatômicas avaliadas para determinação do escore de condição corporal do cavalo-marinho-de-focinho-longo *Hippocampus reidi*. Ilustração: Laura Simões Andrade



**Figura 2.** Procedimentos de avaliação biométrica para determinação do escore de condição corporal do cavalo-marinho-de-focinho-longo *Hippocampus reidi*. Detalhes do



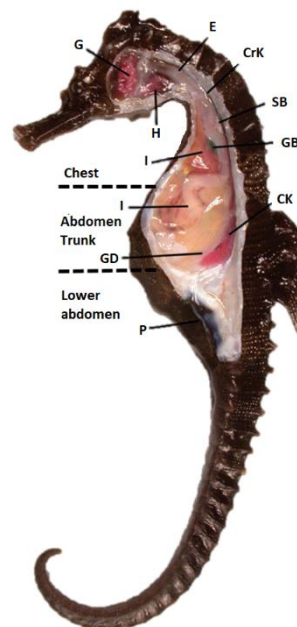
posicionamento do animal para medidas de comprimento dorsal, com a cabeça em ângulo de 90° em relação ao corpo.

A partir dos dados das biometrias foram calculados a taxa de crescimento específico (TCE) e o ganho de peso diário no período (GPD) de acordo com as seguintes equações:

$$\text{TCE (\%)} = [(\ln \text{ PCf} - \ln \text{ PCi}) / \text{n}^\circ \text{ dias}] \times 100;$$

$$\text{GPD} = [(\text{peso final} - \text{peso inicial}) / \text{n}^\circ \text{ dias}]$$

Seguindo a estrutura dos sistemas de pontuação estabelecidos para animais de produção, o ECC proposto consistiu em cinco categorias, onde “um” representa a pior condição de reservas e “cinco” uma alta condição corporal e possível propensão a obesidade (Wildman et al., 1982; Henneke et al., 1983). Durante a avaliação foi considerada a presença de bexiga natatória na altura do peito, logo abaixo do pescoço, implicando em um volume constante na região, independente do acúmulo de reservas no indivíduo (Fig. 3). De forma similar, no baixo ventre estão localizados as gônadas e o reto, podendo haver viés nos dados a depender do status de maturação do indivíduo ou tempo da última refeição. Neste aspecto, a avaliação deve sempre focar na região central do tronco e ser realizada, preferencialmente, em jejum.



**Figura 3.** Anatomia interna do gênero *Hippocampus*, com destaque para o posicionamento da bexiga natatória e gônadas. Adaptado de Fogelson et al. (2015). Onde: CrK = rim cranial, do inglês ‘cranial kidney’; E = esôfago; G = brânquias, do inglês ‘gills’; SB = bexiga natatória, do inglês ‘swim bladder’; GB = vesícula biliar, do inglês ‘gall blader’; GD = gônadas; H =

coração, do inglês 'heart'; I = intestino; L = fígado, do inglês 'liver'; P = bolsa incubadora, do inglês 'brood pouch'; CK = rim caudal, do inglês 'caudal kidney'.

De forma complementar, os animais foram submetidos a registros fotográficos individuais semanais de forma a se registrar os padrões de deposição de massa ao longo do período. Os registros foram realizados por câmera D-SLR (Nikon® D3200), em aquários de baixo volume, com fundo branco, medindo 25cm de altura, 25cm de comprimento e 5cm de largura, de forma que os animais se mantivessem submersos, mas restritos quanto à movimentação. Foi adotada iluminação controlada por rebatedores de luz a fim de se evitar efeitos de sombra nas imagens, utilizando-se lente com distância focal 18-55mm e distância média de 30cm em relação ao aquário (Fig. 4).

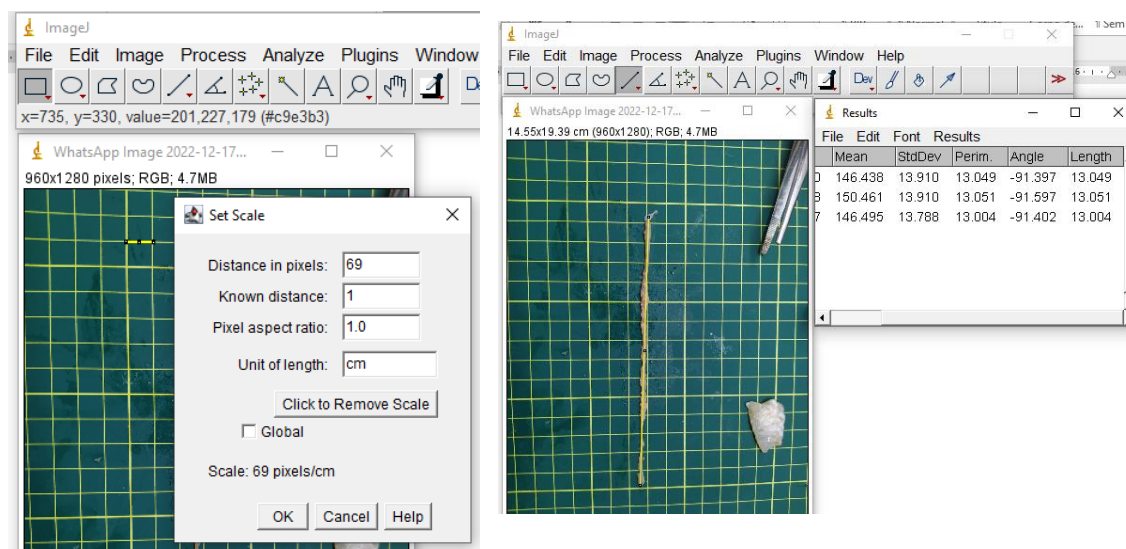


**Figura 4.** Registros fotográficos experimentais realizados para determinação do padrão de deposição de massa em cavalo-marinho-de-focinho-longo *Hippocampus reidi*, ressaltando detalhes da largura peitoral e preenchimento entre os anéis do tronco em machos (à esquerda) e fêmeas (centro e direita).

O presente modelo de escore de condição corporal foi comparado ao coeficiente de Fulton (k), sendo este uma estimativa feita a partir de medidas estruturais e de peso, que combinadas, fornecem estimativas indiretas do armazenamento de energia pelos animais (Camara et al., 2011). Para os cálculos, foram utilizadas as equações sugeridas por Melo-Valencia et al. (2013) e Sánchez-Cardozo et al. (2014) para a espécie *H. reidi*, sendo adotada a fórmula  $W/L^3$ , onde W é referente ao peso vivo dos animais em gramas e L referente ao comprimento total, expresso em centímetros.

A partir dos dados de biometria coletados, os exemplares foram listados em ordem crescente conforme o comprimento total (CT). Os animais do grupo avaliação foram divididos em 4 subgrupos conforme o CT, sendo: G1: animais menores que 13cm; G2: entre 13 e 14,9 cm; G3: entre 15 e 17cm e; G4: maiores que 17cm.

Para o grupo submetido a análises clínicas visando a validação da metodologia (n = 10), amostras individuais dos órgãos dos sistemas reprodutor e digestivo, bem como amostras de tecido cutâneo foram coletadas. Considerando o baixo peso das amostras avaliadas e a precisão do equipamento disponível na instituição (0,01g), não foi possível a pesagem dos órgãos. Assim, as amostras do trato gastro-intestinal (TGI), compostas por fígado e intestino, foram medidas e avaliadas quanto a área de superfície e comprimento total pelo software ImageJ (Schneider et al. 2012) por meio de fotografia em superfície gradeada em 1x1cm (Fig. 5). A ferramenta de escala do software foi ajustada conforme as proporções da grade. Vale ressaltar que após calibrada, a ferramenta do software realiza os ajustes pertinentes quanto à angulação do objeto em medição de forma automática. De forma complementar, as amostras de TGI, foram avaliadas quanto a morfologia histológica e as amostras de tecido cutâneo quanto ao perfil lipídico, conforme as metodologias descritas a seguir.



**Figura 5.** Registros fotográficos experimentais em superfície gradeada (1x1cm) realizados para medição e avaliação do TGI de cavalo-marinho-de-focinho-longo *H. reidi* pelo software ImageJ. À esquerda, processo de calibração da escala do software; à direita, medição em triplicata do comprimento intestinal com ajuste de angulação.

## 2.2. *Histologia*

As amostras de fígado, intestino e gonadas foram conservadas em 10g.kg<sup>1</sup> de formalina tamponada. Para o processamento, as amostras foram desidratados em gradientes de álcool e embebidos em parafina por dispensador automático (TES 99, Ponder, Suécia). Os cortes obtidos foram então corados com hematoxilina-eosina (Martoja & Martoja-Pierson 1970), examinadas e comparadas sob microscópio óptico (Olympus CX41). Durante as observações, atenção especial foi dada ao estrutura dos hepatócitos e maturação das gônadas.

## 2.3. *Determinação do perfil de ácidos graxos*

Para a identificação dos ácidos graxos e determinação do perfil lipídico das amostras de tecido cutâneo, foram utilizadas amostras de 1g congeladas a -20°C em falcões pré-identificados, em duplicata. Os lípidos foram extraídos com clorofórmio:metanol:água (2:1:0,5) de acordo com o método de Folch et al., (1957). O extrato lipídico foi metilado com cloreto de acetila (5% HCl em metanol) (Christie, 2003). A composição do FA foi analisada como ésteres metílicos usando um cromatógrafo a gás Scion modelo 436 equipado com um ionizador de chama (FID) e auto-injetor, usando hidrogênio como gás de arraste com uma vazão de 22mL/min. A coluna capilar para análise do AG foi uma CP Wax 52 CB, com 0,25 µm de espessura, 0,25 mm de diâmetro interno e 30 m de comprimento. Foi utilizado o seguinte programa de temperatura: 170°C por 1 minuto, seguido de uma rampa de 2,5°C/minuto até atingir 240°C, e um tempo final de espera de 5 minutos, totalizando 31 minutos de corrida. A temperatura era de 250°C no injetor e 260°C no FID. Padrões de ácidos graxos na forma de ésteres metílicos (FAME) (Supelco, 37 componentes e Larodan) foram usados para identificar FA com base no tempo de retenção. A quantificação foi realizada normalizando a área, expressando o resultado como uma porcentagem da área de cada ácido sobre a área total de ácidos graxos (%).

## 2.4. *Análise estatística*

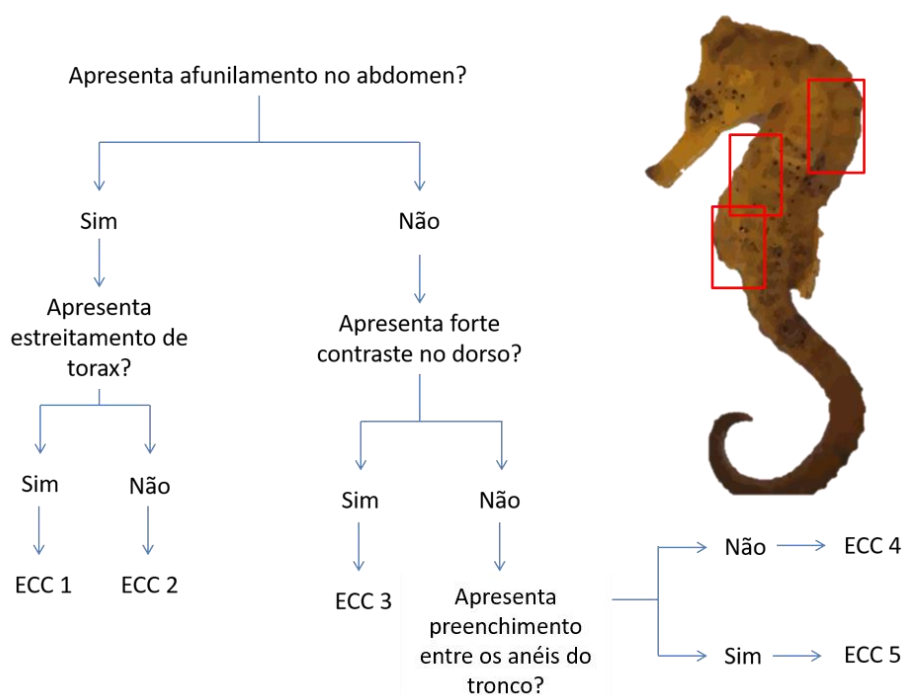
As médias das variáveis morfométricas foram submetidas a regressão e ao teste de correlação de Pearson, sendo consideradas correlações “muito fortes” aquelas onde  $r > 0,8$ , “fortes” quando  $0,79 < r > 0,6$ , “medianas” quando  $0,59 < r > 0,4$ , “fraca” quando  $0,39 < r > 0,20$  e “muito fraca” quando  $r < 0,19$ . De forma complementar, os dados obtidos foram plotados pela análise de discriminantes lineares (LDA) considerando as 6 variáveis mais discriminativas do conjunto de dados, sendo adotados ‘peso final’, ‘CTf’, ‘CDf’, ‘LFf’, ‘LLf’ e

o índice da metodologia de classificação, sendo estes 'kf' ou 'ECC'. As médias dos demais parâmetros avaliados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), para comparação entre as categorias. Em caso de diferença significativa, foi aplicado teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). Ainda, visando a avaliação de tendência dos dados entre as diferentes categorias, o teste de Mann-Kendall foi adotado. Foi utilizado o pacote estatístico Past 4.03, considerando um valor de significância de 5%.

### 3. RESULTADOS

O intuito base da metodologia de ECC é averiguar qualitativamente a deposição de massa e reservas energéticas, independentemente da dieta, sexo, estágio fisiológico ou manejo adotado; a independência da metodologia a estes fatores é primordial, uma vez que, consistindo em um padrão desenvolvido para a espécie alvo, o mesmo modelo poderá ser adotado em diferentes condições ambientais ou de cultivo. Desta forma, para o desenvolvimento deste modelo de ECC, os animais não foram diferenciados quanto ao manejo alimentar, sexo ou estágio fisiológico.

A partir do acompanhamento da engorda e acúmulo de massa corporal dos indivíduos avaliados foram definidos os pontos a serem considerados como critério na elaboração do escore de condição corporal (ECC). Foram definidos escores de 1 a 5, contando também com a possibilidade de uso de categorias intermediárias (variações de 0,5) para animais que estivessem em transição entre categorias (Fig. 6, 7 e 8).



**Figura 6.** Fluxograma para categorização do cavalo-marinho-de-focinho-longo *H. reidi* nos diferentes escores quanto à evolução na condição corporal baseado nos registros fotográficos.

Neste cenário, o afunilamento do abdômen pode ser definido como o não preenchimento dos anéis do tronco na região ventral, conforme apontado pela seta verde no diagrama abaixo (Fig. 7). O estreitamento de tórax por sua vez, pode ser observado na vista lateral, sobre a medida do dorso em direção ao peito, conforme indicado pelas setas pretas (Fig. 7). O estreitamento de tórax refere-se à relação do comprimentos entre a região peitoral e abdominal, acima da inserção da nadadeira dorsal; nota-se animais em ECC 1 tendem a apresentar tórax ligeiramente inferior ao abdômen. Para animais em ECC 2, o tórax passa a se igualar a largura abdominal. Importante ressaltar que, apesar da largura de tórax e abdômen também serem igualadas nas categorias 4 e 5, a característica discriminativa será o afunilamento de abdômen, conforme indicado pelo fluxograma (Fig. 6). Para contraste do dorso, deve-se focar a atenção para a linha média, indicada pelas setas em azul (Fig. 7). Animais em ECC 3 tendem a apresentar a região abdominal, à direita da linha média, mais desenvolvida que o dorso; em ECC 4, os animais passam a apresentar uma estrutura mais compacta, sem grande contraste entre as regiões à esquerda e à direita da linha média. Nota-se que, para animais em ECC 5, a região abdominal pode, novamente, exceder a região dorsal, principalmente na vista frontal (Fig. 8); as características discriminativas neste caso, serão o preenchimento dos anéis do tronco e a proporcionalidade do tórax em relação ao abdômen (setas pretas). Por último, o preenchimento dos anéis abdominais, indicados pela seta laranja (Fig. 7), indicam um aspecto mais convexo entre os anéis, principalmente na vista frontal (Fig. 8).



**Figura 7.** Categorização do cavalo-marinho-do-focinho-longo *H. reidi* nos diferentes escores quanto à evolução na condição corporal baseado nos registros fotográficos das fêmeas do estudo. Onde: setas pretas indicam avaliação de estreitamento de tórax; seta

verde indica afunilamento abdominal; setas azuis indicam contraste da região dorsal; e seta laranja indica preenchimento dos anéis abdominais. Ressalta-se as imagens correspondem a cinco animais distintos.

Além das características discriminativas indicadas pelo fluxograma (Fig. 6), o modelo de escore de condição corporal considerou características adicionais que complementam o quadro observado, conforme indicado na descrição das categorias abaixo.

**ECC-1:** considerados muito magros, apresentam estreitamento da largura lateralizada de peito, afunilamento da região abdominal, sendo esta igual ou inferior à largura peitoral, cobertura muscular muito escassa com presença marcada de concavidades entre os anéis do tronco e ventre. Como resultado do reduzido porte corpora, pode ser observada desproporcionalidade entre o tamanho da cabeça em relação ao corpo, sendo neste caso, cabeça e cauda mais evidenciados que o abdômen;

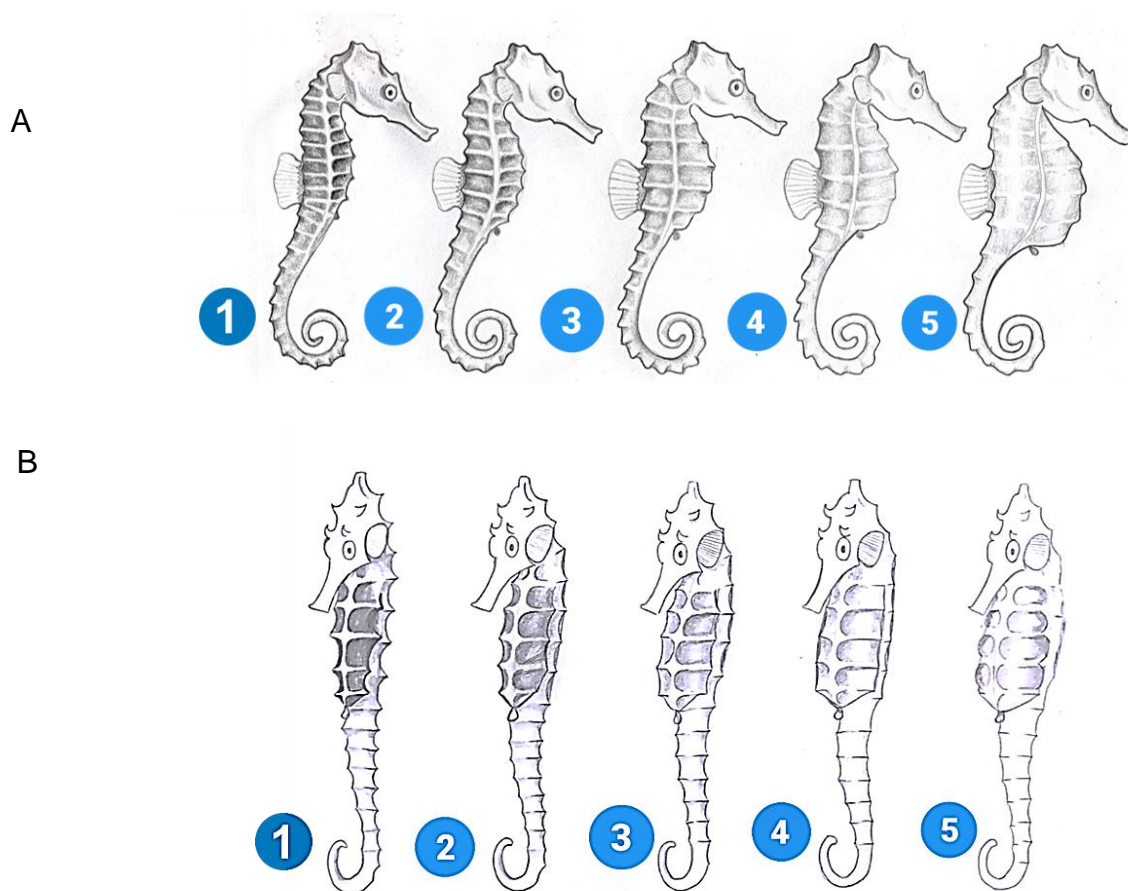
**ECC-2:** considerados magros, apresentam estreitamento da largura lateralizada de peito, região abdominal ligeiramente superior à largura peitoral, cobertura muscular escassa com presença sutil de concavidades entre os anéis do tronco, porém marcadas na região ventral, e proporções menos discrepantes quando comparados aos animais em score 1;

**ECC-3:** considerados normais, apresentam aumento significativo da porção abdominal, sendo esta visivelmente maior que a largura peitoral, cobertura muscular razoável, não havendo concavidades visíveis entre os anéis do tronco e região ventral, ausência de afunilamento marcado na região ventral e proporcionalidade entre as regiões do corpo; apresentam região abdominal ligeiramente mais desenvolvida que a região dorsal quando avaliados pela linha média (Fig. 7);

**ECC-4:** considerados fortes, apresentam aumento significativo da largura peitoral e de pescoço, podendo alcançar larguras iguais as de abdômen e boa cobertura muscular, não sendo visíveis concavidades entre os anéis do tronco e abdômem; apresentam uma estrutura corporal compacta e uniforme; apresentam região abdominal igualmente desenvolvida à região dorsal quando avaliados pela linha média (Fig. 7);

**ECC-5:** considerados em sobrepeso, apresentam aumento significativo da largura peitoral, cobertura muscular compacta, havendo aspecto abaolado na região entre os anéis do tronco e abdomen; considerando o aumento generalizado na região dorsal, podem apresentar desproporção entre corpo e cabeça, sendo neste caso, o corpo mais

desenvolvido que a cabeça e cauda; apresentam região abdominal ligeiramente mais desenvolvida que a região dorsal quando avaliados pela linha média (Fig. 7).



**Figura 8.** Representação das categorias de escore do cavalo-marinho-do-focinho-longo *H. reidi* propostas com base nas características de condição corporal em perfil (A) e em visão frontal (B). (Ilustração: Laura Simões Andrade)

Neste estudo, o peso médio dos animais avaliados aumentou em 13% ao longo do período de avaliação. As maiores margens de engorda para indivíduos dentro dos grupos foi de 3,5g, 3,66g, 4,95g e 4,35g, respectivamente. O ganho de peso dos animais foi suficiente para que fossem observadas mudanças na conformidade corporal, corroborando para o desenvolvimento do modelo de ECC (Tab. 1).

**Tabela 1.** Dados da avaliação morfométrica de cavalos-marinho-do-focinho-longo *H. reidi*, no início e fim do período experimental.



Grupo	Animal	CTi (cm)	CTf (cm)	CDi (cm)	CDf (cm)	CCi (cm)	CCf (cm)	LFi (cm)	LFf (cm)	LLi (cm)	LLf (cm)	Pi (g)	Pf (g)	Ki	Kf
1	Fêmea 1	10,2	11,4	4,4	5,6	5,8	5,8	0,7	0,8	0,9	1,9	4,5	8,9	0,0042	0,0060
	Fêmea 2	11	11,5	4,7	5,2	6,3	6,3	1	0,5	1,8	1,4	3,6	5,5	0,0027	0,0036
	Macho 1	12,6	12,7	6,2	6,3	6,4	6,4	0,8	0,8	1,6	1,6	9	9,9	0,0045	0,0048
	Fêmea 3	12,8	13	5,8	6	7	7	0,9	1	1,2	1,4	7,6	7,3	0,0036	0,0033
2	Macho 2	13,6	15,2	5,6	7,2	8	8	0,9	1,1	1,2	2,4	12,5	17	0,0050	0,0048
	Macho 3	13,6	15	5,3	6,7	8,3	8,3	1,1	0,9	1,9	2,3	10,9	14,1	0,0043	0,0042
	Macho 4	13,8	13,8	6,3	6,3	7,5	7,5	0,9	0,9	2,1	1,9	8,3	11,5	0,0032	0,0044
	Fêmea 4	14	14,2	6,1	6,3	7,9	7,9	0,9	1,1	1,7	1,8	10,8	10,4	0,0039	0,0036
	Fêmea 5	14,6	14,6	6,1	5,7	8,5	8,9	1,3	1	1,8	1,9	11,4	12,3	0,0037	0,0040
	Fêmea 6	14,6	15,1	5,6	6,1	9	9	1	1,2	1,9	1,7	11,2	12,2	0,0036	0,0035
	Macho 5	14,6	15,2	5,7	7,6	8,9	7,6	0,9	0,8	1,9	2	10,8	10,3	0,0035	0,0029
3	Fêmea 7	15	15	6	6	9	9	1	0,9	1,6	1,8	11,3	11,2	0,0033	0,0033
	Fêmea 8	15,2	15,9	5,9	6,6	9,3	9,3	1	1	1,9	2	11,8	12,1	0,0034	0,0030
	Macho 6	15,3	16,2	6,9	7,8	8,4	8,4	1	1,2	2,2	2,5	15,3	20,3	0,0043	0,0048
	Macho 7	15,4	17	5,8	7,4	9,6	9,6	0,9	0,9	2,1	2,2	14,7	14,6	0,0040	0,0030
	Macho 8	15,6	16,2	7,1	7,7	8,5	8,5	1	1,2	2,3	2,5	17,8	20,8	0,0047	0,0049
	Fêmea 9	16,5	17,3	7,1	7,1	9,4	10,2	1	0,9	1,8	1,9	13,9	13,9	0,0031	0,0027
4	Fêmea 10	17,1	17,1	7,2	7,2	9,9	9,9	1	1	2,1	2	19,4	20,1	0,0039	0,0040
	Fêmea 11	17,4	17,4	7,2	7,2	10,2	10,2	1,2	1,1	2,3	1,9	17,5	17,6	0,0033	0,0033
	Fêmea 12	17,6	17,6	7,4	7,4	10,2	10,2	1,9	1,9	2,3	2	22,6	23,4	0,0041	0,0043
	Macho 9	17,6	18,3	7,2	7,9	10,4	10,4	1,2	1,2	2,7	2,7	19,2	24,1	0,0035	0,0039

Onde: CTi= Comprimento Total inicial; CTf= Comprimento Total final; Cdi= Comprimento Dorsal inicial; CDf = Comprimento Dorsal final; CCi= Comprimento Caudal inicial; CCf= Comprimento Caudal final; LFi= Largura de peito frontal inicial; LFf= Largura de peito frontal final; LLi= Largura de peito lateral inicial; LLf= Largura de peito lateral final; Pi= Peso inicial; Pf= Peso final; Ki = Coeficiente de Fulton inicial; Kf = Coeficiente de Fulton final. G1= animais menores que 13cm; G2= entre 13 e 14,9 cm; G3= entre 15 e 17cm e; G4= maiores que 17cm.

Considerando os índices de desempenho calculados e a aplicação dos valores do modelo de ECC seguindo os parâmetros estabelecidos na avaliação visual dos animais, foi possível observar que os valores de ECC seguem distribuição não ordenada, independente da categoria de tamanho avaliada, conforme esperado (Tab.2). Nesta etapa, cabe ressaltar que a metodologia de ECC visa determinar o acúmulo de reserva energéticas, sendo esta característica não necessariamente atrelada a um maior comprimento ou peso total. Com exceção das pontuações “1” e “5”, atribuídas nas categorias mais extremas quanto ao comprimento corporal, os índices de ECC apontados não seguem um padrão quanto à

variáveis de PM, GP, TCE e GPD, havendo somente correlações médias ( $0,59 < r > 0,4$ ) para os dados de PM nos grupos 1 e 2, e para PM, GP, TCE e GPD no grupo 3.

**Tabela 2.** Caracterização dos índices de desempenho e ECC em adultos de cavalo-marinho-do-focinho-longo *H. reidi*, sob cuidados humanos, avaliados por um período de 150 dias.

<b>Grupo</b>	<b>Animal</b>	<b>PM (g)</b>	<b>GP (g)</b>	<b>TCE</b>	<b>GPD</b>	<b>ESCORE</b>
<b>Grupo 1</b>	Fêmea 1	7,58 ±1,79	4,40	0,045	0,029	3
	Fêmea 2	4,48 ±0,72	1,90	0,028	0,013	1
	Macho 1	9,84 ±0,63	0,90	0,006	0,006	2
	Fêmea 3	8,3 ±0,89	-0,30	-0,003	-0,002	3
<b>Grupo 2</b>	Macho 2	15,44 ±1,58	4,50	0,020	0,030	3,5
	Macho 3	13,825 ±0,72	3,20	0,017	0,021	3,5
	Macho 4	11,34 ±0,40	3,20	0,022	0,021	2,5
	Fêmea 4	10,94 ±0,78	-0,40	-0,003	-0,003	3
	Fêmea 5	13,05 ±0,21	0,90	0,005	0,006	3
	Fêmea 6	12,48 ±0,28	1,00	0,006	0,007	3
	Macho 5	11,3 ±0,85	-0,50	-0,003	-0,003	3,5
<b>Grupo 3</b>	Fêmea 7	11,9 ±0,56	-0,10	-0,001	-0,001	3
	Fêmea 8	12,52 ±0,58	0,30	0,002	0,002	3,5
	Macho 6	18,16 ±1,10	5,00	0,019	0,033	3,5
	Macho 7	15,34 ±0,46	-0,10	0,000	-0,001	3,5
	Macho 8	20,42 ±0,66	3,00	0,010	0,020	4
	Fêmea 9	14,98 ±0,83	0,00	0,000	0,000	2,5
<b>Grupo 4</b>	Fêmea 10	20,45 ±0,49	0,70	0,002	0,005	4
	Fêmea 11	18,1 ±0,39	0,10	0,000	0,001	2,5
	Fêmea 12	18,1 ±0,39	0,80	0,002	0,005	5
	Macho 9	23,88 ±1,18	4,90	0,015	0,033	4

Onde: PM = “peso médio”, GP = “ganho de peso”, expresso em gramas, TCE = “taxa de crescimento específico”, expresso em porcentagem, GPD = “ganho médio diário, expresso em gramas, ESCORE = classificação de acordo com a condição corporal no momento da última biometria do período experimental. G1= animais menores que 13cm; G2= entre 13 e 14,9 cm; G3= entre 15 e 17cm e; G4= maiores que 17cm.

Os dados foram avaliados quando à correlação de Pearson entre as variáveis biométricas, índices de proporção convencionais (k) e o modelo de escore de condição corporal proposto. Para a variável “peso”, foi observada correlação muito forte ( $r > 0,8$ ) em relação à CT e CD, e correlação forte ( $0,79 < r > 0,6$ ) em relação à LL e LF. Estes resultados indicaram que as medidas biométricas avaliadas possuem relação com o ganho de peso. Quando comparados os valores de ECC e k, no entanto, foi constatada correlação muito fraca ( $r < 0,19$ ), apontando para uma não adequação do modelo de ECC proposto em

relação ao índice de Fulton (k), normalmente aplicado em estudos ictiológicos. Para o modelo ECC, foi observada correlação forte ( $0,79 < r > 0,6$ ) para as variáveis CT, CD, LF, LL e peso. Neste cenário, houve baixa correlação entre o valor de k e o ECC indicado para os animais avaliados ( $r = 0,1414$ ). Em relação ao índice k, as medidas de CT, CD, LL, LF e peso apresentaram correlação fraca ou muito fraca ( $r < 0,4$ ), indicando que, para a população avaliada, o coeficiente de Fulton (k) pode não ser o melhor indicador para avaliação de condição corporal (Tab. 3).

**Tabela 3.** Matriz de correlação de Pearson entre as variáveis biométricas e os modelos de avaliação de reserva energética (k e ECC) observados em cavalos-marinhos-do-focinho-longo *H. reidi*.

	P	CT	CD	LL	LF	k	ECC
P	1,000	0,881	0,840	0,686	0,751	0,214	0,741
CT	0,881	1,000	0,853	0,697	0,595	-0,211	0,643
CD	0,840	0,853	1,000	0,743	0,506	-0,013	0,662
LL	0,686	0,697	0,743	1,000	0,449	0,041	0,646
LF	0,751	0,595	0,506	0,449	1,000	0,045	0,759
K	0,214	-0,211	-0,013	0,041	0,045	1,000	0,129
ECC	0,741	0,643	0,662	0,646	0,759	0,129	1,000

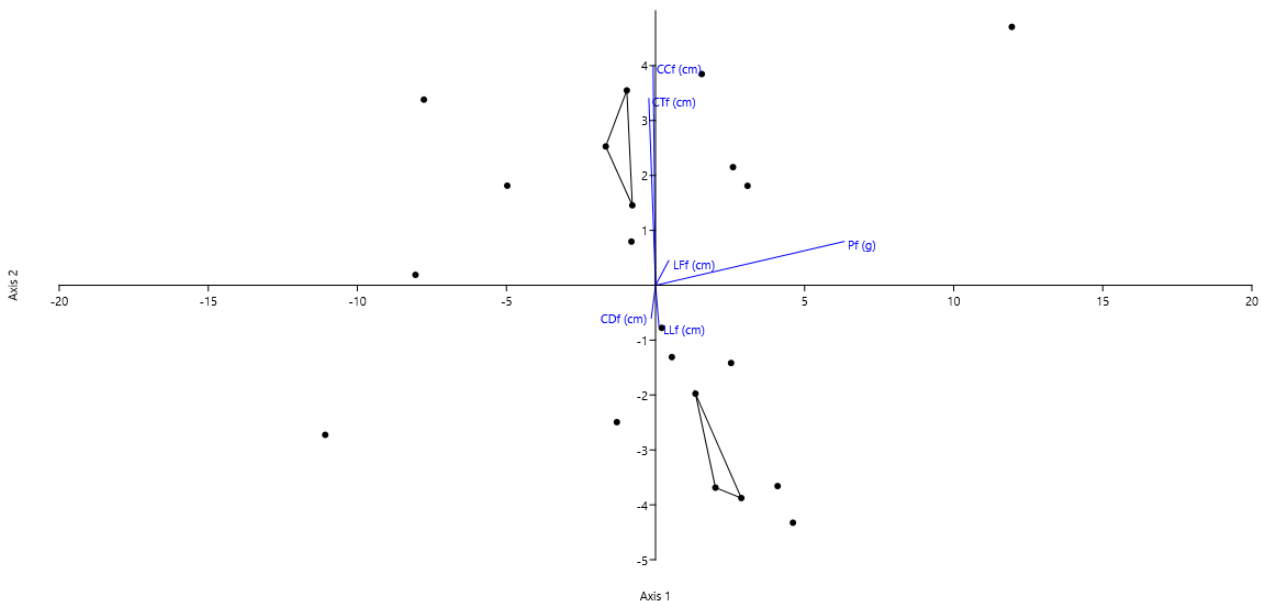
  

Muito Forte	Forte	Média	Fraca	Muito fraca
-------------	-------	-------	-------	-------------

Quando analisados dados provindos de machos e fêmeas separadamente, os resultados observados para a matriz de correlação são muito semelhantes. Neste cenário, LF passa a ter maior correlação com as demais variáveis, principalmente para os machos, e CT passa a ser menos relevante para a categorização das fêmeas em relação ao ECC. Para os machos, com exceção de LF e P, que apresentam correlação forte com ECC, as demais variáveis passam a apresentar correlações muito fortes com o sistema de categorização.

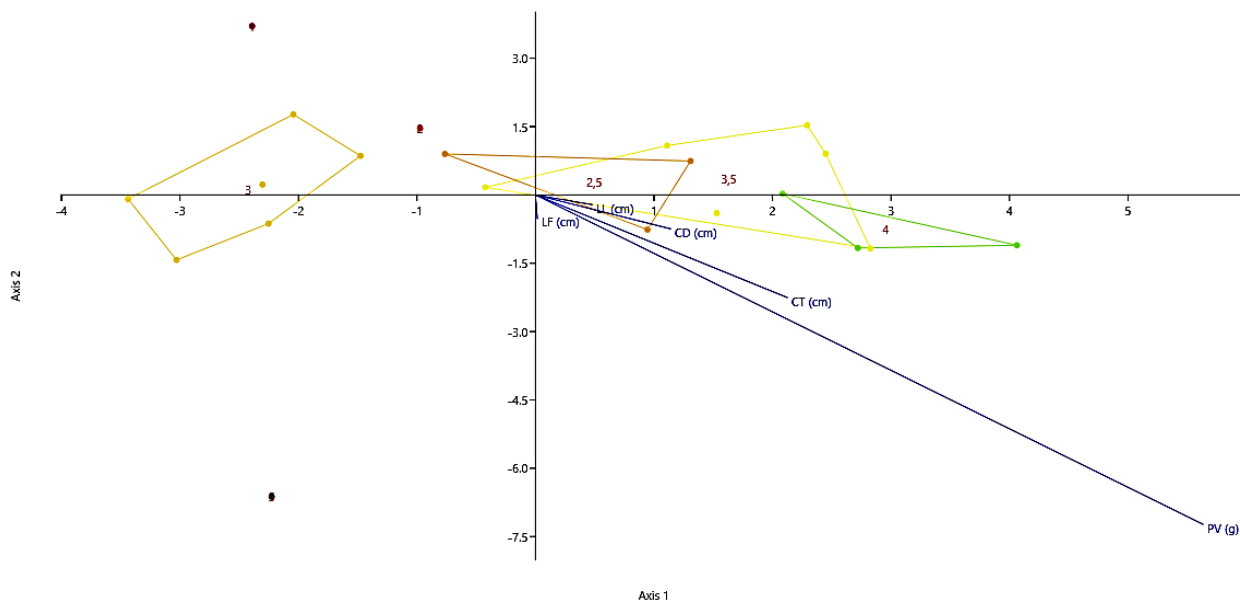
Em relação à análise de discriminantes lineares, para o coeficiente de Fulton (k), a distribuição dos grupos se deu de forma aleatorizada, seguindo a distribuição de acordo com a casa decimal apontada pela metodologia (Fig.9). Somente dois grupamentos foram indicados. Nesta análise, as variáveis 'peso', CT e CC se sobressairam quanto aos grupamentos, apresentando efeito inverso em relação ao eixo 1 (72,19%), sendo CD, LL e LF, pouco influentes na distribuição. Neste modelo, a previsão de assertividade dos grupos

foi de 90,48%, destacando a significância dos dados quanto à distribuição dos pontos e grupamentos.



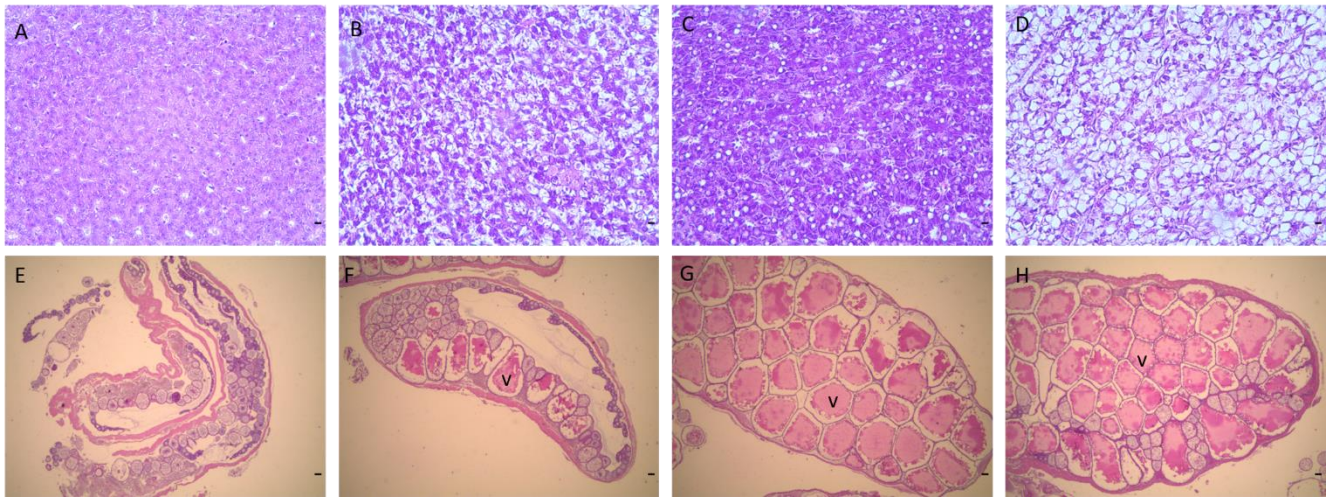
**Figura 9.** Análise de discriminantes lineares (LDA) para o grupamento proposto pela metodologia do coeficiente de Fulton (k) do cavalo-marinho-do-focinho-longo *Hippocampus reidi* em ambiente controlado.

Apesar das correlações apontadas para o índice 'k', quando plotados em LDA os dados referentes ao grupamento fornecido pelo método do ECC, a previsão de assertividade na distribuição dos grupos encontrada também foi elevada (95,24%). Em relação à distribuição dos grupos plotados, apesar do grupamento dos pontos por categoria de ECC, a distribuição dos grupos não seguiu uma ordenação sistêmica, principalmente em relação ao escore 3, dado o caráter qualitativo da metodologia (Fig.10). Neste cenário, as variáveis 'peso' e 'CT' apontaram expressivo efeito na distribuição dos pontos, sendo complementares em relação ao eixo 1 (47,72%). A angulação entre as variáveis CT e CD apontam para uma alta correlação entre as mesmas, sendo pertinente a exclusão de uma delas visando aumentar a qualidade das análises. Em contraste à análise do coeficiente de Fulton, para o modelo de ECC, as variáveis LF e LL apresentam maior contribuição na distribuição dos dados. Neste caso, foram indicadas somente duas alterações quanto à categorização dos pontos, ambas referentes às categorias intermediárias (variações de 0,5).

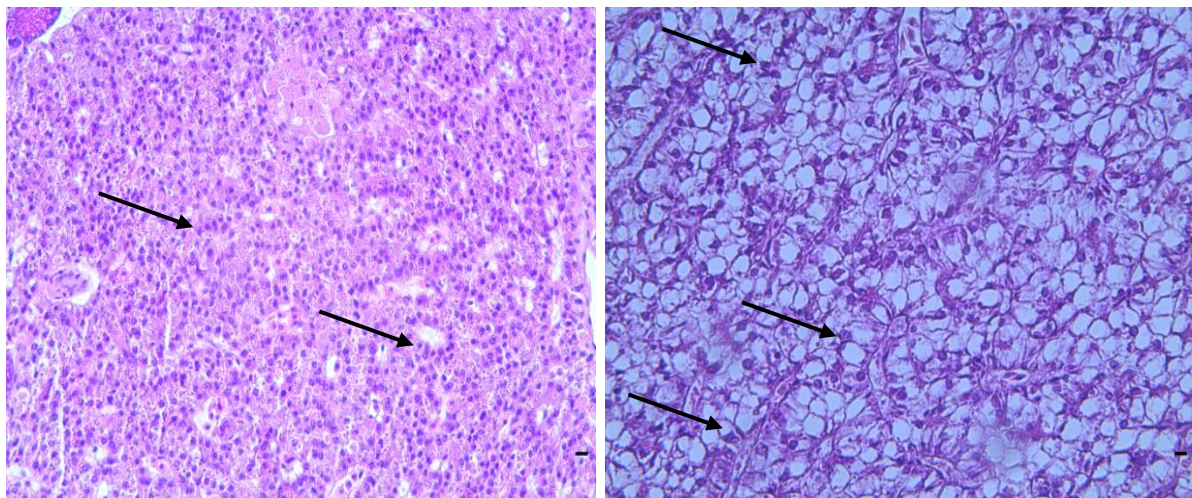


**Figura 10.** Análise de discriminantes lineares (LDA) para o grupamento proposto pelo modelo de escore de condição corporal (ECC) do cavalo-marinho-do-focinho-longo *H. reidi* em ambiente controlado.

Em relação à conformação histológica dos órgãos, foi possível observar diferenças marcantes quanto ao acúmulo de gordura no fígado e grau de desenvolvimento das gônadas dos animais avaliados nas diferentes categorias de escore (Fig.11). Nesta etapa, não foram observados indivíduos em escore 1, sendo contabilizados 20% dos animais em ECC 5, 30% em ECC 4, 20% em ECC 3 e 30% em ECC 2 (n=10). Para os machos, não foi possível avaliação do tecido testicular uma vez que as lâminas obtidas não apresentaram correspondência às estruturas normalmente observadas para a espécie. Para o tecido hepático, além das diferenças em área de órgão (Tab.4), foi observado um aumento progressivo de vacuolização, hipertrofia dos hepatócitos e deslocamento do núcleo para a periferia da célula nos casos de maior reserva lipídica (Fig.12). Destaca-se que as lâminas histológicas de machos e fêmeas apresentaram o mesmo padrão de acúmulo lipídico no tecido hepático dentro das categorias distintas de ECC. Animais categorizados no escore 3 apresentaram presença de gotas lipídicas visualmente superior àquelas observadas para animais em escore 4, que por sua vez, apresentaram maior área de superfície de fígado e desenvolvimento gonadal. Quanto ao desenvolvimento das gônadas, também foi possível observar aumento progressivo em tamanho e número de oócitos vitelogênicos relacionados ao avanço nas categorias de escore. Entretanto, todas as fêmeas avaliadas apresentaram ovário funcional.



**Figura 11.** Lâminas histológicas do fígado e gônadas de cavalos-marinho-do-focinho-longo *H. reidi* em diferentes categorias de escore de condição corporal em ambiente controlado. Onde: A, B, C e D referem-se ao tecido hepático de animais em escore 2, 3, 4 e 5, respectivamente (H&E, x40); E, F, G e H referem-se ao tecido ovariano de fêmeas em escore 2, 3, 4 e 5, respectivamente (H&E, x40). “v” refere-se à oócito vitelogênico. Destaque para o aumento na área de superfície do ovário nas diferentes categorias de ECC.



**Figura 12.** Detalhes das lâminas histológicas do tecido hepático de cavalos-marinho-do-focinho-longo *H. reidi* em escore 2 (à esquerda) e escore 5 (à direita). Setas indicam o núcleo dos hepatócitos, centralizado (à esquerda) e deslocados para a periferia das células (à direita) (H&E, x100).

Quanto a medida dos órgãos do sistema digestório, foi observada diferença macroscópica em coloração e tamanho do fígado entre as diferentes categorias de escore, o que, após análise histológica, foram relacionadas ao acúmulo de lipídios e grau de desenvolvimento gonadal. Não houve diferença estatística para comprimento dorsal e peso corporal entre as categorias ( $p < 0,05$ ). Tal resultado era esperado uma vez que, conforme

abordado anteriormente, a metodologia de ECC visa determinar o acúmulo de reserva energética, sendo esta característica não necessariamente atrelada a um maior comprimento ou peso corporal. Foram observadas diferenças significativas para área de fígado dos animais em escore 2 em relação aos animais em escore 5 ( $p > 0,05$ ) (Tab.4). Apesar de não apontada diferença estatística, a hiperplasia do fígado foi diretamente proporcional ao avanço das categorias de escore, havendo alta correlação ( $r = 0,86$ ) entre área de fígado e peso corporal. Neste sentido, foi observada diferença significativa para a relação entre área de fígado e comprimento dorsal, sendo esta superior para os animais em escore 5 em relação aos animais em escore 2 e 3, porém similar aos animais em escore 4 ( $p < 0,05$ ). Em relação ao comprimento intestinal, foi observada diferença estatística para os animais em escore 5 em relação aos demais ( $p < 0,05$ ), não havendo, no entanto, diferença significativa quanto a relação entre comprimento de intestino e comprimento dorsal.

**Tabela 4.** Médias seguidas de desvio padrão para medidas de área e comprimento dos órgãos do sistema digestório em relação às variáveis biométricas e o modelo de avaliação de reserva energética (ECC) observados em cavalos-marinho-do-focinho-longo *H. reidi*.

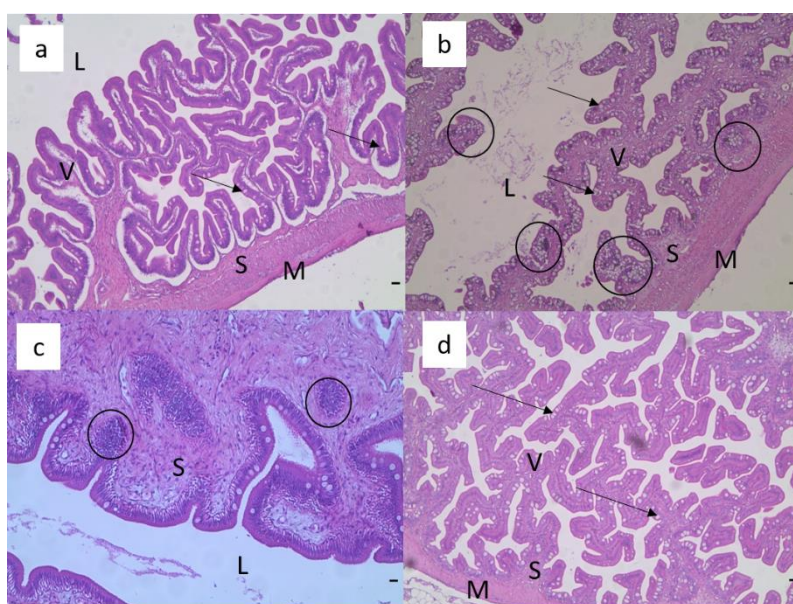
ECC	5	4	3	2
<b>CT (cm)</b>	14,842 ±2,25a	14,376 ±0,82a	11,919 ±0,06ab	12,785 ±0,63b
<b>CD (cm)</b>	6,449 ±0,86a	6,327 ±0,39a	5,150 ±0,14a	5,570 ±0,28a
<b>Peso (g)</b>	14,800 ±8,06a	9,600 ±2,78a	4,250 ±0,07a	6,130 ±1,89a
<b>Área de Fígado (cm<sup>2</sup>)</b>	1,133 ±0,55a	0,573 ±0,15ab	0,291 ±0,07ab	0,184 ±0,09b
<b>Relação Fígado/CD</b>	0,171 ±0,06a	0,091 ±0,02ab	0,057 ±0,02b	0,034 ±0,02b
<b>Comp. Intestino (cm)</b>	11,624 ±4,34a	11,296 ±4,35a	9,004 ±1,78a	7,452 ±2,03a
<b>Relação Intestino/CD</b>	1,773 ±0,44a	1,784 ±0,66a	1,744 ±0,3a	1,328 ±0,29a

Diferentes letras na mesma linha indicam diferenças significativas entre as categorias de escore pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Considerando que não foram avaliados indivíduos em ECC 1, os dados brutos das medidas de área e comprimento dos órgãos do sistema digestório e sua relação às variáveis biométricas foram submetidos a análise pelo teste de Maan-Kendall visando avaliar a tendência dos dados. Neste sentido, foi observada tendência decrescente significativa para as variáveis “área de fígado” e “relação fígado:CD” referente à ordenação proposta pelo modelo de ECC. Para as demais variáveis, não foram indicadas tendências estatisticamente válidas quanto a ordenação dos dados em relação ao ECC. Assim, sugere-se que para animais em ECC 1, a área de fígado e relação fígado:CD correspondentes

seriam iguais ou inferiores àquelas observadas para animais em ECC 2. Não houve diferença quanto às tendências quando comparados dados obtidos para machos e fêmeas.

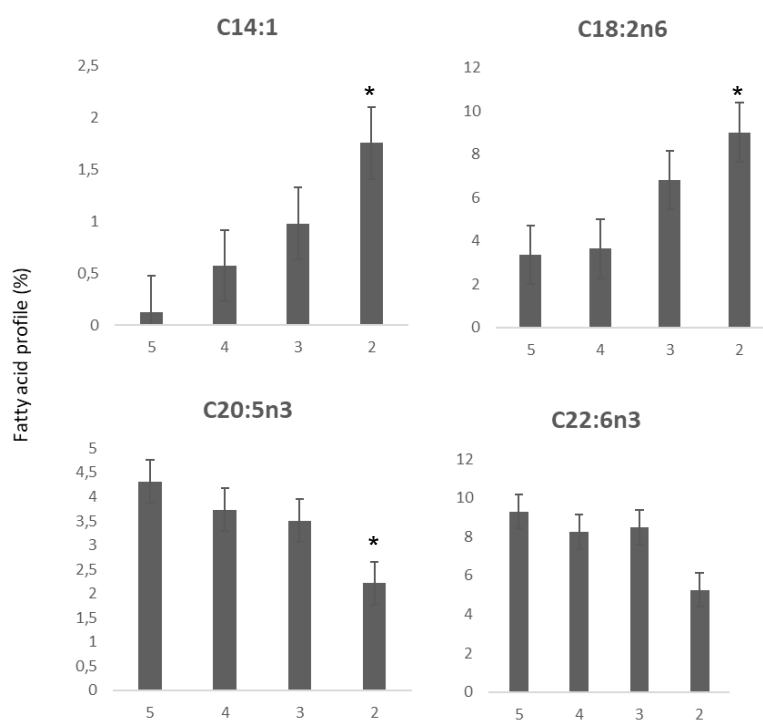
Em relação à avaliação histológica dos segmentos intestinais, apesar de apontado o acúmulo de lipídios em indivíduos avaliados até os primeiros 30 dias de vida em literatura (Novelli et al., 2016), não foram constatados neste estudo acúmulos visíveis no tecido intestinal (Fig. 13). Destaca-se, no entanto, que não houve adoção de corantes discriminativos para lipídios neste estudo. Nas lâminas, foram observados diferentes proporções na distribuição de células califormes, inclusive hiperplásicas em alguns pontos, mas que não foram relacionadas às diferentes categorias de condição corporal.



**Figura 13.** Detalhes das lâminas histológicas do tecido intestinal de cavalos-marinho-do-focinho-longo *H. reidi*. Setas indicam a presença de células califormes nos diferentes segmentos intestinais, sem relação com as categorias de escore de condição corporal. Células calciformes hiperplásicas podem ser observadas (b), bem como presença de tecido linfóide associado à submucosa (c) nas regiões circuladas. H&E, x10 (a, b e d), x40 (c). Onde, L refere-se ao lúmen, V às vilosidades intestinais, M à camada muscular com coloração intensa da serosa, e S à camada submucosa.



Quanto a análise de perfil lipídico do tecido cutâneo, 25 cadeias de ácidos graxos foram identificadas. Destas, somente 3 apresentaram acúmulo significativamente distinto entre as diferentes categorias de ECC: o ácido miristoleico (C14:1), ácido linoleico (C18:2n-6) e o ácido eicosapentaenóico, EPA (C20:5n-3). Apesar de não observada diferença estatística, uma diminuição considerável na proporção do ácido docosa-hexaenóico, DHA (22:6n-3), foi indicada para os animais em ECC 2 (Fig. 14). Nesta etapa, cabe lembrar que os indivíduos avaliados para este parâmetro consistiam em irmãos de mesma prole, mantidos sobre as mesmas condições de parâmetro de água e dieta; desta forma, as variações observadas são marjoritariamente atreladas a diferença na condição corporal dos indivíduos.



**Figura 14.** Perfil das proporções de diferentes cadeias de ácidos graxos acumuladas no tecido cutâneo de cavalos-marinho-do-focinho-longo *H. reidi* em diferentes ECC, expressas em porcentagem. Asteriscos apontam efeito estatisticamente significativo para a categoria. Onde C14:1 indica o ácido miristoleico, C18:2n-6 o ácido linoleico, C20:5n-3 o ácido eicosapentaenóico (EPA) e C22:6n-3 o ácido docosa-hexaenóico (DHA).

Ao se agrupar as diferentes cadeias de ácidos graxos de acordo com a presença e número de insaturações e comprimento da cadeia de carbonos, efeitos significativos são observados entre as diferentes categorias de ECC (Tab.5). Neste cenário, animais em ECC 5 e 4 apresentam proporções superiores de cadeias saturadas (SFA) quando comparados às categorias inferiores. Para as cadeias mono-insaturadas (MUFA), não houve diferença

referente a condição corporal. Para cadeias poli-insaturadas com menos de 20 carbonos (PUFA), houve efeito inversamente proporcional às categorias de ECC, sendo observado um aumento nas proporções destas cadeias em animais categorizados em baixa condição corporal. Para cadeias poli-insaturadas com 20 ou mais carbonos (HUFA), houve diminuição na concentração para animais em ECC 2 em relação às demais categorias.

**Tabela 5.** Médias seguidas de desvio padrão para o acúmulo de cadeias de ácidos graxos no tecido cutâneo de cavalos-marinho-do-focinho-longo *H. reidi* em diferentes condições de reserva corporal, expressos em porcentagem.

ECC	SFA	MUFA	PUFA	HUFA
5	57,16 ± 1,57a	30,62 ± 0,48a	3,35 ± 1,24b	15,67 ± 0,411a
4	57,08 ± 1,47a	30,84 ± 1,76a	4,05 ± 0,45b	13,73 ± 0,91a
3	52,96 ± 0,27b	32,17 ± 0,24a	6,80 ± 0,73ab	13,58 ± 0,78a
2	53,06 ± 0,35b	33,38 ± 0,91a	9,02 ± 1,69a	8,83 ± 2,33b

Diferentes letras na mesma coluna indicam diferenças significativas entre as categorias de escore pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Onde, “SFA” indica a soma das porcentagens das cadeias de ácidos graxos saturados, do inglês “saturates fatty acids”; “MUFA” indica a soma das porcentagens das cadeias de ácidos graxos mono-insaturados, do inglês “mono-unsaturates fatty acids”; “PUFA” indica a soma das porcentagens das cadeias de ácidos graxos poli-insaturados, com cadeias inferiores à 20 carbonos, do inglês “poly-unsaturated fatty acids”; e, “HUFA” indica a soma das porcentagens das cadeias de ácidos graxos poli-insaturados com cadeias iguais ou superiores à 20 carbonos, do inglês “highly unsaturated fatty acids”.

Novamente, considerando a ausência de indivíduos em ECC 1, os dados brutos das medidas de acúmulo das cadeias de ácidos graxos no tecido cutâneo foram submetidos a análise pelo teste de Maan-Kendall visando avaliar a tendência dos dados. Foi observada tendência decrescente significativa para SFA, e tendência crescente significativa para MUFA e PUFA referente à ordenação proposta pelo modelo de ECC. Para HUFA, não foram indicadas tendências estatisticamente válidas quanto a ordenação dos dados em relação ao ECC. Para cadeias específicas, tendências crescentes sinificativas foram apontadas para o ácido miristoleico (C14:1) e o ácido linoleico (C18:2n-6). Não houve efeito signigficativo para os ácidos eicosapentaenóico (C20:5n-3) e docosa-hexaenóico (22:6n-3). Não houve diferença quanto às tendências quando comparados dados obtidos para machos e fêmeas.

#### 4. DISCUSSÃO

Neste estudo, assim como observado por Joblon et al. (2014) e Clark et al. (2018) em organismos aquáticos, as variáveis morfométricas avaliadas não apresentaram correlações significativas com o valor de 'k' estabelecido pelas equações propostas para o gênero, sendo nestes casos, sugerida a adaptação de um sistema de ECC específico para as espécies. É provável que as características anatômicas e fisiológicas da espécie avaliada, conforme abordado anteriormente, limitem o uso da metodologia. Assim, são muitas as variáveis a serem consideradas antes da adoção de uma metodologia para aferição quantitativa das reservas corporais que indiquem de forma fiel a real condição dos animais.

Além da alta correlação dos dados apresentados neste estudo, a importância da adoção de um sistema de pontuação de condição corporal pode ser claramente ilustrada a partir dos dados de distribuição de peso e comprimento entre os grupos. Neste cenário, é evidente que indivíduos com o mesmo peso ou comprimento corporal podem ter diferentes ECC, conforme já observado em outros grupos animais (Reamer et al., 2020; Schiffmann et al., 2020). Ao se adotar a distribuição de dados apresentada, por exemplo, 19% dos indivíduos classificados em baixa condição corporal pela metodologia de ECC ( $ECC \leq 3$ ) seriam erroneamente identificados como em boas condições de saúde pelo fator de condição, fato que também foi observado no desenvolvimento de outras escala de ECC para organismos aquáticos (Joblon et al., 2014; Clark et al., 2018). No caso dos cavalos-marinhos, especificamente, observa-se uma prevalência dos machos como melhor avaliados pela metodologia convencional, fator normalmente atrelado ao peso da água na bolsa incubadora, resultando em falsos indicativos de reserva.

A fim de se alcançar uma estimativa mais precisa da condição física, validando a metodologia de ECC na espécie, faz-se necessário que se apliquem processos de validação da técnica por meio de perfis bioquímicos, análises histológicas e demais testes que permitam a avaliação quantitativa das reservas corporais em cada categoria de escore (Joblon et al., 2014; Morfeld et al., 2016; Clark et al., 2018; Reamer et al., 2020). Neste sentido, em cavalos-marinhos da espécie *H. reidi*, Novelli et al. (2015) aponta que as reservas energéticas podem ser encontradas em forma de tecido adiposo perivisceral, gotículas lipídicas no intestino anterior e posterior e armazenamento de lipídios no fígado em indivíduos até os 30 dias de idade, sendo estes bons indicadores de validação para um sistema de escore de condição corporal.

A hiperplasia do fígado foi diretamente proporcional ao avanço das categorias de escore. Em peixes, a elevação do índice hepatossomático pode ser resultante da maior deposição de gordura no fígado por oferta excedente de lipídios na dieta, ou ainda, proveniente de distúrbio no metabolismo, pelo aumento do processo de gliconeogênese e por fatores estressantes, sendo comuns a ocorrência de patologias decorrente do excesso de lipídios armazenados (Mihelakakis et al., 2002; Kaushik et al., 2004; Fabregat et al., 2011; Roh et al., 2020). Neste sentido, Kamnurdnin et al. (2021) aponta que para *H. barbouri*, necrose e lipidose hepatocelular pode ter prevalência de até 100% nas populações criadas em condições de laboratório. No entanto, assim como Senarat et al. (2021), apesar do crescente acúmulo de vacúolos nos hepatócitos, neste estudo não foram observados indícios de lesão ou degeneração hepática associadas ao acúmulo de lipídios, não sendo constatado processo inflamatório, necrose, áreas de mineralização ou aumento da vascularização hepática; assim, assume-se que, neste caso, o acúmulo observado foi meramente fisiológico, sendo associado a uma ingestão de energia acima das demandas do metabolismo (Wolf et al., 2015).

Neste estudo, animais categorizados no escore 3 apresentaram maior prevalência de gotas lipídicas no interior dos hepatócitos quando comparados a animais em escore 4, que por sua vez, apresentaram maior área de superfície de fígado e desenvolvimento gonadal. Considerando o aumento expressivo na área de superfície do órgão, efeito normalmente atrelado ao aumento nas reservas, sugere-se que a diminuição visual das gotas lipídicas se dê simplesmente pela diluição da proporção do número de gotas por área (Eliassen et al., 2020). Ainda, o efeito pode estar atrelado a mobilização das reservas na formação das ovas (Alonso-Fernandez e Saborido-Rey, 2012), ainda que, para animais em ECC 5, as reservas hepáticas se mantenham excessivas mesmo com o alto desenvolvimento das gônadas.

No que diz respeito ao desenvolvimento gonadal em diferentes condições corporais, neste estudo, apesar da funcionalidade ovariana em 100% das fêmeas avaliadas, foi observada redução em tamanho e número de oócitos vitelogênico, além de uma redução visível no tamanho do ovário em fêmeas em categoria menor ou igual ao ECC 3. Tal resultado é esperado, uma vez que, em cenários onde as reservas corporais são limitantes, menor sucesso reprodutivo e qualidade de prole são esperados (Palma e Andrade, 2012; Planas, 2020; Planas et al., 2021). Assim, acredita-se que fêmeas em ECC 1 e 2 sejam menos propensas a se reproduzir dada a escassez de reservas, sugerindo a

manutenção mínima de um ECC 3 para garantia de populações com reservas energéticas não limitantes.

Em relação aos dados de perfil lipídico no tecido cutâneo, a diminuição na concentração de SFA e o aumento na concentração de PUFA também foram observados por Webster et al. (1994), Delgado et al. (1994) e Roy et al. (2017) em peixes teleósteos submetidos a jejum prolongado. De forma similar, os autores também indicaram acúmulo de ácido linoleico nestas mesmas condições. Com base nestas informações, conforme esperado, é possível assumir que os indivíduos avaliados em ECC 2 provavelmente apresentavam baixa aceitação a dieta ofertada ao grupo, resultando em uma menor taxa de consumo, e conseqüentemente, queda na condição corporal. Em condições de limitação dos recursos alimentares, teleósteos marinhos tendem a priorizar a utilização de SFA, de forma que, proporcionalmente, observa-se um aumento nas concentrações de PUFA (Webster et al., 1994; Einen et al., 1998). Tal efeito pode ser relacionado a uma estratégia de preservação da homeostase metabólica, uma vez que, mantendo-se concentrações suficientes de PUFA, garante-se aspectos importantes, como a fluidez das membranas celulares, por exemplo (Roy et al., 2017). Além disso, Huynh et al. (2007) aponta grande influência da reprodução sobre o perfil de ácidos graxos acumulados no músculo em teleósteos marinhos; neste cenário, animais que apresentam desenvolvimento gonadal mais avançado tendem a exibir maiores acúmulos de SFA e DHA, e valores inferiores para MUFA e PUFA, conforme observado neste estudo.

Referente ao acúmulo gradual do ácido linoleico observado para os animais em ECC inferiores, considerando seu papel como precursor do ácido araquidônico (C<sub>20</sub>:4n-6), em condições limitantes, a preservação dos níveis de C<sub>20</sub>:4n-6 pode levar a uma queda na síntese da cadeia (Fountoulaki et al., 2003; Lazzarotto et al., 2015). Como resposta à pausa na síntese do ácido araquidônico, o acúmulo de seu precursor é esperado. Neste sentido, Diez et al. (2007) aponta que um aumento nos níveis séricos de ácido linoleico tem como resposta o aumento da oxidação  $\beta$  peroxissomal hepática, responsável pela oxidação de ácidos graxos de cadeia longa. Tal efeito poderia justificar a diminuição na proporção de HUFA observada para os animais em ECC 2.

Em peixes, é comum que gônadas maduras ocupem grande parte da cavidade celomática; em fêmeas de cavalos-marinhos da espécie *H. kuda*, as gônadas maduras podem representar até 16% do peso corporal, embora descrições para *H. reidi* apontem valores inferiores (Sheng et al., 2006; da Hora e Joyeux, 2009). Neste sentido, o estágio de

desenvolvimento e maturação das gônadas em fêmeas pode ser fator dominante na determinação das categorias de escore, assim como a prenhez em outros sistemas de avaliação de ECC (Willard et al., 1994; Lyver e Gunn, 2004; Weik et al., 2020). Apesar disso, neste estudo, os animais de melhor desempenho quanto ao desenvolvimento gonadal foram também aqueles que apresentam maior tamanho de fígado, reserva hepática e proporções adequadas de ácidos graxos no tecido cutâneo, de forma que a categorização de ECC, apesar de influenciada pelas gônadas, segue dando indicativos fiéis da condição corporal e reservas energéticas. Ainda, é preciso considerar que em organismos marinhos, variações ontogênicas e sazonais na condição corporal, normalmente relacionadas à reprodução, são esperadas (Gücü et al., 2018; Moorhead et al., 2021). Desta forma, assim como em outros trabalhos que abordam a utilização do ECC, acredita-se que a metodologia seja adequada mesmo durante a estação reprodutiva, ou ainda, como mecanismo complementar na identificação de reprodutores de maior potencial, conforme demonstrado neste estudo (Joblon et al., 2014; Kamerman et al., 2017; Clark et al., 2018; Reamer et al., 2020, Weik et al., 2020).

De forma geral, os dados relacionados a reserva hepática, desenvolvimento gonadal e perfil de lipídeos acumulados no tecido cutâneo observados neste estudo corroboram para a validação das categorias propostas pela escala de pontuação de ECC, onde, com o aumento da pontuação, melhores condições corporais e indicativos de saúde são esperadas (Laflamme, 2012; Schiffmann et al., 2020). Ainda, as categorias de ECC apontadas neste trabalho demonstram estar intimamente relacionadas ao potencial reprodutivo, sendo sugerido a manutenção de padrões acima do ECC 3 para garantia de condições adequadas. É preciso, no entanto, ser determinado se espécimes selvagens apresentam níveis semelhante de acúmulo de lipídios, uma vez que, se esta característica estiver associada a uma dieta desequilibrada, deficiência de ácidos graxos e/ou condições inadequadas de cultivo, o acúmulo de lipídios pode eventualmente resultar em patologias hepáticas. Tal cautela é importante, sobretudo, em animais na condição indicada pelo ECC 5, uma vez que a vacuolização observada foi visualmente superior àquelas demonstradas por outros autores (Segade et al., 2015; Senarat et al., 2021).

Apesar da ausência de avaliação da histologia testicular e número reduzido de machos no processo de validação neste estudo, a frequência de nascimentos observada para o grupo no período que antecedeu o abate é grande indicativo do potencial reprodutivo destes animais. De forma complementar, o padrão de reservas hepáticas, área de fígado e perfil lipídico no tecido cutâneo observadas para os machos seguiram a mesma tendência

avaliada nas fêmeas ( $p < 0,05$ ), mesmo considerando a influência das ovas na categorização. Assim, uma vez que as características chave na identificação das categorias independem de estruturas associadas ao dimorfismo, acredita-se que não há impeditivos quanto ao uso da metodologia para ambos os sexos, conforme praticado em ECC já fundamentados (Joblon et al., 2014; Kamerman et al., 2017; Clark et al., 2018; Reamer et al., 2020). De forma similar, apesar de não terem sido observados indivíduos em ECC 1 na validação da metodologia, a progressão linear e resultados para o teste de Maan-Kendall observados sugerem que animais em condições corporais abaixo ao ECC 2, tendem a apresentar resultados proporcionalmente inferiores.

Mesmo com a alta correlação observada no dados e validação das categorias propostas neste estudo, é importante ressaltar que indivíduos tipicamente diferem em acúmulo de massa corporal, dependendo não apenas do seu estado nutricional, mas do seu fenótipo ou ajustes metabólicos promovidos por fatores ambientais (Lazaro-Côté et al., 2021). Neste sentido, são comuns deformidades decorrentes da desnutrição na fase larval, podendo ser observados, principalmente em regime *in-situ*, adultos com afunilamento crônico do baixo ventre ou estreitamento definitivo de tórax, provavelmente atrelado a disfunções reprodutivas ou de cunho nutricional (Randazzo et al., 2018; Duman, 2019; Planas et al., 2021). Desta forma, é importante ter em mente que ao se adotar a metodologia de ECC para quaisquer espécies, exceções podem ser encontradas quanto às características discriminativas e sua relação com a condição corporal do indivíduo avaliado. No regime *ex-situ*, além da padronização dos protocolos de cultivo, resultando em fenótipos mais uniformes, o reconhecimento do histórico dos animais avaliados pode se mostrar suficiente para evitar o viés nas amostragens quanto à deformidades excepcionais.

Em suma, este estudo mostrou o potencial da aplicação do ECC apresentando dados preliminares sobre a deposição de massa no processo de engorda em cavalos-marinheiros-do-focinho-longo *H. reidi*. A metodologia de ECC apresenta-se como uma alternativa de alta praticidade, simplicidade e baixo custo, além de consistir em uma técnica não invasiva, sendo primordial na avaliação do status de saúde da espécie sob cuidados humanos além de, potencialmente, permitir o acompanhamento de espécimens de vida livre, avaliando sua relação com o meio. Neste sentido, a metodologia de ECC apresenta-se como uma ferramenta inovadora como alternativa de avaliação de reservas energéticas em organismos aquáticos. Vale ressaltar que, embora desenvolvido a partir do modelo biológico *H. reidi*, o modelo de classificação desenvolvido neste estudo é possivelmente aplicável para outros animais do gênero *Hippocampus* que apresentem morfologia similar

à espécie avaliada, como o *H. erectus* e o *H. patagonicus*, comuns à costa brasileira. Ainda, a metodologia de ECC pode ser adaptada e aplicável para outros organismos que apresentem morfologias desafiadoras, como animais dos gêneros *Ostraciidae*, *Tetraodontiformes* e *Muraenidae* no meio aquático, além de uma infinidade de espécimens terrestres.

## AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos pela parceria com o Aquário de Ubatuba na coleta de dados e disponibilização de material biológico para a realização deste estudo. Agradecemos também a equipe do Laboratório de Metabolismo e Reprodução de Organismos Aquáticos (LAMEROA – USP) do Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, pelo apoio com as análises.

## REFERÊNCIAS

- Alonso-Fernandez, A., Saborido-Rey, F. 2012. Relationship between energy allocation and reproductive strategy in *Trisopterus luscus*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 416: 8-16. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2012.02.001>
- Camara, E.M., Caramaschi, E.P., Petry, A.C. 2011. Fator de condição: bases conceituais, aplicações e perspectivas de uso em pesquisas ecológicas com peixes. *Oecologia Australis*, 15: 249-274. <https://doi.org/10.4257/oeco.2011.1502.05>
- Clark, T. S., Pandolfo, L. M., Marshall, C. M., Mitra, A. K., Schech, J. M. 2018. Body condition scoring for adult zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 57(6): 698-702. <https://doi.org/10.30802/AALAS-JAALAS-18-000045>
- Delgado, A., Estevez, A., Hortelano, P., Alejandre, M. J. 1994. Analyses of fatty acids from different lipids in liver and muscle of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). Influence of temperature and fasting. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 108(4): 673-680. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(94\)90354-9](https://doi.org/10.1016/0300-9629(94)90354-9)
- Diez, A., Menoyo, D., Pérez-Benavente, S., Caldach-Giner, J. A., Vega-Rubin de Celis, S., Obach, A., ... & Bautista, J. M. 2007. Conjugated linoleic acid affects lipid composition, metabolism, and gene expression in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *The Journal of nutrition*, 137(6): 1363-1369. <https://doi.org/10.1093/jn/137.6.1363>



Domínguez, L. M., Botella, Á. S. 2014. An overview of marine ornamental fish breeding as a potential support to the aquarium trade and to the conservation of natural fish populations. *International Journal of Sustainable Development and Planning*, 9(4): 608-632. <https://doi.org/10.2495/SDP-V9-N4-608-632>

Einen, O., Waagan, B., Thomassen, M. S. 1998. Starvation prior to slaughter in Atlantic salmon (*Salmo salar*): I. Effects on weight loss, body shape, slaughter-and fillet-yield, proximate and fatty acid composition. *Aquaculture*, 166(1-2): 85-104. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00279-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00279-8)

Eliassen, K., Patursson, E. J., McAdam, B. J., Pino, E., Morro, B., Betancor, M., ... & Rey, S. 2020. Liver colour scoring index, carotenoids and lipid content assessment as a proxy for lumpfish (*Cyclopterus lumpus* L.) health and welfare condition. *Scientific reports*, 10(1): 8927. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-65535-7>

Fabregat, T. E. H. P., Pereira, T. S., Boscolo, C. N., Alvarado, J. D., Fernandes, J. B. K. 2011. Substituição da farinha de peixe pelo farelo de soja em dietas para juvenis de curimba. *Boletim do Instituto de Pesca*, 37(3): 289-294.

Fogelson, S. B., Yanong, R. P. E., Kane, A., Teal, C. N., Berzins, I. K., Smith, S. A., Camus, A. 2015. Gross, histological and ultrastructural morphology of the aglomerular kidney in the lined seahorse *Hippocampus erectus*. *Journal of Fish Biology*, 87(3): 805-813. <https://doi.org/10.1111/jfb.12751>

Fountoulaki, E., Alexis, M. N., Nengas, I., Venou, B. 2003. Effects of dietary arachidonic acid (20: 4n-6), on growth, body composition, and tissue fatty acid profile of gilthead bream fingerlings (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture*, 225(1-4): 309-323. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00298-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00298-9)

Gücü, A. C., Genç, Y., Başçınar, N. S., Dağtekin, M., Atılğan, E., Erbay, M., ... & Kutlu, S. 2018. Inter and intra annual variation in body condition of the Black Sea anchovy, *Engraulis encrasicolus ponticus*—Potential causes and consequences. *Fisheries Research*, 205: 21-31. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2018.03.015>

Henneke, D. R., Potter, G. D., Kreider, J. L., Yeates, B. F. 1983. Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. *Equine Veterinary Journal*, 15(4): 371-372. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1983.tb01826.x>

- Hettiarachchi, H. A. S. U., Edirisinghe, U. 2017. Captive breeding of *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933 (Longsnout Seahorse) in Sri Lanka under artificial conditions. *Tropical Agricultural Research*, 29(1): 77–89. <http://doi.org/10.4038/tar.v29i1.8299>
- da Hora, M. D. S. C., Joyeux, J. C. 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.2009.03.023>
- Huynh, M. D., Kitts, D. D., Hu, C., Trites, A. W. 2007. Comparison of fatty acid profiles of spawning and non-spawning Pacific herring, *Clupea harengus pallasii*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 146(4): 504-511. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2006.11.023>
- Joblon, M. J., Pokras, M. A., Morse, B., Harry, C. T., Rose, K. S., Sharp, S. M., Moore, M. J. 2014. Body condition scoring system for delphinids based on short-beaked common dolphins (*Delphinus delphis*). *Journal of Marine Animals and their Ecology*, 7:5-13.
- Kamerman, T. Y., Davis, L., Capobianco, J. 2017. Development of a body condition scoring tool for the spotted eagle ray, *Aetobatus narinari*. The Elasmobranch Husbandry Manual II, pp.147.
- Kamnurdnin, T., Senarat, S., Kettratad, J., Pairohakul, S., Jiraungkoorskul, W., Sukswan, R., Sudtongkong, C. 2021. Histopathological observation and health status of the zebra-snout seahorse *Hippocampus barbouri* Jordan & Richardson, 1908 in captivity: <https://doi.org/10.12982/VIS.2021.027>. *Veterinary Integrative Sciences*, 19(3): 305-315.
- Kaushik, S. J., Coves, D., Dutto, G., Blanc, D. 2004. Almost total replacement of fishmeal by plant protein sources in the diet of a marine teleost, the European seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*, 230(1-4): 391-404. [https://doi:10.1016/S0044-8486\(03\)00422-8](https://doi:10.1016/S0044-8486(03)00422-8)
- 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>
- Kongsurakan, P., Chaiyarat, R., Nakbun, S., Thongthip, N., Anuracpreeda, P. 2020. Monitoring body condition score of reintroduced banteng (*Bos javanicus* D'Alton, 1923) into Salakphra Wildlife Sanctuary, Thailand. *Peer Journal*, 8, e9041. <https://doi.org/10.7717/peerj.9041>

- 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>
- Laflamme, D. P. 2012. Companion animals symposium: obesity in dogs and cats: what is wrong with being fat?. *Journal of animal science*, 90(5):1653-1662. <http://doi.org/10.2527/jas.2011-4571>
- Lazaro-Côté, A., Faught, E., Jackson, L. J., Vijayan, M. M. 2021. Wild longnose dace downstream of wastewater treatment plants display an obese phenotype. *Environmental Pollution*, 285: 117363. <http://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117363>
- Lazzarotto, V., Corraze, G., Leprevost, A., Quillet, E., Dupont-Nivet, M., Médale, F. 2015. Three-year breeding cycle of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed a plant-based diet, totally free of marine resources: consequences for reproduction, fatty acid composition and progeny survival. *PloS one*, 10(2): e0117609. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117609>
- Lourie, S. A., Pollom, R. A., Foster, S. J. 2016. A global revision of the seahorses *Hippocampus* Rafinesque 1810 (Actinopterygii: Syngnathiformes): taxonomy and biogeography with recommendations for further research. *Zootaxa*, 4146(1), 1-66. <https://doi.org/10.11646/ZOOTAXA.4146.1.1>
- Lyver, P. O. B., Gunn, A. 2004. Calibration of hunters' impressions with female caribou body condition indices to predict probability of pregnancy. *Arctic*, 233-241. <http://www.jstor.org/stable/40512060>
- Manning, C. G., Foster, S. J., Vincent, A. C. J. 2019. A review of the diets and feeding behaviours of a family of biologically diverse marine fishes (Family Syngnathidae). *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 29(2): 197-221. <https://doi.org/10.1007/s11160-019-09549-z>
- McWilliams, M., Wilson, J. A. 2015. Home range, body condition, and survival of rehabilitated raccoons (*Procyon lotor*) during their first winter. *Journal of Applied Animal Welfare Science*, 18(2): 133-152. <https://doi.org/10.1080/10888705.2014.950733>
- Melo-Valencia, A. F., Ospina-Salazar, G. H., Gómez-León, J., Cortés-Pineda, F. A. 2013. Efecto de la salinidad en la supervivencia y crecimiento de crías de caballito de mar *Hippocampus reidi* Ginsburg en cautiverio. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, 42(1): 193-201.

Mihelakakis, A., Tsoikas, C., Yoshimatsu, T. 2002. Optimization of feeding rate for hatchery-produced juvenile gilthead sea bream *Sparus aurata*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 33(2): 169-175. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2002.tb00491.x>

Moorhead, S. G., Gallagher, A. J., Merly, L., Hammerschlag, N. 2021. Variation of body condition and plasma energy substrates with life stage, sex, and season in wild-sampled nurse sharks *Ginglymostoma cirratum*. *Journal of fish biology*, 98(3): 680-693. <https://doi.org/10.1111/jfb.14612>

Morfeld, K. A., Meehan, C. L., Hogan, J. N., Brown, J. L. 2016. Assessment of body condition in African (*Loxodonta africana*) and Asian (*Elephas maximus*) elephants in North American zoos and management practices associated with high body condition scores. *PloS one*, 11(7): e0155146. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155146>

Neutens, C. 2016. Transforming tails into tools: from evolutionary morphology of prehensile tails in syngnathid fishes to exploring bio-inspiration potentials (Doctoral dissertation, Ghent University).

Novelli, B., Otero-Ferrer, F., Diaz, M., Socorro, J. A., Caballero, M. J., Domínguez, L. M., Moyano, F. J. 2016. Digestive biochemistry as indicator of the nutritional status during early development of the long snouted seahorse (*Hippocampus reidi*). *Aquaculture*, 464, 196-204. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.06.037>

Olivotto, I., Planas, M., Simões, N., Holt, G. J., Avella, M. A., Calado, R. 2011. Advances in breeding and rearing marine ornamentals. *Journal of the World Aquaculture Society*, 42(2), 135-166. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2011.00453.x>

Ojeda-Adame, R. A., Hernández-Hurtado, H., Ramírez-Martínez, M. M., Iñiguez-Davalos, L. I. 2020. A Body Condition Score for Crocodylians. *South American Journal of Herpetology*, 16(1): 10-15. <https://doi.org/10.2994/SAJH-D-18-00074.1>

Palma, J., Andrade, J. P., Bureau, D. P. 2012. Growth, reproductive performances, and brood quality of long snout seahorse, *Hippocampus guttulatus*, fed enriched shrimp diets. *Journal of the World Aquaculture Society*, 43(6): 802-813. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2012.00611.x>

Peacock, S. J., Mavrot, F., Tomaselli, M., Hanke, A., Fenton, H., Nathoo, R., Kutz, S. J. 2020. Linking co-monitoring to co-management: bringing together local, traditional, and

scientific knowledge in a wildlife status assessment framework. *Arctic Science*, 6(3): 247-266. <https://doi.org/10.1139/as-2019-0019>

Planas, M. 2021. Carry-over effects of pre-breeding diets on seahorse (*Hippocampus reidi*) reproductive success. *Aquaculture*, 533, 736148. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736148>

Planas, M., Olivotto, I., González, M. J., 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, M. J., Laurà, R., Angeletti, C., Amici, A., Zarantoniello, M. 2021. 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>

Porter, M. M., Novitskaya, E., Castro-Ceseña, A. B., Meyers, M. A., McKittrick, J. 2013. Highly deformable bones: unusual deformation mechanisms of seahorse armor. *Acta biomaterialia*, 9(6): 6763-6770. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.02.045>

Randazzo, B., Rolla, L., Ofelio, C., Planas, M., Gioacchini, G., Vargas, A., Olivotto, I. 2018. The influence of diet on the early development of two seahorse species (*H. guttulatus* and *H. reidi*): Traditional and innovative approaches. *Aquaculture*, 490: 75-90. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.02.029>

Reamer, L. A., Neal Webb, S. J., Jones, R., Thiele, E., Haller, R. L., Schapiro, S. J., ... & Hanley, P. W. 2020. Validation and utility of a body condition scoring system for chimpanzees (*Pan troglodytes*). *American journal of primatology*, 82(10): e23188. <https://doi.org/10.1002/ajp.23188>

Rhyne, A. L., Tlusty, M. F., Szczebak, J. T., Holmberg, R. J. 2017. Expanding our understanding of the trade in marine aquarium animals. *PeerJ*, 5, e2949. <https://doi.org/10.7717/peerj.2949>

Roh, H., Park, J., Kim, A., Kim, N., Lee, Y., Kim, B. S., Kim, D. H. 2020. Overfeeding-induced obesity could cause potential immuno-physiological disorders in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animals*, 10(9): 1499. <https://doi.org/10.3390/ani10091499>

Roy, L. A., Rawles, S. D., Kelly, A. M., Webster, C. D., Stone, N., Haukenes, A. 2017. Effect of winter feeding frequency on growth, survival, and fatty acid metabolism of juvenile bluegill (*Lepomis macrochirus*) and hybrid bluegill (*L. cyanellus* × *L. macrochirus*). *Aquaculture*, 479: 780-789. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.07.026>

Sánchez-Cardozo, L. M., Ospina-Salazar, G. H., Santos-Acevedo, M., López-Navarro, J., Gómez-León, J. 2014. Efecto de la dieta en el crecimiento y supervivencia de crías de caballito de mar *Hippocampus reidi* en condiciones de laboratorio. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, 43(1): 7-22.

Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW. 2012. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat Methods* 9: 671-675. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>

Schiffmann, C., Clauss, M., Hoby, S., Hatt, J. M. 2020. Weigh and see—Body mass recordings versus body condition scoring in European zoo elephants (*Loxodonta africana* and *Elephas maximus*). *Zoo biology*, 39(2): 97-108. <https://doi.org/10.1002/zoo.21525>

Segade, Á., Robaina, L., Otero-Ferrer, F., García Romero, J., Molina Domínguez, L. 2015. Effects of the diet on seahorse (*Hippocampus hippocampus*) growth, body colour and biochemical composition. *Aquaculture Nutrition*, 21(6): 807-813.

Senarat, S., Sujittosakul, R., Kettratad, J., Pairohakul, S., Kaneko, G., Jiraungkoorskul, W. 2021. Ultrastructure of hepatocyte and liver ontogeny of the Indo-Pacific seahorse *Hippocampus barbouri* Jordan & Richardson 1908. *Journal of Advanced Veterinary Research*, 11(3): 136-140.

Sheng, J., Lin, Q., Chen, Q., Gao, Y., Shen, L., Lu, J. 2006. Effects of food, temperature and light intensity on the feeding behavior of three-spot juvenile seahorses, *Hippocampus trimaculatus* Leach. *Aquaculture*, 256(1-4): 596-607. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2006.02.026](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.02.026)

Wijeyamohan, S., Treiber, K., Schmitt, D., Santiapillai, C. 2015. A visual system for scoring body condition of Asian elephants (*Elephas maximus*). *Zoo Biology*, 34(1): 53-59. <https://doi.org/10.1002/zoo.21181>

Walden, M. A., Jania, R., Kinney, M. E., Devan-Song, A., Drake, K. K., Esque, T. C., Shoemaker, K. T. 2022. Computed tomography for measuring body fat reserves in the

threatened Mojave desert tortoise (*Gopherus agassizii*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 53(2): 412-423. <https://doi.org/10.1638/2020-0168>

Webster, C. D., Tidwell, J. H., Goodgame, L. S., Yancey, D. H. 1994. Effects of fasting on fatty acid composition of muscle, liver, and abdominal fat in channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 25(1): 126-134. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1994.tb00812.x>

Weik, F., Archer, J. A., Morris, S. T., Garrick, D. J., Hickson, R. E. 2020. Relationship between body condition score and pregnancy rates following artificial insemination and subsequent natural mating in beef cows on commercial farms in New Zealand. *NZJ Anim. Sci. Prod.*, 80: 14-20.

Willadino, L., Souza-Santos, L. P., Mélo, R. C., Brito, A. P., Barros, N. C., Araújo-Castro, C. M., 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>

Willard, S. T., Sasser, R. G., Gillespie, J. C., Jaques, J. T., Welsh Jr, T. H., Randel, R. D. 1994. Methods for pregnancy determination and the effects of body condition on pregnancy status in Rocky Mountain elk (*Cervus elephus nelsoni*). *Theriogenology*, 42(7): 1095-1102. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(94\)90857-5](https://doi.org/10.1016/0093-691X(94)90857-5)

Wildman, E. E., Jones, G. M., Wagner, P. E., Boman, R. L., Troutt Jr, H. F., Lesch, T. N. 1982. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. *Journal of Dairy Science*, 65(3), 495-501 [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(82\)82223-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(82)82223-6)

Wolf, J. C., Baumgartner, W. A., Blazer, V. S., Camus, A. C., Engelhardt, J. A., Fournie, J. W., ... & Wolfe, M. J. 2015. Nonlesions, misdiagnoses, missed diagnoses, and other interpretive challenges in fish histopathology studies: a guide for investigators, authors, reviewers, and readers. *Toxicologic Pathology*, 43(3): 297-325. <https://doi.org/10.1177/0192623314540229>

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O gerenciamento eficaz da fauna selvagem, tanto em ambiente natural, quanto controlado, requer informações precisas e oportunas. O monitoramento da saúde das populações, incluindo doenças e condição corporal é fundamental, porém, os métodos científicos convencionais por si só muitas vezes não são suficientes. Assim, a combinação de diferentes abordagens pode fornecer uma compreensão mais holística do que a ciência convencional isoladamente, permitindo preencher lacunas no monitoramento em áreas remotas ou com espécies de difícil acesso. Neste sentido, a metodologia de ECC apresenta-se como uma alternativa de alta praticidade, simplicidade e baixo custo, além de consistir em uma técnica não invasiva, sendo primordial na avaliação do status de saúde da espécie sob cuidados humanos além de, potencialmente, permitir o acompanhamento de espécimes de vida livre, avaliando sua relação com o meio.

Este estudo possibilitou o desenvolvimento de uma metodologia inovadora para a avaliação de reservas corporais em cavalos-marinhos, abordando de forma inédita os padrões de deposição de massa, mecanismos fisiológicos na metabolização de lipídios e indicativos histológicos associados à condição corporal na espécie. É preciso, no entanto, que novos estudos determinem se espécimes selvagens apresentam padrões semelhante de acúmulo de massa corporal, bem como, se os indicativos de status de saúde aqui avaliados, como a reserva hepática e desenvolvimento gonadal, seguem a distribuição da metodologia proposta também no ambiente *in-situ*. Outros ganhos obtidos neste estudo foram a caracterização morfométrica e histológica dos órgãos dos sistemas reprodutores e digestivo em diferentes status de condição corporal, possibilitando que se estabeleçam comparativos entre este e outros estudos relacionados à aspectos nutricionais, reprodutivos e de eficiência no desenvolvimento de protocolos para o gênero *Hippocampus*.

Considerando as atuais tendências de mercado e o alarmante declínio das populações naturais nos últimos anos, é de suma importância para a conservação das espécies de cavalos-marinhos o desenvolvimento de práticas que permitam mensurar a relação dos indivíduos com seu ambiente, seja ele natural ou controlado. Assim, os resultados apresentados neste estudo são capazes de contribuir com pesquisas que visam a manutenção de populações em cativeiro de forma a se promover estudos voltados ao entendimento da espécie, bancos genéticos e educação ambiental, assim como programas de conservação *in situ*.