



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE FISILOGIA



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS (FISIOLOGIA GERAL)

**EFEITOS DA LUZ VISÍVEL NA  
PIGMENTAÇÃO, COMPORTAMENTO  
E EXPRESSÃO GÊNICA DO CAVALO  
MARINHO DO FOCINHO LONGO  
*HIPPOCAMPUS REIDI***

**EFFECTS OF VISIBLE LIGHT ON  
PIGMENTATION, BEHAVIOR, AND  
GENE EXPRESSION OF THE  
LONGSNOUT SEAHORSE  
*HIPPOCAMPUS REIDI***



**José Araújo Souto Neto**

**São Paulo**

**2022**

## ABSTRACT

Light is a strong stimulus for the sensory and endocrine systems. The opsins constitute a large family of proteins that respond to specific light wavelengths. *Hippocampus reidi* is a near-threatened seahorse that has a diverse color pattern and sexual dimorphism. Here, we characterize the chromatophore types and opsin expression in juvenile and adult *H. reidi* and the effects of specific light wavelengths (same irradiance 1.20 mW/cm<sup>2</sup>) on color change, growth, survival, and mRNA levels of seahorses. The xanthophores and melanophores were the major components of *H. reidi* pigmentation with differences in density and distribution between life stages and sex. In the eye and skin of juveniles, the yellow (585 nm) wavelength induced a substantial increase in melanin levels compared to the individuals kept under white light (WL), blue (442 nm), or red (650 nm) wavelengths. In addition, blue and yellow wavelengths led to a higher juvenile mortality rate in comparison to the other treatments. Adult seahorses showed a rhythmic color change over 24 hours, the highest reflectance values were obtained in the light phase, representing a daytime skin lightening for individuals under WL, blue and yellow wavelength, with different acrophases. The yellow wavelength was more effective on juvenile seahorse pigmentation, while the blue wavelength exerted a stronger effect on the regulation of adult physiological color change. Dramatic changes in the opsin mRNA levels were life stage-dependent, which may infer ontogenetic opsin functions throughout seahorses' development. Exposure to specific wavelengths differentially affected the opsins mRNA levels in the skin and eye of juveniles. In the juvenile skin, transcripts of visual (*rh1*, *rh2*, and *lws*) and non-visual opsins (*opn3* and *opn4x*) were higher in individuals under yellow light. While in the juveniles' eyes only *rh1* and *rh2* transcripts increased under the yellow light; the *lws* and *opn3* mRNA levels were higher in juveniles' eyes under WL. The specific wavelengths did not affect the expression of *mitf*, an important gene coding a protein that stimulates melanogenesis in several vertebrate taxa. On the other hand, prolonged exposure to yellow wavelength induced a robust increase in the antioxidant enzymes *sod1* and *sod2* mRNA levels. Our data demonstrate that changes in the visible light spectrum alter physiological processes at different stages of life in *H. reidi* and may serve as the basis for a broader discussion about the implications of light pollution and climate changes, especially for endangered aquatic species.

**KEYWORDS:** Seahorse, Visible light, Opsins, Melanin, Rhythm.

## RESUMO

A luz é um forte estímulo que serve de gatilho para os sistemas sensorial e endócrino. As opsinas constituem uma diversa família de proteínas que respondem de forma específica a diferentes comprimentos de onda da luz. *Hippocampus reidi* é uma espécie de cavalo marinho ameaçada, que apresenta um diverso padrão de coloração e dimorfismo sexual. Neste trabalho, caracterizamos os tipos de cromatóforos e a expressão de opsinas em *H. reidi* juvenis e adultos, bem como o efeito de diferentes comprimentos de onda da luz visível (com mesma irradiância – 1.12 mW/cm<sup>2</sup>) na mudança de cor, crescimento, sobrevivência e expressão gênica dos cavalos marinhos. Xantóforos e melanóforos são os maiores componentes celulares de pigmentação em *H. reidi*, com diferenças na densidade e distribuição entre estágios de vida e sexos. No olho e pele dos juvenis, o comprimento de onda amarelo (585 nm) induziu aumento substancial nos níveis de melanina em comparação com os indivíduos mantidos sob luz branca (WL), ou nos comprimentos de onda azul (442 nm) ou vermelho (650 nm). Adicionalmente, os comprimentos de onda azul e amarelo levaram a uma maior taxa de mortalidade em indivíduos juvenis ao longo do crescimento em comparação aos outros tratamentos. Cavalos marinhos adultos apresentaram uma mudança de cor rítmica ao longo de 24 horas, os valores mais altos de reflectância foram obtidos durante a fase de luz, representando um clareamento diurno para indivíduos sob WL, e comprimentos azul e amarelo, com diferenças na acrofase. O comprimento de onda amarelo foi mais efetivo na pigmentação dos cavalos marinhos juvenis, enquanto o comprimento de onda azul exerceu forte efeito na regulação da mudança de cor fisiológica dos cavalos marinhos adultos. Mudanças dramáticas nos níveis de mRNA das opsinas foram dependentes do estágio de vida, o que pode inferir funções ontogenéticas das opsinas ao longo do desenvolvimento dos cavalos-marinhos. A exposição aos comprimentos de onda alterou os níveis de mRNA na pele e no olho dos juvenis. Na pele, os transcritos das opsinas visuais (*rh1*, *rh2* e *lws*) e não visuais (*opn3* e *opn4x*) foram maiores em indivíduos sob luz amarela. Enquanto no olho dos juvenis, apenas *rh1* e *rh2* tiveram aumento de transcritos pela luz amarela; para *lws* e *opn3* os transcritos foram maiores em juvenis mantidos em WL. Comprimentos de onda não afetaram a expressão de *mitf*, um gene importante cuja proteína estimula a melanogênese em diversos táxons de vertebrados. Já a exposição prolongada ao comprimento amarelo induziu um aumento robusto na expressão das enzimas antioxidantes *sod1* e *sod2*. Nossos dados demonstram que mudanças no espectro de luz visível alteram processos fisiológicos em diferentes fases da vida em *H. reidi* e podem servir de base para uma discussão mais ampla sobre as implicações da poluição luminosa e mudanças climáticas, especialmente para espécies aquáticas ameaçadas de extinção

**PALAVRAS-CHAVE:** Cavalo marinho, Luz visível, Opsinas, Melanina, Ritmo.