



**Variabilidade morfológica do esgana-gata (*Gasterosteus aculeatus* L.) ao longo da sua
área de distribuição global**

Filipa Pais Henriques

Orientadores de Dissertação:

Doutor Carlos Manuel Alexandre

Prof^ª. Doutora Joana Robalo

Professor de Seminário de Dissertação:

Prof.Doutor Emanuel Gonçalves

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de:
Mestre em Biologia Marinha e Conservação

2021

Dissertação de Mestrado realizada sob a orientação do Doutor Carlos Manuel Alexandre e coorientação da Prof^a. Doutora Joana Robalo, apresentada no ISPA – Instituto Universitário para obtenção de grau de Mestre na especialidade de Biologia Marinha e Conservação

Agradecimentos

Gostaria de agradecer ao Doutor Carlos Alexandre, orientador deste trabalho, pela oportunidade de integração e voto de confiança na realização deste projeto. Pela disponibilidade, ensinamentos que me transmitiu e por mesmo nos contratempos que tivemos, sempre positivamente, trazer uma solução.

Agradeço também à Professora Joana Robalo, co-orientadora deste trabalho, a ajuda inicial para o começo deste projeto, pela constante demonstração de disponibilidade, pelo apoio nas dificuldades, esclarecimento de todas as dúvidas no decorrer do projeto e por toda a ajuda na entrega do mesmo.

Ao Professor Emanuel Gonçalves, professor da unidade curricular dissertação e diretor do Mestrado de Biologia Marinha e Conservação, por sempre nos manter focados e tentar guiar da melhor forma no decorrer deste trabalho.

Ao MARE- Centro de Ciências do Mar e do Ambiente e a todas as pessoas com quem tive a honra de colaborar, por serem bastante atentos e preocupados e utilizando toda a experiência que têm tentarem sempre ajudar e encorajar no decorrer do projeto. Em todas as atividades em que pode participar, obrigada por todos os ensinamentos.

Obrigada à Sónia Coelho, pela amizade, por toda a preocupação que teve comigo ao longo deste trabalho e pela ajuda em todas as dificuldades.

À Sara Oliveira agradeço todo o carinho e preocupação que teve comigo e todas as chamadas de força.

Um obrigado também à Filipa Esteves Dias, pela paciência, ajuda e carinho que sempre demonstrou ter por mim no decorrer deste percurso. Obrigada por suportar algumas rabugices de desespero, por todas as vivências e apoio ao longo destes anos.

Um enorme obrigada à Isabel Roseiro, por toda ajuda e disponibilidade incessantes. Obrigada pelo suporte que sempre me deste ao longo desta caminhada. Pela paciência e tempo dispensado a todo o instante. Agradeço toda a força, motivação e confiança que sempre depositaste em mim. Obrigada por me teres mantido calma nos momentos mais desesperantes e por toda a boa

disposição que sempre irradiavas em todos os momentos. Obrigada por me trazeres sempre à realidade das coisas! Sem ti, não teria conseguido. Foste incansável.

Agradeço aos meus pais, eles que foram quem tornaram este percurso possível. Obrigada pelo esforço, pela confiança, pelo apoio e incentivo constantes e pelo exemplo que são. Sem vocês não teria atingido os meus objetivos.

Obrigada ao meu irmão por me trazer sempre palavras de coragem e pela determinação que sempre quis que tivesse para a resolução de todos os problemas ao longo deste trabalho.

Agradeço também a todos os amigos que não menciono aqui mas que sempre se preocuparam e em pequenos gestos me foram dando o conforto e incentivo que eram precisos.

Resumo:

O esgana-gata é uma espécie cuja distribuição global que ocorre ao longo do hemisfério norte. Tornou-se numa excelente espécie modelo para vários estudos por possuir grande variação na utilização de recursos e a nível morfológico dentro das mesmas populações e entre populações. O esgana-gata é uma espécies que evolui rapidamente e por isso é de esperar que as populações destes organismos respondam rapidamente às alterações climáticas. O estudo da sua morfologia poderá ser um fator essencial para a sua conservação no sentido de entender como estas espécies estão a responder às alterações no seus habitats. Analisámos as variações morfológicas de populações de esgana-gata de vários lagos em 4 países distintos, Escócia, Islândia, Canadá e Alasca, que apresentam características ambientais diferentes com o intuito de entender qual o grau de variabilidade morfológica do esgana-gata ao longo da sua área de distribuição e se esta é maior a nível regional (entre países), ou local (entre os lagos). Analisou-se um total de 2763 indivíduos relativamente à forma do corpo e analisaram-se 9 variáveis morfométricas para os mesmos indivíduos. Identificaram-se dois tipos morfológicos pertencentes ao continente americano e ao continente europeu. Encontraram-se mais diferenças relacionadas com a morfometria dos indivíduos do que relacionadas com a sua forma do corpo sobretudo entre países. Em termos de análises entre lagos, dentro de cada país, verificou-se uma grande variabilidade das variáveis complementares e praticamente não se obteve diferenças relativas à forma do corpo. Deste modo, os nossos resultados sugerem que a forma global do corpo de esgana-gata poderá estar a responder de forma mais acentuada a variações de larga escala, ao longo da sua distribuição e menos às características específicas do habitat.

Palavras-chave: *Gasterosteus aculeatus*, Morfologia, Ambiente

Abstract:

Three-spined Stickleback is a species whose global distribution occurs throughout the northern hemisphere. It has become an excellent model species for several studies as it has great variation in resource use and morphology within and between populations. The stickleback is a species that evolves quickly and therefore it is expected that populations of these organisms respond quickly to climate change. The study of their morphology can be an essential factor for their conservation in the sense of how these species are responding to changes in their habitats. We analyzed the morphological variations of stickleback populations from several lakes in 4 different countries, Scotland, Iceland, Canada and Alaska, which have different environmental characteristics in order to sense the degree of morphological variability of the stickleback throughout its distribution area and whether this is the highest regional (among countries) or local (among lakes) level. A total of 2,763 were analyzed regarding body shape and 9 morphometric variables were analyzed for the same individuals. Two morphological types belonging to the American continent and the European continent were identified. More differences were found related to the morphometry of the necessary than related to their body shape, especially between countries. In terms of analyzes between lakes, within each country, there was great variability in the complementary variables and practically no difference was obtained regarding the shape of the body. Thus, our results obtained that an overall shape of the stickleback body may be responding more strongly to large-scale variations, along its distribution and less to the specific characteristics of the habitat.

Key-words: *Gasterosteus aculeatus*, Morphology, Environment

Índice Geral

AGRADECIMENTOS	III
RESUMO	IV
ABSTRACT	V
ÍNDICE DE FIGURAS	VII
ÍNDICE DE TABELAS	VIII
1.INTRODUÇÃO	1
1.1 Ameaças à biodiversidade dos peixes de água doce	1
1.2 Adaptações às alterações climáticas	2
1.3 Adaptações morfológicas das populações em resposta às condições ambientais	3
1.4 História Natural e Evolutiva de <i>Gasterosteus aculeatus</i> L.	5
1.5 O esgana-gata (<i>Gasterosteus aculeatus</i> L.) como espécie modelo	6
1.6 Conservação do esgana-gata	8
1.7 Objetivos do trabalho	9
2.METODOLOGIA	10
2.1 Caracterização das áreas de estudo	10
2.2 Amostragem	11
2.3 Tratamento e análise de dados	12
3.RESULTADOS	16
4.DISCUSSÃO	27
5.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
6.ANEXOS	36

Índice de Figuras

Figura 1. Mapas global com a indicação da área de amostragem dos lagos de cada país.

Figura 2. Mapa dos lagos amostrados na Escócia.

Figura 3. Mapa dos lagos amostrados na Islândia.

Figura 4. Mapas dos lagos amostrados no Canadá.

Figura 5. Mapas dos lagos amostrados no Alasca.

Figura 6. Pontos de referência usados nas análises da forma corporal.

Figura 7. Medições de algumas variáveis morfométricas.

Figura 8. Box-plot com os valores do tamanho do centróide obtidos para o esgana-gata para cada país em que foram amostrados.

Figura 9. Análise de PCA com representação dos dois primeiros eixos para a forma do corpo de 2763 indivíduos de esgana-gata entre cada país, Alasca, Canadá, Islândia e Escócia.

Figura 10. Box-plot com os valores do comprimento total obtidos para o esgana-gata para cada país em que foram amostrados.

Figura 11. Análise PCA com representação dos dois primeiros eixos para 10 variáveis morfométricas de esgana-gata padronizadas pelo comprimento total.

Índice de Tabelas

Tabela I. Variáveis utilizadas para as análises morfométricas com o respetivo acrónimo.

Tabela II. Tabela de variação interquartil relativamente ao tamanho do centróide dos indivíduos por país.

Tabela III. Resultados da PERMANOVA realizada para testar a variação da forma do corpo de indivíduos de esgana-gata.

Tabela IV. Tabela de variação interquartil relativamente ao comprimento total dos indivíduos por país.

Tabela V. Resultados da PERMANOVA realizada para testar a variação morfométrica de indivíduos de esgana-gata.

Tabela VI. Resultados da análise SIMPER, do software PRIMER 6.0, entre os esgana-gata da Escócia e a Islândia, relativamente às suas características morfológicas suplementares.

Tabela VII. Resultados da análise SIMPER, do software PRIMER 6.0, entre os esgana-gata da Escócia e o Canadá, relativamente às suas características morfológicas suplementares.

Tabela VIII. Resultados da análise SIMPER, do software PRIMER 6.0, entre os esgana-gata da Islândia e Canadá, relativamente às suas características morfológicas suplementares.

Tabela IX. Resultados da análise SIMPER, do software PRIMER 6.0, entre os esgana-gata da Escócia e o Alasca, relativamente às suas características morfológicas suplementares.

Tabela X. Resultados da análise SIMPER, do software PRIMER 6.0, entre os esgana-gata da Islândia e o Alasca, relativamente às suas características morfológicas suplementares.

Tabela XI. Resultados da análise SIMPER, do software PRIMER 6.0, entre os esgana-gata da Canadá e Alasca, relativamente às suas características morfológicas suplementares.

1.Introdução

1.1 Ameaças à biodiversidade dos peixes de água doce

A manutenção da diversidade de peixes é fulcral na proteção do meio ambiente. Neste âmbito, é necessário perceber a distribuição destas espécies, que está relacionada com fatores ambientais que modificam a ecologia dos rios (Shi *et al.*, 2020).

Os ecossistemas de água doce são os que albergam a maior diversidade e dinâmica terrestre e onde as perdas da biodiversidade são mais notáveis (Collares-Pereira *et al.*, 2021). Os peixes de água doce encontram-se em dois tipos de ecossistemas aquáticos, os rios e os lagos. Apesar de os lagos albergarem cerca de 98% da quantidade de água doce líquida existente no planeta, são os rios os ecossistemas que apresentam uma maior diversidade de espécies piscícolas (Collares - Pereira *et al.*, 2021). A diminuição da biodiversidade nestes locais é assim uma das alterações mais dramáticas e de mais difícil reversão. Este sistema contém uma grande variedade de condições instáveis que, relacionadas com o isolamento geográfico das bacias hidrográficas, propiciam a formação de novas espécies. Assim, este é o sistema mais indicado para entender o que estimula as alterações globais da biodiversidade (Collares - Pereira *et al.*, 2021; Rolls *et al.*, 2018; Tickner *et al.*, 2020).

A ação humana no meio ambiente é determinante para o funcionamento dos ecossistemas fluviais e estrutura das suas redes tróficas. Fatores ambientais como o gradiente dos rios, fluxo, temperatura, substrato e regime hidrológico são os aspetos que mais comprometem os habitats de água doce e consequentemente as comunidades que nele habitam (Jarić *et al.*, 2019; Rolls *et al.*, 2018). Estes fatores estão inteiramente relacionados com os impactos por via antropogénica que induzem maior parte das alterações ambientais nos ecossistemas. temperatura (Shi *et al.*, 2020; Sługocki *et al.*, 2018; Tickner *et al.*, 2020).

Atualmente, verifica-se que a taxa de perda de áreas húmidas é três vezes superior às perdas florestais e as espécies de vertebrados de água doce registam perdas duas vezes superiores à taxa de vertebrados terrestres e oceânicos (Tickner *et al.*, 2020).

As ameaças com maior impacto para estes peixes são a sobrepesca, a alteração e destruição de habitats, a poluição das águas e a introdução de espécies exóticas (Collares-Pereira *et al.*, 2021). Adicionalmente a estas ameaças, as alterações climáticas são o fator que cada vez mais influencia a distribuição e modificação das características das comunidades de peixes dulciaquícolas, levando inclusive à extinção de muitas populações (Jarić *et al.*, 2019; Collares-Pereira *et al.*, 2021). Assim, é fulcral a identificação de espécies que têm uma maior propensão

a serem afetadas por estas alterações e perceber também quais as que comportam com uma maior resiliência a fim de se poder ainda gerir e conservar algumas comunidades (Jarić *et al.*, 2019).

1.2 Adaptações às alterações climáticas

As alterações climáticas são atualmente a maior ameaça à diversidade biológica afetando a estrutura e função dos ecossistemas. As mudanças climáticas tendem a aumentar nos trópicos enquanto as espécies que habitam em latitudes mais altas tendem a apresentar uma maior tolerância fisiológica à temperatura (Comte & Olden, 2017). A magnitude e velocidade a que estas alterações se estão a suceder é responsável pela diminuição acentuada das populações de organismos de água doce (Comte & Olden, 2017; Olusanya & Jong, 2018).

Estas mudanças climáticas que estão a acontecer a nível global, que são em grande parte promovidas pela ação humana (Vila *et al.*, 2017), vão ter influência de forma direta e indireta no decorrer do processo evolutivo e na dinâmica populacional e ecológica das populações naturais (Barrett *et al.*, 2011; Roches *et al.*, 2020). Estas alterações resultam no aumento das emissões de gases efeito de estufa, no aumento das temperaturas do ar e da água, nas mudanças dos regimes de precipitação, no aumento da periodicidade de eventos extremos de seca e de cheias (Barrett *et al.*, 2011; Collares-Pereira *et al.*, 2021) que diretamente poderão provocar mudanças nas condições abióticas do meio e de um modo indireto levarão a mudanças dos habitats (Roches *et al.*, 2020) interferindo de forma negativa na persistência das populações, especialmente das espécies piscícolas (Barrett *et al.*, 2011; Collares-Pereira *et al.*, 2021).

Nos ecossistemas de água doce, em maior grau nas regiões temperadas, os fenómenos que têm mais impacto são o aumento das temperaturas das águas, as modificações nos regimes de precipitação e as taxas de fluxo (Olusanya & Jong, 2018).

Alterações nas concentrações de dióxido de carbono que advêm de 1750, devido ao início da revolução industrial, estima-se que possam levar a um aumento de temperaturas de 1,4°C até 4,3 ° C a mais do que a temperatura da época pré-industrial (Ramanathan & Feng, 2008). Este aumento faz-nos crer que para as populações de peixes nativas de lagos e que não têm a capacidade de migrar para locais mais a norte, ser-lhes-á exigido, para a sua sobrevivência, respostas evolutivas bastante intensas de modo a que consigam adaptar-se às alterações climáticas (Barrett *et al.*, 2011). No entanto, nos últimos anos as temperaturas dos oceanos no hemisfério norte têm sido mais elevadas do que as temperaturas oceânicas do hemisfério sul (Gupta *et al.*, 2015). A existência de padrões diferentes de alterações no oceano a nível de cada

região, podem provocar *feedbacks* diferentes dos organismos expostos a efeitos causadores de vários tipos de agentes stress (Boyd *et al.*, 2014).

Deste modo, torna-se muito importante percebermos o equilíbrio dos nichos ambientais das espécies, seja a nível fisiológico, seja por limitações das interações bióticas e de dispersão essenciais para avaliar as respostas das espécies às alterações climáticas (Pellissier *et al.*, 2013). Apenas através da avaliação de fatores, como as modificações existentes entre as populações de uma determinada espécie que se encontram em locais geograficamente separados, e mesmo populações de espécies que ocuparam recentemente este tipo de locais separados geograficamente, se consegue dados acerca das alterações dos nichos da espécie (Pellissier *et al.*, 2013).

Em resposta à variabilidade natural e de origem antropogénica, os peixes alteram assim componentes da sua biologia, ecologia e morfologia com o intuito de se adaptarem às características dos locais onde habitam (Olusanya & Jong, 2018). As principais variáveis físicas, químicas e biológicas dentro de um lago podem atuar como indicadores que refletem os efeitos dessas mudanças climáticas (Comte & Olden, 2017).

1.3 Adaptações morfológicas das populações em resposta às condições ambientais

A morfologia de um organismo pode ser um fator essencial que determina o papel funcional desse indivíduo no ecossistema. (Jacquemin & Pyron, 2016). Muitas espécies de peixes revelam uma grande variabilidade intraespecífica a nível morfológico, estimulada por uma relação entre fatores genéticos e plasticidade fenotípica que dependem de características específicas dos indivíduos e dos diversos ambientes. Algumas dessas características estão relacionadas com a profundidade, química das águas, tipo de substrato, risco de predação e tipo de habitat (Webster *et al.*, 2011). Estas pressões de seleção que existem nos diversos habitats, propiciam a especificidade de algumas características que conduzem a vários níveis de adaptação, uma vez que as características ótimas de um local não correspondem às mesmas em outro (Webster *et al.*, 2011). Divergências tanto morfológicas como fisiológicas, a nível da história de vida e comportamento, são observadas dentro das populações da mesma espécie e mesmo a nível de sexos dentro de cada população, proporcionando eficácia de exploração dos recursos criando benefícios competitivos que lhes conferem uma melhor aptidão (Kristjánsson., 2005; Webster *et al.*, 2011).

Organismos ectotérmicos, como é o caso dos peixes, são extremamente vulneráveis à temperatura e tendem a ter repercussões fisiológicas debilitantes com alterações da mesma.

Estas alterações podem fazer com estes organismos diminuam substancialmente a ingestão de alimentos e sejam menos eficazes na sua conversão e conseqüentemente que sofram alterações no seu desenvolvimento e crescimento. Estas mudanças podem traduzir-se na exibição de corpos de menores dimensões, modificações comportamentais e alterações morfológicas (Baudron *et al.*, 2014; Kinne, n.d.; Morgan *et al.*, 2001; Salin *et al.*, 2016).

A variação do tamanho corporal de um indivíduo é expectável uma vez que a utilização de recursos em peixes, geralmente, tende a mudar durante o desenvolvimento para o estado adulto. Estas alterações morfológicas e da dimensão corporal estão frequentemente relacionadas com a seleção de presas, competição, escolha de habitat e dinâmicas presa-predador (Jacquemin & Pyron, 2016). A diminuição nos níveis de oxigénio pode também estar na base das respostas ectotérmicas temperatura-tamanho. Uma vez que uma menor disponibilidade de oxigénio requer um maior esforço para aumentar a sua absorção (Forster *et al.*, 2012). Alterações a nível de precipitação também levarão a mudanças nos padrões de fluxo sazonal, afetando negativamente os estágios de vida destes animais, a sua fenologia, dinâmica da população e sucesso reprodutivo (Olusanya & Jong., 2018).

Interferências bióticas podem originar um aumento circunstancial no tamanho das populações de espécies invasores e distribuição das mesmas, alterações na taxa de competição e predação e um acréscimo de risco de doenças e ocorrência de parasitas (Olusanya & Jong., 2018). Neste caso, os peixes de água doce reagem a estas interferências através de alterações evolutivas, de ordem espacial, mudanças de distribuição, alterações demográficas e alterações no tempo de migração sazonal e no tempo da desova (Olusanya & Jong., 2018).

Novos recursos, novos competidores e diferentes regimes de predação são agentes de seleção natural que podem resultar em novos fenótipos. A resposta evolutiva e fenotípica a estes novos regimes e condições do ambiente dependem da diversidade e fluxo genético e da capacidade evolutiva das mesmas características (Taugbøl *et al.*, 2020). Nos organismos aquáticos a passagem de habitats marinhos para habitats de água doce são uma alteração nas forças seletivas tanto bióticas como abióticas e existem poucas espécies capazes de se manterem nestes dois ambientes. Assim sendo, é muito importante perceber de que forma se processam os processos morfológicos nestas mudanças aos próprios ambientes, comparando as populações da mesma espécie que se integram tanto em ambientes marinhos como de água doce (Taugbøl *et al.*, 2020). Contudo, os impactos destas alterações climáticas e muitos dos impactos antropogénicos impedem os peixes de responderem eficazmente e com a rapidez necessária as estas mudanças ambientais (Olusanya & Jong., 2018).

1.4 História Natural e Evolutiva de *Gasterosteus aculeatus* L.

A seleção natural leva a que as populações criem adaptações tendo em conta as condições do ambiente em que coexistem. Essas transformações levam a que exista uma marcante variação fenotípica nos organismos. No ramo da ciência, estas evoluções nas espécies conferem-lhes o estatuto de excelentes modelos biológicos e o seu estudo ajuda a que possamos ter um melhor conhecimento dos mecanismos ecológicos inerentes às alterações evolutivas e adaptativas (Spence *et al.*, 2013).

O *Gasterosteus aculeatus* L. 1758, de nome comum esgana-gata, é um peixe teleósteo de pequeno porte, entre 3-8 cm de comprimento, de formato alongado e boca terminal (Page & Burr, 2011; Collares-Pereira *et al.*, 2021), pertencente à classe Actinopterygii, à ordem Gasterosteiformes e à família Gasterosteidae (Cabral *et al.*, 2005). Este peixe é um carnívoro generalista que vive em média cerca de 1 a 3 anos, podendo em situações específicas chegar aos 6 anos consoante a sua localização geográfica e o tipo de ambiente em que se encontra (Arai *et al.*, 2020; Collares-Pereira *et al.*, 2021). Indivíduos desta espécie atingem o seu comprimento máximo de 18 cm, dependendo do seu ambiente (Collares-Pereira *et al.*, 2021). Populações de água doce tendencialmente são de menores dimensões do que populações marinhas ou anádromas (Page & Burr., 2011).

Na última glaciação, há cerca de doze mil anos, o esgana-gata de habitats marinhos começou a recolonizar rios e lagos em áreas costeiras (Arai *et al.*, 2020; Galloway *et al.*, 2020) no hemisfério norte, estabelecendo populações residentes que em muitos casos se diferenciaram fenotipicamente e geneticamente dos ancestrais oceânicos (Jenck *et al.*, 2020). Esta espécie moldou-se às características ambientais deste novo local pois, contrariamente aos ambientes marinhos, as águas interiores estão expostas a um maior isolamento e fragmentação (Jörn *et al.*, 2016). Neste sentido, os indivíduos das populações que migraram para estes locais tiveram de se ajustar à dieta, pressão da predação, faixa de migração, temperatura e química da água deste novo habitat. Assim, é importante perceber que as modificações nos indivíduos vão depender dos diferentes modos como a água se comporta nos diversos locais, desde águas mais estagnadas em lagos, a águas mais correntes nos rios (Jörn *et al.*, 2016). Esta repentina ocupação e adaptação a ambientes de água doce e a mudança constante para outros habitats, permitem a percepção dos vários agentes de seleção presentes na natureza que propiciam a evolução paralela desta espécie, o que corresponde ao início de um mecanismo que leva à diversificação fenotípica de várias populações relacionadas, mas que têm uma evolução independente, no entanto, utilizam os mesmos caminhos genéticos a fim de conseguirem a solução adaptativa

partilhada para os desafios ambientais (Smith *et al.*, 2020; Garcia-Elfring *et al.*, 2021; Jenck *et al.*, 2020; Kristjánsson., 2005). Em vertebrados, torna-se importante fazer estudos em evolução paralela pois pode permitir um melhor entendimento de mecanismos genéticos que podem estar por detrás desta adaptação em água doce (Garcia-Elfring *et al.*, 2021). Num reduzido espaço de tempo, sucederam-se assim, modificações morfológicas, fisiológicas e comportamentais (Jörn *et al.*, 2016; Spence *et al.*, 2013) que lhe concederam uma ampla distribuição, a capacidade de tolerar grandes variações ambientais e variabilidade fenotípica, tornando esta espécie num excelente modelo para avaliar a evolução adaptativa (Smith *et al.*, 2020).

Tendo em conta alguns estudos remetentes ao avanço das tecnologias de análise de DNA e ao sequenciamento do genoma completo da espécie-alvo deste estudo, começou-se a ter um maior leque de bases genómicas associadas a essas modificações (Fang *et al.*, 2018). Assim sendo, estudos em populações asiáticas, norte-americanas e europeias de esgana-gata identificaram duas clades fulcrais. Populações europeias, norte-americanas e populações japonesas que se dividem em dois ramos, a clade da bacia do Atlântico, do qual fazem parte as populações do leste da América do Norte e da Europa e a clade da bacia do Pacífico, que inclui as populações do oeste da América do Norte e populações do Japão (Hammerson., 2021).

As populações atuais advêm do Oceano Pacífico no Pleistoceno superior sendo que as populações do Atlântico foram povoadas através do Oceano Ártico por populações que ascenderam do Oceano Pacífico (Fang *et al.*, 2018).

As populações presentes no Atlântico estão organizadas em dois grupos diversamente distribuídos, a porção mediterrânica, composta pelas populações que vão desde a Península Ibérica ao Mar Negro, designado clade do Sul da Europa e outro grupo em que fazem parte as populações do Norte da Europa e da Costa Leste da América do Norte, a clade transatlântica (Fang *et al.*, 2018).

1.5 O esgana-gata (*Gasterosteus aculeatus* L.) como espécie modelo

O esgana-gata (*Gasterosteus aculeatus* L.) tornou-se numa excelente espécie-modelo para estudos de várias índoles desde a biologia de desenvolvimento à genética, passando pela fisiologia animal e a evolução uma vez que é uma espécie amplamente distribuída por todo o hemisfério norte, por possuir uma elevada diversidade morfológica, genética e comportamental e uma enorme plasticidade fenotípica (Alexandre & Almeida, 2009; Clavero *et al.*, 2009; Fang *et al.*, 2018). Este peixe ocorre em todos os países da União Europeia e sobrevive e reproduz-se

em dois habitats distintos: em água do mar e água doce (forma residente) (Katsiadaki *et al.*, 2002).

O esgana-gata tem três formas ecológicas principais que já foram distinguidas, sendo que dois tipos são oceânicos. Tem um ecótipo apenas marinho que se mantém durante todo o seu ciclo de vida em habitats marinhos, um ecótipo anádromo, que migra em juvenil do ecossistema dulciaquícola para o mar e em adulto volta para água doce para reproduzir, e um ecótipo exclusivamente de água doce que permanece, durante todo o seu ciclo de vida, em ambientes dulciaquícolas, em rios e lagos (Ahnelt, 2018; Collares-Pereira *et al.*, 2021). O esgana-gata é um caso raro em que uma forma marinha ancestral coabita com duas formas originárias nos últimos milhões de anos e em que o estado ancestral é, atualmente, um esgana-gata oceânico (Ahnelt., 2018; Baker *et al.*, 2015). Para além desta separação em três formas, o esgana-gata, desenvolveu fenótipos diferentes ao longo de gradientes ecológicos que levaram a ecótipos discretos. Assim sendo, alguns fenótipos desta espécie separaram-se em populações simpátricas, como foi o caso das populações de água doce que podem habitar nos lagos tanto em zona pelágica como em zonas bentónicas. Estas populações apresentam assim dois ecótipos distintos, um limnético e outro bentónico (Ahnelt., 2018). Estas duas formas ocorrem frequentemente em muitos lagos do Canadá e Alasca.

O esgana-gata é um peixe com uma grande capacidade adaptação a diferentes ambientes e, deste modo, poderão ser introduzidos eficazmente em vários locais. Esta espécie apresenta também uma grande diversidade de comportamentos reprodutivos, salientando-se o seu ciclo de vida simples e rápido, baixa fecundidade e uma grande sobrevivência dos seus ovos (Katsiadaki *et al.*, 2002).

O esgana-gata, para além de ser um excelente biomarcador é de igual forma um bom sistema modelo para a explicação dos mecanismos associados à variação dos comportamentos e alterações fisiológicas associadas à migração. Possui uma enorme diversidade inter-populacional relacionada com os padrões de migração e é facilmente moldável a uma elevada variedade de condições ambientais (Arai *et al.*, 2020; Kitano *et al.*, 2012). Associado a estes factos, atualmente estão disponíveis vários instrumentos de ordem genética e genómica que ajudam ao estudo desta espécie (Kitano *et al.*, 2012).

O esgana-gata é assim um excelente generalista ecológico que existe numa grande diversidade de habitats, desde ambientes marinhos, na maioria costeiros, a ambientes salobros e dulciaquícolas ocorrendo ao longo do hemisfério norte temperado. Este peixe demonstra uma enorme variação na utilização de recursos e a nível morfológico dentro das mesmas populações e entre populações (Collares-Pereira *et al.*, 2021; Webster *et al.*, 2011). Dependendo do habitat

onde se encontra, desenvolveu várias diferenças morfológicas principalmente a nível do número das placas ósseas laterais, característica mendeliana que dá resposta de forma mais eficaz à seleção tendo em conta o habitat, podendo originar populações mais ou menos isoladas, e várias mudanças a condições mais lênticas ou lóticicas (Roches *et al.*, 2020; Collares-Pereira *et al.*, 2021).

Foram desenvolvidos estudos que demonstram que as populações de esgana-gata existentes em alguns estuários da Califórnia estão a evoluir no sentido de terem menos placas laterais à medida que os habitats em que se encontram se tornam semelhantes a lagoas, com um clima mais quente e seco. Assim, estas populações estão a convergir com populações que anteriormente exibiam menos placas, como as populações típicas do sul da Califórnia. Águas mais paradas tendem geralmente a possuir vegetação e outras características estruturais que aumentam a necessidade de mobilidade dos indivíduos e diminuem a necessidade de proteção. As placas laterais fornecem proteção, no entanto, o seu desenvolvimento está associado a um elevado gasto de energia e pode dificultar a mobilidade dos indivíduos. Assim, é de esperar que as populações de esgana-gata nestes habitats estejam a evoluir no sentido da perda de placas laterais (Roches *et al.*, 2020).

1.6. Conservação do esgana-gata

O esgana-gata, como referido anteriormente, tem uma enorme relevância científica e compreende várias características para estudos a várias escalas, desde a biologia à ecologia sendo muito importante para a estabilidade dos ecossistemas aquáticos enquanto espécie nativa (Clavero *et al.*, 2009). No entanto, tem baixo valor económico e o facto de ainda não existirem conhecimentos profundos sobre o seu habitat preferencial e a sua ecologia, faz com que esta espécie não tenha medidas concretas implementadas para a conservação das suas populações e cada vez mais tenha perdas significativas essencialmente das populações que existem nos limites das suas áreas de distribuição, sobretudo no sul da Europa (Clavero *et al.*, 2009).

Atualmente, devido ao grande declínio da espécie na maioria da área de distribuição, as populações europeias de esgana-gata encontram-se com registo em maior parte das listas vermelhas das regiões onde a espécie existe, estando em Portugal e Espanha classificado como “Em Perigo” e segundo os critérios da IUCN tem estatuto de “Pouco Preocupante”. No entanto, esta espécie é muito sensível à poluição bem como à presença de espécies exóticas e a mudanças no próprio habitat, como a existência de barreiras físicas ou a captação de água em tempos mais secos, são fatores de ameaça para a sua sobrevivência (Clavero *et al.*, 2009; Collares-Pereira *et*

al., 2021; Vila *et al.*, 2017). Por outro lado, o esgana-gata é uma espécie evoluiu rapidamente e por isso é de esperar que as populações destes organismos respondam rapidamente às alterações climáticas. Num estudo desenvolvido no Alasca, Roches *et al.*, 2012 demonstrou que o esgana-gata evoluiu de uma morfologia típica de peixe marinho para uma morfologia de peixe de água doce em menos de dez gerações (Roches *et al.*, 2020). Se por um lado esta elevada capacidade de evolução perante as alterações ambientais é benéfica, por outro lado a predominância de um tipo morfológico numa população, como a perda de placas laterais, pode levar à extinção desses mesmos alelos na população. Esta perda de diversidade genética pode no futuro vir a limitar a capacidade de adaptação dessas populações e consequentemente tornar estes indivíduos mais vulneráveis à extinção (Roches *et al.*, 2020).

Tendo em conta todos os fatores anteriormente mencionados, é cada vez mais importante que as espécies tenham a habilidade de se ajustarem e adaptarem a estas instabilidades do meio, que se estão cada vez mais a agravar com as alterações climáticas (Barrett *et al.*, 2011).

1.7 Objetivos do trabalho

Considerando os pressupostos descritos anteriormente, o presente trabalho tem como principais objetivos: 1) Caracterizar a morfologia da espécie-alvo ao longo da maioria da sua área de distribuição, sobretudo nos países a norte; 2) Comparar a morfologia da espécie ao longo de um gradiente latitudinal e longitudinal de ocorrência, comparando populações entre países e entre lagos do mesmo país; 3) Identificar características específicas destas populações.

Com os objetivos que foram delineados para este trabalho pretende-se responder à seguinte questão científica: Qual o grau de variabilidade morfológica do esgana-gata ao longo da sua área de distribuição, e se a mesma é superior a nível regional (entre países) ou a nível local (lagos dentro do mesmo país).

2. Metodologia

No âmbito desta tese de mestrado estava prevista a realização de amostragens direcionadas às populações nacionais de *G. aculeatus* que, correspondendo ao limite sul da distribuição desta espécie, seriam posteriormente comparadas com dados provenientes de outras populações da espécie localizadas ao longo da sua distribuição global. Devido aos constrangimentos impostos pela pandemia de COVID-19, as amostragens previstas para Portugal Continental não puderam ser realizadas dentro do período previsto, pelo que os resultados apresentados, e as conclusões que deles advêm, baseiam-se apenas em dados e imagens recolhidos previamente por investigadores dos países analisados, que gentilmente os cederam para a sua análise e tratamento no âmbito deste estudo.

De seguida, apresenta-se uma breve descrição dos locais e metodologias de amostragem englobados no trabalho apresentado.

2.1 Caracterização das áreas de estudo

Foram realizadas amostragens de esgana-gata em vários lagos de água doce em quatro países, que divergem entre si latitudinal e longitudinalmente. O mapa global dos lagos nos países amostrados é visível através da Figura 1. Os lagos amostrados situam-se na Escócia, Islândia, Canadá e Alasca (Figuras 2 a 5) (“Google earth V6.2.2.6613.,” n.d.). No Anexo II está apresentada uma tabela com o nome completo dos lagos amostrados e o número de indivíduos de esgana-gata pertencentes a cada um deles utilizados neste trabalho.



Figura 1. Mapa global com a indicação da área de amostragem dos lagos de cada país.



Figura 2. Mapa dos lagos amostrados na Escócia (#20 lagos). Em texto branco estão as abreviações dos nomes dos locais de amostragem (adaptado de (“Google earth V6.2.2.6613,,” n.d.)).

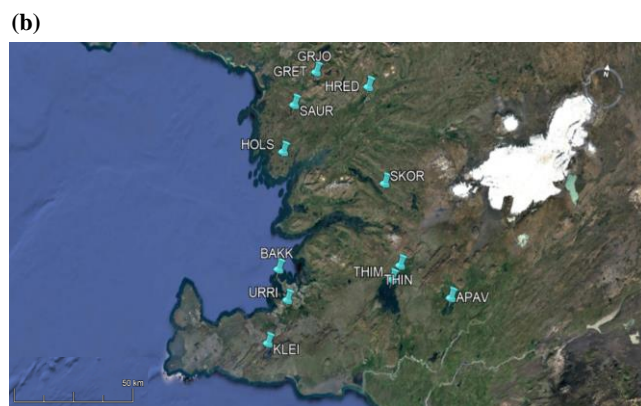
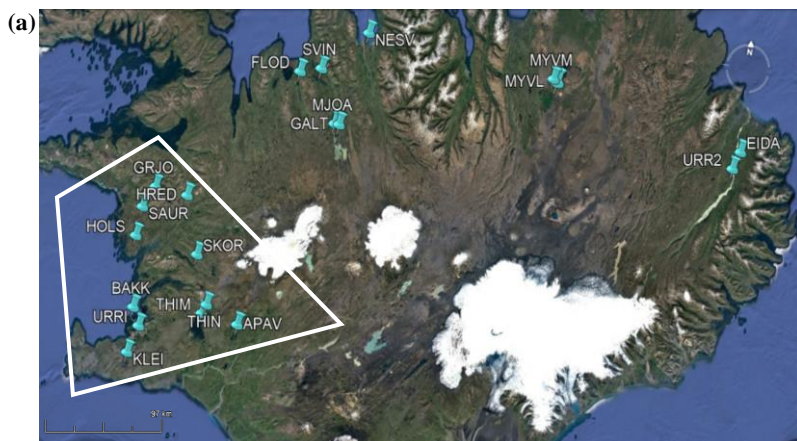


Figura 3. Mapas de alguns lagos amostrados no Islândia (#21 lagos), os restantes 8 lagos estão apresentados a negrito no Anexo I. Em texto branco estão as abreviações dos nomes dos locais de amostragem. **(a)** Mapa global onde se visualizam nove lagos amostrados sem terem delineamento a branco. **(b)** Ampliação da região que se encontra delineada a branco na figura (a) com os restantes lagos amostrados (adaptado de (“Google earth V6.2.2.6613,,” n.d.)).

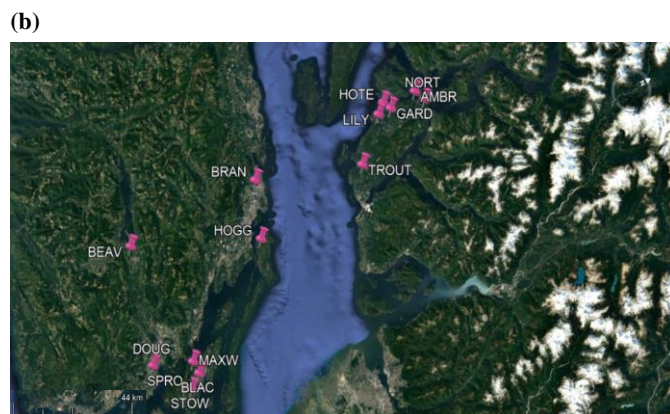
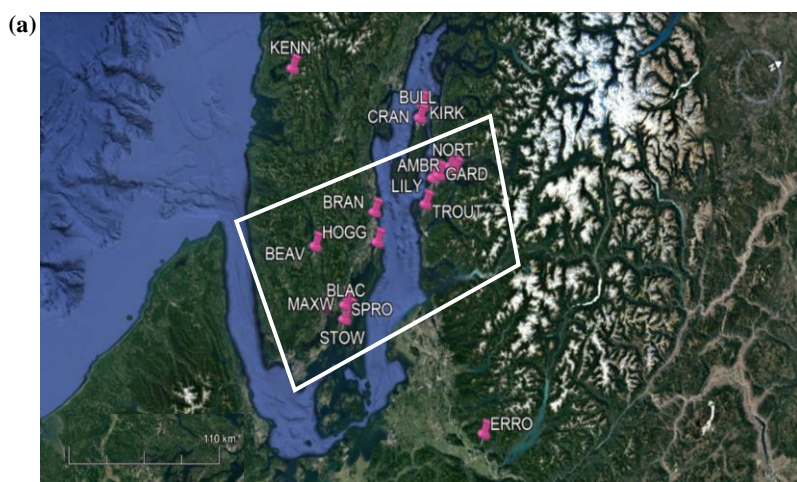


Figura 4. Mapas dos lagos amostrados no Canadá (#19 lagos). Em texto branco estão as abreviações dos nomes dos locais de amostragem. **(a)** Mapa global onde se visualizam cinco lagos amostrados sem terem delineamento a branco. **(b)** Ampliação da região que se encontra delineada a branco na figura (a) com restantes lagos amostrados (adaptado de (“Google earth V6.2.2.6613,,” n.d.)).



Figura 5. Mapas dos lagos amostrados no Alasca (#21 lagos). Em texto branco estão as abreviações dos nomes dos locais de amostragem. **(a)** Mapa global onde se visualizam 9 lagos amostrados sem terem delineamento a branco. **(b)** Ampliação da região que se encontra delineada a branco na figura (a) com os restantes lagos amostrados (adaptado de (“Google earth V6.2.2.6613.,” n.d.)).

2.2. Amostragem

As amostragens nos lagos realizaram-se na época reprodutora da entre os meses de abril a junho de 2013 a 2015. Os esgana-gata foram através de armadilhas de peixes não iscadas. Estas armadilhas foram colocadas durante 24 horas a uma profundidade de 0,3 a 3m em cada lago a uma distância de cerca de 400 m da costa cobrindo uma área de cerca de 5 a 25% de cada lago (Magalhaes *et al.*, 2016). Após as 24 horas de operação das armadilhas contabilizaram-se os indivíduos de esgana-gata que continha cada armadilha e foram selecionados, ao acaso, cerca de 35 peixes, por lago, para processamento (Magalhaes *et al.*, 2016). Estes peixes selecionados foram mortos com uma dose letal de anestésico (MS-222) e seguidamente procedeu-se à sua pesagem. Para cada exemplar selecionado foi registada uma foto do lado esquerdo do peixe, com uma escala para que posteriormente se pudessem realizar várias medições e análises geométricas e morfométricas relativas à forma do corpo (Magalhaes *et al.*, 2016).

2.3. Tratamento e análise de dados

Tratamento dos dados

Foi analisada uma matriz que continha 3599 indivíduos de esgana-gata com um código correspondente a cada indivíduo de cada lago na qual estava registada uma variável morfométrica correspondente ao número de placas de armadura (NP) e outras informações como peso e sexo que tinham sido retiradas durante o processamento. Não existia nesta matriz nenhuma informação relativa à forma do corpo. A matriz inicial teve de sofrer alguns ajustes

como a remoção do fator sexo uma vez que existiam várias lacunas de informação para esta variável.

Foram disponibilizadas fotografias do lado esquerdo dos indivíduos, no entanto, no decorrer da análise destas imagens observou-se a ausência de fotografias ou a existência de fotografias inadequadas que se pudessem utilizar na realização de todas as análises e medições pretendidas para alguns indivíduos. Deste modo, foi necessário retirar estes indivíduos para que fosse possível obter-se matrizes, tanto para a forma do corpo, como para as variáveis morfométricas, uniformizadas para todos os peixes analisados.

Apesar de todas as falhas apresentadas na matriz inicial e nas fotografias disponibilizadas foi possível elaborar análises para um total de 2763 indivíduos.

Análise da forma do corpo

Para quantificar a variação da forma do corpo entre os indivíduos capturados nos vários lagos e países amostrados, marcou-se, através do pacote de software TPSUntil e TPSDig e com a utilização de uma fotografia do lado esquerdo de cada peixe, 13 pontos de referência homólogos (*landmarks*) (Figura 6) para cada um dos 2763 indivíduos.

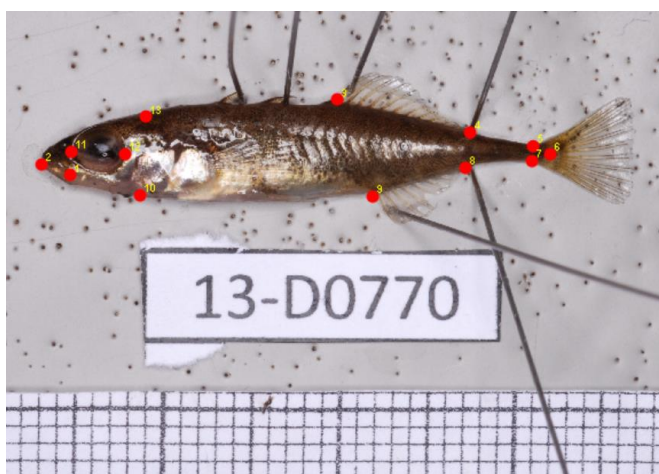


Figura 6. Pontos de referência usados nas análises da forma corporal (13 pontos de referência).

Seguidamente, com a ajuda do software TPSRelw, realizou-se uma análise generalizada de Procrustes. Esta análise centraliza cada amostra num único centróide comum, dimensionando cada amostra num tamanho de unidade comum e divide cada configuração total pelo tamanho do centróide, finalizando com uma orientação comum por amostra que diminui as diferenças entre os pontos de referência correspondentes (Alexandre *et al*, 2014). No TPSRelw também foi estimado um “consenso” (forma composta da média das coordenadas para cada peixe

analisado), extraíram-se também os *Partial warps* (variáveis adimensionais, que caracterizam a forma do corpo de cada espécime), 22 por cada indivíduo, assim como o respetivo tamanho do centróide. Os *Partial warps* correspondem aos parâmetros de forma mínimos necessários para deformar o “consenso” e contém também informações relativas à forma do corpo destes peixes.

Para representar visualmente a distribuição e segregação dos peixes analisados, para os vários países e lagos, em termos da sua forma geral do corpo, foi feita uma Análise dos Componentes Principais (PCA) com base nos *Partial Warps* extraídos, através do *software* R 4.11 e do *software* Rstudio. No gráfico apresentado relativo a esta análise são considerados apenas os dois primeiros eixos do PCA, por serem os eixos que explicavam uma maior proporção da variância total observada.

Para testar a hipótese de existência de variação significativa na forma corporal dos esgana-gata entre os diferentes países analisados, e entre os lagos dentro de cada país, realizou-se, com a utilização do *software* Primer e Permanova (Anderson *et al.*, n.d.), uma análise PERMANOVA (baseada numa matriz de dissemelhança construída através da Distância Euclidiana entre amostras), onde o PAÍS e o LAGO foram definidos como fatores a analisar. O fator PAÍS foi definido como fator fixo, enquanto o fator “LAGO”, pelo facto dos diferentes níveis (lagos) não se replicarem entre países, foi definido como fator aninhado (“*nested*”) no fator PAÍS. Os *Partial Warps* previamente obtidos foram utilizados como variáveis dependentes nesta análise multivariada, enquanto o tamanho do centroide foi utilizado como co-variável para avaliar, e se necessário corrigir, eventuais efeitos do tamanho dos peixes nos resultados obtidos.

Análises morfométricas

Com o intuito de se quantificar as variações morfométricas entre os indivíduos capturados nos vários lagos e países amostrados, foram medidas algumas variáveis suplementares, através do *software* *ImageJ* e com recurso a fotografias do lado esquerdo para cada um dos 2763 indivíduos. Foi medido o comprimento da primeira e segunda espinha dorsal (C1ED e C2ED), comprimento da maior placa de armadura (CMPA), comprimento da coluna pélvica (CCP), comprimento horizontal e ascendente da pélvis (CHP e CAP), comprimento total de cada indivíduo (CT), a altura e o comprimento do pedúnculo (CP). Calcularam-se também variáveis como o *Body depph* = $\frac{\text{altura}}{\text{CT}}$ e a condição corporal (CC), $K = \frac{\text{peso}}{(\text{CT})^3}$. O número de placa de armadura de cada indivíduo, variável que foi disponibilizada na matriz inicial, pelos

investigadores dos países onde foram realizadas as amostragens, também foi inserida para análise, juntamente com todas estas variáveis (Tabela I e Figura 7).

Tabela I. Variáveis utilizadas para as análises morfométricas com o respetivo acrónimo.

Variáveis suplementares	Acrónimo
<i>Body depth</i>	BD
Número de placas	NP
Comprimento da 1ª espinha dorsal	C1ED
Comprimento da coluna pélvica	CCP
Comprimento ascendente da pélvis	CAP
Comprimento 2ª espinha dorsal	C2ED
Comprimento da maior placa de armadura	CMPA
Comprimento horizontal da pélvis	CHP
Condição corporal	CC
Comprimento do pedúnculo	CP

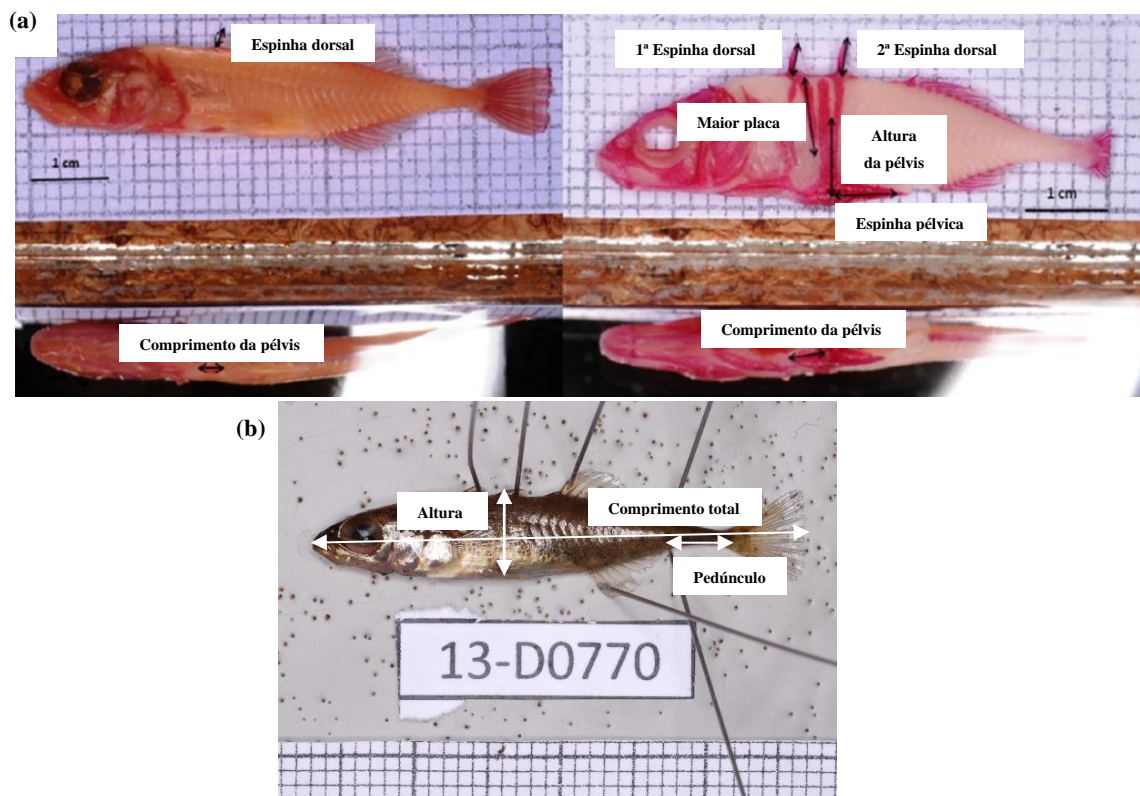


Figura 7. Medições de algumas variáveis morfométricas com o programa *ImageJ*.

De modo a obtermos índices padronizados para posterior análise, relativizaram-se todas as medições das variáveis mencionadas e presentes na Tabela I ao comprimento total do peixe. No entanto todas as análises foram feitas sempre com o CT como co-variável. Para representar visualmente a distribuição e segregação dos peixes analisados, para os vários países e lagos, em termos de avaliação morfométrica, foi realizada uma Análise de Componentes Principais (PCA) com base nas variáveis medidas (Tabela I), através do *software* R 4.11 e do *software* Rstudio. No gráfico presente relacionado com a análise abordada são considerados apenas os dois primeiros eixos do PCA, por serem os eixos que explicavam uma maior proporção da variância total observada.

Para testar a hipótese de existência de variação significativa nas variáveis morfométricas do esgana-gata entre os diferentes países analisados, e entre os lagos dentro de cada país, desenvolveu-se, com a utilização do *software* Primer e Permanova uma análise PERMANOVA (baseada numa matriz de dissimilaridade construída através da distância Euclidiana entre amostras), em que o PAÍS e o LAGO foram determinados como fatores a analisar. O fator PAÍS foi colocado como fator fixo, e o fator “LAGO”, pelo facto dos diferentes níveis de (lagos) não se replicarem entre países, foi apresentado como fator aninhado (“*nested*”) no fator PAÍS. As variáveis inicialmente medidas foram empregues como variáveis dependentes nesta análise multivariada. O comprimento total foi usado como co-variável para avaliar, e se necessário corrigir, determinados efeitos do comprimento do peixe nos resultados obtidos. Para determinar a contribuição de cada variável morfométrica nas diferenças entre os vários países, realizou-se uma análise de percentagem de similaridade (SIMPER) com a matriz de dissimilaridades, através do mesmo *software* Primer e Permanova.

3.Resultados

Análise da forma corporal

Dos 2763 indivíduos analisados, 651 pertenciam à Escócia, 961 à Islândia, 520 ao Canadá e 630 ao Alasca. O tamanho do centróide, tendo por base as informações contidas na figura 8 e suportadas pela tabela II, varia de acordo com o país, notando-se menos diferenças entre o Canadá e o Alasca e mais diferenças entre cada um destes países e a Escócia e a Islândia. No Canadá, em média, o tamanho do centróide é de 7,016E+00 e no Alasca é de 6,984E+00, sendo que a maioria dos indivíduos do Canadá variam entre 6,201E+00 e 7,700E+00 e no Alasca entre 5,812E+00 e 7,914E+00.

Já na Escócia e na Islândia, comparativamente ao Canadá e Alasca, os indivíduos tendem a ter um tamanho superior. Na Escócia a média do tamanho do centróide é de 1,003E+01, variando na maioria dos indivíduos entre 8,442E+00 e 1,132E+01. Na Islândia o tamanho do centróide em média é de 1,176E+01 variando na grande parte dos indivíduos entre 9,961E+00 e 1,333E+01. Assim, o país que tende a ter indivíduos de maior tamanho, tendo em conta a forma total do corpo, é a Islândia.

Tabela II. Tabela de variação interquartil relativamente ao tamanho do centróide dos indivíduos por país. Na tabela encontra-se representado o valor mínimo e máximo com outliers e a média dos valores do tamanho do centróide para os indivíduos de esgana-gata com o respetivo desvio padrão associado

	Escócia	Islândia	Canadá	Alasca
Mínimo	5,856E+00	4,968E+00	4,072E+00	3,610E+00
Máximo	1,760E+01	2,085E+01	1,195E+01	1,264E+01
Média	1,003E+01	1,176E+01	7,016E+00	6,984E+00
Desvio padrão	2,233E+00	2,675E+00	1,194E+00	1,629E+00

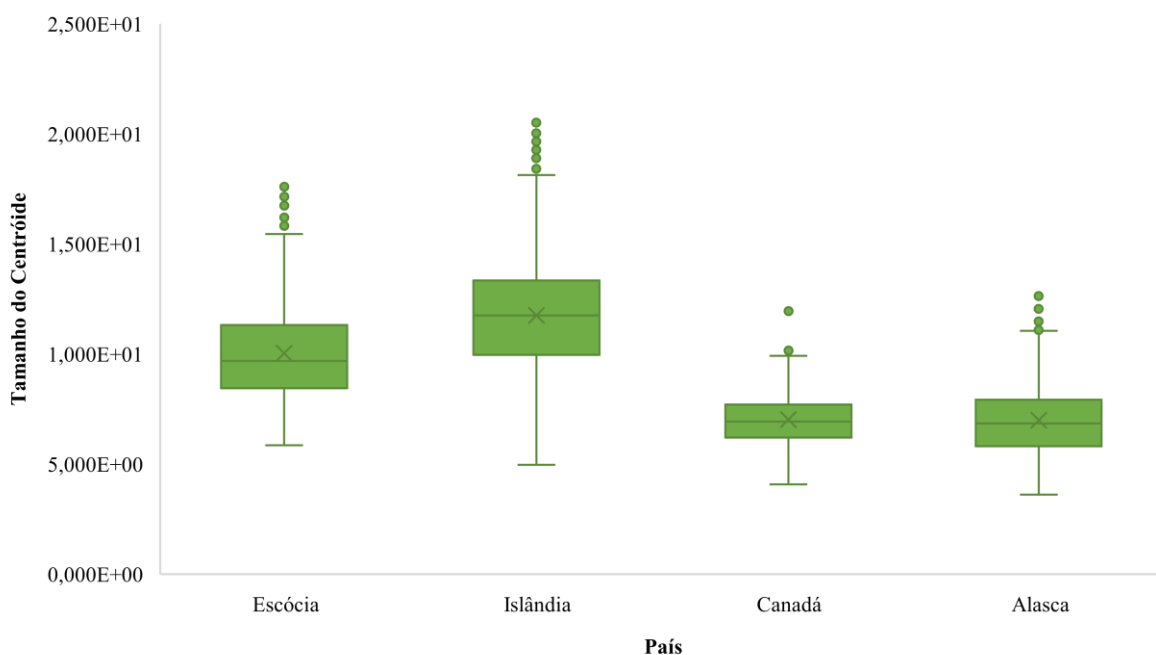


Figura 8. Box-plots (X – média; — valor mediano; ■ os percentis 25% e 50% — valores mínimo e máximo e outliers) com os valores do tamanho do centróide obtidos para o esgana-gata para cada país em que foram amostrados.

Na análise de componentes principais (PCA; Figura 9), correspondente aos componentes da forma do corpo dos indivíduos de esgana-gata verifica-se que os dois primeiros eixos explicam apenas 17,1% da variação total da forma do corpo (9,6% para PCA1 e 7,5% para PCA2).

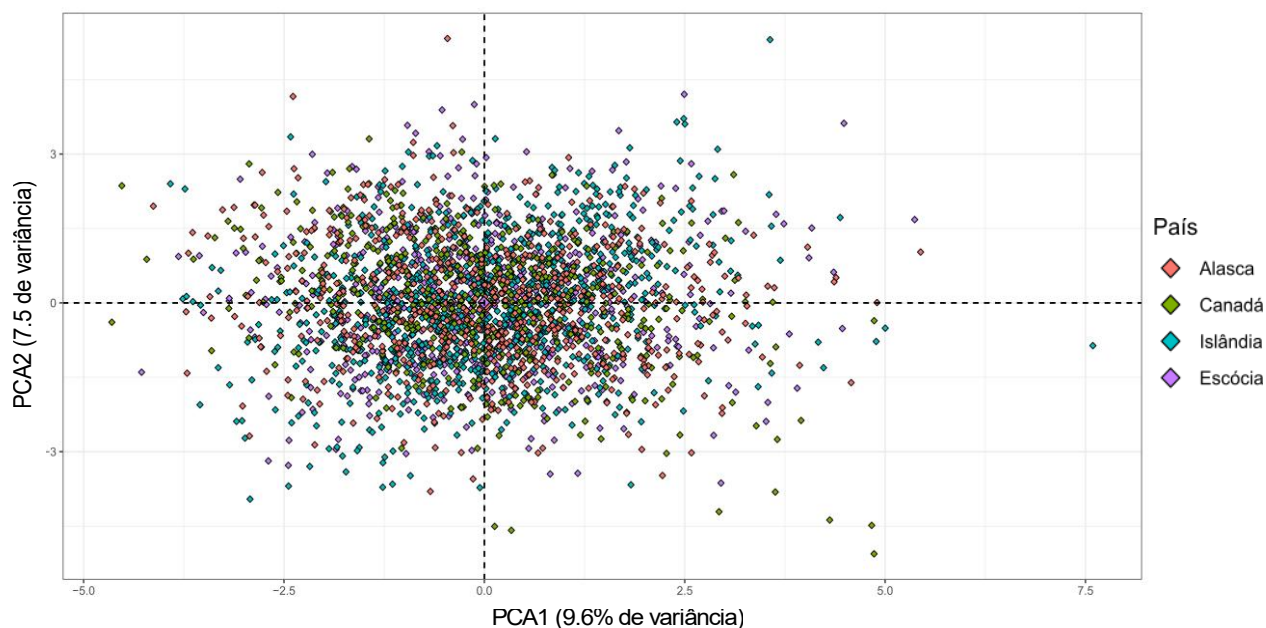


Figura 9. Análise de PCA com representação dos dois primeiros eixos para a forma do corpo de 2763 indivíduos de esgana-gata entre cada país, Alasca, Canadá, Islândia e Escócia.

Foi realizada uma PERMANOVA com a matriz dos *partial warps*, representativos da forma do corpo dos indivíduos de esgana-gata analisado (Tabela III). Esta análise mais concreta permitiu verificar que o tamanho do centroide tem um efeito significativo na variação da forma do corpo na nossa amostra ($F_{1,2584} = 24,696$; $P < 0,001$). Existem também diferenças significativas dentro de cada PAÍS na variação da forma do corpo dos indivíduos testados ($F_{3,2584} = 8,403$; $P < 0,001$). Não se obteve diferenças significativas na forma do corpo entre os LAGOS dentro de cada país. O tamanho do centroide e a sua interação entre o PAÍS ou entre os LAGOS dentro de cada PAÍS mostrou diferenças significativas na variação da forma do corpo.

Tabela III. Resultados da PERMANOVA realizada para testar a variação da forma do corpo de indivíduos de esgana-gata

Fonte de variação	Df	SS	MS	Pseudo-F	P-value
TC (Tamanho do centroide)	1	516,640	516,640	24,696	0,001*
Pa (PAÍS)	3	527,370	175,790	8,403	0,001*
La (Pa) (LAGO dentro do PAÍS)	85	750,340	8,828	0,422	1
TCxPa	3	435,770	145,260	6,944	0,001*
TCxLa(Pa)	85	4455,100	52,413	2,505	0,001*
Resíduos	2584	54057	20,920		
Total	2761	60742			

*diferenças significativas para $P < 0,001$

Realizaram-se testes à *posteriori*, nomeadamente testes de pares com o modelo PERMANOVA que comprovam as diferenças significativas ($P < 0,001$) entre todos países detetados através da análise PERMANOVA (Tabela III).

No teste à *posteriori* também verificamos algumas diferenças entre lagos dentro de cada país, mas com menos significância como já tinha sido detetado através da PERMANOVA inicial (tabela II). Na Escócia, num total de 190 comparações entre os diferentes lagos, obtiveram-se 35 com diferenças significativas ($P < 0,05$) que dá um total de 18,4 % de diferenças significativas entre os lagos deste país. No Alasca essa diferença é menor, em 231 comparações, 40 são significativamente diferentes ($P < 0,05$), ou seja, 17,3 % de diferenças significativas entre os lagos. Segue-se a Islândia em 406 comparações possíveis entre os diferentes lagos, onde 39 que são significativamente diferentes ($P < 0,05$), obtendo-se 9,6% de diferenças significativas entre os lagos. Por último, com menores diferenças entre lagos, relativamente à forma do corpo da espécie-alvo, encontra-se o Canadá, com apenas 2,6% de diferenças significativas entre os lagos, onde num total de 153 comparações apenas quatro são significativamente diferentes.

Medições complementares

Na tabela IV, com suporte da figura 10, está apresentada a variação interquartil do comprimento total dos indivíduos para cada país. Na Escócia, em média, os indivíduos apresentam 8,6 cm de comprimento, sendo que o comprimento dos indivíduos neste país varia entre 5,1 cm e 15,0 cm. Na Islândia os comprimentos são muito semelhantes à Escócia, sendo o comprimento médio dos indivíduos é de 9,5 cm. A maioria dos indivíduos apresenta comprimento entre os 4,0 cm e os 16,8 cm. É na Islândia que se encontrou o indivíduo com comprimento mais díspar e maior. No Canadá e no Alasca registou-se uma alteração de valores bastante evidente comparativamente aos países da Europa. No Canadá o comprimento médio dos indivíduos é de 5,7 cm, com comprimentos dos indivíduos entre 3,4 cm e 9,4 cm. No Alasca os valores são semelhantes aos do Canadá com comprimento médio de 5,6 cm e com indivíduos com comprimento entre os 3,0 cm e 10,6 cm.

Analisando os dados obtidos é importante salientar que os indivíduos pertencentes ao continente americano apresentam um tamanho inferior aos indivíduos da Europa, resultado semelhante ao obtido na análise da forma do corpo.

Tabela IV. Tabela de variação interquartil relativamente ao comprimento total dos indivíduos por país. Na tabela encontra-se representado o valor mínimo e máximo com *outliers* e a média dos valores do comprimento total para os indivíduos de esgana-gata com o respetivo desvio padrão associado

	Escócia	Islândia	Canadá	Alasca
Mínimo	5,095	3,965	3,432	2,924
Máximo	14,978	16,750	9,445	10,568
Média	8,586	9,540	5,714	5,614
Desvio padrão	1,827	2,082	0,934	1,291

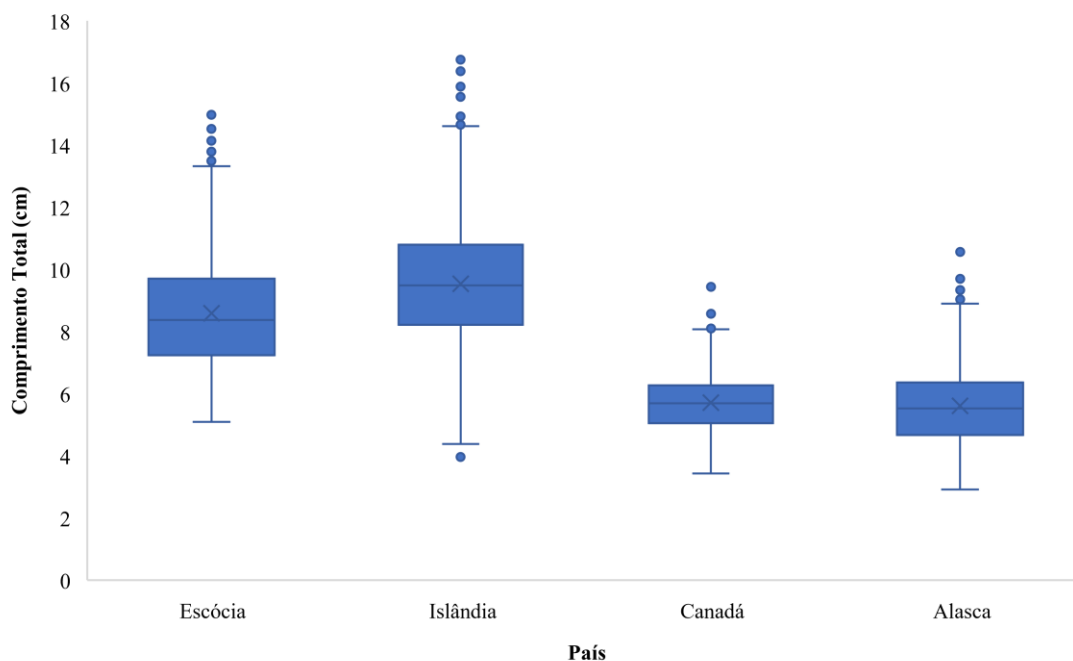


Figura 10. Box-plots (X – média; — - valor mediano; ■ - os percentis 25% e 50% — valores mínimo, máximo e outliers) com os valores do comprimento total obtidos para o esgana-gata para cada país em que foram amostrados.

Os dois primeiros eixos da PCA (Figura 11) relativa às variáveis morfométricas suplementares de esgana-gata, padronizadas pelo comprimento total explicam 68,4% da variação total nesta componente. O primeiro eixo da PCA explicou 55,1% de variação da morfometria dos peixes, revelando principalmente diferenças nas seguintes dimensões: C1ED, CCP, CAP, C2ED, CMPA e CHP nos peixes dos quatro países. O segundo eixo da PCA explicou 13,3% de variação morfométrica associada principalmente ao BD e no CP em apenas alguns peixes, maioritariamente da Islândia e alguns do Canadá.

No segundo eixo da PCA a principal diferença existente na variação da morfometria dos peixes acontece em apenas alguns peixes maioritariamente da Islândia e alguns do Canadá nas variáveis BD e CP.

Com o gráfico PCA (Figura 10) é possível observar uma evidente segregação entre os países do continente europeu e do continente americano.

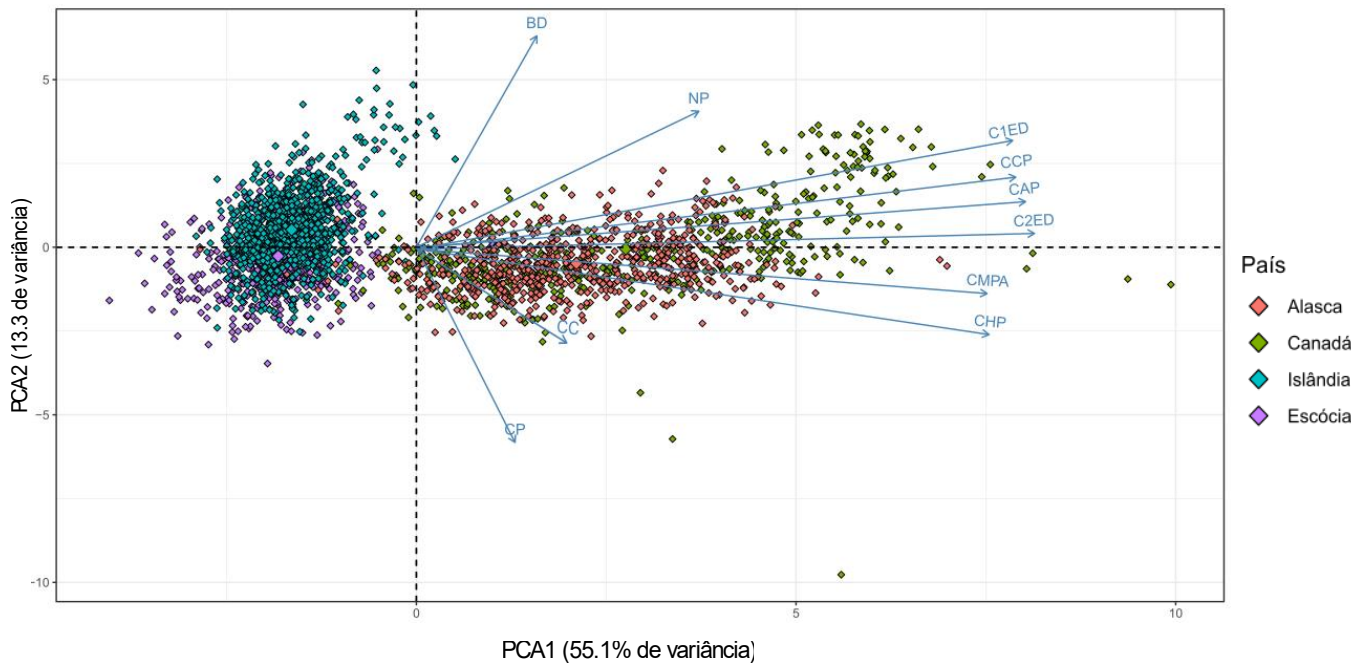


Figura 10. Análise PCA com representação dos dois primeiros eixos para 10 variáveis morfométricas de esgana-gata padronizadas pelo comprimento total. As setas indicam a direção e extensão da relação entre variáveis morfométricas e os dois primeiros eixos do PCA e o acrônimo das mesmas indica qual a variável correspondente (BD = *Body Depth*; NP= Número de placas; C1ED= Comprimento da 1ª espinha dorsal; CCP= Comprimento da coluna pélvica; CAP= Comprimento ascendente da pélvis; C2ED= Comprimento 2ª espinha dorsal; CMPA= Comprimento da maior placa de armadura; CHP= Comprimento horizontal da pélvis; CC= Condição corporal; CP= Comprimento do pedúnculo).

Foi realizada uma PERMANOVA com a matriz das variáveis suplementares medidas, C1ED, CCP, CAP, C2ED, CMPA, CHP, BD, NP, CC e CP. Esta análise permitiu verificar que, apesar da padronização que inicialmente foi feita nos dados, o comprimento total continua a ter um efeito significativo na variação de medidas morfométricas na amostra ($F_{1,2585} = 2443,500$; $P < 0,001$). Existem também diferenças significativas dentro de cada país nas medidas de morfometria dos indivíduos testados ($F_{3,2585} = 724,770$; $P < 0,001$), assim como entre os lagos dentro de cada país ($F_{85,2585} = 2443,500$; $P < 0,001$). O comprimento total e a sua interação com o PAÍS apresentaram diferenças significativas na variação das medidas morfométricas, enquanto que a interação do comprimento total com os lagos dentro de cada país, não mostrou diferenças significativas relativamente às medidas morfométricas dos indivíduos (Tabela V).

Tabela V. Resultados da PERMANOVA realizada para testar a variação morfométrica de indivíduos de esgana-gata

Fonte de variação	df	SS	MS	Pseudo-F	P-value
CT (Comprimento total)	1	6762,900	6762,900	2443,500	0,001*
Pa (PAÍS)	3	6017,800	2005,900	724,770	0,001*
La (Pa) (LAGO dentro do PAÍS)	85	7225,800	85,009	30,715	0,001*
CTxPa	3	109,100	36,368	13,140	0,001*
CTxLa(Pa)	85	349,950	4,117	1,488	0,072
Resíduos	2585	7154,500	2,768		
Total	2762	27620			

*diferenças significativas para $P < 0,001$

Realizaram-se testes à *posteriori*, nomeadamente testes de pares com o modelo PERMANOVA que comprovam as diferenças significativas ($P < 0,001$) entre todos países detetados através da análise PERMANOVA (Tabela V).

No teste à *posteriori* também foram observadas diferenças significativas entre lagos dentro de cada país, como se encontra expresso na tabela V. No Alasca, num total de 231 comparações possíveis entre os diferentes lagos, obtiveram-se 227 com diferenças significativas ($P < 0,05$) que dá um total de 92,1 % de diferenças significativas entre os lagos deste país. No Canadá a diferença é menor, apresentando mesmo assim grande significância. Em 153 comparações possíveis, 143 são significativamente diferentes ($P < 0,05$), ou seja, 93,5% de diferenças significativas entre os lagos. Segue-se a Islândia e a Escócia com diferenças significativas muito semelhantes. Na Islândia em 406 comparações, 376 são significativamente diferentes ($P < 0,05$), obtendo-se 92,6% de diferenças significativas entre os lagos. A Escócia com 92,1% de diferenças significativas entre os lagos, onde num total de 190 comparações possíveis entre indivíduos de lagos distintos, 175 são significativamente diferentes.

Aplicou-se também a análise de percentagem de similaridade (SIMPER) com a matriz de dissemelhanças das variáveis complementares de morfometria, a fim de se determinar a contribuição de cada variável morfométrica para as diferenças entre os vários países.

Entre a Escócia e a Islândia, as maiores contribuições para as diferenças entre estes dois países foram das variáveis BD (37,2 %) e CP (33, 7%) num total de 70,9 % (Tabela VI). As variáveis C1ED, CCP, CAP, C2ED e CC contribuem menos para as diferenças entre estes países.

Entre a Escócia e o Canadá, as variáveis CC, CMPA, CCP, C2ED, C1ED e NP foram as que mais contribuíram para as diferenças (13,6%, 12,7%, 11,5%, 11,2%, 11,1% e 10,7% respetivamente) num total de 70,8%. (Tabela VII).

Já entre a Islândia e Canadá, as variáveis com maior contribuição foram CC, CCP, C2ED, NP, C1ED, CMPA e CAP (14,0%, 11,8%, 11,7%, 11,2%, 11,1%, 10,5%, 10,4% respectivamente), num total de 80,7% (Tabela VIII).

Entre a Escócia e o Alasca as variáveis que mais contribuíram para as diferenças foram CMPA (17,2%), CHP (16,3%) e CAP (14,6%) num total de 48,1% (Tabela IX).

As variáveis que possuem maior responsabilidade pelas diferenças existentes entre a Islândia e o Alasca são CHP, CAP, CMPA e C2ED (16,2%, 14,9%, 13,3% e 12,2% respectivamente) num total de 56,7% (Tabela X).

Por último, entre o Canadá e o Alasca as variáveis que têm maiores contribuições para as diferenças observadas são CC (24,3%), NP (17,6%) e CCP (10,5%) num total de 52,4% (Tabela XI).

Tabela VI. Resultados da análise SIMPER, do software PRIMER 6.0, entre os esgana-gata da Escócia e a Islândia, relativamente às suas características morfológicas suplementares. A negrito encontram-se indicadas as variáveis morfométricas que mais contribuíram para as diferenças observadas entre os diferentes países

Escócia & Islândia						
Distância média quadrática =6,62						
	Escócia	Islândia				
Variáveis	Valor médio	Valor médio	Distância média quadrática	Distância quadrática por desvio padrão	% Contribuição	% Contribuição cumulativa
BD	-0,486	0,370	2,460	0,710	37,230	37,230
CP	-0,049	-0,220	2,230	0,690	33,690	70,930
NP	-0,390	-0,046	0,941	0,220	14,230	85,160
CMPA	-0,914	-0,704	0,238	0,470	3,590	88,750
CHP	-0,690	-0,701	0,227	0,630	3,430	92,180

Tabela VII. Resultados da análise SIMPER, do software PRIMER 6.0, entre os esgana-gata da Escócia e o Canadá, relativamente às suas características morfológicas suplementares. A negrito encontram-se indicadas as variáveis morfométricas que mais contribuíram para as diferenças observadas entre os diferentes países

Escócia & Canadá						
Distância média quadrática =38,86						
	Escócia	Canadá				
Variáveis	Valor médio	Valor médio	Distância média quadrática	Distância quadrática por desvio padrão	% Contribuição	% Contribuição cumulativa
CC	-0,209	0,378	5,300	0,070	13,640	13,640
CMPA	-0,914	1,230	4,910	1,840	12,650	26,290
CCP	-0,623	1,170	4,460	1,020	11,490	37,780
C2ED	-0,676	1,130	4,360	1,040	11,210	48,990
C1ED	-0,650	1,010	4,320	0,940	11,110	60,100
NP	-0,390	0,561	4,140	0,420	10,660	70,760
CAP	-0,704	1,050	3,840	1,100	9,890	80,650
CHP	-0,690	0,901	3,220	1,100	8,280	88,920
CP	-0,049	0,286	2,150	0,710	5,540	94,470

Tabela VIII. Resultados da análise SIMPER, do software PRIMER 6.0, entre os esgana-gata da Islândia e Canadá, relativamente às suas características morfológicas suplementares. A negrito encontram-se indicadas as variáveis morfométricas que mais contribuíram para as diferenças observadas entre os diferentes países

Islândia & Canadá						
Distância média quadrática =37,88						
	Islândia	Canadá				
Variáveis	Valor médio	Valor médio	Distância média quadrática	Distância quadrática por desvio padrão	% Contribuição	% Contribuição cumulativa
CC	-0,196	0,378	5,300	0,070	13,990	13,990
CCP	-0,634	1,170	4,480	1,030	11,840	25,830
C2ED	-0,704	1,130	4,440	1,060	11,730	37,560
NP	-0,046	0,561	4,240	0,450	11,190	48,750
C1ED	-0,622	1,010	4,200	0,930	11,090	59,840
CMPA	-0,704	1,230	3,960	2,020	10,470	70,300
CAP	-0,744	1,050	3,950	1,140	10,440	80,740
CHP	-0,701	0,901	3,240	1,110	8,550	89,290
CP	-0,220	0,286	2,040	0,710	5,380	94,660

Tabela IX. Resultados da análise SIMPER, do software PRIMER 6.0, entre os esgana-gata da Escócia e o Alasca, relativamente às suas características morfológicas suplementares. A negrito encontram-se indicadas as variáveis morfométricas que mais contribuíram para as diferenças observadas entre os diferentes países

Escócia & Alasca						
Distância média quadrática =22,99						
	Escócia	Alasca				
Variáveis	Valor médio	Valor médio	Distância média quadrática	Distância quadrática por desvio padrão	% Contribuição	% Contribuição cumulativa
CMPA	-0,914	1,000	3,950	1,770	17,200	17,200
CHP	-0,690	1,040	3,750	1,100	16,290	33,500
CAP	-0,704	0,992	3,360	1,430	14,620	48,110
C2ED	-0,676	0,842	2,770	1,320	12,040	60,150
C1ED	-0,650	0,782	2,650	1,210	11,540	71,690
CCP	-0,623	0,643	2,380	1,170	10,350	82,040
CP	-0,049	0,150	2,070	0,720	8,990	91,040

Tabela X. Resultados da análise SIMPER, do software PRIMER 6.0, entre os esgana-gata da Islândia e o Alasca, relativamente às suas características morfológicas suplementares. A negrito encontram-se indicadas as variáveis morfométricas que mais contribuíram para as diferenças observadas entre os diferentes países

Islândia & Alasca						
Distância média quadrática =23,25						
	Islândia	Alasca				
Variáveis	Valor médio	Valor médio	Distância média quadrática	Distância quadrática por desvio padrão	% Contribuição	% Contribuição cumulativa
CHP	-0,701	1,040	3,770	1,110	16,220	16,220
CAP	-0,744	0,992	3,460	1,520	14,900	31,120
CMPA	-0,704	1,000	3,100	2,020	13,340	44,460
C2ED	-0,704	0,842	2,840	1,350	12,200	56,650
C1ED	-0,622	0,782	2,550	1,220	10,960	67,610
CCP	-0,634	0,643	2,390	1,190	10,260	77,880
BD	0,370	-0,253	2,170	0,710	9,320	87,200
CP	-0,220	0,150	1,900	0,710	8,190	95,390

Tabela XI. Resultados da análise SIMPER, do software PRIMER 6.0, entre os esgana-gata da Canadá e Alasca, relativamente às suas características morfológicas suplementares. A negrito encontram-se indicadas as variáveis morfométricas que mais contribuíram para as diferenças observadas entre os diferentes países

Canadá & Alasca						
Distância média quadrática =20,55						
	Canadá	Alasca				
Variáveis	Valor médio	Valor médio	Distância média quadrática	Distância quadrática por desvio padrão	% Contribuição	% Contribuição cumulativa
CC	0,378	0,202	5,000	0,070	24,320	24,320
NP	0,561	0,009	3,610	0,420	17,560	41,880
CCP	1,170	0,643	2,160	0,650	10,520	52,410
C1ED	1,010	0,782	2,050	0,740	9,980	62,390
BD	0,232	-0,253	1,920	0,710	9,340	71,730
CP	0,286	0,150	1,630	0,690	7,910	79,640
C2ED	1,130	0,842	1,520	0,700	7,410	87,050
CHP	0,901	1,040	1,220	0,620	5,950	93,000

4. Discussão

Neste estudo identificaram-se as características biológicas tanto relativas à forma do corpo, como relativas a um conjunto de variáveis morfométricas complementares, de populações de *Gasterosteus aculeatus*, em alguns lagos ao longo da sua área de distribuição, próximo do limite norte e ao longo de um gradiente longitudinal e latitudinal de distribuição (i.e. Canadá e Alasca mais a noroeste e Islândia e Escócia mais a nordeste e a sul, respetivamente). Verificou-se também a existência de diferenças fenotípicas da espécie entre estes países e entre os lagos amostrados dentro do mesmo país. Sabendo da existência de diferenças, quis-se perceber quais eram características que mais contribuíam para essas dissemelhanças.

Através das análises realizadas, foi possível identificar, e suportar estatisticamente, dois tipos morfológicos com coerência geográfica, um no continente americano e outro no continente europeu. Um dos morfotipos identificados corresponde ao conjunto dos indivíduos pertencentes à Escócia e Islândia, tendencialmente maiores do que os do Canadá e Alasca, correspondentes ao segundo morfotipo. Estas diferenças morfológicas foram verificadas através dos resultados obtidos no gráfico box-plot e estatisticamente confirmados pelos resultados da PERMANOVA. Através dos resultados obtidos conseguimos perceber que o esgana-gata apresenta menos diferenças relacionadas com a forma do corpo, do que em termos de variáveis suplementares maioritariamente entre países.

Entre lagos dentro do mesmo país essa uniformidade mantém-se, verificando-se uma grande variabilidade das variáveis complementares entre lagos e praticamente nenhuma diferença na forma do corpo. No entanto, a forma geral do corpo do esgana-gata poderá estar a responder mais a variações de larga escala (entre países) ao longo da sua distribuição e menos em termos de meso-habitat (entre lagos dentro do mesmo país).

As variáveis que mais contribuem para a variação morfológica nos exemplares analisados peixes são o C1ED, CCP, CAP, C2ED, CMPA, CHP e CP, sendo a última variável a que mais modifica tendo em conta a exposição a características do meio. Webster *et al.*, (2011), demonstrou, através de análises morfométricas, a variação morfológica entre populações de esgana-gata pertencentes a diferentes habitats interligados, em Inglaterra. Em conformidade com os resultados obtidos no nosso estudo, Webster *et al.*, (2011) registou ainda diferenças na morfologia que ocorrem em resposta a características específicas do habitat, como a predação e outras características ambientais. Apesar de no nosso estudo não ter sido possível analisar que fatores dentro dos habitats estão a contribuir para as variáveis morfométricas analisadas, estes

resultados corroboram a maior variabilidade morfométrica apresentada entre populações pertencentes a lagos do mesmo país.

Magalhaes *et al* (2016), reforça os nossos resultados com um estudo realizado num dos países onde foram amostrados indivíduos para o nosso estudo, a Escócia. Nesse estudo, foi detetada uma grande variação morfológica nas populações de esgana-gata. Estas variações foram reportadas essencialmente em características de armadura, comprimento e formato do corpo tal como se sucedeu nos nossos resultados. Magalhaes *et al* (2016) reporta no seu estudo morfologias extremas entre as populações escocesas. O presente trabalho vem demonstrar a existência de morfologias extremas em populações dos países em estudo, através das diferenças identificadas entre lagos do mesmo país. No entanto, os nossos resultados sugerem que os peixes sofrem menos alterações na forma do que nas variáveis morfométricas suplementares em resposta às mudanças ambientais locais.

Magalhaes *et al* (2016) menciona que estas variações fenotípicas podem ser moldáveis até certo ponto, tendo em conta os grupos em causa e as características relacionadas entre si. Miller *et al* (2014) afirma que as alterações poderão acontecer por duas razões, ou porque as características são geneticamente correlacionadas, ou porque essa correlação entre as características está a ser orientada pelo próprio ambiente.

Colosimo *et al* (2005) e Chan *et al* (2010) mencionam que algumas características partilham determinados parâmetros de controlo genético, como é o caso das espinhas dorsais. No entanto, outras características, não são controladas pelos mesmos genes como é o caso do número de placas e do comprimento da pélvis. Este facto é coerente com Sinervo & Svensson (2002) que explicam que as correlações de características são um resultado da seleção direcionada pelo meio ambiente, que faz com que existam modificações de forma entre as populações. Magalhaes *et al* (2016) menciona que as diferenças morfológicas entre populações estão vivamente interligadas com o ambiente abiótico e biótico o que fortalece as ideias expressadas anteriormente por Sinervo & Svensson (2002).

Os resultados obtidos no nosso estudo são de grande relevância em termos da conservação da espécie, uma vez que permitiram a identificação de formas específicas e distintas da espécie, existentes em habitats com características muito particulares e que desta forma se tornam relevantes para a sua conservação.

Tendo em conta os resultados obtidos neste trabalho, principalmente o facto de os nossos resultados demonstrarem que o esgana-gata altera menos na forma do que nas variáveis morfométricas suplementares em resposta às mudanças ambientais locais, e que a variabilidade das variáveis complementares entre lagos dentro do mesmo país são muito é muito elevada,

seria importante, futuramente, analisar as características ambientais dos lagos e a relação destas com as variáveis morfométricas. Em estudos futuros, também seria importante, dado que tal não nos foi possível durante a duração deste trabalho, identificar quais os fatores ambientais responsáveis pelas diferenças fenotípicas e que teriam uma maior influência na variabilidade da espécie entre lagos e dentro de cada um destes países. Isto permitir-nos-ia explicar quais as características mais relevantes se abióticas, se biológicas ao longo de um gradiente longitudinal, perante zonas mais frias a zonas menos stressoras a nível ambiental. Seria interessante, e era outra abordagem que gostaríamos de ter realizado, registar a ocorrência da forma anádroma da espécie em Portugal e fazer os mesmos estudos também a nível latitudinal, a norte e sul da distribuição da espécie. Outra questão interessante a investigar seria a avaliação genética das populações incluídas neste estudo, com o intuito de entender o peso que a componente genética tem nas variações morfológicas observadas, uma vez que a variação morfológica apresentada por um indivíduo é resultante não só de uma inerente plasticidade fenotípica, mas também de uma combinação de fatores genéticos. Algo que poderia melhorar e enriquecer mais o estudo, seria a realização de amostragens com mais populações de outros locais, a fim de se entender se existem apenas dois morfotipos ou se existe um gradiente.

5.Referências Bibliográficas

- Ahnelt, H. (2018). Imprecise naming: the anadromous and the sea spawning threespine stickleback should be discriminated by names. *Springer*, 73, 389–392.
- Alexandre, C.M., Quintella, B.R., Ferreira, A.F., Romão, F.A. & Almeida, P. R. (2014). Swimming performance and ecomorphology of the Iberian barbel *Luciobarbus bocagei* (Steindachner, 1864) on permanent and temporary rivers. *Ecology of Freshwater Fish*, 23, 244–258.
- Alexandre, C.M. & Almeida, P. R. (2009). Summer survival and habitat characteristics of a threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.) Southern European population. *Limnetica*, 28(1), 125–138.
- Anderson, M.J., Gorley, R.N. & Clarke, K. R. (n.d.). PERMANOVA+ for PRIMER: guide to software and statistical methods. PRIMER-E Ltd.
- Arai, T., Ueno, D., Kitamura, T. & Goto, A. (2020). Habitat preference and diverse migration in threespine sticklebacks, *Gasterosteus aculeatus* and *G. nipponicus*. *Scientific Reports*, 10(1).
- Baker, J. A., Wund, M. A., Heins, D. C., King, R. W., Reyes, M. L., & Foster, S. A. (2015). Life-history plasticity in female threespine stickleback. *Heredity*, 115(4), 322–334.
- Barrett, R.D.H., Paccard, A., Healy, T.M., Bergek, S., Schulte, P.M., Schluter, D. & Rogers, S. M. (2011). Rapid evolution of cold tolerance in stickleback. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 278(1703), 233–238.
- Baudron, A.R., Needle, C.L., Rijnsdorp, A.D. & Marshall, C. T. (2014). Warming temperatures and smaller body sizes: synchronous changes in growth of North Sea fishes. *Global Change Biology*, 20(4), 1023–1031.
- Boyd, P. W., Lennartz, S. T., Glover, D. M. & Doney, S. C. (2014). Biological ramifications of climate-change-mediated oceanic multi-stressors. *Nature Climate Change*, 5(1), 71–79.
- Cabral, M. J., Almeida, J., Almeida, P. R., Dellinger, T., Ferrand de Almeida, N., Oliveira, M. E., Palmeirim, J. M., Queirós, A. I., Rogado, L. & Reis, M. S. (2005). *Livro Vermelho dos Vertebrados de Portugal: Peixes Dulciaquícolas e Migradores, Anfíbios, Répteis, Aves e Mamíferos*. Lisboa: Instituto da Conservação da Natureza.
- Chan, Y.F., Marks, M.E., Jones, F.C., Vilarreal, G., Shapiro, M.D., Brady, S.D., Southwick, A.M., Absher, D.M., Grimwood, J., Schmutz, J., Myers, R.M., Petrov, D., Jónsson, B., Schluter, D., Bell, M.A. & Kingsley, D. M. (2010). Adaptive evolution of pelvic reduction in sticklebacks by recurrent deletion of a *Pitx1* enhancer. *Science*, 327, 302–305.

- Clavero, M., Pou-Rovira, Q. & Zamora, L. (2009). Biology and habitat use of three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) in intermittent Mediterranean streams. *Ecology of Freshwater Fish*, 18(4), 550–559.
- Collares-Pereira, M.J., Alves, M.J., Ribeiro, F., Domingos, I., Almeida, P.P., Costa, L., Gante, H., Filipe, A.F., Aboim, M.A., Rodrigues, P.M. & Magalhães, M. F. (2021). Gasterosteidae. In Edições Afrontamento (Ed.), *Guia dos Peixes de Água Doce e Migradores de Portugal Continental* (3ª edição, pp. 251–253). Porto.
- Colosimo, P.F., Hosemann, K.E., Balabhadra, S., Villarreal, G., Dickson, M., Grimwood, J., Schumutz, J., Myers, R.M., Schluter, D. & Kingsley, D. M. (2005). Widespread parallel evolution in sticklebacks by repeated fixation of ectodysplasin alleles. *Science*, 307, 1928–1933.
- Comte, L. & Olden, J. D. (2017). Climatic vulnerability of the world ’ s freshwater and marine fishes. *Nature Climate Change*, 7, 718–722.
- Ellis, N.A., Donde, N.N. & Miller, C. T. (2017). Early development and replacement of the stickleback dentition. *Journal of Morphology*, 277(8), 1072–1083.
- Fang, B., Merila, J., Ribeiro, F., Alexandre, C.M. & Momigliano, P. (2018). Worldwide phylogeny of three-spined sticklebacks. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 127, 613–625.
- Flamarique, I.N., Bergstrom, C., Cheng, C.L. & Reimchen, T. E. (2013). Role of the iridescent eye in stickleback female mate choice. *The Journal of Experimental Biology*, 216, 2806–2812.
- Forster, J., Hirst, A. G. & Atkinson, D. (2012). Warming-induced reductions in body size are greater in aquatic than terrestrial species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(47), 19310–19314.
- Foster, S. A., Baker, J. A. & Bell, M. A. (2003). The Case for Conserving Threespine Stickleback Populations. *Fisheries*, 28(5), 10–18.
- Foster, S. A. (2010). Threespine Stickleback. In J. M. Michael D. Breed (Ed.), *Encyclopedia of Animal Behavior* (pp. 413–419).
- Franco-Belussi, F., De Oliveira, C. & Sköld, H. N. (2018). Regulation of eye and jaw colouration in three-spined stickleback *Gasterosteus aculeatus*. *Journal of Fish Biology*, 92(6), 1788–1804.
- Fuller, P., Dettloff, K. & Sturtevant, R. (2021). *Gasterosteus aculeatus* Linnaeus, 1758: U.S. Geological Survey. Retrieved from <https://nas.er.usgs.gov/queries/FactSheet.aspx?SpeciesID=702>

- Galloway, J., Cresko, W.A. & Ralph, P. (2020). A Few Stickleback Suffice for the Transport of Alleles to New Lakes. *G3*, 10(2), 505–514.
- Garcia-Elfring, A., Paccard, A., Thurman, T. J., Wasserman, B. A., Palkovacs, E. P., Hendry, A. P. & Barrett, R. D. H. (2021). Using seasonal genomic changes to understand historical adaptation to new environments: Parallel selection on stickleback in highly- - variable estuaries. *Molecular Ecology*, 30(9), 2054–2064.
- Google earth V6.2.2.6613. (n.d.). Retrieved from <https://earth.google.com/web/>
- Gross, H. P. (1978). Natural selection by predators on the defensive apparatus of the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L. *Canadian Journal of Zoology*, 56, 398–413.
- Gupta, A.S., Brown, J. N., Jourdain, N. C., Sebille, E.V., Ganachaud, A. & Vergés, A. (2015). Episodic and non-uniform shifts of thermal habitats in a warming ocean. *Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 113, 59–72.
- Hammerson, G. (2008). *Gasterosteus aculeatus*. Retrieved from https://explorer.natureserve.org/Taxon/ELEMENT_GLOBAL.2.104745/Gasterosteus_aculeatus
- Head, M.L., Kozak, G.M. & Boughman, J. W. (2013). Female mate preferences for male body size and shape promote sexual isolation in threespine sticklebacks. *Ecology and Evolution*, 3(7), 2183–2196.
- Huntingford, F.A. & Ruiz-Gomez, M. L. (2009). Three-spined sticklebacks *Gasterosteus aculeatus* as a model for exploring behavioural biology. *Journal of Fish Biology*, 75(8), 1943–1976.
- Ishikawa, A. & Kitano, J. (2020). Diversity in reproductive seasonality in the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. *Journal of Experimental Biology*, 223.
- Jacquemin, S.J. & Pyron, M. (2016). A century of morphological variation in Cyprinidae fishes. *Biomed Central Ecology*, 16(1).
- Jarić, I., Lennox, R. J., Kalinkat, G., Cvijanović, G. & Radinger, J. (2019). Susceptibility of European freshwater fish to climate change: Species profiling based on life-history and environmental characteristics. *Global Change Biology*, 25(2), 448–458.
- Jenck, C.S., Lehto, W.R., Ketterman, B.T., Sloan, L.F., Sexton, A.N. & Tinghitella, R. M. (2020). Phenotypic divergence among threespine stickleback that differ in nuptial coloration. *Ecology and Evolution*, 10(6), 2900–2916.
- Katsiadaki, I., Scott, A.P. & Mayer, I. (2002). The potential of the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.) as a combined biomarker for oestrogens and androgens in European waters. *Marine Environmental Research*, 54, 725–728.

- Kinne, O. (n.d.). Growth, food intake, and food conversion in a euryplastic fish exposed to different temperatures and salinities. *Physiological Zoology*, 33(4).
- Kitano, J., Ishikawa, A., Kume, M. & Mori, S. (2012). Physiological and genetic basis for variation in migratory behavior in the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. *Ichthyological Research*, 59(4), 293–303.
- Kottelat, M. & Freyhof, J. (2007). Family Gasterosteidae. In *Handbook of European Freshwater Fishes* (pp. 490–499).
- Kristjánsson, B. . K. (2005). Rapid morphological changes in threespine stickleback, *Gasterosteus aculeatus*, in freshwater. *Environmental Biology of Fishes*, 74, 357–363.
- Magalhaes, I. S., D'Agostino, D., Hohenlohe, P. A. & MacColl, A. D. C. (2016). The ecology of an adaptive radiation of three-spined stickleback from North Uist, Scotland. *Molecular Ecology*, 25(17), 4319–4336.
- Mazzarella, A. B., Voje, K. L., Hansson, T. H., Taugbøl, A. & Fischer, B. (2015). Strong and parallel salinity-induced phenotypic plasticity in one generation of threespine stickleback. *Journal of Evolutionary Biology*, 28(3), 667–677.
- McGee, M.D., Schluter, D. & Wainwright, P. C. (2013). Functional basis of ecological divergence in sympatric stickleback. *BMC Evolutionary Biology*, 13, 277.
- Miller, C.T., Glazer, A.M., Summers, B.R., Blackman, B.K., Norman, A.R., Shapiro, M.D., Cole, B.L., Peichel, C.L., Schluter, D. & Kingsley, D. M. (2014). Modular skeletal evolution in sticklebacks is controlled by additive and clustered quantitative trait loci. *Genetics*, 197, 405–420.
- Moodie, G. E. E. (1972). Morphology, life history, and ecology of an unusual stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) in the Queen Charlotte Islands, Canada. *Canadian Journal of Zoology*, 50, 721–732.
- Morgan, I.J., McDonald, D.G. & Wood, C. M. (2001). The cost of living for freshwater fish in a warmer, more polluted world. *Global Change Biology*, 7(4), 345–355.
- Morris, M.R.J., Petrovitch, E., Bowles, E., Jamniczky, H.A. & Rogers, S. M. (2017). Exploring Jordan's rule in Pacific three-spined stickleback *Gasterosteus aculeatus*. *Journal of Fish Biology*, 91(2), 645–663.
- NatureServe. (2019). *Gasterosteus aculeatus*. Retrieved from <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2019-2.RLTS.T8951A58295405.en>.
- Norton, W.H.J. & Gutiérrez, H. C. (2019). The three-spined stickleback as a model for behavioural neuroscience. *PLoS ONE*, 14(3), 1–18.
- Olusanya, H. O. & Jong, M. V. Z. (2018). Assessing the vulnerability of freshwater fishes to

- climate change in Newfoundland and Labrador. *PLoS ONE*, 13(12), 1–13.
- Page, L.M., Burr, B. . &. (2011). *A field guide to freshwater fishes of North America north of Mexico*. (H. M. Harcourt, Ed.). Boston.
- Pellissier, L., Bråthen, K.A., Vittoz, P., Yoccoz, N.G., Dubuis, A., Meier, E.S., Zimmermann, N.E., Randin, C.F., Thuiller, W., Garraud, L., Es, V. J. & Guisan, A. (2013). Thermal niches are more conserved at cold than warm limits in arctic-alpine plant species. *Global Ecology and Biogeography*, 22(8), 933–941.
- Ramanathan, V. & Feng, Y. (2008). On avoiding dangerous anthropogenic interference with the climate system : Formidable challenges ahead. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(38), 14245–14250.
- Roches, S.D., Bell, M.A. & Palkovacs, E. P. (2020). Climate-driven habitat change causes evolution in Threespine Stickleback. *Global Change Biology*, 26(2), 597–606.
- Rolls, R. J., Heino, J., Ryder, D. S., Chessman, B. C., Grown, I. O., Thompson, R. M. & Gido, K. B. (2018). Scaling biodiversity responses to hydrological regimes. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 93(2), 971–995.
- Salin, K., Auer, S.K., Anderson, G.J., Selman C. & Metcalfe, N. B. (2016). Inadequate food intake at high temperatures is related to depressed mitochondrial respiratory capacity. *The Journal of Experimental Biology*, 219, 1356–1362.
- Scharsack, J.P., Franke, F., Erin, N.I., Kuske, A., Büscher, J., Stolz, H., Samonte, I.E., Kurtz, J. & Kalbe, M. (2016). Effects of environmental variation on host – parasite interaction in three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*). *Zoology*, 119(4), 375–383.
- Schluter, D., & Conte, G. L. (2009). Genetics and ecological speciation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(1), 9955–9962.
- Shi, Z., Zhang, J., Wu, H., Yang, J. & Hu, M. (2020). Taxonomic diversity pattern and composition of fish species in the upper reaches of Ganjiang River, Jiangxi, China. *PLoS ONE*, 15(11), 1–17.
- Sinervo, B. & Svensson, E. (2002). Correlational selection and the evolution of genomic architecture. *Heredity*, 89, 329–338.
- Sługocki, Ł., Czerniawski, R., Kowalska-Górska, M., Senze, M., Reis, A., Carrola, J. S. & Teixeira, C. A. (2018). The Impact of Land Use Transformations on Zooplankton Communities in a Small Mountain River (The Corgo River , Northern Portugal). *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(1), 20.
- Smith, C., Zięba, G., Spence, R. & Przybylski, M. (2020). New finding of melanic three-spined sticklebacks *Gasterosteus aculeatus* in the Scottish Hebrides. *Journal of Vertebrate*

Biology, 69(4).

- Spence, R., Wootton, R. J., Barber, I., Przybylski, M. & Smith, C. (2013). Ecological causes of morphological evolution in the three-spined stickleback. *Ecology and Evolution*, 3(6), 1717–1726.
- Taugbøl, A., Quinn, T.P., Østbye, K. & Vollestad, L. A. (2020). Allometric relationships in morphological traits associated with foraging , swimming ability , and predator defense reveal adaptations toward brackish and freshwater environments in the threespine stickleback. *Ecology and Evolution*, 10(23), 13412–13426.
- Tickner, D., Opperman, J. J., Abell, R., Acreman, M., Arthington, A. H., Bunn, S. E., Cooke, S. J., Dalton, J., Darwall, D.W., Edwards, G., Harrison, I., Hughes, K., Jones, T., Leclère, D., Lynch, A. J., Leonard, P., McClain, M. E., Muruven, D., Olden, J., L. (2020). Bending the Curve of Global Freshwater Biodiversity Loss : An Emergency Recovery Plan. *BioScience*, 70(4), 330–342.
- Vila, M., Hermida, M., Fernández, C., Perea, S., Doadrio, I., Amaro, R. & San Miguel, E. (2017). Phylogeography and Conservation Genetics of the Ibero-Balearic Three-Spined Stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). *PLoS ONE*, 12(1).
- Webster, M.M., Atton, N., Hart, P.J.B. & Ward, A. J. W. (2011). Habitat-Specific Morphological Variation among Threespine Sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*) within a Drainage Basin. *PLoS ONE*, 6(6).
- Yurtseva, A., Noreikiene, K., Lajus, D., Li, Z., Alapassi, T., Ivanova. T., Ivanov, M., Golovin, P., Vesala, S. & Merilä, J. (2019). Aging three-spined sticklebacks *Gasterosteus aculeatus* : comparison of estimates from three structures. *Journal of Fish Biology*, 95(3), 802–811.

6. Anexos

Anexo 1 Estado de arte

Distribuição e abundância

O esgana-gata revela uma enorme diversidade inter-populacional remetente aos padrões de migração (Kitano *et al.*, 2012). É composto por populações largamente distribuídas e fenotipicamente bastante diferenciadas contendo algumas populações, que são mesmo biologicamente separadas (Alexandre & Almeida, 2009).

O esgana-gata é um peixe comum de distribuição circum-ártica (Clavero *et al.*, 2009; Collares-Pereira *et al.*, 2021), habitats oceânicos e costeiros de água doce (Ishikawa & Kitano., 2020), tendo uma grande diferenciação adaptativa populacional neste ambiente que aconteceu desde que o gelo glacial recuou desde há quinze mil anos até aos dias de hoje. Com a diminuição do gelo nas regiões costeiras, o esgana-gata oceânico começou a colonizar os habitats de água doce formados recentemente (Foster., 2010), dado ser um teleósteo que suporta grandes mudanças de salinidade (Franco-Belussi *et al.*, 2018). O esgana-gata tem uma grande distribuição no hemisfério norte (Spence *et al.*, 2013; Webster *et al.*, 2011), com ocorrência em zonas temperadas até ao sul do Mar Negro, Itália, Península Ibérica (limite sul mundial), Ásia ocidental a norte do Japão, América do Norte e Portugal tendo uma distribuição descontínua com maior incidência no centro e norte (Figura 1) (Collares-Pereira *et al.*, 2021).

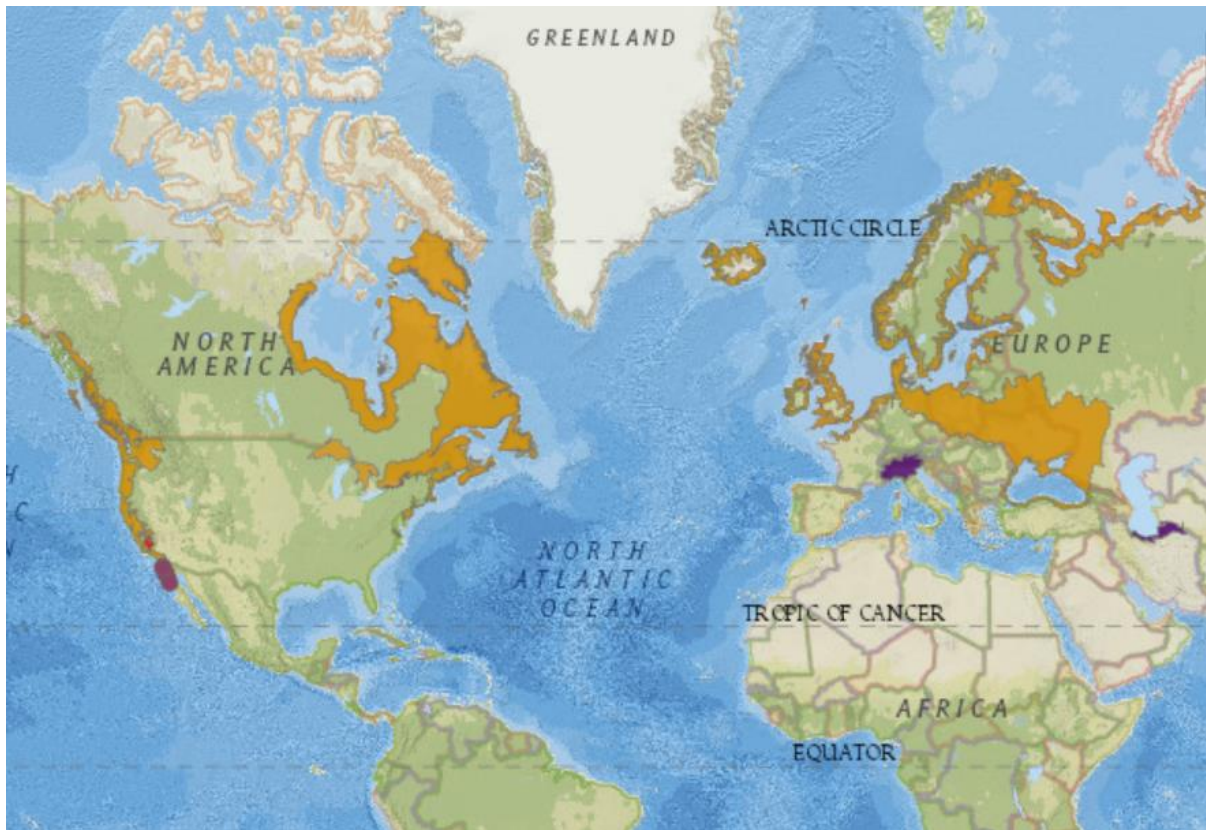


Figura 1. Mapa da distribuição global da espécie *Gasterosteus aculeatus*. As cores demonstram o tipo de existência em cada região, ■ Existente (residente); ■ Possivelmente existente (residente); ■ Existente e Introduzido (residente); ■ Extinto (NatureServe, 2019).

O esgana-gata, por ter uma distribuição variada, demonstra especificidades relativamente à utilização dos recursos. A sua morfologia variada está em grande parte ligada à especialização do habitat, promovendo alterações no formato do corpo que lhe conferem uma maior habilidade em termos de alimentação, índice de crescimento e a própria fisiologia corporal (Webster *et al.*, 2011). O esgana-gata tem assim preferência por troços médios e inferiores dos rios de baixa latitude, cursos de água livres com alguma vegetação e águas mais lânticas (Collares-Pereira *et al.*, 2021).

Existe uma grande diversidade de fatores tanto bióticos como abióticos que motivam a preferência por esta espécie de determinados habitats, e entre os quais estão a quantidade de oxigénio dissolvido, a velocidade e profundidade da corrente, a existência ou não de vegetação e as peculiaridades do sedimento (Alexandre & Almeida., 2009).

Dinâmica de movimentos e migração

Espécies de peixes relacionadas entre si e mesmo populações dentro da mesma espécie, exibem vários padrões de migração distintos (Kitano *et al.*, 2012). Estes padrões de migração podem estar relacionados com características fisiológicas e comportamentais que se manifestam através da regulação de hormonas. Essas características que criam divergências nos padrões de migração entre as espécies e entre as próprias populações, respondem a fatores como salinidade das águas, taxas metabólicas, resistência à natação e a osmorregulação (Kitano *et al.*, 2012).

No entanto, quando falamos dos padrões de migração existem sempre vantagens e desvantagens inerentes (Arai *et al.*, 2020; Kitano *et al.*, 2012).

Em termos de vantagens temos fatores como procura de alimento, impedimento de predação e uma melhor aptidão reprodutiva. Desvantagens estão relacionadas com um maior gasto energético, existência de stress osmorregulatório e nos locais de residência existe maior probabilidade de risco de predação. destas vantagens e desvantagens vão levar a determinados custos e benefícios, que divergirão tendo em conta o habitat de cada espécie (Arai *et al.*, 2020; Kitano *et al.*, 2012).

A fácil variação adaptativa tanto morfológica como fisiológica (Franco-Belussi *et al.*, 2018) que o esgana-gata possui confere-lhe a aquisição de diversas formas, existindo por toda a sua distribuição populações marinhas, anádromas e de água doces (Arai *et al.*, 2020; Spence *et al.*, 2013).

Sabemos que a forma marinha é a forma ancestral, sendo genética e fenotipicamente mais homogénea. A forma de água doce advem de invasões, por ancestrais anádromos, em habitats de água doce (Spence *et al.*, 2013).

Populações anádromas estão grande parte da sua vida adulta no oceano, ambientes marinhos ou em águas salobras, tendo assim vulgarmente migração residente estuarina formando entre Julho e Agosto grandes agregados para alimentação (Arai *et al.*, 2020). Estas populações migram para ambientes de água doce apenas na primavera para se reproduzirem (Kitano *et al.*, 2012), tendo desta forma um maior custo a nível energético e de osmorregulação (Arai *et al.*, 2020). Os juvenis voltam ao mar apenas no Outono, no entanto, este retorno está dependente dos locais onde as populações se encontram, pois a desova tende a ser mais precoce nas populações que estão nas latitudes mais baixas contrariamente ao que acontece nas populações que se encontram em latitudes mais altas (Kitano *et al.*, 2012).

Populações de água doce estão durante toda a sua vida nestes habitats alternando apenas entre lagos e rios. Não estão presentes em locais de gradiente elevado e apenas muito

esporadicamente são vistos acima do nível da água do mar (Fuller *et al.*, 2021) e com populações de forma anádroma (Kitano *et al.*, 2012). A única situação em que é visível esgana-gata anádromos e de água doce no mesmo local ocorre quando os habitats das formas de água doce têm alguma conexão ao mar e os locais de desova das formas anádromas e da forma residente acabam por ser os mesmos (Kitano *et al.*, 2012).

Esgana-gata residentes têm mostrado, desde a última glaciação, em que tiveram de se adaptar fenotipicamente, que têm a capacidade de exercer uma evolução adaptativa bastante rápida, comparativamente, a outros taxa (Barrett *et al.*, 2011).

Muitas vezes existe o isolamento geográfico nas populações de água doce de esgana-gata que evitam a migração direta, mas estudos recentes revelam que existe a possibilidade de “transporte”, já sugerida em 2009 por Schluter & Conte, de alelos para a adaptação em água doce por indivíduos marinhos através do fluxo genético das populações de água doce para as marinhas (Galloway *et al.*, 2020; Schluter & Conte., 2009). O que se passaria durante este processo de transporte é que os alelos com benefícios para os ambientes de água doce seriam mantidos em equilíbrio na população oceânica e disponíveis nos processos de adaptação em ambientes de água doce, ou seja, alelos que conferem adaptação em água doce seriam transportados para outros lagos (Galloway *et al.*, 2020). Tudo isto porque a maioria dos alelos importantes para adaptações em água doce existem em indivíduos marinhos por causa do fluxo genético que acontece de populações de água doce para as populações marinhas. Todos estes fatores explicam a rápida evolução existente por estas populações nestes ambientes (Galloway *et al.*, 2020).

Variabilidade Biológica e Ecológica

O esgana-gata como a maioria dos peixes de água doce no Hemisfério Norte como é o caso do esgana-gata, são bastante polimórficos. Este polimorfismo poderá ser causado pela utilidade que cada grupo de indivíduos emprega aos recursos que lhe são fornecidos. Semelhanças em algumas características poderão existir em grupos diferentes, mas no qual o ambiente ecológico é idêntico, o que é indicador da relevância da seleção natural nas evoluções divergentes (Kristjánsson., 2005).

Um exemplo deste polimorfismo nas populações de esgana-gata está relacionado com o número de raios da barbatana dorsal, anal e peitoral. O número de raios da barbatana dorsal e anal aumenta com o aumento da latitude, contrariamente ao que acontece com o número de raios da barbatana peitoral que diminui com o aumento da latitude (Yurtseva *et al.*, 2019).

Morris, em 2017, explora a teoria defendida por Jordan, em 1891, onde este autor defende que peixes que se encontravam em águas mais frias, ou seja, latitudes mais altas, mar aberto ou em águas profundas, tinham uma tendência para conter um número superior de vértebras do que espécies de águas a latitudes mais baixas onde a temperatura é mais elevada, e os mares menos profundos (Morris *et al.*, 2017). No entanto, em 1847 Bergmann já tinha formulado uma regra que explicava parcialmente o que Jordan mencionou posteriormente na sua teoria. Bergmann afirmava que o tamanho do corpo aumenta com a diminuição da temperatura. Adicionalmente o *Pleomerism*, explicado por Lindsey em 1975, relacionava indivíduos de maior porte com um maior número de vértebras, o que também sustenta a teoria de Jordan (Morris *et al.*, 2017).

Morfologia e Alimentação

Contrariamente à grande parte dos peixes, o corpo do esgana-gata, fusiforme e comprido lateralmente, não contém as vulgares escamas, mas sim a ausência ou presença de placas dérmicas laterais, derivadas da modificação de escamas. Estas placas são rugosas e firmes variando em número e tamanho tendo em conta as características do habitat e funcionando como proteção (Foster *et al.*, 2003; Collares-Pereira *et al.*, 2021). Com cabeça pequena e pedúnculo caudal estreito, são constituídos também por uma cintura pélvica espinhosa e espinhos dorsais, sendo que estes constituintes têm diferentes dimensões entre os indivíduos das diferentes populações (Spence *et al.*, 2013). A condição morfológica mais relevante que o intitula por “*threespine stickleback*” é a existência de três espinhos no dorso, na zona anterior à barbatana dorsal tendo, assim como as placas ósseas, a função de proteção (Alexandre & Almeida, 2009). As barbatanas dorsais são constituídas por raios simples espinhosos, individualizados e firmes. A primeira barbatana dorsal tem normalmente mais do que três raios simples espinhosos, sendo estes bem desenvolvidos e isolados e a segunda barbatana dorsal contém 6-14 raios ramificados. As barbatanas caudal e pélvicas têm raios simples, firmes e salientes, sendo que nas barbatanas pélvicas podem conter um raio simples espinhoso e 1 a 2 raios ramificados e a barbatana caudal contém cerca de 12 raios ramificados (Alexandre & Almeida, 2009; Page & Burr, 2011; Collares-Pereira *et al.*, 2021). As barbatanas peitorais contêm entre 8 a 11 raios (Kristjánsson *et al.*, 2005).

Tendo em conta estas condições e baseando-se na disposição e número das placas laterais, que é o aspeto morfológico que mais alterou nestas mudanças, caracterizaram-se três morfologias diferentes destes organismos.

“Morfologia completa” na qual as placas laterais estão dispostas numa linha contínua a iniciar na parte anterior do peixe em direção à parte posterior. “Forma parcial”, na qual existem placas nos limites do corpo, parte anterior e posterior e outra parte sem placas entre estas duas extremidades. Por último, a terceira morfologia é designada de “forma baixa”, em que apenas a parte anterior do corpo está revestida por placas e a restante parte do corpo se encontra desadornado (Spence *et al.*, 2013).

Considera-se ainda importante referir que esta espécie tem uma sub-espécie descrita, *Gasterosteus aculeatus williamsoni*, que existe apenas em drenagens no Sul da Califórnia, uma forma rara e ameaçada, que tem o corpo completamente despido de placas (Spence *et al.*, 2013). Estas morfologias estão em grande parte ligadas à forma das populações, agentes seletivos presentes nos diferentes habitats e inteiramente relacionadas com a história evolutiva das mesmas.

As populações anádromas apresentam morfologia completa ou parcial, enquanto as populações de água doce apresentam morfologia baixa contendo, em alguns casos, um número reduzido de placas, espinhos dorsais e na cintura pélvica (Spence *et al.*, 2013).

A forma de esgana-gata de água doce evoluiu neste sentido porque geneticamente os mesmos alelos das placas laterais e estruturas pélvicas foram o suporte para esta evolução. Uma perceção mais complexa é a existência de diferentes formas de placas e colunas em habitats muito distintos, em que a hipótese mais sustentada para estas adaptações, está relacionada com o tipo e intensidade da predação e a biodisponibilidade de cálcio dissolvido que quando demasiado baixa, leva a limitações no crescimento das estruturas ósseas (Spence *et al.*, 2013).

Todas estas mudanças de forma e tamanho do esgana-gata têm interferência de fatores genéticos e plásticos (Taugbøl *et al.*, 2020).

A alimentação e a complexidade do habitat também podem ser outra interferência nas diferenças morfológicas de esgana-gata (Fuller *et al.*, 2021). O esgana-gata, como já referido, devido ao seu tamanho normalmente muito pequeno é predado com muita frequência por várias espécies de peixes (Taugbøl *et al.*, 2020). A predação é uma forma seletiva que modifica com a salinidade e esta pode levar a adaptações anti-predatórias e por isso ser responsável pela diversidade de formatos morfológico visualizadas entre esgana-gata de água doce e marinha (Mazzarella *et al.*, 2015; Taugbøl *et al.*, 2020). No esgana-gata marinho, o seu maior número de placas irá aumentar a possibilidade de sobrevivência face ao ataque por um predador e a diminuição de predação nas populações de água doce poderá ter feito com que tenha acontecido a diminuição de placas nesta forma da espécie (Taugbøl *et al.*, 2020). O tamanho dos espinhos também é mais longo, como vulgarmente acontece com muitos indivíduos de água doce, pois

são preventivos contra predadores. Em áreas onde existem mais predadores estes espinhos tendencialmente tendem a ser mais longos do que em locais onde a predação é mínima ou quase ausente (Taugbøl *et al.*, 2020).

Relativamente à forma bentónica-limnética desta espécie, vários estudos revelaram que as diferenças já abordadas relativas ao tamanho e forma do corpo devem-se à adequação aos ambientes de alimentação e conseqüentemente predação (Head *et al.*, 2013).

Quando vivem em zonas mais superficiais, forma limnética, o esgana-gata tem uma morfologia e alimentação diferente dos peixes bentónicos (Fuller *et al.*, 2021). Os primeiros alimentam-se de zooplâncton e o seu corpo tem formatação de modo a aumentar a captura de presas planctónicas evasivas, são mais aerodinâmicos, esguios, boca mais pequena e estreita virada para cima, olhos maiores, têm uma protrusão da mandíbula e uma melhor capacidade de deslocamento no sistema de alavanca de abertura mandíbula inferior e no sistema de articulação opercular de quatro barras (Fuller *et al.*, 2021; McGee *et al.*, 2013). Esta morfologia permite aos esgana-gata limnéticos terem uma ótima capacidade de natação durante um tempo mais prolongado e também lhes confere uma boa capacidade de se alimentar entre o zooplâncton e escapar a predadores (Head *et al.*, 2013). Em contrapartida, os esgana-gatas bentónicos alimentam-se de invertebrados bentónicos como crustáceos e insetos larvais e morfologicamente têm o corpo mais robusto, olhos mais pequenos e uma boca maior e larga, cabeças mais profundas, uma enorme capacidade de gerar sucção e musculatura epaxial muito hipertrofiada (Fuller *et al.*, 2021; Taugbøl *et al.*, 2020). Estas características permitem aos peixes bentónicos serem mais maleáveis e assim alimentarem-se de forma eficaz, pois o seu alimento encontra-se no sedimento ou vegetação e ajuda também a que consigam escapar de predadores (Head *et al.*, 2013).

A forma anádroma tem normalmente uma cabeça mais curta do que os indivíduos de água doce (Head *et al.*, 2013).

A dentição também sofreu mudanças morfológicas na adaptação de populações marinhas oceânicas para as populações lacustres, pensa-se que também devido à dieta (Ellis *et al.*, 2017). Neste sentido, a mandíbula oral será utilizada pelo esgana-gata para capturar presas e alimentação por sucção, enquanto, que para mastigar os alimentos utilizam a mandíbula e os dentes da faringe. Deste modo, as populações de água doce sofreram um aumento no número de dentes da faringe com a finalidade de conseguirem alimentar-se de presas maiores (Ellis *et al.*, 2017).

Em grande parte, todas estas alterações morfológicas estão interligadas com as oportunidades de alimentação (Taugbøl *et al.*, 2020).

Para além do número de placas ósseas laterais e do tamanho do corpo, a nível fisiológico existem outras alterações que condicionam e mobilizam a sua distribuição, como é o caso das mudanças que ocorrem muitas vezes durante a época de reprodução e a própria coloração (Alexandre & Almeida, 2009).

Reprodução

A reprodução é uma das características mais relevantes para determinação da aptidão entre os indivíduos, desenvolvendo durante este período algumas características de extrema importância (Ishikawa & Kitano., 2020). Como demonstrado anteriormente, o formato e dimensões do corpo de esgana-gata são muito importantes para a alimentação e predação tendo em conta os diversos habitats (Head *et al.*, 2013). No entanto, estas características também são muito importantes pelas preferências em termos da escolha de parceiro reprodutivo, tendo por base a forma de esgana-gata e os seus ambientes (Head *et al.*, 2013).

As fêmeas da forma anádroma escolhem o parceiro tendo em conta tanto a forma como o tamanho, evitando machos anádromos grandes e esguios de forma limnéticas, pois isso sugeria que os machos eram malnutridos e por isso não estavam em boas condições para a reprodução ou por outro lado que machos magros não são tão aptos. Relativamente às fêmeas bentónicas apenas o tamanho tem interferência na escolha do parceiro, preferindo machos de grande porte pois conseguem evitar melhor a predação. A fêmea limnética tem por base a forma do macho, preferindo machos de formas mais extremas e mais bem adaptados, ou seja, machos que revelem ter boas condições fenotípicas e que demonstrem características que sejam indicadores de bons atributos genéticos que ajudam no aumento da fertilidade e que proporcionam bons atributos à descendência. (Head *et al.*, 2013).

A reprodução tem um grande dispêndio de energia e deste modo é apenas realizada em locais e épocas do ano ideais para minimizar os gastos e permitir uma maior sobrevivência da descendência. Os fatores mais tomados em conta para esta maximização do sucesso reprodutor são a quantidade de alimento disponível, a quantidade de predadores e o modo como o ambiente se encontra, ou seja, a temperatura e a precipitação serem equacionadas de modo que a prole sobreviva e cresça em condições ótimas para a espécie (Ishikawa & Kitano., 2020).

A desova ocorre em lagoas, rios, canais de drenagem, pântanos e zonas sub-litorais do mar (Fuller *et al.*, 2021) entre a primavera e o verão (Franco-Belussi *et al.*, 2018), normalmente entre Abril e Junho, quando a temperatura das águas atinge os 14°C a 16°C (Alexandre & Almeida, 2009; Collares-Pereira *et al.*, 2021). No entanto, a altura do ano poderá variar tendo

em conta o local onde as populações se encontram, pois populações que estão geograficamente em latitudes mais baixas costumam ter o período reprodutivo mais precoce e mais extenso do que populações que se encontram em latitudes mais altas (Ishikawa & Kitano, 2020).

A temperatura é um fator importante para o desenvolvimento de caracteres sexuais secundários e para a própria maturação sexual. Temperaturas elevadas ajudam a acelerar o processo de maturação das gónadas e ajudam a acelerar o desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários. Temperaturas baixas retardam a maturação sexual nos machos, mas por outro lado impedem o decréscimo da atividade reprodutiva posteriormente à época de reprodução (Ishikawa & Kitano., 2020).

As populações anádromas, que habitualmente se encontram em áreas costeiras, durante o período reprodutivo, e mais especificamente no início da primavera, migram ao longo do rio para habitas ribeirinhos para se reproduzir (Alexandre & Almeida., 2009).

Um pouco antes da desova época de desova, os machos desta espécie, que normalmente são mais pequenos que as fêmeas, desenvolvem alguns caracteres sexuais secundários (Alexandre & Almeida, 2009; Ishikawa & Kitano, 2020; Collares-Pereira *et al.*, 2021), a hipertrofia renal e modificação das cores de reprodução (Ishikawa & Kitano, 2020), tais como a alteração da cor nos olhos ficando com uma coloração azul e na zona ventral anterior e na mandíbula adquirem cor vermelha ou laranja-escuro (Alexandre & Almeida, 2009; Smith *et al.*, 2020; Franco-Belussi *et al.*, 2018; Collares-Pereira *et al.*, 2021).

A mandíbula de cor vermelha está normalmente associada a uma maior sobrevivência dos descendentes e uma maior resistência a doenças levando a que seja revelador para as fêmeas, de melhor aptidão e cuidado parental (Franco-Belussi *et al.*, 2018; Huntingford & Ruiz-Gomez, 2009). Relativamente à cor dos olhos, este atributo também demonstrou ser responsável por chamar à atenção das fêmeas (Flamarique *et al.*, 2013).

Tanto na mandíbula como nos olhos existe uma maior intensidade de cor durante o ritual de corte, mas a coloração vermelha alcança o seu máximo na parentalidade (Franco-Belussi *et al.*, 2018). Estas colorações ornamentais desaparecem se os peixes sofrerem manipulação (Franco-Belussi *et al.*, 2018).

Contrariamente aos machos, as fêmeas e os juvenis apresentam a mesma coloração durante todo o ano. Possuem uma coloração prateada e castanha nos olhos e no corpo, para que consigam contrastar com o fundo (Franco-Belussi *et al.*, 2018).

As fêmeas de forma anádroma atingem a maturação sexual apenas uma vez por ano e morrem de cansaço a seguir ao ciclo de desova (Collares-Pereira *et al.*, 2021; Kottelat & Freyhof, 2007).

A desova acontece repartida em vários momentos, num ninho feito com pedaços de plantas e

colados através de substância expelida pelos rins (Ishikawa & Kitano., 2020). Este ninho é construído pelos machos, que são poligâmicos, em locais com vegetação (Clavero *et al.*, 2009) onde uma ou mais fêmeas são atraídas, através de danças, para realizar as posturas podendo libertar até 1000 oócitos durante 1 a 4 dias. (Alexandre & Almeida, 2009; Fuller *et al.*, 2021; Collares-Pereira *et al.*, 2021; Norton & Gutiérrez, 2019). Após a postura as fêmeas são expulsas dos ninhos para que os machos possam entrar e fertilizar e a partir daí, os ovos são vigiados e ventilados pelos machos através da barbatana peitoral (Alexandre & Almeida, 2009; Collares-Pereira *et al.*, 2021).

Em ambientes de água doce, sendo a forma residente desta espécie, a desova ocorre repartida por vários locais, sendo menos vulgar em montanhas e em ribeiros de regime hidrológico permanente e conseguem realizar vários ciclos de desova durante um ano e até durante outros anos (Alexandre & Almeida, 2009; Kottelat & Freyhof, 2007)

Em várias populações do Noroeste do Pacífico da América do Norte e em número mais reduzido, em populações no Reino Unido, mais em específico em North Uist, os machos de esgana-gata, contrariamente às restantes populações de outros países do Hemisfério Norte, foram registados com uma coloração melânica durante a época reprodutiva. Esta coloração caracteriza-se pela mandíbula de cor preta em vez de vermelha e o corpo também preto (Jenck *et al.*, 2020). Estas mudanças morfológicas inerentes a estas populações alopátricas estão habitualmente relacionadas com hotspots de diversidade de esgana-gata. Esta coloração será a condição plesiomórfica (caraterística primitiva da linhagem ancestral) para a coloração nupcial dos machos desta espécie (Smith *et al.*, 2020).

Anexo 2. Nomenclatura dos lagos e a respetiva abreviatura dos mesmos em cada país. Expresso o número de peixes utilizados nas análises, amostrados em cada um desses lagos

País	Lago	Abreviatura	Nº de peixes por lago
Escócia	Aonghais	AONG	34
	Mhic a'Roin	AROI	34
	na Buaile	BUAI	20
	Chadha Ruaidh	CHRU	32
	na Creige	CREI	34
	an Daimh	DAIM	33
	Dubhasaraidh	DUBH	33
	Eisiadar	EISI	33
	nam Feithean	FEIT	33
	Fhaing Buidhe	FHAI	32
	nan Geireann	GEIR	25
	Mhic Gille-bhríde	GILL	31
	Grogary	GROG	34
	Hosta	HOST	34
	Iala	IALA	35
	nam Magarlan	MAGA	35
	ne Gearrachun	NAGE	34
	na Reival	REIV	35
	Sandary	SAND	35
Trosavat	TROS	35	
Islândia	Apavatn	APAV	13
	Bakkatjorn	BAKK	35
	Baulárvallavatn	BAUL	35
	Blönduós lake	BLON	35
	Brokarvatn	BROK	35
	Eidarvatn	EIDA	35
	Elliðavatn	ELLI	35
	Flodid	FLOD	35
	Galtabol	GALT	35
	Grettislaug	GRET	35
	Grjotarvatn	GRJO	35
	Hlíðarvatn	HLID	35
	Holsvatn	HOLS	35
	Hredavatn	HRED	35
	Kleifarvatn	KLEI	25
	Laugarvatn	LAUG	35
	masvatn	MASV	34
mjoavatn	MJOA	35	
myvatn-lava	MYVL	33	

Anexo 2 (cont.). Nomenclatura dos lagos e a respetiva abreviatura dos mesmos em cada país. Expresso o número de peixes utilizados nas análises, amostrados em cada um desses lagos

País	Lago	Abreviatura	Nº de peixes por lago
Islândia	myvatn-mud	MYVM	35
	nesvatn	NESV	35
	Raudavatn	RAUD	35
	Sauravatn	SAUR	35
	Skorradalsvatn	SKOR	40
	Svínavatn	SVIN	12
	Thingvallavatn-mud	THIM	35
	Thingvallavatn-lava	THIN	35
	Urridavatn	URR2	35
	Urridakotsvatn	URRI	34
Canadá	Ambrose	AMBR	29
	Beaver	BEAV	30
	Blackburn	BLAC	31
	Brannen	BRAN	30
	Bullocks	BULL	21
	Cranby	CRAN	30
	Dougan	DOUG	30
	Errock	ERRO	30
	Hoggan	HOGG	30
	Hotel	HOTE	35
	Kennedy	KENN	30
	Kirk	KIRK	30
	Lily	LILY	30
	Maxwell	MAXW	30
	North	NORT	14
	Sproat	SPRO	30
	Stowell	STOW	30
	Trout	TROU	30
	Falck	FALK	31
	Visnaw	VISN	30
Seymour	SEYM	30	
Corcoran	CORC	30	
Alaska	Luci	LUCI	30
	Barley	BARL	30
	Jade	JADE	30
	Big	BIGL	30
	Lynda	LYND	30
	Litle Meadow creek	MEAD	30
	Long	LONG	30
	Beaver House	BEHO	30

Anexo 2 (cont.). Nomenclatura dos lagos e a respetiva abreviatura dos mesmos em cada país. Expresso o número de peixes utilizados nas análises, amostrados em cada um desses lagos

País	Lago	Abreviatura	Nº de peixes por lago
Alaska	Bruce	BRUC	29
	Arness	ARNE	30
	Duck	DUCK	30
	Community	COMM	16
	Daniel	DANI	30
	X	XLAK	16
	Wolf	WOLF	29
	Walby	WALB	30
	Jean	JEAN	30
	Term	TERN	30

Referências Bibliográficas:

- Ahnelt, H. (2018). Imprecise naming: the anadromous and the sea spawning threespine stickleback should be discriminated by names. *Springer*, 73, 389–392.
- Alexandre, C.M., Quintella, B.R., Ferreira, A.F., Romão, F.A. & Almeida, P. R. (2014). Swimming performance and ecomorphology of the Iberian barbel *Luciobarbus bocagei* (Steindachner, 1864) on permanent and temporary rivers. *Ecology of Freshwater Fish*, 23, 244–258.
- Alexandre, C.M. & Almeida, P. R. (2009). Summer survival and habitat characteristics of a threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.) Southern European population. *Limnetica*, 28(1), 125–138.
- Anderson, M.J., Gorley, R.N. & Clarke, K. R. (n.d.). PERMANOVA+ for PRIMER: guide to software and statistical methods. PRIMER-E Ltd.
- Arai, T., Ueno, D., Kitamura, T. & Goto, A. (2020). Habitat preference and diverse migration in threespine sticklebacks, *Gasterosteus aculeatus* and *G. nipponicus*. *Scientific Reports*, 10(1).
- Baker, J. A., Wund, M. A., Heins, D. C., King, R. W., Reyes, M. L., & Foster, S. A. (2015). Life-history plasticity in female threespine stickleback. *Heredity*, 115(4), 322–334.
- Barrett, R.D.H., Paccard, A., Healy, T.M., Bergek, S., Schulte, P.M., Schluter, D. & Rogers, S. M. (2011). Rapid evolution of cold tolerance in stickleback. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 278(1703), 233–238.
- Baudron, A.R., Needle, C.L., Rijnsdorp, A.D. & Marshall, C. T. (2014). Warming temperatures and smaller body sizes: synchronous changes in growth of North Sea fishes. *Global Change Biology*, 20(4), 1023–1031.
- Boyd, P. W., Lennartz, S. T., Glover, D. M. & Doney, S. C. (2014). Biological ramifications of climate-change-mediated oceanic multi-stressors. *Nature Climate Change*, 5(1), 71–79.
- Cabral, M. J., Almeida, J., Almeida, P. R., Dellinger, T., Ferrand de Almeida, N., Oliveira, M. E., Palmeirim, J. M., Queirós, A. I., Rogado, L. & Reis, M. S. (2005). *Livro Vermelho dos Vertebrados de Portugal: Peixes Dulciaquícolas e Migradores, Anfíbios, Répteis, Aves e Mamíferos*. Lisboa: Instituto da Conservação da Natureza.
- Chan, Y.F., Marks, M.E., Jones, F.C., Vilarreal, G., Shapiro, M.D., Brady, S.D., Southwick, A.M., Absher, D.M., Grimwood, J., Schmutz, J., Myers, R.M., Petrov, D., Jónsson, B., Schluter, D., Bell, M.A. & Kingsley, D. M. (2010). Adaptive evolution of pelvic reduction in sticklebacks by recurrent deletion of a Pitx1 enhancer. *Science*, 327, 302–305.

- Clavero, M., Pou-Rovira, Q. & Zamora, L. (2009). Biology and habitat use of three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) in intermittent Mediterranean streams. *Ecology of Freshwater Fish*, 18(4), 550–559.
- Collares-Pereira, M.J., Alves, M.J., Ribeiro, F., Domingos, I., Almeida, P.P., Costa, L., Gante, H., Filipe, A.F., Aboim, M.A., Rodrigues, P.M. & Magalhães, M. F. (2021). Gasterosteidae. In Edições Afrontamento (Ed.), *Guia dos Peixes de Água Doce e Migradores de Portugal Continental* (3ª edição, pp. 251–253). Porto.
- Colosimo, P.F., Hosemann, K.E., Balabhadra, S., Villarreal, G., Dickson, M., Grimwood, J., Schumutz, J., Myers, R.M., Schluter, D. & Kingsley, D. M. (2005). Widespread parallel evolution in sticklebacks by repeated fixation of ectodysplasin alleles. *Science*, 307, 1928–1933.
- Comte, L. & Olden, J. D. (2017). Climatic vulnerability of the world ’ s freshwater and marine fishes. *Nature Climate Change*, 7, 718–722.
- Ellis, N.A., Donde, N.N. & Miller, C. T. (2017). Early development and replacement of the stickleback dentition. *Journal of Morphology*, 277(8), 1072–1083.
- Fang, B., Merila, J., Ribeiro, F., Alexandre, C.M. & Momigliano, P. (2018). Worldwide phylogeny of three-spined sticklebacks. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 127, 613–625.
- Flamarique, I.N., Bergstrom, C., Cheng, C.L. & Reimchen, T. E. (2013). Role of the iridescent eye in stickleback female mate choice. *The Journal of Experimental Biology*, 216, 2806–2812.
- Forster, J., Hirst, A. G. & Atkinson, D. (2012). Warming-induced reductions in body size are greater in aquatic than terrestrial species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(47), 19310–19314.
- Foster, S. A., Baker, J. A. & Bell, M. A. (2003). The Case for Conserving Threespine Stickleback Populations. *Fisheries*, 28(5), 10–18.
- Foster, S. A. (2010). Threespine Stickleback. In J. M. Michael D. Breed (Ed.), *Encyclopedia of Animal Behavior* (pp. 413–419).
- Franco-Belussi, F., De Oliveira, C. & Sköld, H. N. (2018). Regulation of eye and jaw colouration in three-spined stickleback *Gasterosteus aculeatus*. *Journal of Fish Biology*, 92(6), 1788–1804.
- Fuller, P., Dettloff, K. & Sturtevant, R. (2021). *Gasterosteus aculeatus* Linnaeus, 1758: U.S. Geological Survey. Retrieved from <https://nas.er.usgs.gov/queries/FactSheet.aspx?SpeciesID=702>

- Galloway, J., Cresko, W.A. & Ralph, P. (2020). A Few Stickleback Suffice for the Transport of Alleles to New Lakes. *G3*, 10(2), 505–514.
- Garcia-Elfring, A., Paccard, A., Thurman, T. J., Wasserman, B. A., Palkovacs, E. P., Hendry, A. P. & Barrett, R. D. H. (2021). Using seasonal genomic changes to understand historical adaptation to new environments: Parallel selection on stickleback in highly- - variable estuaries. *Molecular Ecology*, 30(9), 2054–2064.
- Google earth V6.2.2.6613. (n.d.). Retrieved from <https://earth.google.com/web/>
- Gross, H. P. (1978). Natural selection by predators on the defensive apparatus of the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L. *Canadian Journal of Zoology*, 56, 398–413.
- Gupta, A.S., Brown, J. N., Jourdain, N. C., Sebille, E.V., Ganachaud, A. & Vergés, A. (2015). Episodic and non-uniform shifts of thermal habitats in a warming ocean. *Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 113, 59–72.
- Hammerson, G. (2008). *Gasterosteus aculeatus*. Retrieved from https://explorer.natureserve.org/Taxon/ELEMENT_GLOBAL.2.104745/Gasterosteus_aculeatus
- Head, M.L., Kozak, G.M. & Boughman, J. W. (2013). Female mate preferences for male body size and shape promote sexual isolation in threespine sticklebacks. *Ecology and Evolution*, 3(7), 2183–2196.
- Huntingford, F.A. & Ruiz-Gomez, M. L. (2009). Three-spined sticklebacks *Gasterosteus aculeatus* as a model for exploring behavioural biology. *Journal of Fish Biology*, 75(8), 1943–1976.
- Ishikawa, A. & Kitano, J. (2020). Diversity in reproductive seasonality in the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. *Journal of Experimental Biology*, 223.
- Jacquemin, S.J. & Pyron, M. (2016). A century of morphological variation in Cyprinidae fishes. *Biomed Central Ecology*, 16(1).
- Jarić, I., Lennox, R. J., Kalinkat, G., Cvijanović, G. & Radinger, J. (2019). Susceptibility of European freshwater fish to climate change: Species profiling based on life-history and environmental characteristics. *Global Change Biology*, 25(2), 448–458.
- Jenck, C.S., Lehto, W.R., Ketterman, B.T., Sloan, L.F., Sexton, A.N. & Tinghitella, R. M. (2020). Phenotypic divergence among threespine stickleback that differ in nuptial coloration. *Ecology and Evolution*, 10(6), 2900–2916.
- Katsiadaki, I., Scott, A.P. & Mayer, I. (2002). The potential of the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.) as a combined biomarker for oestrogens and androgens in European waters. *Marine Environmental Research*, 54, 725–728.

- Kinne, O. (n.d.). Growth, food intake, and food conversion in a euryplastic fish exposed to different temperatures and salinities. *Physiological Zoology*, 33(4).
- Kitano, J., Ishikawa, A., Kume, M. & Mori, S. (2012). Physiological and genetic basis for variation in migratory behavior in the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. *Ichthyological Research*, 59(4), 293–303.
- Kottelat, M. & Freyhof, J. (2007). Family Gasterosteidae. In *Handbook of European Freshwater Fishes* (pp. 490–499).
- Kristjánsson, B. . K. (2005). Rapid morphological changes in threespine stickleback, *Gasterosteus aculeatus*, in freshwater. *Environmental Biology of Fishes*, 74, 357–363.
- Magalhaes, I. S., D'Agostino, D., Hohenlohe, P. A. & MacColl, A. D. C. (2016). The ecology of an adaptive radiation of three-spined stickleback from North Uist, Scotland. *Molecular Ecology*, 25(17), 4319–4336.
- Mazzarella, A. B., Voje, K. L., Hansson, T. H., Taugbøl, A. & Fischer, B. (2015). Strong and parallel salinity-induced phenotypic plasticity in one generation of threespine stickleback. *Journal of Evolutionary Biology*, 28(3), 667–677.
- McGee, M.D., Schluter, D. & Wainwright, P. C. (2013). Functional basis of ecological divergence in sympatric stickleback. *BMC Evolutionary Biology*, 13, 277.
- Miller, C.T., Glazer, A.M., Summers, B.R., Blackman, B.K., Norman, A.R., Shapiro, M.D., Cole, B.L., Peichel, C.L., Schluter, D. & Kingsley, D. M. (2014). Modular skeletal evolution in sticklebacks is controlled by additive and clustered quantitative trait loci. *Genetics*, 197, 405–420.
- Moodie, G. E. E. (1972). Morphology, life history, and ecology of an unusual stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) in the Queen Charlotte Islands, Canada. *Canadian Journal of Zoology*, 50, 721–732.
- Morgan, I.J., McDonald, D.G. & Wood, C. M. (2001). The cost of living for freshwater fish in a warmer, more polluted world. *Global Change Biology*, 7(4), 345–355.
- Morris, M.R.J., Petrovitch, E., Bowles, E., Jamniczky, H.A. & Rogers, S. M. (2017). Exploring Jordan's rule in Pacific three-spined stickleback *Gasterosteus aculeatus*. *Journal of Fish Biology*, 91(2), 645–663.
- NatureServe. (2019). *Gasterosteus aculeatus*. Retrieved from <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2019-2.RLTS.T8951A58295405.en>.
- Norton, W.H.J. & Gutiérrez, H. C. (2019). The three-spined stickleback as a model for behavioural neuroscience. *PLoS ONE*, 14(3), 1–18.
- Olusanya, H. O. & Jong, M. V. Z. (2018). Assessing the vulnerability of freshwater fishes to

- climate change in Newfoundland and Labrador. *PLoS ONE*, 13(12), 1–13.
- Page, L.M., Burr, B. . &. (2011). *A field guide to freshwater fishes of North America north of Mexico*. (H. M. Harcourt, Ed.). Boston.
- Pellissier, L., Bråthen, K.A., Vittoz, P., Yoccoz, N.G., Dubuis, A., Meier, E.S., Zimmermann, N.E., Randin, C.F., Thuiller, W., Garraud, L., Es, V. J. & Guisan, A. (2013). Thermal niches are more conserved at cold than warm limits in arctic-alpine plant species. *Global Ecology and Biogeography*, 22(8), 933–941.
- Ramanathan, V. & Feng, Y. (2008). On avoiding dangerous anthropogenic interference with the climate system : Formidable challenges ahead. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(38), 14245–14250.
- Roches, S.D., Bell, M.A. & Palkovacs, E. P. (2020). Climate-driven habitat change causes evolution in Threespine Stickleback. *Global Change Biology*, 26(2), 597–606.
- Rolls, R. J., Heino, J., Ryder, D. S., Chessman, B. C., Grown, I. O., Thompson, R. M. & Gido, K. B. (2018). Scaling biodiversity responses to hydrological regimes. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 93(2), 971–995.
- Salin, K., Auer, S.K., Anderson, G.J., Selman C. & Metcalfe, N. B. (2016). Inadequate food intake at high temperatures is related to depressed mitochondrial respiratory capacity. *The Journal of Experimental Biology*, 219, 1356–1362.
- Scharsack, J.P., Franke, F., Erin, N.I., Kuske, A., Büscher, J., Stolz, H., Samonte, I.E., Kurtz, J. & Kalbe, M. (2016). Effects of environmental variation on host – parasite interaction in three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*). *Zoology*, 119(4), 375–383.
- Schluter, D., & Conte, G. L. (2009). Genetics and ecological speciation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(1), 9955–9962.
- Shi, Z., Zhang, J., Wu, H., Yang, J. & Hu, M. (2020). Taxonomic diversity pattern and composition of fish species in the upper reaches of Ganjiang River, Jiangxi, China. *PLoS ONE*, 15(11), 1–17.
- Sinervo, B. & Svensson, E. (2002). Correlational selection and the evolution of genomic architecture. *Heredity*, 89, 329–338.
- Sługocki, Ł., Czerniawski, R., Kowalska-Górska, M., Senze, M., Reis, A., Carrola, J. S. & Teixeira, C. A. (2018). The Impact of Land Use Transformations on Zooplankton Communities in a Small Mountain River (The Corgo River , Northern Portugal). *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(1), 20.
- Smith, C., Zięba, G., Spence, R. & Przybylski, M. (2020). New finding of melanic three-spined sticklebacks *Gasterosteus aculeatus* in the Scottish Hebrides. *Journal of Vertebrate*

Biology, 69(4).

- Spence, R., Wootton, R. J., Barber, I., Przybylski, M. & Smith, C. (2013). Ecological causes of morphological evolution in the three-spined stickleback. *Ecology and Evolution*, 3(6), 1717–1726.
- Taugbøl, A., Quinn, T.P., Østbye, K. & Vollestad, L. A. (2020). Allometric relationships in morphological traits associated with foraging , swimming ability , and predator defense reveal adaptations toward brackish and freshwater environments in the threespine stickleback. *Ecology and Evolution*, 10(23), 13412–13426.
- Tickner, D., Opperman, J. J., Abell, R., Acreman, M., Arthington, A. H., Bunn, S. E., Cooke, S. J., Dalton, J., Darwall, D.W., Edwards, G., Harrison, I., Hughes, K., Jones, T., Leclère, D., Lynch, A. J., Leonard, P., McClain, M. E., Muruven, D., Olden, J., L. (2020). Bending the Curve of Global Freshwater Biodiversity Loss : An Emergency Recovery Plan. *BioScience*, 70(4), 330–342.
- Vila, M., Hermida, M., Fernández, C., Perea, S., Doadrio, I., Amaro, R. & San Miguel, E. (2017). Phylogeography and Conservation Genetics of the Ibero-Balearic Three-Spined Stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). *PLoS ONE*, 12(1).
- Webster, M.M., Atton, N., Hart, P.J.B. & Ward, A. J. W. (2011). Habitat-Specific Morphological Variation among Threespine Sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*) within a Drainage Basin. *PLoS ONE*, 6(6).
- Yurtseva, A., Noreikiene, K., Lajus, D., Li, Z., Alapassi, T., Ivanova. T., Ivanov, M., Golovin, P., Vesala, S. & Merilä, J. (2019). Aging three-spined sticklebacks *Gasterosteus aculeatus* : comparison of estimates from three structures. *Journal of Fish Biology*, 95(3), 802–811.