



**Padrões de variação corporal em
resposta às alterações climáticas:
o exemplo da marinha
Syngnathus typhle (Pisces;
Syngnathidae)**

Arthur Teixeira Goulart Carrijo

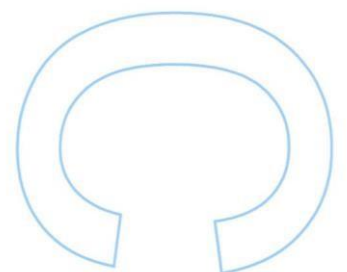
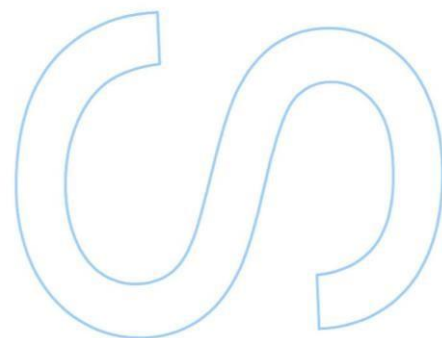
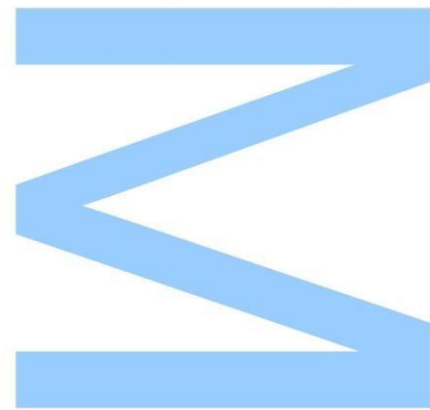
Mestrado em Ecologia e Ambiente

Departamento de Biologia

2021

Orientador

Nuno Monteiro, Professor Auxiliar Convidado, Faculdade de Ciências



Todas as correções determinadas pelo júri, e só essas, foram efetuadas.

O Presidente do Júri,

Porto, ____/____/____

N

S

R

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi conduzido durante a pandemia da COVID-19, o medo e as incertezas sobre as condições de sobrevivência individual e coletiva marcaram os hemisférios norte e sul global. Como brasileiro, recém-chegado a Portugal, percebia os efeitos da distribuição desigual de recursos que tornavam alguns maiores vítimas potenciais do que outros. Nesse cenário, experimentei o senso de responsabilidade do governo de Portugal com seus nacionais e os que aqui estavam. Do mesmo modo sou grato à Universidade do Porto que não mediu esforços para manter a comunidade em segurança e com condições adequadas de trabalho.

Sou imensamente grato ao corpo docente do Mestrado em Ecologia e Ambiente que enfrentou o desafio de transformar as disciplinas e o modo de ensinar para que remotamente os estudantes pudessem alcançar êxito e, agradeço particularmente aos professores Nuno Formigo e João Pradinho Honrado.

Ao meu orientador, Nuno Monteiro, não tenho palavras suficientes para agradecer. Sem ele teria desistido. Sua generosidade em partilhar seus materiais de pesquisa, deslocar os arquivos para diferentes suportes, compartilhar suas experiências e modos de escrever um texto tornaram essa pesquisa possível. Sua leitura atenta, rigorosa, sua disponibilidade para discutir os achados e, seu interesse em me fazer falar, em me ouvir, mesmo quando eu pensava que não tinha o que dizer, são indicativos do seu compromisso com a tarefa de produzir conhecimento e formar pesquisadores.

Por fim, agradeço os sorrisos cúmplices e os afagos de meus pais, minha avó, meu irmão e de Ceci, amores que me acompanharam e tornaram possível encerrar essa caminhada.

RESUMO

Grandes mudanças no clima podem ter levado, no passado, a toda a reorganização da biota e conduzido ao desaparecimento de espécies. No entanto, atualmente, as mudanças climáticas são acentuadas por insumos antropogênicos e podem estar ocorrendo num ritmo muito mais acelerado, com taxas de mudanças climáticas mais críticas, em magnitude e duração. Considerando que estudos sobre a variação natural do tamanho do corpo podem colaborar para compreender as forças seletivas que influenciam a variação do tamanho do corpo e também os aspetos da evolução das populações numa ampla gama de taxas de vertebrados, nosso trabalho teve como objetivo, utilizando a marinha *Syngnathus typhle*, identificar variações nos tamanhos de abdômen, cauda e marsúpio, em machos e fêmeas, e sua possível correlação com as mudanças climáticas num intervalo temporal de quase dois séculos.

Nossos resultados demonstram, primeiramente, a relevância da escolha do intervalo de tempo a considerar para o cálculo dos valores de temperatura, que devem ter em conta a história vital do organismo em estudo. Identificamos uma correlação linear entre o tamanho dos indivíduos e as regiões do abdômen e da cauda, secções corporais geneticamente independentes, sexualmente dimórficas e que respondem, como mostramos, de modo independente às pressões seletivas.

Os nossos resultados sugerem ainda que a seleção para a fecundidade pode estar operando e favorecendo o crescimento dos abdômens nas fêmeas e das caudas dos machos. Nossos resultados mostram também que nas regiões que experimentam temperaturas mais extremas, a seleção para a fecundidade favorece o crescimento do abdômen (podendo estar ligada a incrementos na fecundidade das fêmeas). No entanto, nos extremos, não observamos o crescimento do marsúpio. Se a época reprodutiva for encurtada pela temperatura, os machos podem não precisar de marsúpios com maior capacidade devido ao incremento desproporcionado da fecundidade das fêmeas.

Nosso estudo demonstra não só que pressões seletivas interferem no tamanho das secções corporais, de forma distinta em machos e fêmeas, mas também que as condições climáticas têm o potencial de afetar o percurso evolutivo de *S. typhle*, podendo não haver tempo para a espécie se adaptar às novas condições ambientais em rápida mudança.

Palavras-chave: *Syngnathidae*; crescimento alométrico; Seleção para a fecundidade;
Dimorfismo sexual; Mudanças Climáticas

ABSTRACT

Climate change may have in the past led to the entire reorganization of biota and led to species extinctions. However, currently, climate change is accentuated by anthropogenic inputs and may be occurring at a much faster pace, with rates of climate change more critical in magnitude and duration. Considering that studies on natural variation in body size may help understand the selective forces that influence body size variation and also aspects of population evolution in a wide range of vertebrate taxa, our work aimed, using the pipefish *Syngnathus typhle*, to identify variations in the sizes of abdomen, tail, and marsupium, in males and females, and their possible correlation with climate change over a time interval of almost two centuries.

Firstly, our results demonstrate the relevance of the choice of the time interval to consider for the calculation of temperature values, which must take into account the life history of the organism under study. We identified a linear correlation between the size of individuals and the regions of the abdomen and tail, body sections that are genetically independent, sexually dimorphic, and that respond, as we show, independently to selective pressures.

Our results further suggest that fecundity selection may be operating and favoring the growth of the abdomens in females and the tails of males. Our results also show that, in regions experiencing more extreme temperatures, fecundity selection favors abdomen growth (which may be linked to increases in female fecundity). However, in the extremes, we do not observe the growth of the marsupium. If the reproductive season is shortened by temperature, males may not need larger marsupium capacity due to the disproportionate increment in female fecundity.

Our study demonstrates not only that selective pressures interfere with body section size, distinctly in males and females, but also that climatic conditions have the potential to affect the evolutionary pathway of *S. typhle*, and there may not be time for the species to adapt to new, rapidly changing environmental conditions.

Keywords: *Syngnathidae*, allometric growth, fecundity selection, sexual dimorphism, climate change

ÍNDICE

1. Introdução	01
2. Materiais e Métodos	04
3. Resultados	10
4. Discussão	19
5. Referências Bibliográficas	23

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Distribuição geográfica da marinha *Syngnathus typhle* [área sombreada; dados obtidos da IUCN Red List of Threatened Species e localização aproximada da área de captura dos indivíduos utilizados neste estudo (círculos)06
- Figura 2: *Syngnathus typhle*, macho, com indicação das medições das seções corporais analisados: comprimento standard (A), abdômen (B); cauda (C) e marsúpio (D)07
- Figura 3: Relação do tamanho do abdômen (A) ou cauda (B) com o comprimento de fêmeas (F) e machos (M)11
- Figura 4: Rácio abdômen-cauda, em machos e fêmeas, nos mares amostrados (BAL – Mar Báltico; NOR – Mar da Noruega; KAT – Kattegat; ATL – Atlântico Norte; MED – Mar Mediterrâneo; ADR – Mar Adriático e NEG – Mar Negro)12
- Figura 5: Relação entre o ratio abdômen-cauda e a temperatura média de 5 anos, em todos os mares amostrados (BAL – Mar Báltico; NOR – Mar da Noruega; KAT – Kattegat; ATL – Atlântico Norte; MED – Mar Mediterrâneo; ADR – Mar Adriático e NEG – Mar Negro).13
- Figura 6: Relação entre o ratio abdômen-cauda e a temperatura média de 5 anos, em ambos os sexos (F=fêmeas, M=machos).14
- Figura 7: Relação entre o ratio marsúpio-cauda e a temperatura média de 5 anos, em todos os mares amostrados (BAL – Mar Báltico; NOR – Mar da Noruega; KAT – Kattegat; ATL – Atlântico Norte; MED – Mar Mediterrâneo; ADR – Mar Adriático e NEG – Mar Negro).15
- Figura 8: Séries temporais das anomalias na temperatura superficial do mar (calculadas relativamente ao período 1981-2010; www.eea.europa.eu/data-and-maps/figures/decadal-average-sea-surface-temperature-2), nos mares Báltico, Atlântico (Noruega, Atlântico Norte e Kattegat) e Mediterrâneo (Mediterrâneo e Adriático). As quebras (breakpoints) estão assinaladas com traços horizontais (o ano de 2002 está assinalado por tracejado vertical).....16

Figura 9: Ratio abdômen-cauda, para machos e fêmeas, nos mares Báltico, Atlântico (mar da Noruega, Atlântico Norte e Kattegat) e Mediterrâneo (mar Mediterrâneo e mar Adriático), no período anterior e posterior a 2002 17

Figura 10: Ratio abdômen-cauda, de fêmeas (A) e machos (B), antes e depois de 200218

Figura 11: Ratio marsúpio-cauda, antes e depois de 200218

A imagem utilizada na Capa desse trabalho tem seu uso permitido pelo autor através da licença GillesSM/CC-BY-SA-3.0

1. INTRODUÇÃO

Tendo em conta que estudos sobre a variação natural do tamanho do corpo podem colaborar para compreender as forças seletivas que influenciam a variação do tamanho do corpo e podem servir como modelo para compreender aspetos da evolução das populações numa ampla gama de taxas de vertebrados (Hoffman et al., 2006; Wilson et al., 2020; Winkler et al., 2012), nosso trabalho teve como objetivo identificar variações nos tamanhos de abdômen, cauda e marsúpio em machos e fêmeas da espécie *S. typhle* e sua possível correlação com as mudanças climáticas num intervalo temporal de quase dois séculos.

As alterações climáticas não são um fenómeno apenas contemporâneo. Vários estudos já descreveram os impactos das mudanças climáticas indicando alterações na fenologia, fisiologia e ecológicas de indivíduos, populações e comunidades impactando em plantas e animais de todos os grupos marinhos e de água doce (Cardillo, 2002; Davis et al., 2005; P. D. Jones et al., 2001; Mentzafou et al., 2020; Møller & Szép, 2005; N. Monteiro et al., 2017; Walther et al., 2002).

Grandes mudanças no clima podem ter levado, no passado, a toda a reorganização da biota e conduzido ao desaparecimento de espécies (Benton & Twitchett, 2003; Sepkoski, 1998) No entanto, agora, falamos de mudanças climáticas que são acentuadas por insumos antropogênicos e podem estar ocorrendo num ritmo muito mais acelerado, com taxas de mudanças climáticas mais críticas, em magnitude e duração (Davis et al., 2005; Houghton et al., 2001; Jones et al., 2001).

As mudanças climáticas globais influenciaram o tamanho do corpo de várias espécies contemporâneas e, provavelmente, continuarão a afetar as comunidades animais no futuro. Consideramos que o estudo da variação intraespecífica do tamanho do corpo pode fornecer indícios sobre como as forças seletivas históricas influenciaram a evolução morfológica continua sendo um desafio enfrentado nas pesquisas em biologia evolutiva nas últimas décadas (Mackay, 2001; Phillips, 2005). A natureza adaptativa de uma mudança de tamanho não pode ser inferida apenas por padrões. É importante estimar as pressões de seleção que estão atuando no tamanho e que podem ser chaves para entender essas tendências de mudança de tamanho (Matić-Skoko et al., 2020; Teplitsky & Millien, 2014).

Millien et al. (2006) revisaram as evidências utilizadas para estimar o alcance das regras ecogeográficas na interpretação de prováveis padrões de respostas às mudanças climáticas. Os resultados, obtidos a partir de registros contemporâneos, históricos e fósseis, demonstraram que as espécies têm a capacidade de evoluir diante das mudanças ambientais. Desse modo, são relevantes os estudos que buscam compreender o papel da seleção, nas respostas evolutivas, às mudanças climáticas considerando o tempo e a força da seleção natural e sexual em ambientes espacial e temporalmente variáveis (Barrett et al., 2011; Monteiro et al., 2017; Wilson & Orr, 2011).

Alguns pesquisadores utilizaram peixes da família *Syngnathidae*, como modelo para o estudo da evolução dos traços quantitativos, (Hoffman et al., 2006; Winkler et al., 2012) definiram as características que justificaram a escolha da referida família e, entre elas, destacamos: i) o número de segmentos corporais pode ser estimado, por exame externo, em qualquer idade, ii) as contagens das seções corporais do tronco e cauda desde o nascimento, são imutáveis, e iii) a variação substancial no número de segmentos corporais (anéis tronco e cauda) documentada dentro e entre as espécies (Hoffman et al., 2006).

Outro aspecto interessante sobre a família *Syngnathidae* é o fato de que, no início de sua diversificação, esse grupo se dividiu em duas grandes linhagens, uma das quais incubava os embriões no tronco do macho (*Gastrophori*) e a outra incubava os embriões na cauda (*Urophori*) (Wilson et al., 2003). Essa localização importa, uma vez que a gravidez forneceria uma pressão seletiva sobre as proporções corporais, impactando a dinâmica evolutiva de traços complexos e que a variação no número de anéis de tronco e anéis da cauda seria um componente genético aditivo, portanto a seleção para a fecundidade poderia ser uma potente força que molda o fenótipo masculino (Hoffman et al., 2006; Winkler, 2012). Embora Winkler et al. (2012) tenham observado a alometria do dimorfismo sexual no tamanho das regiões do corpo, verificaram que esta não se devia ao número de segmentos vertebrais, ou seja, as regiões corporais mais longas não continham maior número de vértebras. Outros estudos, identificaram, nas fêmeas, a correlação entre potencial de reprodução, tamanho do corpo (abdômen), tamanho dos ovos e a temperatura (Gonçalves et al., 2011; Nygård et al., 2019; Wilson, 2009),

Em peixes, as alterações na temperatura da água podem produzir efeitos na determinação sexual como também na mortalidade específica do sexo, ambos capazes de afetar as relações entre os sexos e a dinâmica populacional (Cunha et al., 2018; Geffroy & Wedekind, 2020; Monteiro & Lyons, 2012) No processo reprodutivo, a temperatura impactaria na abundância e distribuição de recursos e

poderia influenciar na distribuição de companheiros disponíveis (Mobley & Jones, 2009; Twiss et al., 2007). Poderia afetar também os períodos de gestação, influenciando o início e duração da época de reprodução (Monteiro et al., 2005), a taxa de fecundidade (Rispoli & Wilson, 2007) e, para a família *Syngnathidae*, a qualidade do cuidado masculino durante a gestação (Nygård et al., 2019).

A hipótese que orientou o nosso trabalho foi a de que as alterações de temperatura na água poderiam impactar a seleção para a fecundidade, atuando sobre as secções corporais e alterando o crescimento alométrico das espécies. Ou seja, nos locais onde a temperatura da água (mais quente ou mais fria) exerça pressão sobre os indivíduos, os machos teriam uma cauda maior em relação ao abdômen e, portanto, um marsúpio maior (aumentando o potencial reprodutivo, capazes de incubar mais ovos, de fêmeas diferentes). Por sua vez, as fêmeas apresentariam o abdômen maior em relação a cauda (aumentando a capacidade de desenvolver ovários maiores, assim aumentando a fecundidade). Acreditamos que as temperaturas nas faixas mais extremas da distribuição (tanto mais quentes quanto mais frias) podem intensificar a seleção para a fecundidade e o ritmo das mudanças climáticas pode aumentar ainda mais esse tipo de pressão.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Integrante da família de peixes *Syngnathidae*, *Syngnathus typhle* Linnaeus, 1758, foi usado como nossa espécie modelo. É uma espécie de peixe-cachimbo (marinha, em Portugal) geneticamente diversa e com ampla distribuição geográfica (Figura 1) (Fehr et al., 2013; Fehr, Walther e Schmidt-Posthaus, 2013; Wilson et al., 2020), encontrada desde o Mar Báltico e Mar da Noruega, no norte da Europa, ao longo das costas Atlântica e Mediterrânica, até ao Mar Negro (Bernet et al., 1998; Cakic et al., 2002; Cunha et al., 2019; Wilson & Eigenmann Veraguth, 2010).

Esta espécie ocupa primariamente habitats costeiros, como leitos de capim-marinho e estuários, que geralmente são áreas de baixa profundidade, mais propensas a serem afetadas por mudanças na temperatura da água do mar (Anthony et al., 2009). Apresenta variação acentuada na morfologia craniana em toda a sua gama, fator que pode contribuir para o seu sucesso na colonização de novos ambientes (Wilson et al., 2020). Alimentam por mecanismo de sucção, caçando pequenos crustáceos. Possuem vida média entre 2-3 anos, e ambos os sexos amadurecem em seu primeiro ano (Berglund et al., 1986; Svensson, 1988).

Em *S. typhle*, os oócitos se desenvolvem nos ovários (localizados no tronco da fêmea) e a ninhada é incubada na cauda dos machos (numa estrutura denominada marsúpio). A gravidez masculina é a principal característica distinta para a família de peixes *Syngnathidae* (cavalos-marinhos, canos e dragões marinhos) (Ahnesjö & Craig, 2011). *S. typhle* tem mais de uma gravidez por temporada de reprodução e, como em todos os *Syngnathidae*, os machos são responsáveis pelos cuidados exclusivos durante a gravidez (Wilson, 2009). Embora machos e fêmeas invistam sobre a mesma quantidade de energia na prole, machos tendem a limitar o sucesso reprodutivo feminino porque as fêmeas, em média, podem produzir mais ovos, em média, por ninhada (Berglund & Rosenqvist, 1990; Sommer et al., 2012).

Em *S. typhle*, a fecundidade aumenta com o tamanho dos indivíduos (machos e fêmeas) e ambos os sexos preferem acasalar com parceiros maiores, as fêmeas competem pelo sexo masculino. Geralmente, em situações em que são permitidas as escolhas, os machos são mais exigentes do que as fêmeas (Berglund, 1994, 2001; Berglund et al., 1986; Berglund & Rosenqvist, 1990; Winkler et al., 2012) e preferem fêmeas maiores, mais ornamentadas e dominantes (Cunha et al., 2019; Mobley, Small, et al., 2011; Wilson, 2009). Durante o acasalamento, a fêmea transfere os ovos

para a bolsa ou superfície da ninhada masculina (Silva et al., 2007; Mobley et al., 2011). Na gravidez, os machos, únicos responsáveis pelos cuidados dos embriões (Paczolt & Jones, 2010), fornecem proteção à sua ninhada (Kvarnemo et al., 2011; Mobley, Kvarnemo, et al., 2011; Monteiro et al., 2005; Stölting & Wilson, 2007) com um ambiente osmoregulado (Ripley & Foran, 2009), garantem a nutrição (Kvarnemo et al., 2011) e *priming* imunológico transgeracional (Keller & Roth, 2020).

O sucesso do acasalamento e o número de descendentes é uma característica central do sistema de acasalamento genético e atua na força e direção da seleção sexual (Jones et al., 2000). Os machos seguem estratégias paternas distintas: os grandes afetam positivamente o tamanho do embrião, enquanto os pequenos favorecem a sobrevivência do embrião. Como as fêmeas preferem grandes companheiros, o tamanho da prole de juvenis pode ser mais importante para a aptidão feminina do que a sobrevivência da prole durante o desenvolvimento embrionário (Nygård et al., 2019).

As fêmeas maiores geralmente são mais férteis possuem maior número e quantidade de ovos contendo mais proteína (Braga Goncalves et al., 2015; Gonçalves et al., 2010; Ripley & Foran, 2006). O comprimento feminino é um traço bem estabelecido como preferido pelos machos em numerosas espécies de marinhas (Rosenqvist & Berglund, 2011). No entanto, Cunha et al. (2019) demonstraram que o comprimento feminino não seria um bom indicador da qualidade feminina, pois não refletiria o tamanho do oócito ou o conteúdo proteico. A vantagem potencial do acasalamento com uma fêmea maior seria receber mais ovos. Com pequenos tamanhos de ninhadas tendo menor sobrevivência relativa embrião, o acasalamento múltiplo seria uma aposta ainda mais segura garantindo que o macho tenha uma ninhada grande o suficiente para ser bem-sucedido (Cunha et al., 2019).

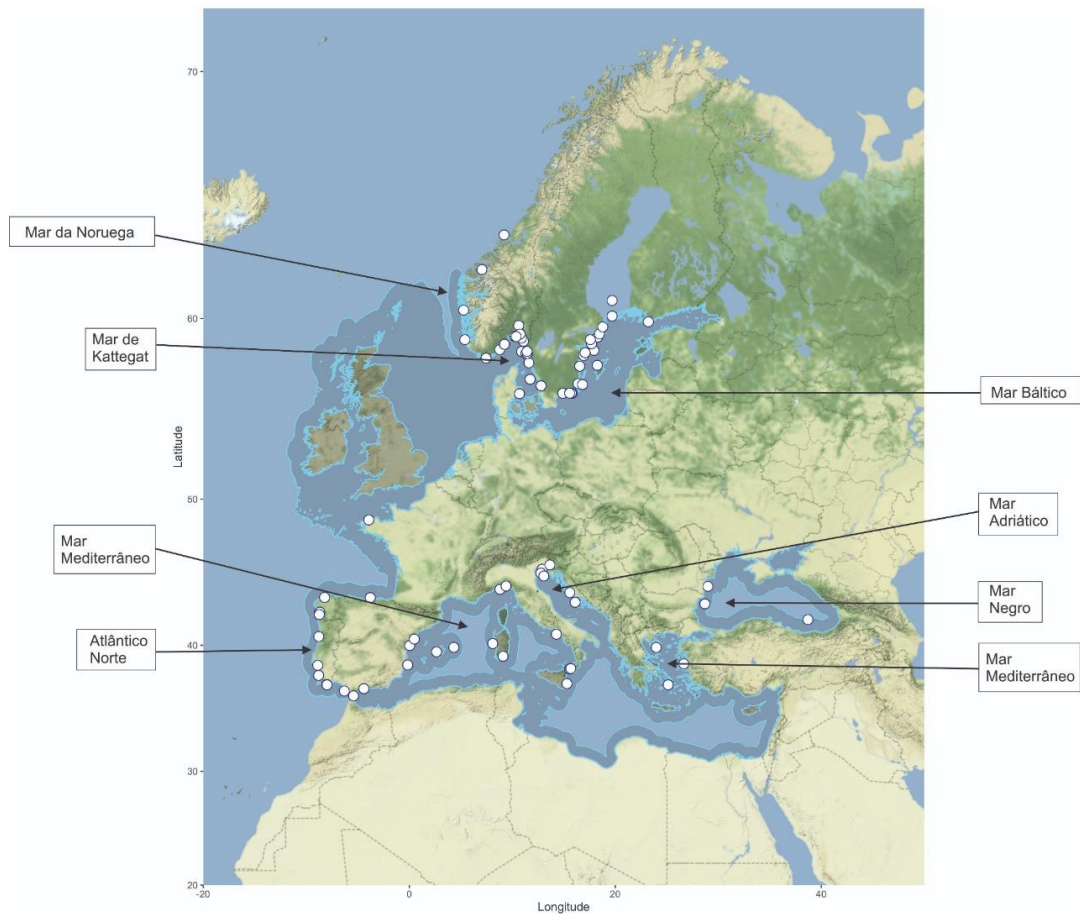


Figura 1: Distribuição geográfica da marinha *Syngnathus typhle* [área sombreada; dados obtidos da *IUCN Red List of Threatened Species* (Pollom, 2014)] e localização aproximada da área de captura dos indivíduos utilizados neste estudo (círculos).

De forma a reunir dados morfométricos de *S. typhle*, simultaneamente distribuídos no espaço e tempo, foram usadas várias fontes de informação. Inicialmente, foram consultadas as coleções dos Museus de História Natural de Oslo (Noruega), Estocolmo (Suécia), Viena (Áustria), Madrid (Espanha) e Lisboa (Portugal), onde todos os espécimes foram fotografados, conjuntamente com a informação que os acompanhava. Para garantir a existência de dados temporalmente mais recentes (os espécimes dos museus tendem a sobrerrepresentar períodos mais antigos), foram ainda analisadas fotografias partilhadas cedidas pelo investigador Tony Wilson (Brooklyn College, EUA). Neste trabalho foram recolhidas e analisadas imagens de 919 indivíduos.

Todos os indivíduos foram fotografados ao lado de uma régua, o que permitiu medir, para além do comprimento standard (Figura 2-A), o comprimento do abdômen (Figura 2-B) e cauda (Figura 2-C). Nos machos, foi também medido o comprimento do marsúpio (zona de incubação dos embriões; Figura 2-D). Com

estes dados, foi possível calcular, para ambos os sexos, o ratio entre o comprimento do abdômen e o da cauda e, apenas para os machos, o ratio entre o comprimento do marsúpio e o da cauda. As medições foram realizadas no programa ImageJ v1.52p (<https://imagej.nih.gov/ij>) (Schneider et al., 2012), após calibração com a régua presente em cada imagem.

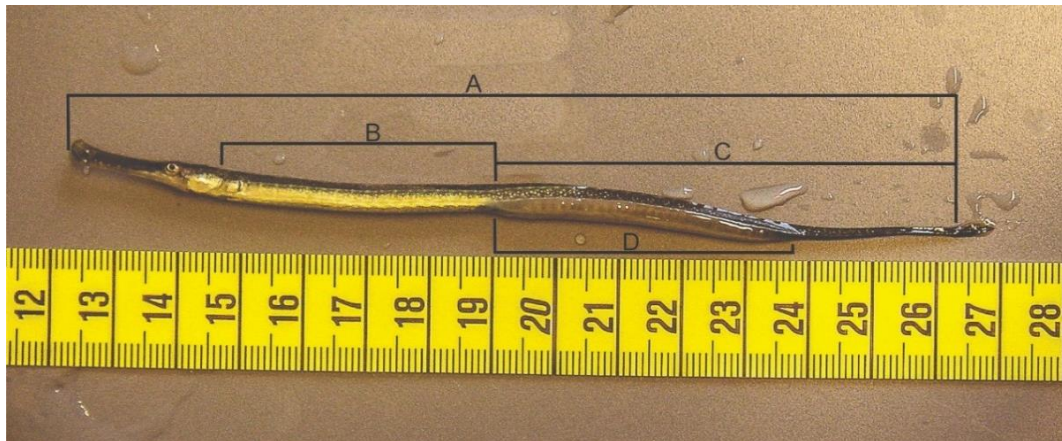


Figura 2: *Syngnathus typhle*, macho, com indicação das medições das seções corporais analisados: comprimento standard (A), abdômen (B); cauda (C) e marsúpio (D).

Aos dados morfométricos foi adicionada a informação do local e data de captura. O local de captura foi, depois, traduzido pelas coordenadas geográficas respetivas (latitude e longitude).

Os dados mensais da temperatura superficial da água do mar foram obtidos do Centro Nacional de Dados Climáticos da Administração Nacional Oceânica e Atmosférica - NOAA (www.ncei.noaa.gov/pub/data/cmb/ersst/v5/netcdf/), em formato *netcdf*, desde 1854 até 2021. Para os indivíduos coletados em datas que precediam os dados disponíveis de temperatura da água, e na impossibilidade de encontrar informação de qualidade comparável para todos os pontos de amostragem, foram utilizados os dados de temperatura de 1854.

Usando os dados de localização e datas de captura dos indivíduos fotografados, foi identificado o valor das temperaturas oceânicas superficiais do local de amostragem, na data específica da captura. Como o local de amostragem identificado nas amostras indica, invariavelmente, uma localidade em terra, as coordenadas geográficas foram retiradas de um local próximo, no mar. Pequenas imprecisões na identificação do local de amostragem não serão problemáticas uma vez que a resolução espacial dos ficheiros de temperatura é baixa, consistindo numa grelha horizontal de 2° x 2°.

Para a determinação da temperatura de cada local, numa data específica, foi desenvolvido um script, em R (www.r-project.org), utilizando as bibliotecas: *readxl* (para acessar diretamente as planilhas em formato xlsx, contendo as medições de tamanho dos espécimes; readxl.tidyverse.org); *ncdf4* (para acesso aos dados da NOAA; cirrus.ucsd.edu/~pierce/ncdf); *stringr* (permite a manipulação e conversão de dados em formato de texto, necessário para converter corretamente os dados lidos nas planilhas em xlsx e compatibilizá-los com os dados de temperatura; www.rdocumentation.org/packages/stringr/versions/1.4.0); e *splus2R* (permite adicionar recursos de programação avançados, como funções e programação orientada a objetos, útil para simplificar o processo de desenvolvimento do nosso script; cran.r-project.org/web/packages/splus2R/index.html). Este script permitiu selecionar a média das temperaturas dos 12, 36, 60 ou 120 meses (1, 3, 5 e 10 anos) anteriores à captura de cada indivíduo (calculando também o desvio padrão, temperatura máxima e mínima no período considerado). A razão subjacente à decisão de considerar a temperatura da água num intervalo de tempo mais alargado que o do mês de captura deveu-se a duas razões principais: 1) a temperatura da água de um único mês dificilmente condicionará os padrões de crescimento duma espécie como *S. typhle*, que pode, dependendo do local, experimentar sazonalmente amplitudes térmicas consideráveis; e 2) esta marinha poderá ter um período de vida que excede os três anos (Monteiro, comunicação pessoal). Assim, optou-se pela determinação do valor da temperatura em quatro intervalos de tempo, como acima referido, o que nos permitiu testar, usando o valor de AIC (Akaike's Information Criteria), qual o intervalo temporal que melhor se ajustava aos eventuais padrões de resultados (regressão quadrática entre a temperatura e o ratio abdômen/cauda) a ser encontrados.

De forma a testar a existência de diferenças de crescimento alométrico entre os sexos, estudamos a relação entre o comprimento standard e o comprimento do abdômen ou o comprimento da cauda (para todos os indivíduos amostrados, independentemente da localização ou data de captura). Foram construídas regressões lineares e as diferenças entre os declives obtidos para os dois sexos comparados com recurso a uma ANOVA.

Para detetar possíveis diferenças no ratio abdômen/cauda entre os sexos e os vários locais de amostragem (agrupados por mar ou oceano), com recurso à biblioteca WRS2 (Mair & Wilcox, 2020), efetuamos uma ANOVA (*ANOVA for trimmed means with interactions effects*; função *t2way*, *tr=0.2*) a dois fatores (sexo: machos e fêmeas; mar:

Báltico, Noruega, Kattegat, Atlântico, Mediterrâneo, Adriático e Negro). Testes post-hoc foram realizados utilizando a função `mcp2atm` ($tr=0.2$), presente na mesma biblioteca, acima referida. Nos machos, para detetar possíveis diferenças na razão marsúpio-cauda entre os mares, foi realizada uma ANOVA unifatorial (função `t1way`, $tr=0.2$), seguida de um teste post-hoc (`lincon`, $tr = 0.2$).

Tendo em conta a relação entre a temperatura da água e a razão abdômen-cauda ou marsúpio-cauda, que sugerem parábolas (como mostraremos mais à frente, nos resultados), testamos qual o melhor modelo (linear ou quadrático) que se aplicaria aos nossos dados. Para o efeito, recorremos a uma ANOVA e calculamos os valores de AIC.

Para melhor entender a evolução da temperatura da água nos mares europeus, usamos a informação disponível das anomalias na temperatura superficial do mar (calculadas relativamente ao período 1981-2010; www.eea.europa.eu/data-and-maps/figures/decadal-average-sea-surface-temperature-2). Com a biblioteca `changePoint`, utilizamos um método de segmentação binário para o ‘change point test’, com o critério de informação BIC (Bayesian Information Criterion) e um máximo de 5 quebras (breakpoints). Desta forma, pudemos detetar quando ocorreram quebras na série temporal de temperaturas das águas dos mares Báltico, Atlântico e Mediterrâneo.

Tendo em conta os resultados da ANOVA e testes post-hoc acima mencionados (e, no caso do mar Adriático, o facto de que as marinhas apresentam ratios abdômen/cauda superiores aos observados no Atlântico), os vários mares foram agrupados em três grupos: Báltico (apenas com exemplares do mar Báltico); Atlântico (incluindo mar da Noruega, Kattegat e Atlântico); e Mediterrâneo (incluindo Mediterrâneo e Adriático). Usando os resultados provenientes da análise das quebras (breakpoints), definimos uma fronteira (o ano de 2002, como será mostrado nos resultados) onde a alteração de temperatura foi comum aos três mares/oceanos seleccionados. Assim, os dados morfométricos dos indivíduos amostrados foram ainda subdivididos em dois grupos temporais (antes e depois de 2002). Foi realizada, para cada mar (Báltico, Atlântico e Mediterrâneo), separadamente, uma ANOVA (`t2way`, $tr=0.2$) a dois fatores (Sexo: machos e fêmeas; Período: antes ou depois de 2002), com os dados do ratio abdômen-cauda.

3. RESULTADOS

De forma a verificar qual o intervalo temporal (1,3,5 e 10 anos) que melhor traduzia a relação entre a média da temperatura da água e o ratio abdômen-cauda, calculámos o valor de AIC (Akaike's Information Criteria) de uma regressão quadrática (porque, como veremos à frente, a razão abdômen-cauda assume a forma de uma parábola quando contrastada com a temperatura). Independentemente do período temporal considerado, observou-se uma relação significativa entre as variáveis consideradas (1 ano: $R^2=0.129$; 3 anos: $R^2=0.156$; 5 anos: $R^2=0.162$; 10 anos: $R^2=0.159$; $P<0.001$ para todos os períodos). No entanto, o valor mais baixo de AIC (que sugere melhor ajuste) foi encontrado para o intervalo de 5 anos, muito similar ao intervalo de 3 anos (1 ano= 5201.937; 3 anos= 5175.336; 5 anos= 5168.457; 10 anos=5171.301). Com base nestes resultados, sempre que fosse necessário usar a variável temperatura da água, optamos por utilizar a média dos valores dos 5 anos anteriores ao momento da captura dos indivíduos.

A avaliação de diferenças de crescimento alométrico entre os sexos, na zona do abdômen e da cauda, mostrou que existem diferenças entre os dois géneros (546 fêmeas e 373 machos). Embora o comprimento do abdômen (Figura 3-A) e o comprimento da cauda (Figura 3-B) estejam linearmente correlacionados com o tamanho do indivíduo, tanto em machos (Abdômen machos: $R^2=0.953$, $P<0.001$; Cauda machos: $R^2=0.979$, $P<0.001$), como em fêmeas (Abdômen fêmeas: $R^2=0.965$, $P<0.001$; Cauda fêmeas: $R^2=0.978$, $P<0.001$), os declives diferem significativamente, entre os sexos, dentro de cada um das seções do corpo (Abdômen: $F(2,891)=139.41$, $P<0.001$; Cauda: $F(2,891)=157.82$, $P<0.001$). À medida que aumentam de tamanho, o abdômen das fêmeas (onde estão os ovários) cresce mais rapidamente do que o dos machos (Figura 3-A). Estes, em contrapartida, veem a cauda (onde está o marsúpio) crescer mais rapidamente (Figura 3-B).

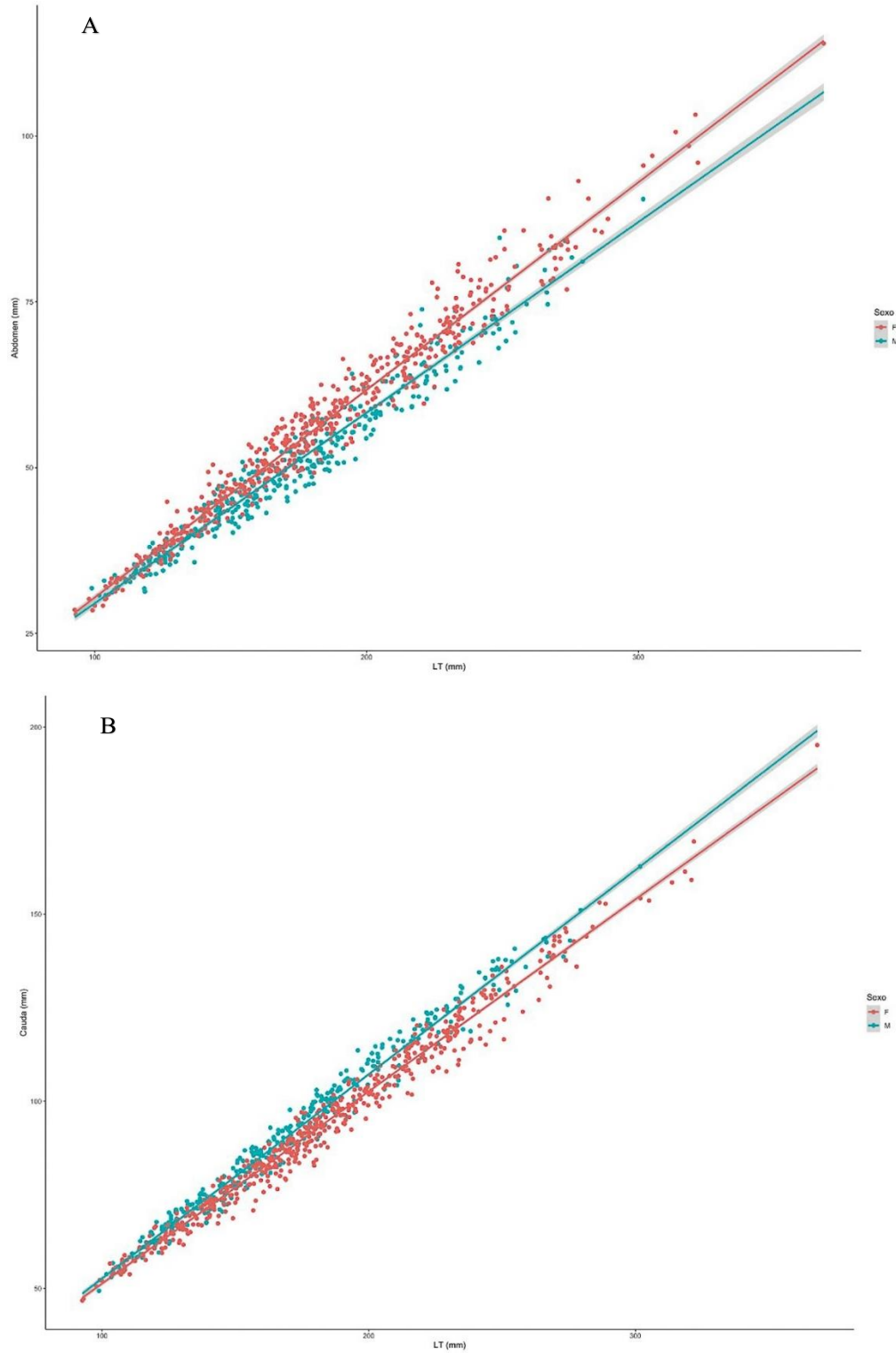


Figura 3: Relação do tamanho do abdômen (A) ou cauda (B) com o comprimento de fêmeas (F) e machos (M).

Quando comparamos o ratio abdômen-cauda, para machos e fêmeas, nos mares amostrados (Figura 4), verificamos que existem diferenças entre os locais (*two-way ANOVA with 20% trimmed means*; $P=0.001$) e entre os sexos ($P=0.001$), mas não existe uma interação significativa entre os dois fatores ($P=0.06$). O teste post-hoc (*mcp2atm*) permitiu verificar que, para o ratio abdômen-cauda, os mares da Noruega (NOR), Kattegat (KAT) e Atlântico Norte (ATL) eram similares (NOR-KAT: $P=0.177$; NOR-ATL: $P=0,678$; KAT-ATL: $P=0,396$). Curiosamente, dois dos mares localizados perto dos extremos de distribuição (Báltico e Mediterrâneo) também não diferiram na razão abdômen-cauda ($P=0.108$). Como, na Figura 4, os mares estão representados latitudinalmente de forma quase sequencial, desde o Báltico até ao Mediterrâneo, e depois longitudinalmente, seguindo até ao mar Negro, mais a Este, é possível verificar um padrão parabólico. Este padrão permitiu antever uma relação próxima entre as proporções corporais e a temperatura da água.

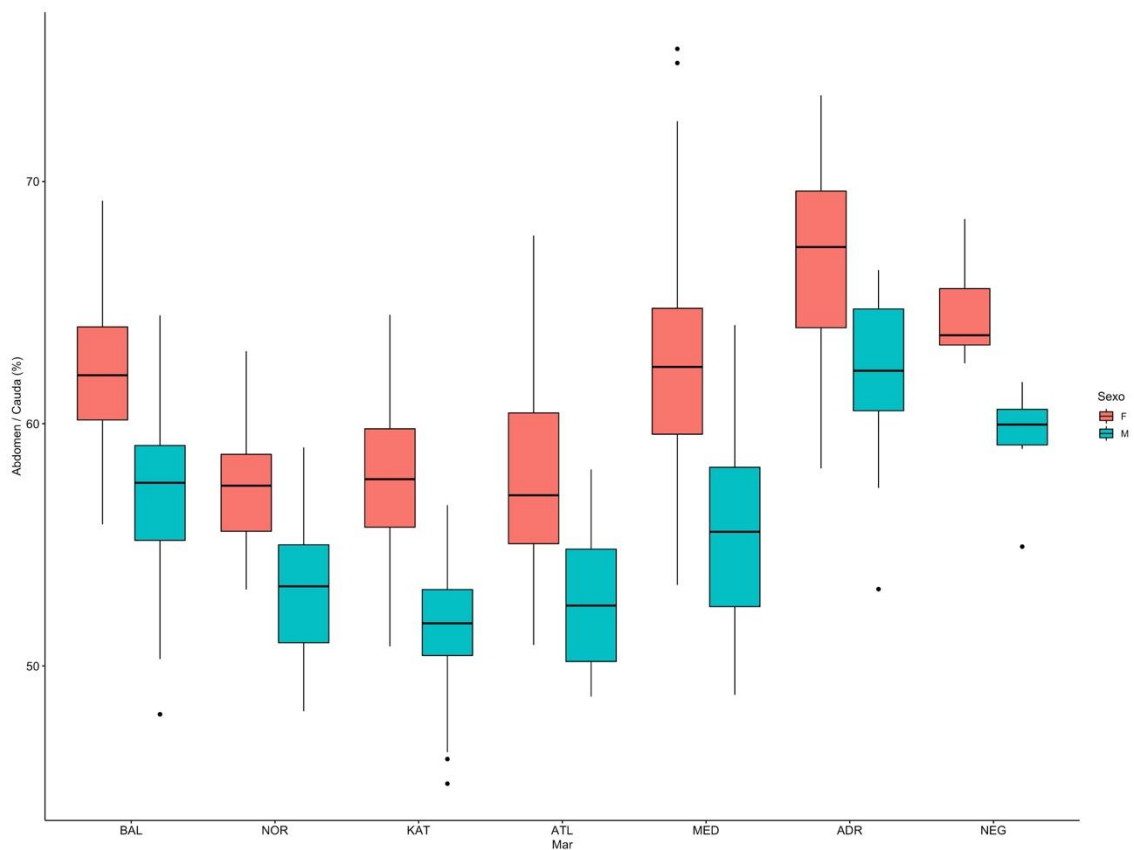


Figura 4: Rácio abdômen-cauda, em machos e fêmeas, nos mares amostrados (BAL – Mar Báltico; NOR – Mar da Noruega; KAT – Kattegat; ATL – Atlântico Norte; MED – Mar Mediterrâneo; ADR – Mar Adriático e NEG – Mar Negro).

A parábola torna-se evidente quando representamos o ratio abdômen-cauda em função da temperatura (Figuras 5 e 6). As figuras diferem apenas na variável que é publicitada através de cores. Enquanto que na Figura 5 se mostram os locais de origem dos organismos amostrados (verificando-se que os mares apresentam temperaturas médias, dos 5 anos precedentes à captura, distintas), na Figura 6 evidencia-se a diferença entre os dois sexos. A análise visual conjunta das duas figuras permite verificar a relação parabólica entre as proporções corporais e a temperatura da água do mar (mais acentuadas nos extremos de temperatura), e o dimorfismo sexual em *S. typhle* (que se mantém constante, independentemente do regime de temperatura).

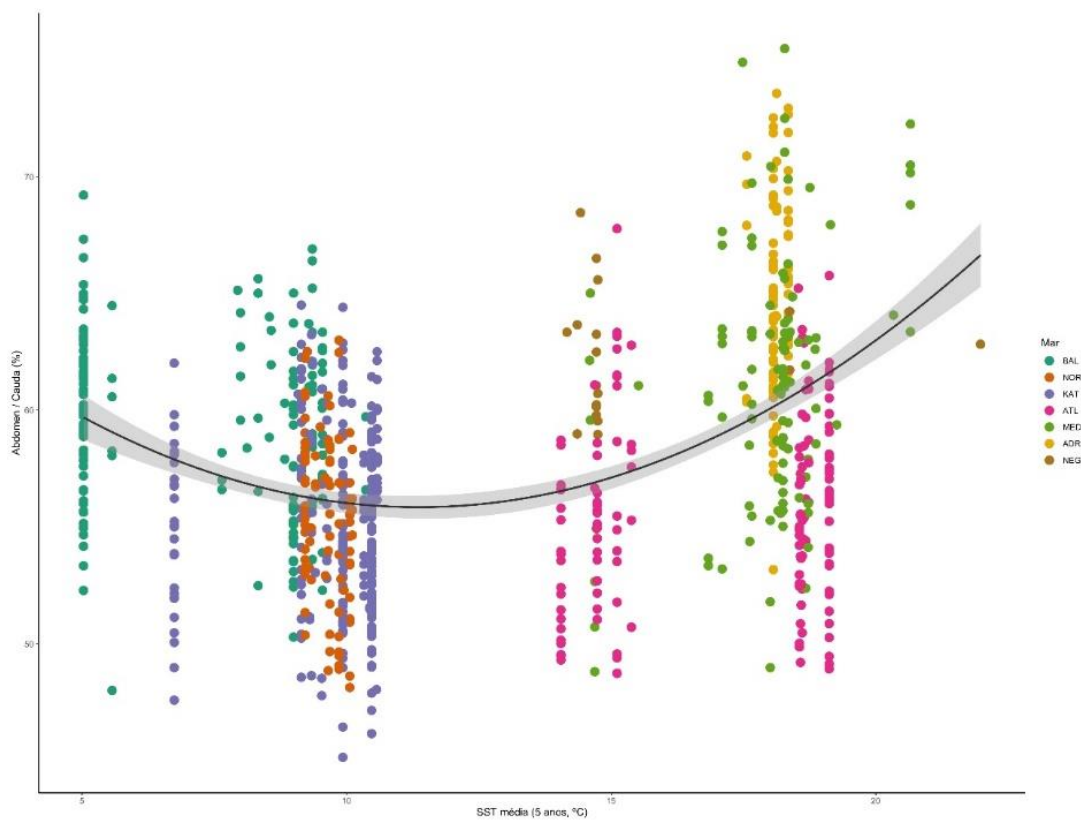


Figura 5: Relação entre o ratio abdômen-cauda e a temperatura média de 5 anos, em todos os mares amostrados (BAL – Mar Báltico; NOR – Mar da Noruega; KAT – Kattegat; ATL – Atlântico Norte; MED – Mar Mediterrâneo; ADR – Mar Adriático e NEG – Mar Negro).

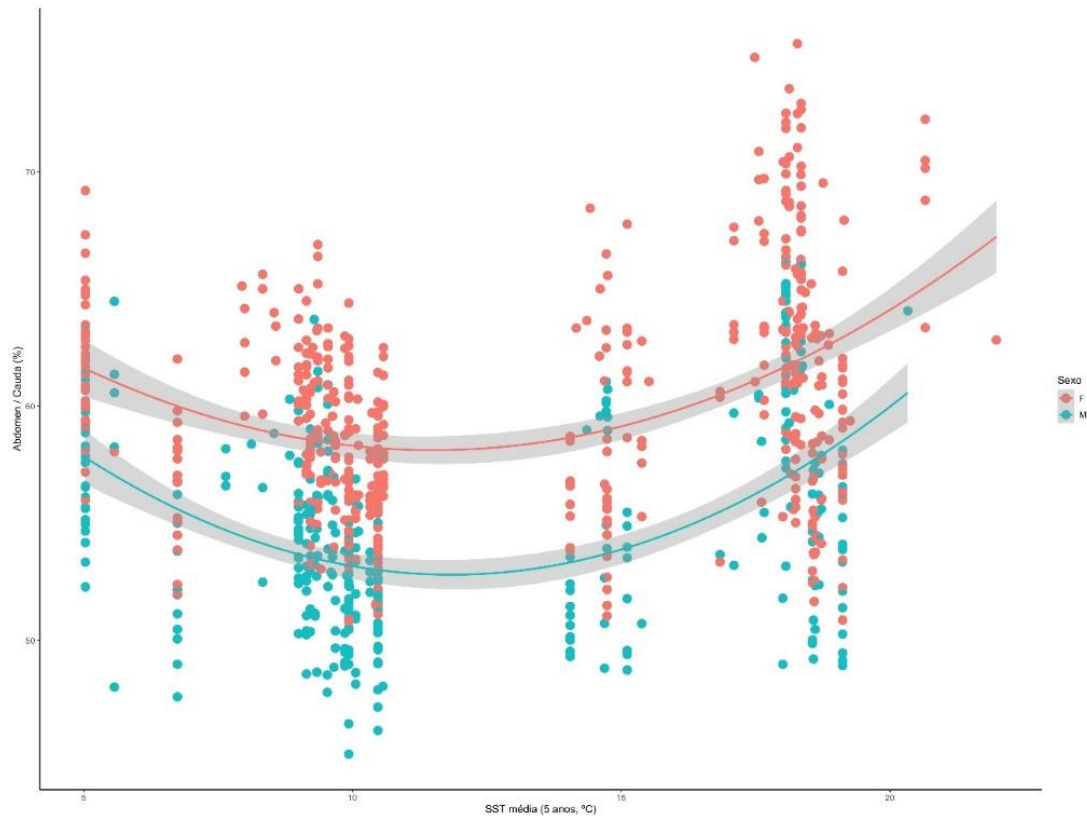


Figura 6: Relação entre o ratio abdômen-cauda e a temperatura média de 5 anos, em ambos os sexos (F=fêmeas, M=machos).

Tal como para ratio abdômen-cauda, também procuramos detetar diferenças na razão marsúpio-cauda entre os mares amostrados. Foram detetadas diferenças entre os mares (*one-way ANOVA with 20% trimmed means*; $F=9.274$; $P<0.001$), sendo essa diferença significativa (Lincon post-hoc) para os mares Báltico e mar da Noruega (BAL-NOR, $P<0.05$), mar Báltico e Kattegat (BAL-KAT, $P<0.001$), mar Báltico e mar Adriático (BAL-ADR, $p<0.005$), mar da Noruega e Atlântico Norte (NOR-ATL, $P<0,005$), Kattegat e Atlântico Norte (KAT-ATL, $P<0.001$), Atlântico Norte e mar Adriático (ATL-ADR, $P<0.001$) e, finalmente, entre o Atlântico Norte e mar Negro (ATL-NEG, $P<0.045$). Quando projetado em função da temperatura, a razão entre o marsúpio e a cauda também apresentou a forma de uma parábola, mas invertida em relação à observada no ratio abdômen-cauda (Figura 7). A figura 7 sugere que nas regiões onde as temperaturas atingiram os pontos de extremo (mais frias ou mais quentes) a razão entre o marsúpio e a cauda diminui.

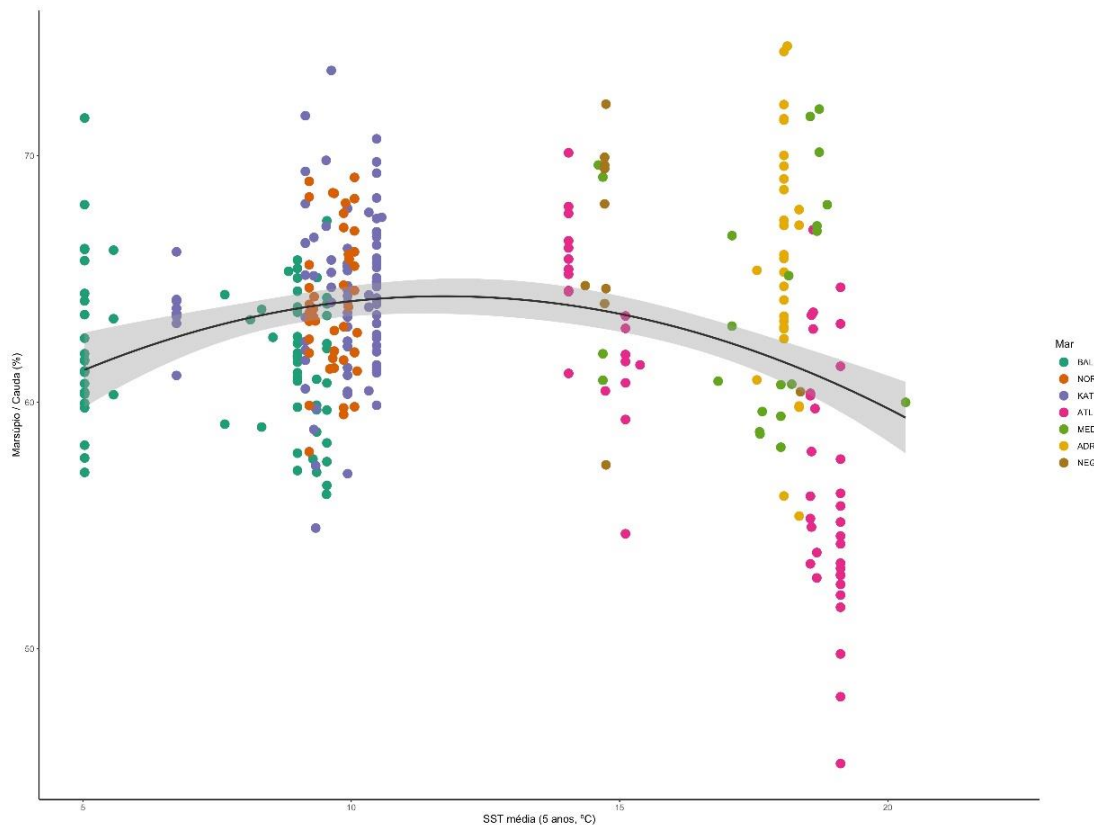


Figura 7: Relação entre o ratio marsúpio-cauda e a temperatura média de 5 anos, em todos os mares amostrados (BAL – Mar Báltico; NOR – Mar da Noruega; KAT – Kattegat; ATL – Atlântico Norte; MED – Mar Mediterrâneo; ADR – Mar Adriático e NEG – Mar Negro).

Utilizamos uma ANOVA, seguida da análise dos valores de AIC para i) identificar qual dos modelos (linear ou quadrático) melhor que se aplicaria aos dados da nossa análise e ii) verificar se os modelos eram suficientemente diferentes para justificar a escolha entre ambos. A ANOVA ($F(2,317)=20,424$, $P<0.001$) mostrou haver diferenças entre os dois modelos e os resultados de AIC apontaram o modelo quadrático como sendo o mais adequado (linear= 1861.678, quadrático= 1843.697).

Quando avaliamos as séries temporais que traduzem a evolução da temperatura da água nos mares europeus (anomalias na temperatura superficial do mar, calculadas relativamente ao período 1981-2010), identificamos pontos de quebras no mar Báltico (em 1730 e 2004), Atlântico (em 2001) e Mediterrâneo (em 1928 e 2001). Esses resultados indicam que, entre 2001 e 2004 (escolhemos 2002, como valor médio), ocorreu, simultaneamente nos três mares, uma subida de temperatura (Figura 8).

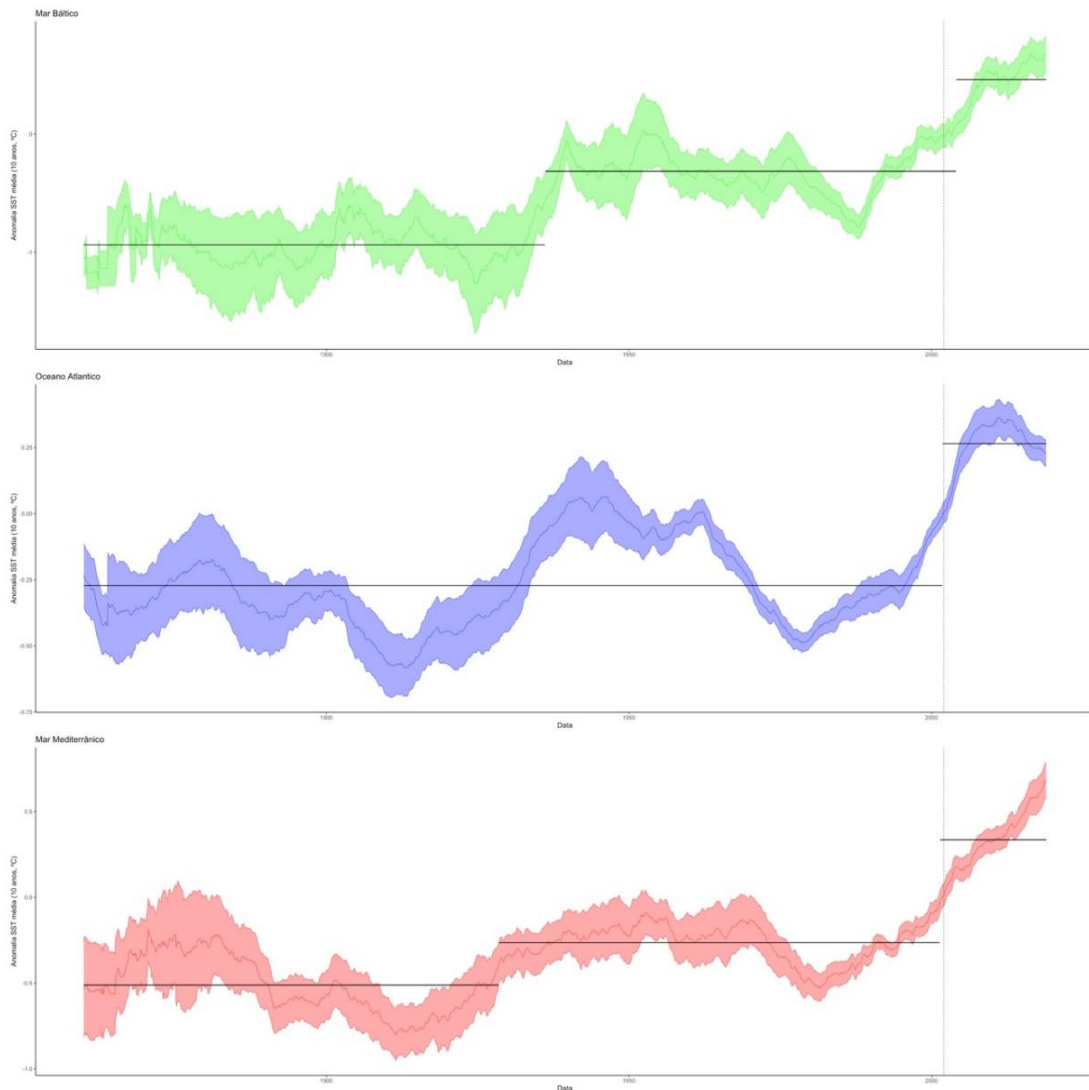


Figura 8: Séries temporais das anomalias na temperatura superficial do mar (calculadas relativamente ao período 1981-2010; www.eea.europa.eu/data-and-maps/figures/decadal-average-sea-surface-temperature-2), nos mares Báltico, Atlântico (Noruega, Atlântico Norte e Kattegat) e Mediterrâneo (Mediterrâneo e Adriático). As quebras (breakpoints) estão assinaladas com traços horizontais (o ano de 2002 está assinalado por tracejado vertical).

Depois de identificado o período recente em que a água do mar sofreu um considerável aumento de temperatura ligado aos efeitos das alterações climáticas (<https://public.wmo.int/en/media/press-release/2020-was-one-of-three-warmest-years-record>) procuramos evidências de alterações nas proporções do abdômen e cauda de *S. typhle* (antes e depois de 2002) no mar Báltico, no Atlântico (agrupando indivíduos do mar da Noruega, Atlântico e Kategatt) e mar Mediterrâneo (agrupando Mediterrâneo e Adriático). Para o mar Báltico, os resultados da ANOVA (*two-way ANOVA with 20% trimmed means*) mostraram diferenças entre os dois períodos ($P < 0.001$) e entre os sexos ($P < 0.001$), sem interação significativa entre os fatores

($P=0.148$). Com a subida da temperatura da água, ocorreu uma diminuição do ratio abdômen-cauda (Figura 9). No grupo do Atlântico, os resultados mostraram também uma diferença entre os sexos ($P<0,001$), e períodos ($P<0,05$), sem interação significativa entre os fatores ($P=0.817$). Aqui, a diminuição do ratio abdômen-cauda foi menos pronunciada do que a ocorrida no mar Báltico (Figura 9). No grupo do Mediterrâneo foi identificada uma diferença entre os períodos ($P<0.001$) e sexos ($P<0.001$), novamente sem interação significativa entre os fatores ($P=0.091$). No caso do Mediterrâneo, em contraste sobretudo com o mar Báltico, o ratio entre abdômen-cauda cresceu (Figura 9).

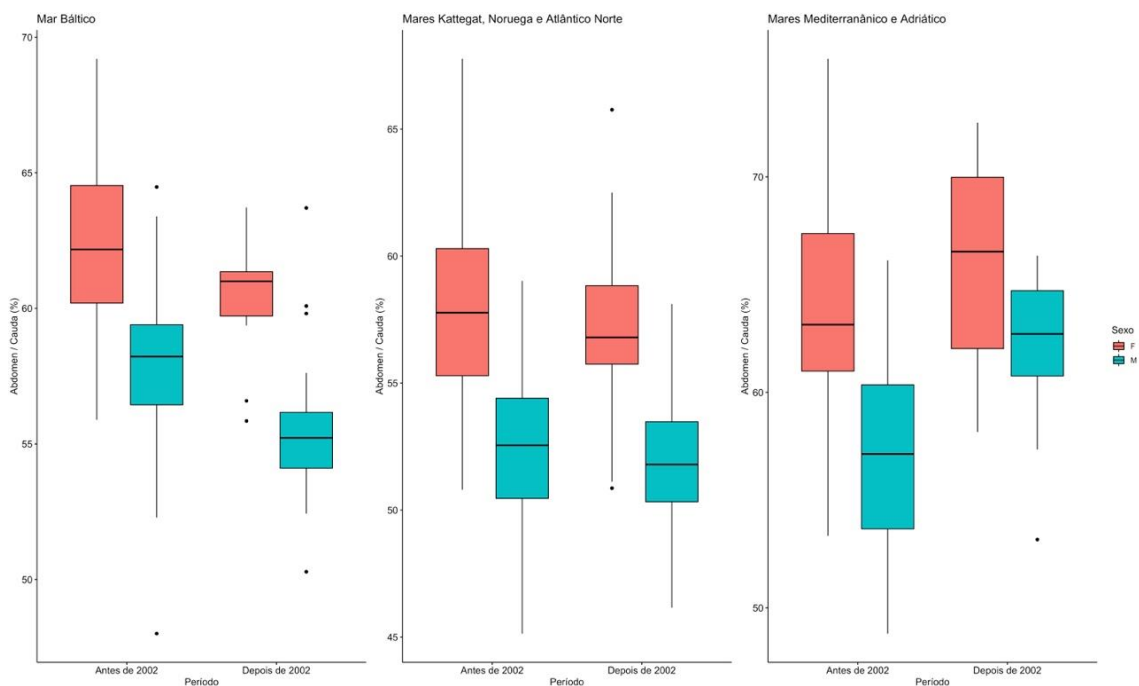


Figura 9: Ratio abdômen-cauda, para machos e fêmeas, nos mares Báltico, Atlântico (mar da Noruega, Atlântico Norte e Kattegat) e Mediterrâneo (mar Mediterrâneo e mar Adriático), no período anterior e posterior a 2002.

Os resultados do ratio abdômen-cauda, para machos e fêmeas, antes e depois de 2002, continuam a mostrar uma resposta parabólica com a temperatura (Figura 10).

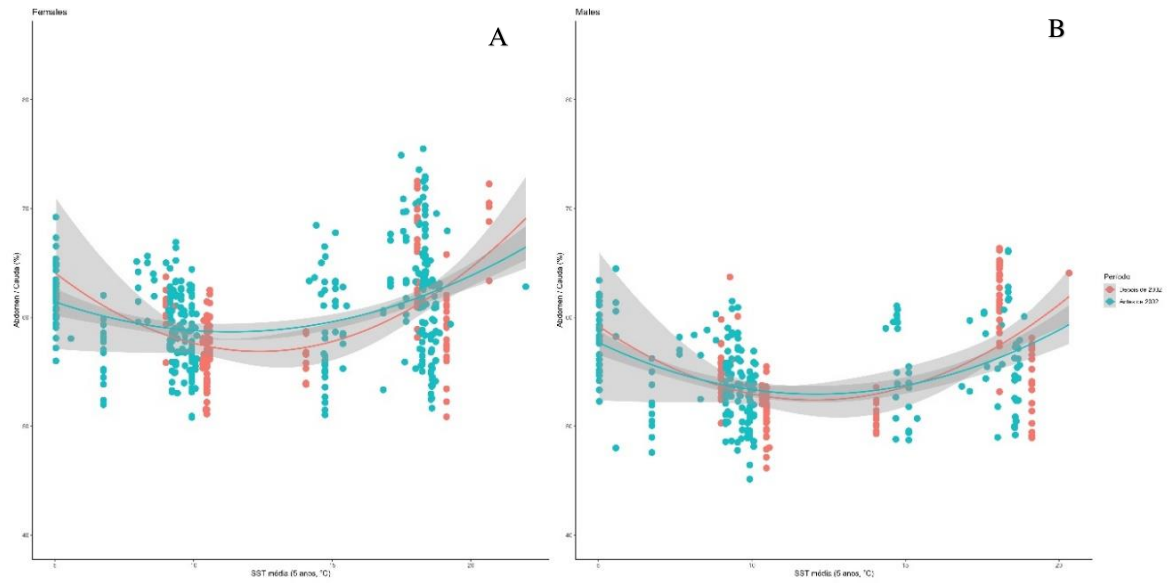


Figura 10: Ratio abdômen-cauda, de fêmeas (A) e machos (B), antes e depois de 2002.

Os resultados do ratio marsúpio-cauda, antes e depois de 2002, também continuam a mostrar uma resposta parabólica, no entanto, invertida e muito mais acentuada para o período após 2002 (Figura 11).

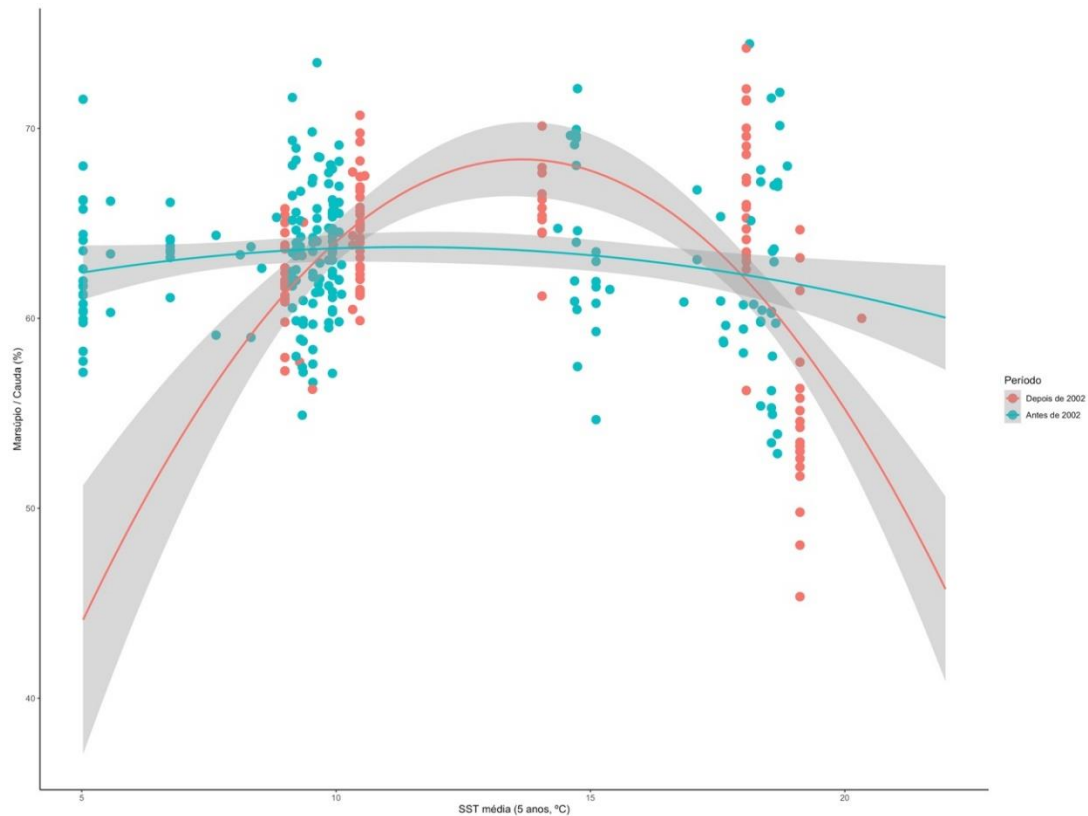


Figura 11: Ratio marsúpio-cauda, antes e depois de 2002.

4. DISCUSSÃO

Pesquisas que possuam diferentes intervalos de tempo devem considerar a relevância de definir o melhor intervalo a ser utilizado, conforme adotado nesse trabalho. Isso porque a decisão sobre o intervalo de tempo do estudo deve considerar a história de vida do indivíduo porque uma mudança de temperatura que ocorra em um período curto pode não impactar de modo a produzir alterações significativas no seu curso evolutivo. Do mesmo modo, intervalos muito longos podem não ser capazes de representar o período de vida do indivíduo para impactar no padrão evolutivo. Os resultados dos nossos testes indicaram que os intervalos de um e dez anos teriam pior desempenho enquanto os intervalos de três e cinco anos seriam os mais adequados. No caso de *Syngnathus typhle*, o pior resultado, o intervalo de um ano, pode indicar que as mudanças de temperaturas podem não ter ocorrido durante o período reprodutivo do indivíduo ou pode ter impactado apenas uma parte de sua vida adulta. O intervalo de cinco anos parece ser o modelo mais capaz de representar a totalidade da história de vida dessa espécie, uma vez que as mudanças de temperaturas ocorridas nesse período podem afetar a população total. Embora não tenhamos conhecimento de estudos que indiquem a duração de vida de *S. typhle*, há evidências de uma outra marinha (*Syngnathus abaster*) que indicam que este parente próximo pode pelo menos atingir os três anos de idade (Pereira, 2009).

Nosso estudo demonstrou a correlação linear entre a região do abdômen e da cauda com o tamanho dos indivíduos, em ambos os sexos, num período de quase dois séculos. O crescimento alométrico mostrou que, à medida que os indivíduos aumentam de tamanho, o abdômen das fêmeas cresce mais rapidamente do que o dos machos (Figura 3-A) enquanto a cauda dos machos cresce mais rapidamente do que a das fêmeas (Figura 3-B). Nosso trabalho se soma também a outros estudos que sugerem que essas seções corporais (abdômen e cauda) são geneticamente independentes, sexualmente dimórficas e respondem de modo independente às pressões seletivas e sugerem que a seleção para a fecundidade pode estar operando e favorecendo o crescimento dos abdômens nas fêmeas (Hoffman et al., 2006) e das caudas dos machos (Winkler et al., 2012).

Embora reconheçamos que diferentes forças seletivas possam atuar e influenciar o tamanho do corpo de uma espécie (e regiões específicas do corpo), e que as condições ambientais locais influenciam a intensidade da seleção para a fecundidade

(Winkler et al., 2012), definimos a temperatura da água como o fator ambiental para estudar a influência nos padrões de crescimento em *S. typhle* (García-Roa et al., 2020; Monteiro et al., 2017).

Abordamos a temperatura da água em duas dimensões: a primeira, considerando a distribuição geográfica (entre os mares estudados) e a outra temporal (antes e depois do ano de 2002).

Ao compararmos o ratio abdômen-cauda (Figura 4), para ambos os sexos, nos diferentes mares, identificamos a similaridade para os mares da Noruega, Kattegat e Atlântico Norte, ou seja, em locais de regime de temperaturas semelhantes não foram percebidas variações da razão abdômen-cauda dos indivíduos da espécie *S. typhle*. Esta observação sugere que a razão abdômen-cauda pode estar fortemente ligada à temperatura da água, uma vez que se mantém estável mesmo em zonas geográficas distintas. Curiosamente, nos mares Báltico e Mediterrâneo, locais de regimes de temperaturas muito diferentes, os indivíduos apresentaram razões abdômen-cauda similarmente aumentadas. Tal como descrito por Monteiro et al. (2017) numa outra marinha (*Nerophis lumbriciformis*), os extremos de temperatura mostraram, surpreendentemente, respostas similares por parte dos organismos. Em *N. lumbriciformis* foi observada uma distribuição parabólica na intensidade de seleção sexual (expressão dos caracteres sexuais secundários e padrões de investimento reprodutivo das fêmeas) (Monteiro et al., 2017). Neste trabalho, com *S. typhle*, também fomos capazes de detetar uma distribuição parabólica (Figuras 5 e 6), neste caso da razão abdômen-cauda (e marsúpio-cauda, nos machos). Desse modo, por analogia, sugerimos que a pressão da seleção para a fecundidade, pode estar atuando em ambos os sexos e favorecendo a evolução do tamanho corporal em machos e fêmeas (Wilson, 2006, 2009). O potencial de reprodução está positivamente relacionado com o tamanho do corpo (ex: o tamanho do ovo se correlaciona positivamente com o tamanho da fêmea) (Gonçalves et al., 2010, 2011; Nygård et al., 2019).

A análise da razão marsúpio-cauda em função da temperatura formou uma parábola invertida (Figura 7) que expressa a diminuição da razão marsúpio-cauda dos indivíduos analisados das regiões dos mares do Báltico e Mediterrâneo. Considerando que i): os resultados anteriores demonstraram um crescimento, também nos machos, da razão abdomen-cauda; ii): o dimorfismo sexual, em *S. typhle*, se manteve constante, independentemente do regime de temperatura; e iii): a cauda cresce mais rápido nos machos do que nas fêmeas, a diminuição da razão marsúpio-cauda, identificada nesta pesquisa, pode sugerir que o investimento seletivo dos machos, em

zonas onde a época reprodutiva será limitada [quer por temperaturas muito altas (MED) ou muito baixas (BAL)] estaria direcionado para o abdômen e não para o marsúpio. Considerando que os indivíduos da espécie *S. typhle* são capazes de regular os recursos investidos na prole, o tamanho do marsúpio poderia exercer influência no processo de seleção sexual favorecendo indivíduos com características que promovam vantagem reprodutiva sobre seus conspecíficos (Jones, 2005, 2009). Os nossos resultados para os machos, nos mares do Báltico e Mediterrâneo, não sugerem um aumento do tamanho do marsúpio, ao contrário do inicialmente esperado. Aqui, os indivíduos podem estar sob a ação da seleção para a fecundidade, fazendo assim suas populações selecionarem as fêmeas com maior abdômen (capazes de albergar ovários maiores). No entanto, nesses locais, que experimentam temperaturas mais próximas do limite fisiológico da espécie, os machos apresentam razões marsúpio-cauda menores.

Como nosso trabalho permitiu analisar não somente as populações ao longo da distribuição geográfica da espécie, mas também as populações numa escala temporal alargada (quase dois séculos) tivemos a possibilidade de medir o impacto do aumento de temperatura nos mares, potenciado pelas mudanças climáticas. Quando utilizado o ano de 2002 para dividir essa escala obtivemos as seguintes comparações: a) em águas mais frias, com o aumento da temperatura da água, o ratio abdômen-cauda para machos e fêmeas diminuiu quando comparado ao período anterior a 2002. Esse resultado sugere que o período reprodutivo pode ter sido ampliado com o aumento da temperatura, permitindo que indivíduos menores e potencialmente com menos chance de encontrar parceiros pudessem também se reproduzir; b) em águas de temperatura média (quando comparado aos dois extremos da distribuição), os ratios abdômen-cauda para machos e fêmeas da população sofreram menor variação entre os dois períodos comparados, o que sugere que as alterações de temperatura da água não foram suficientes para alterar a intensidade da seleção por fecundidade; c) em águas mais quentes, o aumento da temperatura foi acompanhado do aumento do ratio abdômen-cauda, para ambos os sexos, quando comparado ao período anterior a 2002. O crescimento das secções corporais sugere que o aumento na temperatura pode ter reduzido a época de reprodução dessa população resultando assim numa maior intensidade na seleção por fecundidade, favorecendo que somente os maiores indivíduos fossem escolhidos primeiro e tivessem tempo para se reproduzir.

Também foi possível observar o impacto do aumento da temperatura, em todos mares estudados, na diminuição do rácio marsúpio-cauda. O resultado mostra ainda a parábola invertida com os mares do Báltico (BAL) e Mediterrâneo (MED) nas

extremidades, mas, para o período posterior a 2002, a parábola é muito mais acentuada, indicando incremento na diminuição da relação marsúpio-cauda nos extremos de temperatura. Esse resultado sugere que nessas regiões das extremidades (BAL e MED) a seleção para a fecundidade sobre os machos, a existir, não promoveu o crescimento do marsúpio. Este resultado é, de acordo com as nossas previsões iniciais (abdômen das fêmeas e marsúpio dos machos deveriam crescer em áreas onde a duração da época de reprodução é diminuída pela temperatura), difícil de explicar. Uma possível explicação pode estar relacionada com a preferência dos machos por fêmeas maiores (Berglund, 2001). Estas conseguem se reproduzir primeiro e são capazes de encher o marsúpio mais rapidamente que as fêmeas menores. Se a época reprodutiva for encurtada pela temperatura, os machos podem não precisar de marsúpios compridos (com maior capacidade para incubar uma grande quantidade de oócitos) devido ao incremento desproporcionado da fecundidade das fêmeas que é capaz de compensar (Rispoli & Wilson, 2007).

Nosso estudo demonstra não só que pressões seletivas interferem no tamanho das secções corporais, modificando a espécie e atuando diferentemente nos machos e fêmeas, mas também que as condições climáticas estão impactando no tempo presente. Nossos resultados permitem chamar a atenção para o fato de que se a temperatura influencia os processos evolutivos, como os resultados apontam, pode não haver tempo suficiente para a espécie se adaptar às novas condições ambientais e rastrear o clima em rápida mudança, sendo que alguns autores alertam para a extensão das tendências climáticas atuais e para a possibilidade de que algumas espécies podem atingir, em breve período, o seu limite de adaptação (Millien et al., 2006; Gardner et al., 2011; Sheridan & Bickford, 2011)

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahnesjö, I., & Craig, J. F. (2011). The biology of *Syngnathidae*: Pipefishes, seadragons and seahorses. *Journal of Fish Biology*, *78*(6), 1597–1602.
<https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2011.03008.x>
- Anthony, A., Atwood, J., August, P., Byron, C., Cobb, S., & Vinhateiro, N. (2009). Coastal lagoons and climate change: Ecological and social ramifications in the US Atlantic and Gulf coast ecosystems." *Ecology and Society*, *14*(1), 1–29.
- Benton, M. J., & Twitchett, R. J. (2003). How to kill (almost) all life: The end-Permian extinction event. *Trends in Ecology & Evolution*, *18*(7), 358–365.
[https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(03\)00093-4](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(03)00093-4)
- Berglund, A. (1994). The operational sex ratio influences choosiness in a pipefish. *Behavioral Ecology*, *5*(3), 254–258. <https://doi.org/10.1093/beheco/5.3.254>
- Berglund, A. (2001). Male pipefish prefer dominant over attractive females. *Behavioral Ecology*, *12*(4), 402–406. <https://doi.org/10.1093/beheco/12.4.402>
- Berglund, A., & Rosenqvist, G. (1990). Male limitation of female reproductive success in a pipefish: Effects of body-size differences. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, *27*(2), 129–133. <https://doi.org/10.1007/BF00168456>
- Berglund, A., Rosenqvist, G., & Svensson, I. (1986). Mate choice, fecundity and sexual dimorphism in two pipefish species (*Syngnathidae*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, *19*(4), 301–307. <https://doi.org/10.1007/BF00300646>
- Bernet, P., Berglund, A., & Rosenqvist, G. (1998). Female-Female Competition Affects Female Ornamentation in the Sex-Role Reversed Pipefish *Syngnathus typhle*. *Behaviour*, *135*(5), 535–550. <https://doi.org/10.1163/156853998792897923>
- Braga Goncalves, I., Ahnesjo, I., & Kvarnemo, C. (2015). Embryo oxygenation in pipefish brood pouches: Novel insights. *The Journal of Experimental Biology*, *218*, 1639–1646. <https://doi.org/10.1242/jeb.120907>

- Cakic, P., Lenhardt, M., Mickovic, D., Sekulic, N., & Budakov, L. J. (2002). Biometric analysis of *Syngnathus abaster* populations. *Journal of Fish Biology*, *60*(6), 1562–1569. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2002.tb02448.x>
- Cardillo, M. (2002). The life-history basis of latitudinal diversity gradients: How do species traits vary from the poles to the equator? *Journal of Animal Ecology*, *71*(1), 79–87. <https://doi.org/10.1046/j.0021-8790.2001.00577.x>
- Cunha, M., Berglund, A., Mendes, S., & Monteiro, N. (2018). The ‘Woman in Red’ effect: Pipefish males curb pregnancies at the sight of an attractive female. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *285*(1885), 20181335. <https://doi.org/10.1098/rspb.2018.1335>
- Cunha, M., Macedo, N., Wilson, J., Rosenqvist, G., Berglund, A., & Monteiro, N. (2019). Reduced sexual size dimorphism in a pipefish population where males do not prefer larger females. *Ecology and Evolution*, *9*(22), 12826–12835. <https://doi.org/10.1002/ece3.5760>
- Davis, M. B., Shaw, R. G., & Etterson, J. R. (2005). Evolutionary responses to Changing Climate. *Ecology*, *86*(7), 1704–1714. <https://doi.org/10.1890/03-0788>
- Fehr, A., Walther, E., Schmidt-Posthaus, H., Nufer, L., Wilson, A., Svercel, M., Richter, D., Segner, H., Pospischil, A., & Vaughan, L. (2013). *Candidatus Syngnamydia Venezia*, a Novel Member of the Phylum Chlamydiae from the Broad Nosed Pipefish, *Syngnathus typhle*. *PLoS ONE*, *8*(8), e70853. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070853>
- García-Roa, R., Garcia-Gonzalez, F., Noble, D. W. A., & Carazo, P. (2020). Temperature as a modulator of sexual selection. *Biological Reviews*, *95*(6), 1607–1629. <https://doi.org/10.1111/brv.12632>
- Geffroy, B., & Wedekind, C. (2020). Effects of global warming on sex ratios in fishes. *Journal of Fish Biology*, *97*(3), 596–606. <https://doi.org/10.1111/jfb.14429>

- Gonçalves, I. B., Ahnesjö, I., & Kvarnemo, C. (2011). The relationship between female body size and egg size in pipefishes. *Journal of Fish Biology*, *78*(6), 1847–1854. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2011.02984.x>
- Gonçalves, I. B., Mobley, K. B., Ahnesjö, I., Sagebakken, G., Jones, A. G., & Kvarnemo, C. (2010). Reproductive compensation in broad-nosed pipefish females. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *277*(1687), 1581–1587. <https://doi.org/10.1098/rspb.2009.2290>
- Hoffman, E. A., Mobley, K. B., & Jones, A. G. (2006). Male pregnancy and the evolution of body segmentation in seahorses and pipefishes. *Evolution*, *60*(2), 404–410. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2006.tb01117.x>
- Houghton, J. T., Ding, Y., Griggs, D. J., Noguer, M., van der Linden, P. J., Dai, X., Maskell, K., & Johnson, C. A. (2001). *Climate Change 2001: The Scientific Basis. Contribution of Working Group I to the Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press.
- Jones, A. G. (2005). The Measurement of Sexual Selection Using Bateman's Principles: An Experimental Test in the Sex-Role-Reversed Pipefish *Syngnathus typhle*. *Integrative and Comparative Biology*, *45*(5), 874–884. <https://doi.org/10.1093/icb/45.5.874>
- Jones, A. G. (2009). On the opportunity for sexual selection, the bateman gradient and the maximum intensity of sexual selection. *Evolution*, *63*(7), 1673–1684. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2009.00664.x>
- Jones, P. D., Osborn, T. J., & Briffa, K. R. (2001). The Evolution of Climate Over the Last Millennium. *Science*, *292*(5517), 662–667. <https://doi.org/10.1126/science.1059126>
- Keller, I. S., & Roth, O. (2020). Parental investment and immune dynamics in sex-role reversed pipefishes. *PLOS ONE*, *15*(9), e0228974. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0228974>

- Kvarnemo, C., Mobley, K. B., Partridge, C., Jones, A. G., & Ahnesjö, I. (2011). Evidence of paternal nutrient provisioning to embryos in broad-nosed pipefish *Syngnathus typhle*. *Journal of Fish Biology*, *78*(6), 1725–1737.
<https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2011.02989.x>
- Mackay, T. F. C. (2001). The Genetic Architecture of Quantitative Traits. *Annual Review of Genetics*, *35*(1), 303–339.
<https://doi.org/10.1146/annurev.genet.35.102401.090633>
- Mair, P., & Wilcox, R. (2020). Robust statistical methods in R using the WRS2 package. *Behavior Research Methods*, *52*(2), 464–488.
<https://doi.org/10.3758/s13428-019-01246-w>
- Matić-Skoko, S., Vrdoljak, D., Uvanović, H., Pavičić, M., Tutman, P., & Bojanić Varezić, D. (2020). Early evidence of a shift in juvenile fish communities in response to conditions in nursery areas. *Scientific Reports*, *10*(1), 21078.
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-78181-w>
- Mentzafou, A., Markogianni, V., Papadopoulos, A., Pavlidou, A., Tziavos, C., & Dimitriou, E. (2020). *The Impacts of Anthropogenic and Climatic Factors on the Interaction of Spercheios River and Maliakos Gulf, the Aegean Sea* (pp. 1–33). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/698_2020_646
- Millien, V., Kathleen Lyons, S., Olson, L., Smith, F. A., Wilson, A. B., & Yom-Tov, Y. (2006). Ecotypic variation in the context of global climate change: Revisiting the rules. *Ecology Letters*, *9*(7), 853–869. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2006.00928.x>
- Mobley, K. B., & Jones, A. G. (2009). Environmental, demographic, and genetic mating system variation among five geographically distinct dusky pipefish (*Syngnathus floridae*) populations. *Molecular Ecology*, *18*(7), 1476–1490.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2009.04104.x>

- Mobley, K. B., Kvarnemo, C., Ahnesjö, I., Partridge, C., Berglund, A., & Jones, A. G. (2011). The effect of maternal body size on embryo survivorship in the broods of pregnant male pipefish. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, *65*(6), 1169–1177. <https://doi.org/10.1007/s00265-010-1129-3>
- Mobley, K. B., Small, C. M., & Jones, A. G. (2011). The genetics and genomics of *Syngnathidae*: Pipefishes, seahorses and seadragons. *Journal of Fish Biology*, *78*(6), 1624–1646. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2011.02967.x>
- Møller, A. P., & Szép, T. (2005). Rapid evolutionary change in a secondary sexual character linked to climatic change. *Journal of Evolutionary Biology*, *18*(2), 481–495. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2004.00807.x>
- Monteiro, N., Almada, V. C., & Vieira, M. N. (2005). Implications of different brood pouch structures in syngnathid reproduction. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, *85*, 1235–1241. <http://hdl.handle.net/10400.12/1462>
- Monteiro, N., Cunha, M., Ferreira, L., Vieira, N., Antunes, A., Lyons, D., & Jones, A. G. (2017). Parabolic variation in sexual selection intensity across the range of a cold-water pipefish: Implications for susceptibility to climate change. *Global Change Biology*, *23*(9), 3600–3609. <https://doi.org/10.1111/gcb.13630>
- Monteiro, N. M., Almada, V. C., & Vieira, M. N. (2005). Temporal patterns of breeding and recruitment in *Nerophis lumbriciformis* (Pisces; *Syngnathidae*) related to seawater temperatures. *Journal of Fish Biology*, *67*(5), 1475–1480. <https://doi.org/10.1111/j.0022-1112.2005.00818.x>
- Monteiro, N. M., & Lyons, D. O. (2012). Stronger Sexual Selection in Warmer Waters: The Case of a Sex Role Reversed Pipefish. *PLoS ONE*, *7*(8), e44251. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044251>
- Nygård, M., Kvarnemo, C., Ahnesjö, I., & Braga Goncalves, I. (2019). Pipefish embryo oxygenation, survival, and development: Egg size, male size, and temperature

- effects. *Behavioral Ecology*, 30(5), 1451–1460.
<https://doi.org/10.1093/beheco/arz101>
- Paczolt, K. A., & Jones, A. G. (2010). Post-copulatory sexual selection and sexual conflict in the evolution of male pregnancy. *Nature*, 464(7287), 401–404.
<https://doi.org/10.1038/nature08861>
- Pereira, M. (2009). *Contribuição da análise estrutural e química dos otólitos para a elucidação do ciclo de vida e ecologia das espécies *Nerophis lumbriciformis* e *Syngnathus abaster* (Syngnathidae)* [MSc Thesis]. Universidade do Porto.
- Phillips, P. C. (2005). Testing hypotheses regarding the genetics of adaptation. *Genetica*, 123(1–2), 15–24. <https://doi.org/10.1007/s10709-004-2704-1>
- Pollom, R. (2014). *Syngnathus typhle: The IUCN Red List of Threatened Species 2014* [Data set]. International Union for Conservation of Nature.
<https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2014-3.RLTS.T198767A46263316.en>
- Ripley, J. L., & Foran, C. M. (2006). Differential parental nutrient allocation in two congeneric pipefish species (*Syngnathidae: Syngnathus* spp.). *Journal of Experimental Biology*, 209(6), 1112–1121. <https://doi.org/10.1242/jeb.02119>
- Ripley, J. L., & Foran, C. M. (2009). Direct evidence for embryonic uptake of paternally-derived nutrients in two pipefishes (*Syngnathidae: Syngnathus* spp.). *Journal of Comparative Physiology B*, 179(3), 325–333. <https://doi.org/10.1007/s00360-008-0316-2>
- Rispoli, V. F., & Wilson, A. B. (2007). Sexual size dimorphism predicts the frequency of multiple mating in the sex-role reversed pipefish *Syngnathus typhle*: Mating system variation in *Syngnathus typhle*. *Journal of Evolutionary Biology*, 21(1), 30–38. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2007.01470.x>
- Rosenqvist, G., & Berglund, A. (2011). Sexual signals and mating patterns in *Syngnathidae*. *Journal of Fish Biology*, 78(6), 1647–1661.
<https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2011.02972.x>

- Schneider, C. A., Rasband, W. S., & Eliceiri, K. W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, *9*(7), 671–675.
<https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>
- Sepkoski, John. (1998). Rates of speciation in the fossil record. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, *353*(1366), 315–326. <https://doi.org/10.1098/rstb.1998.0212>
- Silva, K., Vieira, M. N., Almada, V. C., & Monteiro, N. M. (2007). The effect of temperature on mate preferences and female–female interactions in *Syngnathus abaster*. *Animal Behaviour*, *74*(5), 1525–1533.
<https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2007.03.008>
- Sommer, S., Whittington, C. M., & Wilson, A. B. (2012). Standardised classification of pre-release development in male-brooding pipefish, seahorses, and seadragons (family *Syngnathidae*). *BMC Developmental Biology*, *12*(1), 39.
<https://doi.org/10.1186/1471-213X-12-39>
- Stölting, K. N., & Wilson, A. B. (2007). Male pregnancy in seahorses and pipefish: Beyond the mammalian model. *BioEssays*, *29*(9), 884–896.
<https://doi.org/10.1002/bies.20626>
- Svensson, I. (1988). Reproductive Costs in Two Sex-Role Reversed Pipefish Species (*Syngnathidae*). *The Journal of Animal Ecology*, *57*(3), 929.
<https://doi.org/10.2307/5102>
- Teplitsky, C., & Millien, V. (2014). Climate warming and Bergmann’s rule through time: Is there any evidence? *Evolutionary Applications*, *7*(1), 156–168.
<https://doi.org/10.1111/eva.12129>
- Twiss, S. D., Thomas, C., Poland, V., Graves, J. A., & Pomeroy, P. (2007). The impact of climatic variation on the opportunity for sexual selection. *Biology Letters*, *3*(1), 12–15. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2006.0559>

- Walther, G.-R., Post, E., Convey, P., Menzel, A., Parmesan, C., Beebee, T. J. C., Fromentin, J.-M., Hoegh-Guldberg, O., & Bairlein, F. (2002). Ecological responses to recent climate change. *Nature*, *416*(6879), 389–395.
<https://doi.org/10.1038/416389a>
- Wilson, A. B. (2006). Interspecies mating in sympatric species of *Syngnathus* pipefish: hybridization in pipefish. *Molecular Ecology*, *15*(3), 809–824.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2006.02831.x>
- Wilson, A. B. (2009). Fecundity selection predicts Bergmann’s rule in syngnathid fishes. *Molecular Ecology*, *18*(6), 1263–1272. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2009.04084.x>
- Wilson, A. B., Ahnesjö, I., Vincent, A. C. J., & Meyer, A. (2003). The dynamics of male brooding, mating patterns, and sex roles in pipefishes and seahorses (family *Syngnathidae*). *Evolution*, *57*(6), 1374–1386. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2003.tb00345.x>
- Wilson, A. B., & Eigenmann Veraguth, I. (2010). The impact of Pleistocene glaciation across the range of a widespread European coastal species: European coastal recolonization. *Molecular Ecology*, *19*(20), 4535–4553.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04811.x>
- Wilson, A. B., & Orr, J. W. (2011). The evolutionary origins of *Syngnathidae*: Pipefishes and seahorses. *Journal of Fish Biology*, *78*(6), 1603–1623.
<https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2011.02988.x>
- Wilson, A. B., Wegmann, A., Ahnesjö, I., & Gonçalves, J. M. S. (2020). The evolution of ecological specialization across the range of a broadly distributed marine species. *Evolution*, *74*(3), 629–643. <https://doi.org/10.1111/evo.13930>
- Winkler, J. D., Stölting, K. N., & Wilson, A. B. (2012). Sex-specific responses to fecundity selection in the broad-nosed pipefish. *Evolutionary Ecology*, *26*(3), 701–714. <https://doi.org/10.1007/s10682-011-9516-4>