**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE DE AMBIENTES COSTEIROS**

**Exame Geral de Qualificação**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Nome do(a) aluno(a)**: André Guilherme Madeira | | | | | | **Bolsista**: | CAPES  CNPq  FAPESP  OUTRAS |
| **Vínculo empregatício:**  NÃO  SIM | |  | |  | | | |
| **Nome do(a) orientador(a)**: Gustavo Maruyama Mori | | | | | | | |
| **Curso:** | Mestrado | | Doutorado | | **Data de Ingresso**: 03/2020 | | |

**Instrução Normativa nº 11/2019** - CLP - Dispõe sobre as Instruções Normativas do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade de Ambientes Costeiros (PPG-BAC)

**Atividades acadêmicas relevantes** *(Monitorias, Estágio-docência, Palestras, etc):*

1. Trabalhos publicados e/ou submetidos a periódicos indexados:

Mori, G.M.; Madeira, A.G.; Cruz, M.V.; Tsuda, Y.; Takayama, K.; Matsuki, Y.; Suyama, Y.; Iwasaki, T.; de Souza, A.P.; Zucchi, M.I. & Kajita, T. (2021). Testing species hypotheses in the mangrove genus *Rhizophora* from the Western hemisphere and South Pacific islands. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 248(5): 1-11.

1. Participação em eventos científicos:

Participação no 66º Congresso Brasileiro de Genética (Setembro/2021) com apresentação do trabalho *Integration of population genomics and modeling of dispersal by ocean currents to infer mangrove conectivity*.

1. Outros:

90 horas de Estágio de Docência na disciplina “Genética”, dos cursos de Graduação em Ciências Biológicas – Bacharelado e Licenciatura, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Instituto de Biociências do Câmpus do Litoral Paulista (UNESP-IB/CLP), sob supervisão do Prof. Dr. Gustavo Maruyama Mori, no período de 03/11/2020 a 26/02/2021.

Coorientação e participação na banca examinadora do Trabalho de Conclusão de Curso da aluna Maria Constance de Almeida, intitulado “Identificando sinais da seleção natural em mangue vermelho, *Rhizophora mangle*, na costa brasileira utilizando RAD-seq”.

**Título:** Integração de genômica de populações e modelagem biofísica de dispersão por correntes oceânicas para inferência da conectividade de árvores de mangue do litoral brasileiro

**Resumo do projeto de pesquisa desenvolvido:**

A dispersão é um mecanismo crucial para os seres vivos, pois permite que eles alcancem novos recursos e que populações e espécies explorem novas condições ambientais. Descrever mecanismos de dispersão de algumas espécies que podem se deslocar por milhares de quilômetros pode ser muito custoso ou mesmo inviável, como no caso dos propágulos de árvores mangue. A dispersão e distribuição dessas árvores têm sido estudada no mundo todo por meio de dados moleculares, e a influência das correntes oceânicas no deslocamento dos propágulos tem sido cada vez mais evidente. Entretanto, poucos trabalhos relacionam diretamente os padrões de distribuição das populações com a dispersão por correntes oceânicas de modo integrado. Nesse trabalho, nosso objetivo é avaliar o papel das correntes oceânicas na dispersão e na conectividade de *Rhizophora mangle* ao longo da costa brasileira. Estamos testando a hipótese nula, com ausência de estruturação populacional, bem como hipóteses que consideram isolamento por distância ou por oceanografia considerando diferentes contribuições do movimento dos propágulos e do recrutamento. Utilizando dados moleculares obtidos por RAD-seq de plantas provenientes de onze localidades ao longo da costa brasileira, descrevemos a estrutura genética de populações e inferimos taxas de migração recentes e ancestrais entre as populações amostradas. Para complementar as análises genéticas, simulamos o deslocamento de propágulos entre as populações através da estimativa de transporte oceânico utilizando modelagem oceanográfica física. As análises de estrutura, superfícies de migração efetiva e estimativa de transporte oceânico descrevem uma divisão norte-sul entre as populações amostradas, o que é corroborado por outros estudos com *Rhizophora* e outras plantas de mangue. Observamos ainda uma direcionalidade no deslocamento de propágulos de Leste para Oeste entre as populações do grupo Norte, o que corrobora o papel das correntes oceânicas na conectividade de plantas dispersas pelo mar. As taxas de migração recente inferidas não indicam fluxo gênico entre as localidades, sugerindo que a estrutura observada emergiu e se mantém por eventos de dispersão a longas distâncias, que usualmente são raros. Por outro lado, a inferência das taxas de migração ancestrais indica direcionalidade na migração, mas de forma menos evidente, do que a observada nas análises de estimativa de transporte oceânico. Nas próximas etapas, avaliaremos os efeitos geográficos e oceanográficos nos padrões de variação genética neutra utilizando análise de redundância baseada em distância e análise de redes. Esses resultados serão relevantes para explicar a distribuição atual e futura dessas populações frente às mudanças climáticas, sendo relevantes, portanto, para guiar os esforços de conservação de mangues e manguezais.

1. **Introdução e Objetivos:**

A dispersão é o movimento de organismos de seu local de origem para uma nova área de vida. É, portanto, um processo distinto da migração – que implica um movimento de ida e volta, sazonal – e do forrageamento – movimentos de menor escala em busca de recursos (Cote et al. 2017). Ela é também um processo fundamental para os organismos, pois influencia a distribuição de uma espécie, sua resiliência frente a mudanças ambientais (Travis et al. 2013) e estabelece a conectividade entre populações espacialmente estruturadas (Lowe et al. 2017) .

O processo de dispersão pode ser dividido em três estágios: (a) emigração, que é a saída do indivíduo ou unidade dispersora, (b) o trânsito pela matriz ambiental, e (c) imigração, que é a chegada e estabelecimento na nova área de vida (Cayuela et al. 2018), e cada um desses estágios pode estar sob seleção em uma população (Travis et al. 2012). As diferentes estratégias de dispersão podem evoluir por seleção natural em uma população de modo que haja redução da competição intra-específica e dos cruzamentos consanguíneos, bem como em resposta a efeitos ambientais e processos demográficos (Duputié & Massol 2013), tornando a dispersão uma característica independente na história de vida da população (Bonte & Dahirel 2017).

Quando o indivíduo migrante se reproduz no local de destino contribuindo para o pool gênico da população local, ocorre a dispersão efetiva (Broquet & Petit 2009). Esse recrutamento de novos indivíduos tem consequências demográficas, afetando taxas de crescimento da população e diminuindo o risco de extinção (Lowe & Allendorf 2010), além de consequências genéticas, pela ocorrência de fluxo gênico, diminuindo o endocruzamento, poder acarretar no aumento da aptidão da população (Frankham 2015). Dadas às suas características e à sua importância biológica, o estudo dos mecanismos de dispersão e suas consequências é de grande importância científica e tem aplicações práticas, por exemplo o desenvolvimento de planos de manejo e estratégias de conservação (Driscoll et al. 2014).

Esforços de investigação com objetivo de comprender a dispersão e o estabelecimento de novos indivíduos em uma população apresentam inúmeros desafios. As metodologias empregadas são diversas e dependem das especificidades de cada sistema (Gelmi-Candusso et al. 2019; Jordano 2017; Young et al. 2015). Entre os métodos demográficos utilizados, por exemplo, encontram-se a telemetria e os métodos de captura e recaptura. A telemetria (marcar um animal ou unidade dispersora com um transmissor e seguir sua trajetória) vem avançando muito em termos de tecnologia e de possibilidades (Shafer et al. 2016), sendo muito utilizada para avaliar movimentos rotineiros e cíclicos, como migrações e forrageamentos, mas ainda apresenta problemas para lidar com movimentos menos frequentes e mais imprevisíveis como a dispersão (Cayuela et al. 2018). Por sua vez, estratégias baseadas em captura e recaptura são amplamente utilizadas para estudar a dispersão de animais com dispersão ativa (Cayuela et al. 2018).

Para avaliar a dispersão efetiva, é necessário conciliar estratégias para avaliar o deslocamento, como acompanhar ou simular o processo de deslocamento, e a fixação, avaliando a contribuição das populações envolvidas no pool genético (Shafer et al. 2016). A dispersão efetiva pode ser inferida para eventos recentes relacionados a poucas gerações através de testes de parentesco, ou para processos em maiores escalas de tempo, utilizando, por exemplo, o índice de fixação (FST) ou aplicando a teoria da coalescência (Nathan et al. 2003). Uma série de métodos baseados na teoria da coalescência foram desenvolvidos, e um dos modelos mais utilizados é o de isolamento com migração (IM; Strasburg & Rieseberg 2011). Métodos de Máxima Verossimilhança mais recentes baseados em IM são bastante diversos e permitem incluir, por exemplo, migração assimétrica e tamanho populacional variável (Costa & Wilkinson-Herbots 2017). Entretanto, as abordagens baseadas em verossimilhança demandam modelos pouco realistas ou ainda exigem grande esforço computacional (Bertorelle et al. 2010). Uma alternativa para a análise de sistemas complexos é a Computação Bayesiana Aproximada (*Aproximated Bayesian Computation*, ABC; Bertorelle et al. 2010; Csilléry et al. 2010), que compara estatísticas sumárias dos dados experimentais com o de modelos simulados, permitindo avaliar a probabilidade posterior de diferentes cenários e a inferência de parâmetros demográficos.

As metodologias citadas apresentam potencialidades e limitações, de forma que a escolha do método deve seguir as especificidades do sistema estudado. Um desafio comum a todas as metodologias, entretanto, é a escala espacial da dispersão. Eventos de dispersão de longa distância (*long distance dispersion*, LDD), da ordem de milhares de quilômetros, são eventos raros para a maioria das espécies, porém podem apresentar grandes consequências demográficas e, portanto, não devem ser subestimados (Nathan 2006). Quando estudamos eventos de LDD, é custoso e impraticável acompanhar diretamente os mecanismos de dispersão, e não é possível extrapolar dados ecológicos regionais para escalas dessa magnitude (Bullock & Nathan 2008), de forma que a modelagem numérica se apresenta como uma alternativa eficiente (Hernawan et al. 2017; Jahnke et al. 2018; Nathan et al. 2003). A LDD é especialmente importante para espécies marinhas (Villarino et al. 2018) e as correntes oceânicas têm um grande papel nesses deslocamentos (Hays 2017; Hays et al. 2016; Lalire & Gaspar 2019). No caso de organismos planctônicos, as correntes oceânicas são ainda mais determinantes na dispersão (Almany et al. 2017; Villarino et al. 2018), ao carregá-los passivamente por longas distâncias. O mesmo ocorre com espécies de plantas costeiras que se dispersam pelo mar, e estudos recentes utilizam a modelagem de partículas para simular a dispersão de gramíneas costeiras (Smith et al. 2018), urtigas (Wu et al. 2018) e árvores de mangue (Van der Stocken et al. 2019).

Os mangues são plantas de diversos gêneros que apresentam adaptações para a vida em uma interface entre continente e oceano. Entre essas adaptações, encontram-se os propágulos; unidades dispersoras – frutos ou sementes – que são capazes de permanecer por semanas ou meses no mar, sem perder sua viabilidade (Tomlinson 1986), permitindo assim a LDD. Os mangues ocorrem em amplas distribuições geográficas, em toda a faixa tropical e subtropical, de forma que muitos dos estudos de dispersão se baseiam em informações genéticas.

Utilizando marcadores microssatélite, Yan e colaboradores (2016) compararam os padrões de diversidade genética de *Rhizophora* em toda a região do Oceano Índico e oeste do Oceano Pacífico (Indo-West Pacific region, IWP) e demonstraram que, ao contrário do esperado para espécies com potencial para LDD, existe pouca conectividade entre as populações da região. A conclusão, portanto, foi que diversos fatores – ecológicos, demográficos, históricos – devem ser levados em consideração para investigar a distribuição de mangues. Ao longo da Península da Malásia, Wee e colaboradores (2014) demonstraram a importância das correntes oceânicas na estruturação genética de *R. mucronata*; neste caso, a península não atuaria como barreira geográfica e as populações se encontrariam estruturadas entre o mar de Adaman e o estreito de Malacca, separados por diferentes correntes oceânicas. Outras espécies de mangue com menor potencial de dispersão, entretanto, apresentaram maiores limitações ao fluxo gênico ao longo desta península, sugerindo que ela atue como um filtro à dispersão efetiva de mangues, e não como uma barreira (Wee et al. 2020). Já em uma menor escala geográfica, Hasan e colaboradores (2018) investigaram a estruturação das populações de *Avicennia officinalis* nos manguezais de Sundarban, em Bangladesh, e demonstraram a influência da degradação ambiental na conectividade; regiões de mata nativa apresentaram grande conectividade, enquanto áreas fragmentadas encontram-se isoladas geneticamente.

Na região do Oceano Atlântico e leste do Pacífico (Atlantic-East Pacific region, AEP), Takayama e colaboradores (2013) investigaram a conectividade das populações de *Rhizophora* utilizando DNA cloroplastidial (cpDNA) e microssatélites. Nesse estudo, foi destacada a importância do continente americano como barreira à dispersão entre as populações provenientes da costas do Pacífico e do Atlântico, o fluxo gênico entre as populações da costa oeste africana e da costa leste das Américas, e entre as populações da costa oeste das Américas e de ilhas do Pacífico Sul. Esses resultados foram posteriormente corroborados com dados de polimorfismos de base única (*single nucleotide polymorphisms*, SNPs; Mori et al. 2021). Também para o AEP, Hodel e colaboradores (2018) utilizaram SNPs e cpDNA para identificar a influência da dispersão por pólen e por propágulos em *Laguncularia racemosa* e *R. mangle* no Caribe e também destacando a importância das correntes oceânicas no transporte de propágulos. Ngeve e colaboradores (2021) investigaram propágulos de *R. racemosa* encontrados em uma praia livre de manguezais na costa camaronesa, estimando seu relacionamento com as populações de mangue mais próximas. Entretanto, os propágulos encontrados estavam isolados geneticamente dessas populações, indicando que foram provenientes de populações mais distantes (>300km), além das fronteiras do Camarões, evidenciando a importância de estudos de dispersão de escalas continentias e políticas de conservação intergovernamentais (Ngeve et al. 2021).

No Brasil, diversos estudos (Cruz et al. 2019, 2020; Francisco et al. 2018; Mori et al. 2015; Pil et al. 2011; da Silva et al. 2020) realizados com marcadores moleculares evidenciaram a divisão entre populações de árvores de mangue entre as costas Norte e Leste do país. Esse padrão foi observado para *R. mangle* (Francisco et al., 2018; Pil et al., 2011), *A. schaueriana* e *A. germinans* (Cruz et al. 2019, 2020; Mori et al. 2015; da Silva et al. 2020), mas não para *L. racemosa* (Sereneski et al., 2021). Em conjunto, esses resultados indicam que um fator importante, mas não absoluto, para a dispersão de propágulos de mangue seja o padrão de correntes oceânicas que se bifurcam no Nordeste brasileiro (Lumpkin & Johnson 2013), inlfuenciando o trânsito de propágulos entre populações e afetando diretamente o fluxo gênico. Para o gênero *Avicennia,* a disponibilidade de água doce parece ser outro fator preponderante na adaptação das populações, o que pode influenciar no recrutamento de novos indivíduos provenientes de eventos de LDD (Cruz et al. 2019, 2020).

Apesar da relativa extensa literatura sobre a dispersão de mangues utilizando marcadores moleculares, são raros os estudos que utilizam mais do que uma fonte de informação, e os trabalhos existentes lidam com escalas de poucas centenas de quilômetros. Ngeve e colaboradores investigaram a conectividade de populações de *R. racemosa* ao longo dos estuários camaronenses (Ngeve et al. 2016), utilizando marcadores microssatélite e simulação de soltura de propágulos, e ao longo do rio Wouri (Ngeve et al. 2017), utilizando estes mesmos marcadores associados à uma estratégia de captura e recaptura de propágulos. As evidências, em conjunto, permitiram se concluir que a distribuição atual de *R. racemosa* ao longo da costa corresponde melhor a características atuais das correntes locais do que a eventos geológicos ancestrais (Ngeve et al., 2016), e que o transporte de propágulos no rio Wouri é bidirecional, sugerindo que a maré e o vento tem grande importância na dispersão (Ngeve et al., 2017). Estudos semelhantes que integrem distintas metodologias como os realizados para o litoral camaronense (Ngeve et al., 2017, 2016) são raros, mas cada vez mais comuns em outros grupos de organismos (Bertola et al. 2020; Liu et al. 2021; Nikolic et al. 2020). No Brasil, não existem trabalhos que relacionem explicitamente dados genéticos e dados oceanográficos para descrição da dispersão de mangue em escalas continentais.

Nesse presente trabalho, **nosso objetivo é avaliar o papel das correntes oceânicas na dispersão e conectividade de *R. mangle* ao longo da costa brasileira, utilizando marcadores moleculares e simulação da dispersão de propágulos**. Testaremos a hipótese nula (Ho) de que as árvores de *R. mangle* do litoral brasileiro constituem uma única população. Dessa forma, esperamos que os dados genéticos não apontem nenhuma estruturação populacional, e que as simulações demonstrem intensa troca de propágulos entre os diferentes pontos de amostragem. Alternativamente (H1), a dispersão seria limitada majoritariamente na fase de imigração. De acordo com essa hipótese, esperamos que os propágulos simulados não dispersem para muito longe de seus locais de origem, e que os dados genéticos apontem para uma estrutura populacional rígida, com pouca (ou ausência de) mistura ou de fluxo gênico. Em uma terceira hipótese (H2), as respostas a diferentes fatores bióticos e abióticos seriam chave para a conectividade das populações de *R. mangle*. Nesse caso, esperamos observar discrepâncias entre o padrão de deslocamento dos propágulos simulados e o padrão de fluxo gênico inferido. Por fim (H3), as correntes oceânicas podem ser o fator majoritário no fluxo gênico, e, portanto, na dispersão e no estabelecimento de *R. mangle*. Aqui, prevemos que o padrão de deslocamento dos propágulos simulados reflita o padrão de fluxo gênico e estrutura genética inferidos pelos dados genéticos.

1. **Metodologia:**

*Obtenção dos dados genéticos*

Estamos trabalhando com um banco de dados de SNPs de *R. mangle* obtidos por RAD-seq (*Restriction-site Associated DNA sequencing*) de 78 indivíduos, amostrados em onze localidades da costa brasileira, de Salinópolis-PA até Florianópolis-SC (Tabela 1, Figura 1). Foram coletadas amostras de DNA com alta integridade e em grandes quantidades (> 300 ng), aferidas com o fluorômetro Quantus™ Fluorometer utilizando QuantiFluor® dsDNA System (Promega, Madison, WI, EUA). Três bibliotecas de RAD-seq foram construídas de acordo com o protocolo original (Baird et al. 2008). O sequenciamento das bibliotecas foi realizado com o sequenciador HiSeq 2000 (Illumina) na Macrogen (Seoul, Coreia do Sul). A coleta dos dados e a montagem da biblioteca de RAD-seq foram realizadas anteriormente ao início desse projeto pelo nosso grupo de pesquisa.

As *reads* obtidas foram demultiplexadas utilizando o programa *proccess\_radtags* do software STACKS 2.4 (Rochette e Catchen 2017) e removemos os adaptadores com o software cutadapt 2.2 (Martin 2011). Utilizamos o software TRIMMOMATIC 0.39 (Bolger et al. 2014) na filtragem inicial das *reads* (Phred score > 33) e então as alinhamos ao genoma de referência de *R. apiculata* (NCBI projeto PRJEB8423; Xu et al. 2017) com o software bowtie 2.3.5.1 (Langmead e Salzberg 2012). Utilizamos o software SAMtools 1.9 (Li 2011) para indexar, listar e organizar as reads e o programa bcftools 1.9 (Narasimhan et al. 2016) para identificar os SNPs. Por fim, utilizamos o software VCFtools v0.1.16 (Danecek et al. 2011) para manter somente os SNPs presentes em pelo menos 80% dos indivíduos e somente os indivíduos com menos de 20% de dados faltantes.

**Tabela 1.** Locais de amostragem dos indivíduos de *R. mangle* utilizados neste trabalho.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Sigla (N) | Local de coleta | Latitude | Longitude |
| SAL (5) | Salinópolis-PA | 1º 23’ 44,88’’ S | 47º 22’ 5,16’’ O |
| PAR (4) | Bragança-PA | 1º 10’ 34,43’’ S | 46º 36’ 59,4’’ O |
| ALC (9) | Alcântara-MA | 3º 35’ 25,03’’ S | 44º 24’ 20,62’’ O |
| PNB (7) | Parnaíba-PI | 3º 13’ 10,16’’ S | 41º 49’ 24,89’’ O |
| PRC (8) | Paracuru-CE | 4º 35’ 14,32’’ S | 39º 3’ 25,49’’ O |
| TMD (8) | Tamandaré-PE | 9º 24’ 36,94’’ S | 35º 3’ 52,02’’ O |
| GPM (2) | Guapimirim-RJ | 23º 18’ 3,96’’ S | 43º 0’ 5,47’’ O |
| UBA (10) | Ubatuba-SP | 24º 30’ 36’’ S | 45º 9’ 46,8’’ O |
| CNN (7) | Cananéia-SP | 25º 6’ 10,44’’ S | 47º 50’ 49,92’’ O |
| PPR (10) | Pontal do Paraná-PR | 26º 22’ 37,56’’ S | 48º 21’ 19,44’’ O |
| FLN (8) | Florianópolis-SC | 28º 25’ 55,92’’ S | 48º 31’ 8,04’’ O |

N – tamanho amostral.

Gráfico

Descrição gerada automaticamente

**Figura 1.**Amostragem e análises de estrutura. À esquerda: localidades amostradas e tamanho amostral. À direita: *barplots* das análises de estrutura obtidas com DAPC e admixture (k=2 em ambos os casos).

Para a identificação dos marcadores neutros, utilizamos várias abordagens diferentes para reduzir a chance de detecção de falso-positivo (François et al. 2016). A primeira abordagem utiliza o programa LOSITAN (Antao et al. 2008), que retorna os marcadores que estão no extremo da curva de distribuição de FST, implementando o método FDIST2 (Beaumont e Nichols 1996). Utilizamos ainda o pacote pcadapt 4.1.0 (Luu et al. 2017), que implementa uma Análise de Componentes Principais (*Principal Component Analysis*, PCA), levando em consideração a estrutura das populações para identificar se determinado SNP apresenta FST significativamente diferente dos demais. A terceira abordagem que leva em conta o FST é uma abordagem Bayesiana implementada no programa Bayescan 2.1 (Foll e Gaggiotti 2008). Em adição aos métodos de FST, utilizamos uma abordagem de modelos mistos de fatores latentes (*latent factors mixed models*, LFMM) implementada nos pacotes LEA 3.6.0 e LFMM 1.0 (Frichot et al. 2013). Essa abordagem nos permite associar frequências alélicas e fatores ambientais, como salinidade, pluviosidade, temperatura e ciclo de marés. Consideramos para as análises subsequentes apenas SNPs identificados como neutros por três ou mais métodos. Ao final dessa preparação, contamos com um total 6510 SNPs sem evidências de seleção natural.

*Estrutura genética de populações*

Para a atribuição dos indivíduos a populações, utilizamos o programa admixture 1.3.0 (Alexander et al. 2009), que implementa um modelo genético que presume frequências alélicas correlacionadas e mistura ancestral. Em complementação, utilizamos o pacote adegenet 2.1 (Jombart e Ahmed 2011) do R (R Core Team, 2021) para realizar a análise de discriminantes de componentes principais (*Discriminant Analysis of Principal Components*, DAPC) para identificar as populações, independente de modelo genético (Jombart et al. 2010).

De modo complementar, analisamos as superfícies de migração efetiva na paisagem das localidades amostradas utilizando o software EEMS (*Estimating Effective Migration Surfaces*; Petkova et al. 2015). O EEMS utiliza o modelo de isolamento por distância como a hipótese nula, e retorna como resultado os desvios desse modelo no fluxo gênico observado para as amostras georreferenciadas utilizadas. Estima-se, por este modelo, os parâmetros *m,* que caracteriza a diversidade genética entre distintos demes (i.e. um parâmetro de migração), e *q,* o qual caracteriza a diversidade genética dentro destes demes (i.e. um parâmetro de diversidade genética). Dessa forma, é criada uma superfície que destaca os locais com alto fluxo gênico e as barreiras a esse fluxo. Utilizamos cinco corridas independentes, com 107 passos de cadeias de Markov Monte Carlo (*Markov Chain Monte Carlo*, MCMC) e 106 de *burn-in*, e tamanho dos demes de 1000.

As etapas de detecção de SNPs neutros e a atribuição de indivíduos a populações foram realizadas durante a coorientação da aluna de graduação Maria Constance de Almeida. Esse presente projeto de mestrado colabora com o esforço científico em equipe de pesquisadores e pesquisadoras, que trabalharam e trabalham conosco desde a coleta do material vegetal às diversas análises empregadas.

*Inferências de dispersão efetiva*

Para testarmos a conectividade entre as populações de *R. mangle* na costa brasileira, utilizamos duas abordagens. A primeira metodologia foi a estimativa de taxas direcionais de migrações recentes, de até duas gerações, implementada no programa BA3-SNPs 1.1 (Mussmann et al. 2019). O BA3-SNPs é uma modificação do programa BayesAss (Wilson e Rannala 2003) para a utilização de grandes bancos de dados de SNPs. O BayesAss implementa um método Bayesiano de MCMC para estimar taxas assimétricas de migração recente, onde a migração *m* é a proporção de cada população com ancestralidade migrante (Wilson e Rannala 2003). Foram realizadas 108 iterações, com *burn-in* de 106 e intervalo de amostragem de 100. Os parâmetros de mistura para frequência alélica, consanguinidade e taxas de migração foram estabelecidos em 0,9, 0,05 e 0,1, respectivamente, otimizados para uma taxa de aceitação ótima entre 20%-40% (Wilson e Rannala 2003).

Para complementar a análise realizada com o método implementado no BA3-SNPs, inferimos as taxas de migração ancestral entre as populações de *R. mangle* a partir do espectro de frequência dos sítios (*site frequency spectrum*, SFS; Nielsen 2000) com o software fastimcoal2 (Excoffier et al. 2013). Com base nos resultados das análises de estrutura populacional, e a fim de diminuir a demanda computacional, inferimos, inicialmente, somente as taxas de migração entre as populações do grupo Norte, de Salinópolis-PA a Paracuru-CE, e entre as populações do grupo Sul, de Tamandaré-PE a Florianópolis-SC (Modelo 1; Anexo I). Em seguida, com base nos resultados da estimativa de transporte oceânico, inferimos as taxas de migração entre essas mesmas populações, porém com a população de Tamandaré-PE no grupo Norte (Modelo 2; Anexo II). Realizamos, para cada um dos modelos, 50 corridas independentes, com 100 mil simulações por corrida, e selecionamos as taxas de migração inferidas pela corrida com maior verossimilhança. Esta seleção se deu pelo cálculo da diferença entre a verossimilhança obtida em cada corrida e a máxima verossimilhança possível para o modelo, de forma que a corrida com a menor diferença é selecionada. As análises de inferências de taxa de migração ancestral *entre* os grupos genéticos inferidos (i.e. populações grupo Norte e Sul) ainda serão realizadas. Estas etapas foram e serão possíveis graças aos recursos computacionais disponibilizados pelo Núcleo de Computação Científica (NCC/GridUNESP) da UNESP.

*Estimativa de transporte oceânico*

Utilizamos a ferramenta Plastic Adrift (Van Sebille et al. 2012) para a estimar o transporte oceânico de propágulos de *R. mangle*. O Plastic Adrift utiliza dados observacionais do monitoramento de 17 mil flutuadores, soltos entre 1979 e 2013, para determinar a probabilidade e direção de deslocamento de partículas flutuantes nos oceanos a cada dois meses, com uma resolução de 1º de Latitude e Longitude. Essa abordagem, que não leva em consideração sazonalidades ou dados de apenas um ano específico, torna o Plastic Adrift uma ferramenta adequada para o estudo de biogeografia histórica (Bertola et al. 2020). Simulamos a liberação de propágulos a partir dos onze locais de coleta e obtivemos os dados de probabilidade cumulativa da presença de partículas em cada um dos demais locais a cada dois meses ao longo de dois anos. Para cada local de coleta, dividimos a probabilidade cumulativa pela soma dos valores em toda a costa, obtendo um índice relativo para o destino dos propágulos entre os locais de coleta.

1. **Resultados e discussão:**

*Estrutura genética de populações*

Os padrões encontrados pela análise de DAPC e pelo admixture (Figura 1) são bastante semelhantes, e demonstram uma estrutura populacional em dois grupos, Norte e Sul, como observado em estudos anteriores para *Rhizophora* e outras plantas com dispersão oceânica (Cruz et al. 2019, 2020; Francisco et al. 2018; Mori et al. 2015; Pil et al. 2011; da Silva et al. 2020). A maior mistura dos indivíduos do grupo Norte, também já observada com outros marcadores (Francisco et al. 2018; Mori et al. 2015), reforça a hipótese do papel das correntes oceânicas nessa estruturação genética. A corrente Sul Equatorial encontra a costa brasileira no Nordeste, e se divide nas correntes Norte do Brasil, que segue para noroeste em direção ao Caribe, e a corrente do Brasil, que segue para sudoeste (Lumpkin e Johnson 2013), separando essas duas regiões da costa brasileira. A corrente Norte do Brasil é mais forte que a corrente do Brasil, o que levaria a mais eventos de LDD no sentido Sul-Norte do que o contrário, explicando o padrão de mistura observado.

As superfícies de migração encontradas com o EEMS corroboram a estrutura populacional obtida, indicando uma barreira à migração entre as populações do Norte e maior fluxo gênico entre as populações do Sul e Sudeste (Figura 2). A barreira ao fluxo gênico mais evidente observada na costa Norte do Brasil provavelmente está associada a um menor fluxo gênico entre as populações desta região. Essa limitação ao fluxo gênico entre os grupos genéticos inferidos (Figura 1) deve estar associada a uma menor taxa de diversidade genética entre as populações localizadas nas regiões Sul e Sudeste, as quais teriam um maior fluxo gênico entre si, possibilitando a homogeneização entre as populações e maiores tamanhos efetivos.



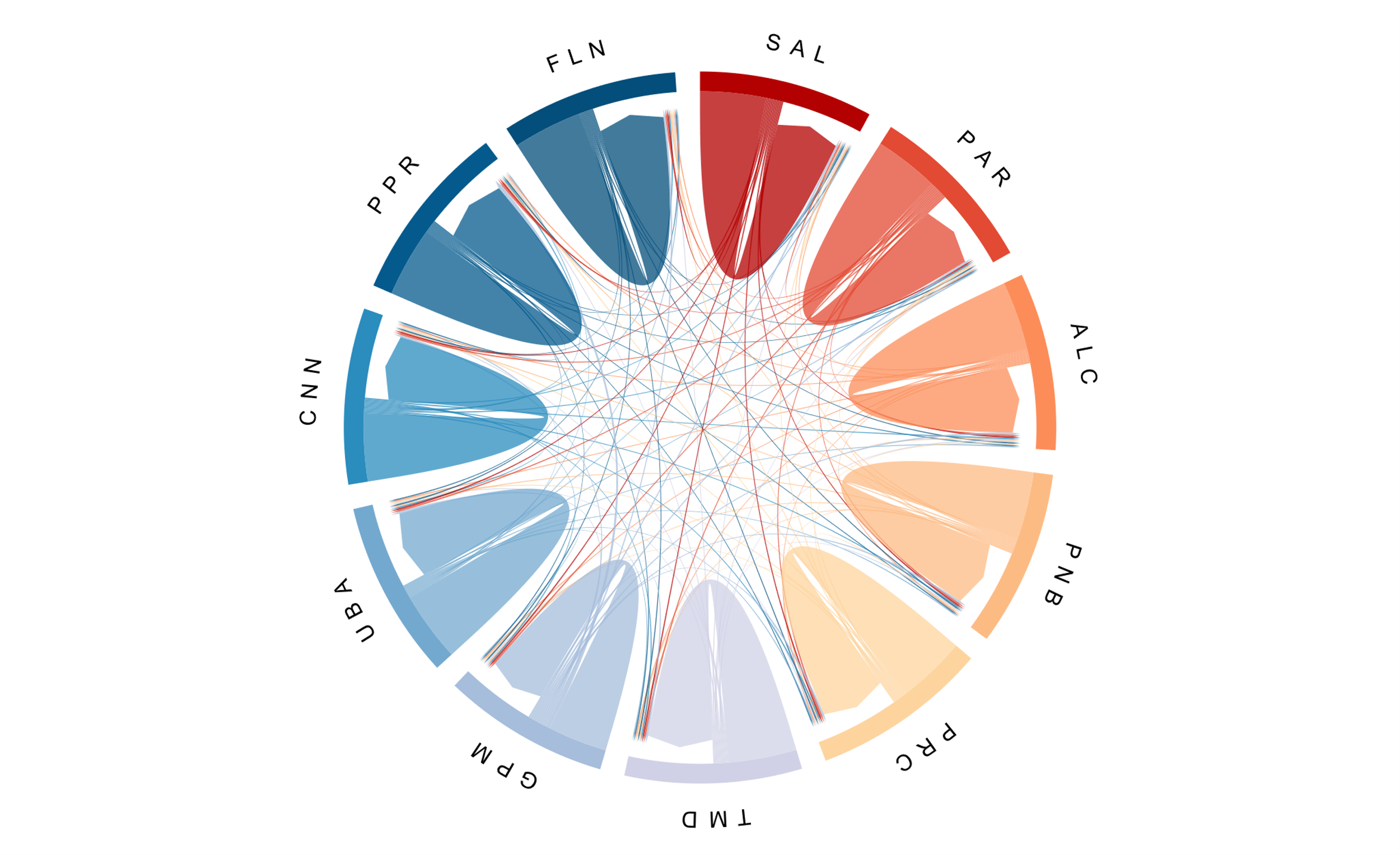
**Figura 2.** Superfícies de migração efetiva calculadas com o software EEMS (Petkova, Novembre, e Stephens 2015). À esquerda: taxa média de migração *m*, indicando corredores no sul (em azul) e uma grande barreira no norte (em vermelho). À direita: taxa de diversidade média *q*, com maior diversidade nas regiões em azul e menor diversidade nas regiões em vermelho.

*Inferências genéticas do padrão de dispersão*

As estimativas de fluxo gênico recente inferidas indicaram níveis muito baixos de migração entre os sítios de amostragem (Tabela 2 e Figura 3), sendo que nenhuma das taxas inferidas entre duas regiões apresentou um intervalo de confiabilidade que não incluísse zero.

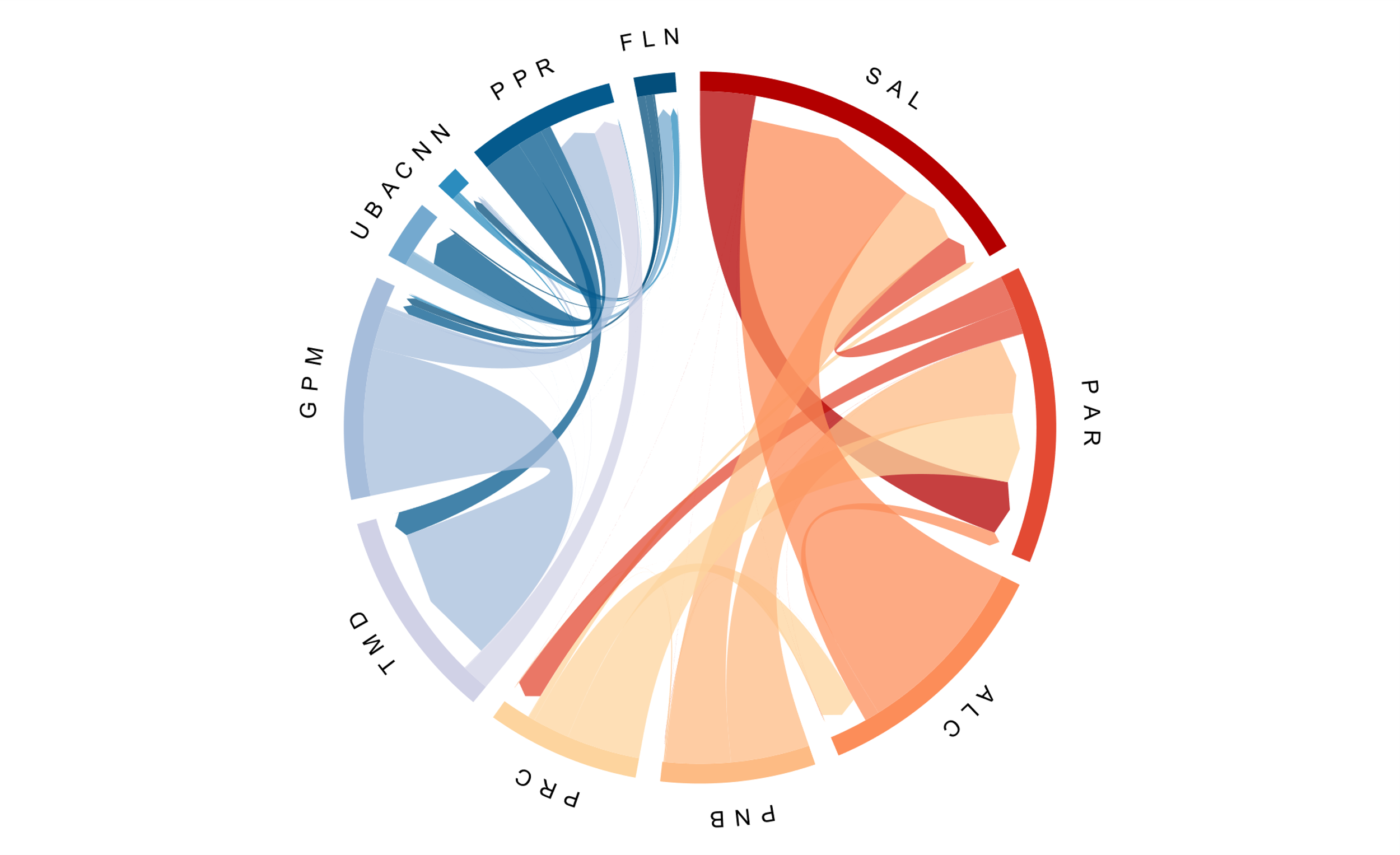
**Tabela 2.** Migração recente (até duas gerações) obtidas com o software BA3-SNPs (Mussmann et al. 2019). Os valores representam a proporção da contribuição de migrantes em uma localidade (coluna) provenientes de outra (linha). Os valores da diagonal representam a proporção de não migrantes em cada população, e os valores em negrito possuem 95% de intervalo de confiança que não inclui zero.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | SAL | PAR | ALC | PNB | PRC | TMD | GPM | UBA | CNN | PPR | FLN |
| SAL | **0.7918** | 0.0222 | 0.0167 | 0.0186 | 0.0175 | 0.0175 | 0.0257 | 0.0158 | 0.0185 | 0.0159 | 0.0176 |
| PAR | 0.0207 | **0.7778** | 0.0167 | 0.0185 | 0.0176 | 0.0175 | 0.0257 | 0.0159 | 0.0186 | 0.0159 | 0.0175 |
| ALC | 0.0208 | 0.0222 | **0.8333** | 0.0185 | 0.0175 | 0.0176 | 0.0257 | 0.0158 | 0.0185 | 0.0159 | 0.0175 |
| PNB | 0.0207 | 0.0223 | 0.0166 | **0.8148** | 0.0175 | 0.0175 | 0.0257 | 0.0159 | 0.0186 | 0.0159 | 0.0175 |
| PRC | 0.0208 | 0.0224 | 0.0167 | 0.0185 | **0.8245** | 0.0176 | 0.0257 | 0.0159 | 0.0186 | 0.0158 | 0.0176 |
| TMD | 0.0209 | 0.0221 | 0.0167 | 0.0185 | 0.0176 | **0.8247** | 0.0255 | 0.0159 | 0.0185 | 0.0159 | 0.0176 |
| GPM | 0.0208 | 0.0223 | 0.0167 | 0.0185 | 0.0175 | 0.0176 | **0.7179** | 0.0159 | 0.0185 | 0.0159 | 0.0175 |
| UBA | 0.0209 | 0.0223 | 0.0166 | 0.0185 | 0.0175 | 0.0175 | 0.0257 | **0.8412** | 0.0185 | 0.0159 | 0.0175 |
| CNN | 0.0209 | 0.0222 | 0.0168 | 0.0185 | 0.0176 | 0.0176 | 0.0257 | 0.0159 | **0.8147** | 0.0158 | 0.0176 |
| PPR | 0.0208 | 0.0221 | 0.0166 | 0.0186 | 0.0176 | 0.0175 | 0.051 | 0.0159 | 0.0185 | **0.8412** | 0.0176 |
| FLN | 0.0209 | 0.0222 | 0.0167 | 0.0185 | 0.0175 | 0.0174 | 0.0258 | 0.0159 | 0.0185 | 0.0159 | **0.8247** |



**Figura 3.** Diagrama do fluxo gênico recente inferido com o programa BA3-SNPs (Mussmann et al. 2019) de até duas gerações, entre as populações amostradas. A largura das setas representa a proporção de migrantes recentes entre as regiões.

Inferimos as taxas de migração ancestral para os Modelos 1 e 2. Entre as 50 corridas independentes do Modelo 1, obtivemos cinco corridas com valores de máxima verossimilhança muito acima das demais, com média de 1097.905 na diferença entre as máximas verossimilhanças contra 13561.35 para as demais corridas. Não obtivemos corridas com valores tão expressivos de máxima verossimilhança para o Modelo 2. Dessa forma, apresentamos aqui e seguimos nas demais análises somente com os resultados do Modelo 1. Observamos direcionalidade de Leste para Oeste no fluxo gênico das populações do grupo Norte, e, de forma menos evidente, de Norte para Sul nas populações do grupo Sul.



**Figura 4.** Diagrama do fluxo gênico ancestral estimado entre as populações amostradas. A largura das setas representa a taxa de migração estimada de uma população para outra.

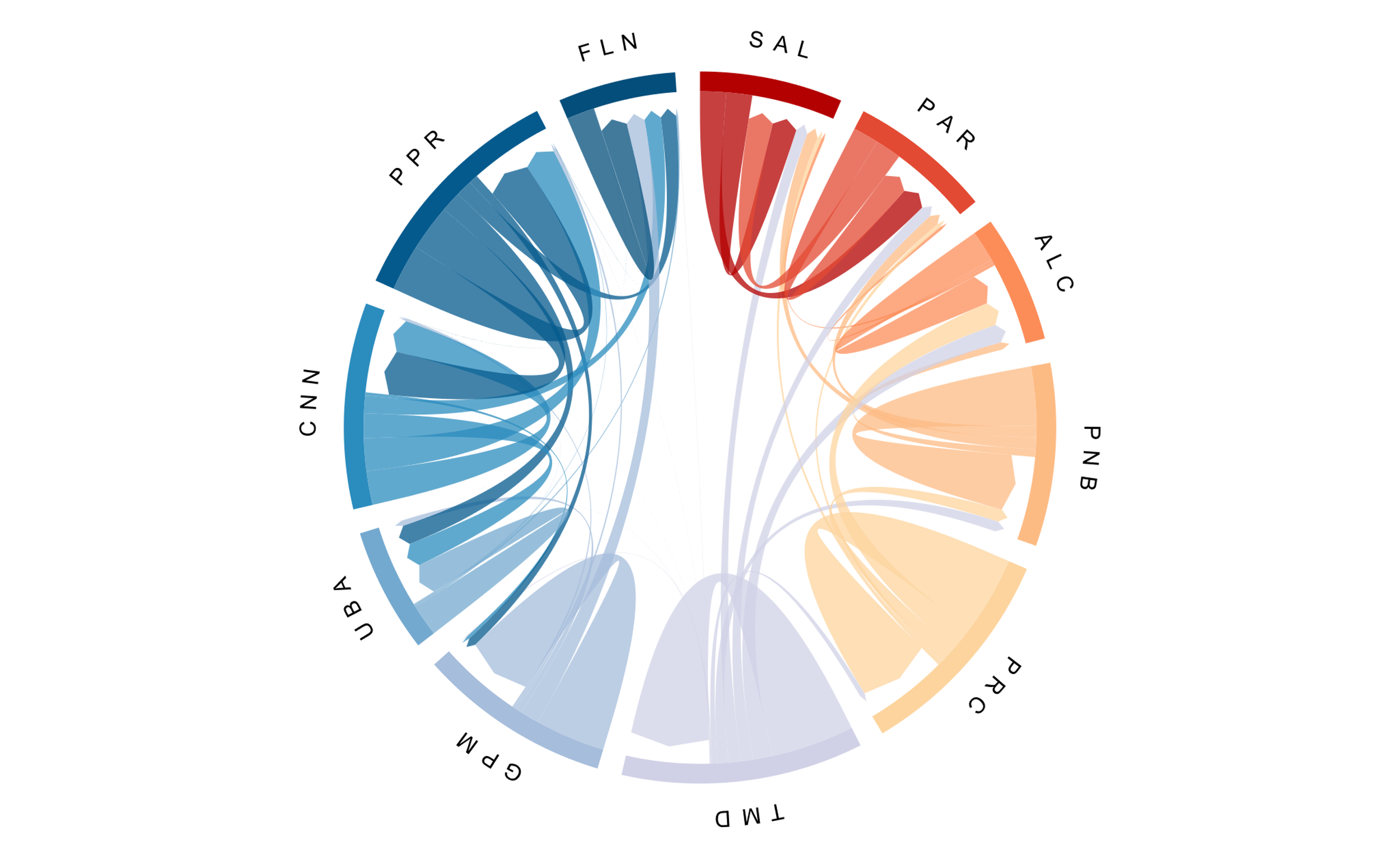
Ao interpretarmos conjuntamente as taxas de fluxo gênico, tanto ancestral como recentes, não observamos evidência de fluxo gênico recente entre as populações, apesar das evidências de fluxo gênico ancestral. Isso pode ser uma consequência da raridade dos eventos de dispersão à longa distância (Nathan 2006), mesmo para organismos como mangues que apresentam uma série de evidências de dispersão transoceânica (por exemplo Mori et al. 2015; Mori et al. 2021; Nettel e Dodd 2007; Ngeve et al. 2021; Takayama et al. 2013). As populações de *R. mangle* permaneceriam a maior parte do tempo isoladas, e eventos raros de LDD contribuiriam para a mistura das populações. Ao longo do tempo, essa mistura ficaria evidente, mas em poucas gerações não seria possível identificar esse fenômeno. Outro fator importante é o isolamento atual dessas populações. A estrutura populacional observada hoje seria o resultado de populações contínuas no passado, que com a degradação de seu ambiente ficaram isoladas e hoje dependem de eventos raros de LDD para manter a conectividade. Um padrão similar também foi observado para sete espécies de mangue de distintas famílias botânicas do litoral Chinês (Geng et al. 2021), sugerindo que o processo ecológico e evolutivo que origina essas observações devem ser consistentes entre táxons e entre regiões geográficas.

*Estimativa de transporte oceânico*

A estimativa de transporte de partículas por correntes oceânicas revelou um claro isolamento entre as populações da costa norte e leste do país (Tabela 3, Figura 3). As populações de Salinópolis-PA (SAL), Bragança-PA (PAR), Alcântara-MA (ALC), Parnaíba-CE (PNB), Paracuru-CE (PRC) e Tamandaré-PE (TMD) apresentaram altas taxas de transporte de partículas no sentido leste para oeste. A população de TMD foi a única que contribuiu com propágulos para todas as populações amostradas, com índice relativo do destino dos propágulos mais alto para as populações do Norte e Nordeste (6,6% a 23,2%) do que para as populações do Sul e Sudeste (0,2% a 1,2%). TMD também é a única população isolada nessa simulação, sem receber propágulos de nenhuma das outras populações amostradas, atuando unicamente como doadora de propágulos. Entre as populações do Sul e Sudeste, as populações de Cananéia-SP (CNN) e Pontal do Paraná-PR (PPR) apresentaram a maior contribuição de propágulos migrantes, com 3,8% de contribuição relativa de CNN para Guapimirim-RJ (GPM) a 55,8% de PPR para CNN.

**Tabela 3.** Índice relativo par-a-par do destino dos propágulos após dois anos para as localidades amostradas. O índice representa a porcentagem de partículas que chegariam em uma determinada área (coluna) provenientes de outra localidade (linha).

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | SAL | PAR | ALC | PNB | PRC | TMD | GPM | UBA | CNN | PPR | FLN |
| SAL | 31.2% | 31.2% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% |
| PAR | 31.2% | 31.2% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% |
| ALC | 3.8% | 3.8% | 37.6% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% |
| PNB | 14.0% | 14.0% | 9.3% | 70.7% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% |
| PRC | 5.0% | 5.0% | 29.9% | 16.1% | 93.4% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% |
| TMD | 14.8% | 14.8% | 23.2% | 13.2% | 6.6% | 100.0% | 1.2% | 0.4% | 0.2% | 0.2% | 0.4% |
| GPM | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 83.9% | 6.7% | 2.8% | 3.2% | 23.1% |
| UBA | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 38.5% | 0.4% | 1.1% | 2.2% |
| CNN | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 3.8% | 29.7% | 40.7% | 39.3% | 21.1% |
| PPR | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 11.0% | 24.7% | 55.8% | 56.0% | 19.8% |
| FLN | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.1% | 0.2% | 33.5% |



**Figura 5.** Diagrama do deslocamento de partículas pelas correntes oceânicas entre as localidades coletadas, de acordo com a ferramenta Plastic Adrift (Van Sebille, England, e Froyland 2012). A largura das setas representa o índice relativa do destino dos propágulos entre as regiões (Tabela 2).

A divisão observada entre as populações de *R. mangle* do norte e do sul do país corroboram parcialmente resultados prévios observados para a espécie (Francisco et al. 2018) e para outras espécies de mangue, como *Avicennia* *germinans* e *A. schaueriana* (Mori et al. 2015; da Silva et al. 2020) – porém, interessantemente, não para *Laguncularia racemosa* (Sereneski-Lima et al. 2021) – e para a planta associada de manguezal *Hibiscus* *pernambucensis* (Takayama et al. 2008). Para *R. mangle*,essa estruturação havia sido identificada através de marcadores microssatélites (Francisco et al. 2018). Recuperar essa estrutura utilizando marcadores de base única, que podem estar sob diferentes regimes de herança, fortalece a evidência dessa estrutura. Encontramos esse padrão através de metodologias independentes, considerando somente dados moleculares (análises de estrutura populacional), somente dados geográficos (estimativa de transporte oceânico) ou uma combinação dos dois (EEMS), o que reforça a importância das correntes oceânicas nesse processo.

A estimativa de transporte oceânico e a inferência de taxas de migração ancestral indicaram direcionalidade no transporte de propágulos das populações da costa norte do país, sugerindo um fluxo de leste para oeste, enquanto as populações da costa leste não apresentaram direção evidente. A corrente Norte do Brasil é mais veloz que a corrente do Brasil, impondo a direcionalidade no movimento dos propágulos dessa região, como já observado em estudos anteriores (Cruz et al. 2019, 2020; Francisco et al. 2018; Mori et al. 2015).

De acordo com os resultados obtidos até o momento, podemos considerar as populações de *R. mangle* como bem estruturadas, com uma definição clara entre os grupos Norte e Sul (tanto pelas inferências moleculares quanto pela inferência de transporte oceânico), e pouco fluxo gênico recente entre as localidades amostradas. Dessa forma, podemos descartar as hipóteses Ho – na qual as árvores de *R. mangle* do território brasileiro não apresentariam estrutura populacional – e H1 – onde não haveria trânsito de propágulos entre as localidades. Ainda não podemos, com os resultados disponíveis, diferenciar entre as hipóteses H2 e H3, ou seja, se o transporte de propágulos pelas correntes oceânicas é o principal fator na estruturação das populações ou não. Esses resultados corroboram a literatura atual sobre dispersão e conectividade de árvores de mangue. Diversos estudos demonstraram a importância das correntes na dispersão de mangues no mundo todo (Hodel et al. 2018; Ngeve et al. 2016; Van der Stocken et al. 2019; Wee et al. 2014, 2020), e também a influência de outros fatores, principalmente abióticos (Cruz et al. 2020; Ngeve et al. 2017; Yan et al. 2016) e antrópicos (Cruz et al. 2019; Hasan et al. 2018) nessa estruturação. Entender o papel explícito das correntes oceânicas no padrão de distribuição de *R. mangle* no litoral brasileiro contribuirá para o entendimento da dispersão de árvores de mangue como um todo, além de poder contribuir para os esforços de conservação da espécie e dos manguezais no Brasil.

1. **Conclusões:**

O estudo da dispersão em ambientes marinhos impõe uma série de desafios, e a escala da dispersão é um dos mais evidentes. Aqui, estudamos a dispersão de uma árvore de mangue ao longo de toda a costa brasileira. Demonstramos a estruturação populacional, inferimos taxas de migração e simulamos a dispersão dos propágulos através de correntes oceânicas, recuperando padrões de estrutura populacional condizentes com as correntes oceânicas que atuam em nosso litoral. Esses resultados contribuem para uma extensa bibliografia de genética populacional de mangues, e devem contribuir para o entendimento cada vez mais complexo desses ambientes e auxiliar na sua conservação e manejo, uma vez que os manguezais estão cada vez mais ameaçados no mundo todo. Nesse trabalho, o próximo passo será testar formalmente a relação entre as estimativas de transporte oceânico e as taxas de migração inferidas aplicando testes de Mantel e análise de redes, para enfim avaliar as hipóteses de conectividade propostas.

**Atividades necessárias para finalizar o trabalho:**

Nas próximas etapas, iremos inferir as taxas de migração ancestral entre os grupos Norte e Sul, a fim de obter uma visão hierárquica do padrão de distribuição atual da espécie. Para testar a contribuição relativa do regime de correntes oceânicas na dispersão de *R. mangle*, compararemos as taxas de migração entre as populações com os índices relativos de contribuição de propágulos obtidos nas simulações através de teste de Mantel e análise de distância baseada em redundância (*distance-based redundancy analysis*, dbRDA; Legendre e Andersson 1999). Na dbRDA, uma análise de coordenadas principais (*principal coordinates analysis*, PCoA) é utilizada como parâmetro para uma análise de redundância, de forma que seja possível detectar relações lineares entre variáveis a partir de medidas que não sejam necessariamente lineares.

Pretendemos ainda realizar uma análise de redes de cada uma das distâncias consideradas com o pacote igraph (Csardi e Nepusz 2006) do R (R Core Team (2021). A análise de redes permitirá uma avaliação gráfica dos padrões de conectividade, de forma que possamos observar similaridades ou discrepâncias nos padrões observados para as redes de distâncias genética e oceanográfica. Esse tipo de análise também poderá revelar áreas chave para a conectividade e, portanto, importantes na conservação da espécie (Engelhard et al. 2017). Essas estratégias vêm sendo aplicadas com sucesso para relacionar padrões de fluxo gênico e estruturação genética com modelagens biofísicas de dispersão de partículas (Hernawan et al. 2017; Jahnke et al. 2018). Com essas análises a serem realizadas, pretendemos testar as hipóteses de isolamento por distância e isolamento por oceanografia para *R. mangle* na costa brasileira.

1. **Referências:**

Alexander, D. H., J. Novembre, and K. Lange. 2009. “Fast Model-Based Estimation of Ancestry in Unrelated Individuals.” *Genome Research* 19(9): 1655–64. http://genome.cshlp.org/cgi/doi/10.1101/gr.094052.109.

Almany, Glenn R. et al. 2017. “Larval Fish Dispersal in a Coral-Reef Seascape.” *Nature Ecology and Evolution* 1(6): 1–7. http://dx.doi.org/10.1038/s41559-017-0148.

Antao, Tiago et al. 2008. “LOSITAN: A Workbench to Detect Molecular Adaptation Based on a F St -Outlier Method.” *BMC Bioinformatics* 9(1): 323. https://bmcbioinformatics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2105-9-323.

Baird, Nathan A. et al. 2008. “Rapid SNP Discovery and Genetic Mapping Using Sequenced RAD Markers.” *PLoS ONE* 3(10): 1–7.

Beaumont, M. A., and Richard A. Nichols. 1996. “Evaluating Loci for Use in the Genetic Analysis of Population Structure.” *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 263(1377): 1619–26. https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rspb.1996.0237.

Bertola, Laura D. et al. 2020. “Asymmetrical Gene Flow in Five Co-Distributed Syngnathids Explained by Ocean Currents and Rafting Propensity.” *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 287(1926).

Bertorelle, G., A. Benazzo, and S. Mona. 2010. “ABC as a Flexible Framework to Estimate Demography over Space and Time: Some Cons, Many Pros.” *Molecular Ecology* 19(13): 2609–25.

Bolger, Anthony M., Marc Lohse, and Bjoern Usadel. 2014. “Trimmomatic: A Flexible Trimmer for Illumina Sequence Data.” *Bioinformatics* 30(15): 2114–20. https://academic.oup.com/bioinformatics/article-lookup/doi/10.1093/bioinformatics/btu170.

Bonte, Dries, and Maxime Dahirel. 2017. “Dispersal: A Central and Independent Trait in Life History.” *Oikos* 126(4): 472–79. http://doi.wiley.com/10.1111/oik.03801.

Broquet, Thomas, and Eric J Petit. 2009. “Molecular Estimation of Dispersal for Ecology and Population Genetics.”

Bullock, James M., and Ran Nathan. 2008. “Plant Dispersal across Multiple Scales: Linking Models and Reality.” *Journal of Ecology* 96(4): 567–68. http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2745.2008.01382.x.

Cayuela, Hugo et al. 2018. “Demographic and Genetic Approaches to Study Dispersal in Wild Animal Populations: A Methodological Review.” *Molecular Ecology* 27(20): 3976–4010.

Costa, Rui J., and Hilde Wilkinson-Herbots. 2017. “Inference of Gene Flow in the Process of Speciation: An Efficient Maximum-Likelihood Method for the Isolation-with-Initial-Migration Model.” *Genetics* 205(4): 1597–1618. http://www.genetics.org/lookup/doi/10.1534/genetics.116.188060.

Cote, Julien et al. 2017. “Evolution of Dispersal Strategies and Dispersal Syndromes in Fragmented Landscapes.” *Ecography* 40(1): 56–73.

Cruz, Mariana Vargas et al. 2019. “Local Adaptation of a Dominant Coastal Tree to Freshwater Availability and Solar Radiation Suggested by Genomic and Ecophysiological Approaches.” *Scientific Reports* 9(1): 19936. http://www.nature.com/articles/s41598-019-56469-w.

———. 2020. “Molecular Responses to Freshwater Limitation in the Mangrove Tree Avicennia Germinans (Acanthaceae).” *Molecular Ecology* 29(2): 344–62.

Csardi, Gabor, and Tamas Nepusz. 2006. “The Igraph Software Package for Complex Network Research.” *InterJournal Complex Systems* Complex Sy(1695): 1695. http://igraph.sf.net.

Csilléry, Katalin, Michael G B Blum, Oscar E. Gaggiotti, and Olivier François. 2010. “Approximate Bayesian Computation (ABC) in Practice.” *Trends in Ecology and Evolution* 25(7): 410–18.

Danecek, P. et al. 2011. “The Variant Call Format and VCFtools.” *Bioinformatics* 27(15): 2156–58. https://academic.oup.com/bioinformatics/article-lookup/doi/10.1093/bioinformatics/btr330.

Driscoll, Don A. et al. 2014. “The Trajectory of Dispersal Research in Conservation Biology. Systematic Review” ed. Judi Hewitt. *PLoS ONE* 9(4): e95053. https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0095053.

Duputié, Anne, and François Massol. 2013. “An Empiricist’s Guide to Theoretical Predictions on the Evolution of Dispersal.” *Interface Focus* 3(6).

Engelhard, Sarah L. et al. 2017. “Prioritising Seascape Connectivity in Conservation Using Network Analysis” ed. Henrik Österblom. *Journal of Applied Ecology* 54(4): 1130–41. http://doi.wiley.com/10.1111/1365-2664.12824.

Excoffier, Laurent et al. 2013. “Robust Demographic Inference from Genomic and SNP Data.” *PLoS Genetics* 9(10): e1003905.

Foll, Matthieu, and Oscar Gaggiotti. 2008. “A Genome-Scan Method to Identify Selected Loci Appropriate for Both Dominant and Codominant Markers: A Bayesian Perspective.” *Genetics* 180(2): 977–93. http://www.genetics.org/lookup/doi/10.1534/genetics.108.092221.

Francisco, Patrícia M. et al. 2018. “Population Genetic Structure, Introgression, and Hybridization in the Genus Rhizophora along the Brazilian Coast.” *Ecology and Evolution* 8(6): 3491–3504.

François, Olivier, Helena Martins, Kevin Caye, and Sean D. Schoville. 2016. “Controlling False Discoveries in Genome Scans for Selection.” *Molecular Ecology* 25(2): 454–69. http://doi.wiley.com/10.1111/mec.13513.

Frankham, Richard. 2015. “Genetic Rescue of Small Inbred Populations: Meta-Analysis Reveals Large and Consistent Benefits of Gene Flow.” *Molecular Ecology* 24(11): 2610–18.

Frichot, Eric, Sean D Schoville, Guillaume Bouchard, and Olivier Franc. 2013. “Testing for Associations between Loci and Environmental Gradients Using Latent Factor Mixed Models.” 30(7): 1687–99.

Gelmi-Candusso, Tiziana A. et al. 2019. “Estimating Seed Dispersal Distance: A Comparison of Methods Using Animal Movement and Plant Genetic Data on Two Primate-Dispersed Neotropical Plant Species.” *Ecology and Evolution* 9(16): 8965–77.

Geng, Qifang et al. 2021. “Ocean Currents Drove Genetic Structure of Seven Dominant Mangrove Species Along the Coastlines of Southern China.” *Frontiers in Genetics* 12. https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fgene.2021.615911/full.

Hasan, Sharmin, Ludwig Triest, Sania Afrose, and Dennis J.R. De Ryck. 2018. “Migrant Pool Model of Dispersal Explains Strong Connectivity of Avicennia Officinalis within Sundarban Mangrove Areas: Effect of Fragmentation and Replantation.” *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 214(June): 38–47. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2018.09.007.

Hays, Graeme C. et al. 2016. “Key Questions in Marine Megafauna Movement Ecology.” *Trends in Ecology and Evolution* 31(6): 463–75. http://dx.doi.org/10.1016/j.tree.2016.02.015.

———. 2017. “Ocean Currents and Marine Life.” *Current Biology* 27(11): R470–73. http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2017.01.044.

Hernawan, Udhi E. et al. 2017. “Historical Processes and Contemporary Ocean Currents Drive Genetic Structure in the Seagrass Thalassia Hemprichii in the Indo-Australian Archipelago.” *Molecular Ecology* 26(4): 1008–21.

Hodel, Richard G.J. et al. 2018. “Terrestrial Species Adapted to Sea Dispersal: Differences in Propagule Dispersal of Two Caribbean Mangroves.” *Molecular Ecology* 27(22): 4612–26.

Jahnke, Marlene et al. 2018. “Seascape Genetics and Biophysical Connectivity Modelling Support Conservation of the Seagrass Zostera Marina in the Skagerrak–Kattegat Region of the Eastern North Sea.” *Evolutionary Applications* 11(5): 645–61.

Jombart, Thibaut, and Ismaïl Ahmed. 2011. “Adegenet 1.3-1: New Tools for the Analysis of Genome-Wide SNP Data.” *Bioinformatics* 27(21): 3070–71. https://academic.oup.com/bioinformatics/article-lookup/doi/10.1093/bioinformatics/btr521.

Jombart, Thibaut, Sébastien Devillard, and François Balloux. 2010. “Discriminant Analysis of Principal Components: A New Method for the Analysis of Genetically Structured Populations” ed. Philip E. Bourne. *BMC Genetics* 11(1): 94. https://dx.plos.org/10.1371/journal.pcbi.1000455.

Jordano, Pedro. 2017. “What Is Long-Distance Dispersal? And a Taxonomy of Dispersal Events.” *Journal of Ecology* 105(1): 75–84.

Lalire, Maxime, and Philippe Gaspar. 2019. “Modeling the Active Dispersal of Juvenile Leatherback Turtles in the North Atlantic Ocean.” *Movement Ecology* 7(1): 1–17.

Langmead, Ben, and Steven L Salzberg. 2012. “Fast Gapped-Read Alignment with Bowtie 2.” *Nature Methods* 9(4): 357–59. http://www.nature.com/articles/nmeth.1923.

Legendre, Piere, and Marti J. Andersson. 1999. “Distance-Based Redundancy Analysis: Testing Multispecies Responses in Multifactorial Ecological Experiments.” *Ecological Monographs* 69(1): 1–24.

Li, Heng. 2011. “A Statistical Framework for SNP Calling, Mutation Discovery, Association Mapping and Population Genetical Parameter Estimation from Sequencing Data.” *Bioinformatics* 27(21): 2987–93.

Liu, Jian et al. 2021. “Congruence between Ocean‐dispersal Modelling and Phylogeography Explains Recent Evolutionary History of Cycas Species with Buoyant Seeds.” *New Phytologist* 232(4): 1863–75. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/nph.17663.

LOWE, WINSOR H., and FRED W. ALLENDORF. 2010. “What Can Genetics Tell Us about Population Connectivity?” *Molecular Ecology* 19(15): 3038–51. http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-294X.2010.04688.x.

Lowe, Winsor H., Ryan P. Kovach, and Fred W. Allendorf. 2017. “Population Genetics and Demography Unite Ecology and Evolution.” *Trends in Ecology and Evolution* 32(2): 141–52. http://dx.doi.org/10.1016/j.tree.2016.12.002.

Lumpkin, Rick, and Gregory C. Johnson. 2013. “Global Ocean Surface Velocities from Drifters: Mean, Variance, El Niño-Southern Oscillation Response, and Seasonal Cycle.” *Journal of Geophysical Research: Oceans* 118(6): 2992–3006. http://doi.wiley.com/10.1002/jgrc.20210.

Luu, Keurcien, Eric Bazin, and Michael G.B. Blum. 2017. “Pcadapt: An R Package to Perform Genome Scans for Selection Based on Principal Component Analysis.” *Molecular Ecology Resources* 17(1): 67–77.

Martin, Marcel. 2011. “Cutadapt Removes Adapter Sequences from High-Throughput Sequencing Reads.” *EMBnet.journal* 17(1): 10. http://journal.embnet.org/index.php/embnetjournal/article/view/200.

Mori, Gustavo M., Maria I. Zucchi, and Anete P. Souza. 2015. “Multiple-Geographic-Scale Genetic Structure of Two Mangrove Tree Species: The Roles of Mating System, Hybridization, Limited Dispersal and Extrinsic Factors.” *PLoS ONE* 10(2): 1–23.

Mori, Gustavo Maruyama et al. 2021. “Testing Species Hypotheses in the Mangrove Genus Rhizophora from the Western Hemisphere and South Pacific Islands.” *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 248(June 2020).

Mussmann, Steven M., Marlis R. Douglas, Tyler K. Chafin, and Michael E. Douglas. 2019. “BA3-SNPs: Contemporary Migration Reconfigured in BayesAss for next-Generation Sequence Data.” *Methods in Ecology and Evolution* 10(10): 1808–13.

Narasimhan, Vagheesh et al. 2016. “BCFtools/RoH: A Hidden Markov Model Approach for Detecting Autozygosity from next-Generation Sequencing Data.” *Bioinformatics* 32(11): 1749–51. https://academic.oup.com/bioinformatics/article-lookup/doi/10.1093/bioinformatics/btw044.

Nathan, Ran et al. 2003. “Methods for Estimating Long-Distance Dispersal Methods for Estimating Long-Distance Dispersal.” *Oikos* 103(2): 261–73.

———. 2006. “Long Distance Dispersal of Plants.” 313(August): 786–88. http://www.sciencemag.org/content/322/5900/375%5Cnpapers2://publication/uuid/6D8D74A1-8705-435E-B166-B453E50A9B68.

Nettel, Alejandro, and Richard S. Dodd. 2007. “Drifting Propagules and Receding Swamps: Genetic Footprints of Mangrove Recolonization and Dispersal along Tropical Coasts.” *Evolution* 61(4): 958–71.

Ngeve, Magdalene N. et al. 2016. “Contrasting Effects of Historical Sea Level Rise and Contemporary Ocean Currents on Regional Gene Flow of Rhizophora Racemosa in Eastern Atlantic Mangroves.” *PLoS ONE* 11(3): 1–24.

———. 2017. “Bidirectional Gene Flow on a Mangrove River Landscape and Between-Catchment Dispersal of Rhizophora Racemosa (Rhizophoraceae).” *Hydrobiologia* 790(1): 93–108.

Ngeve, Magdalene N., Nico Koedam, and Ludwig Triest. 2021. “Genotypes of Rhizophora Propagules From a Non-Mangrove Beach Provide Evidence of Recent Long-Distance Dispersal.” *Frontiers in Conservation Science* 2. https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcosc.2021.746461/full.

Nikolic, Natacha et al. 2020. “Connectivity and Population Structure of Albacore Tuna across Southeast Atlantic and Southwest Indian Oceans Inferred from Multidisciplinary Methodology.” *Scientific Reports* 10(1): 15657. https://www.nature.com/articles/s41598-020-72369-w.

Petkova, Desislava, John Novembre, and Matthew Stephens. 2015. “Visualizing Spatial Population Structure with Estimated Effective Migration Surfaces.” *Nature Genetics* 48(1): 94–100.

Pil, Maria W. et al. 2011. “Postglacial North-South Expansion of Populations of Rhizophora Mangle (Rhizophoraceae) along the Brazilian Coast Revealed by Microsatellite Analysis.” *American Journal of Botany* 98(6): 1031–39.

Rochette, Nicolas C, and Julian M Catchen. 2017. “Deriving Genotypes from RAD-Seq Short-Read Data Using Stacks.” *Nature Publishing Group* 12(12): 2640–59. http://dx.doi.org/10.1038/nprot.2017.123.

Van Sebille, Erik, Matthew H. England, and Gary Froyland. 2012. “Origin, Dynamics and Evolution of Ocean Garbage Patches from Observed Surface Drifters.” *Environmental Research Letters* 7(4).

Sereneski-Lima, Carolina et al. 2021. “Historical and Contemporary Factors Affect the Genetic Diversity and Structure of Laguncularia Racemosa (L.) Gaertn, along the Western Atlantic Coast.” *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 249(October 2020): 107055. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2020.107055.

Shafer, Aaron B.A. et al. 2016. “Forecasting Ecological Genomics: High-Tech Animal Instrumentation Meets High-Throughput Sequencing.” *PLoS Biology* 14(1).

da Silva, Michele Fernandes et al. 2020. “Geographic and Environmental Contributions to Genomic Divergence in Mangrove Forests.” *bioRxiv*.

Smith, Timothy M. et al. 2018. “Rare Long-Distance Dispersal of a Marine Angiosperm across the Pacific Ocean.” *Global Ecology and Biogeography* 27(4): 487–96. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/geb.12713.

Van der Stocken, Tom et al. 2019. “A General Framework for Propagule Dispersal in Mangroves.” *Biological Reviews* 94(4): 1547–75.

Strasburg, Jared L., and Loren H. Rieseberg. 2011. “Interpreting the Estimated Timing of Migration Events between Hybridizing Species.” *Molecular Ecology* 20(11): 2353–66.

Takayama, Koji et al. 2013. “Strong Genetic Structure over the American Continents and Transoceanic Dispersal in the Mangrove Genus Rhizophora (Rhizophoraceae) Revealed by Broad- Scale Nuclear and Chloroplast DNA Analysis.” *American Journal of Botany* 100(6): 1191–1201.

Takayama, Koji, Yoichi Tateishi, Jin Murata, and Tadashi Kajita. 2008. “Gene Flow and Population Subdivision in a Pantropical Plant with Sea-Drifted Seeds Hibiscus Tiliaceus and Its Allied Species: Evidence from Microsatellite Analyses.” *Molecular Ecology* 17(11): 2730–42.

Tomlinson, Philip Barry. 1986. *The Botany of Mangroves*. 1st ed. eds. Peter S. Ashton et al. Cambridge, MA: Cambridge University Press.

Travis, Justin M.J. et al. 2012. “Modelling Dispersal: An Eco-Evolutionary Framework Incorporating Emigration, Movement, Settlement Behaviour and the Multiple Costs Involved.” *Methods in Ecology and Evolution* 3(4): 628–41.

———. 2013. “Dispersal and Species’ Responses to Climate Change.” *Oikos* 122(11): 1532–40.

Villarino, Ernesto et al. 2018. “Large-Scale Ocean Connectivity and Planktonic Body Size.” *Nature Communications* 9(1). http://dx.doi.org/10.1038/s41467-017-02535-8.

Wee, Alison K. S. et al. 2020. “Genetic Structures across a Biogeographical Barrier Reflect Dispersal Potential of Four Southeast Asian Mangrove Plant Species.” *Journal of Biogeography* 47(6): 1258–71. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jbi.13813.

Wee, Alison K.S. et al. 2014. “Oceanic Currents, Not Land Masses, Maintain the Genetic Structure of the Mangrove Rhizophora Mucronata Lam. (Rhizophoraceae) in Southeast Asia.” *Journal of Biogeography* 41(5): 954–64.

Wilson, Gregory A, and Bruce Rannala. 2003. “Bayesian Inference of Recent Migration Rates Using Multilocus Genotypes.” 1191(March): 1177–91.

Wu, Zeng-Yuan et al. 2018. “Testing Darwin’s Transoceanic Dispersal Hypothesis for the Inland Nettle Family (Urticaceae)” ed. Fangliang He. *Ecology Letters* 21(10): 1515–29. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ele.13132.

Xu, Shaohua et al. 2017. “The Origin, Diversification and Adaptation of a Major Mangrove Clade (Rhizophoreae) Revealed by Whole-Genome Sequencing.” *National Science Review* 4(5): 721–34.

Yan, Yu Bin, Norm C. Duke, and Mei Sun. 2016. “Comparative Analysis of the Pattern of Population Genetic Diversity in Three Indo-West Pacific Rhizophora Mangrove Species.” *Frontiers in Plant Science* 7(September2016): 1–17.

Young, Emma F. et al. 2015. “Oceanography and Life History Predict Contrasting Genetic Population Structure in Two Antarctic Fish Species.” *Evolutionary Applications* 8(5): 486–509.