

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE FLORESTAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
AMBIENTAIS E FLORESTAIS

**DIVERSIDADE GENÉTICA E ESTRUTURA POPULACIONAL DE TRÊS
ESPÉCIES ARBÓREAS EM UM MANGUEZAL RESTAURADO:
IMPLICAÇÕES PARA A RESTAURAÇÃO**

ALAN ANDRADE DOS SANTOS

SEROPÉDICA - RJ
2023

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE FLORESTAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
AMBIENTAIS E FLORESTAIS

DIVERSIDADE GENÉTICA E ESTRUTURA POPULACIONAL DE TRÊS ESPÉCIES
ARBÓREAS EM UM MANGUEZAL RESTAURADO: IMPLICAÇÕES PARA A
RESTAURAÇÃO

ALAN ANDRADE DOS SANTOS

Sob orientação do Professor

André Felipe Nunes de Freitas, Professor da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

e co-orientação da Professora

*Catarina da Fonseca Lira, Pesquisadora do Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio
de Janeiro*

**Dissertação submetida como requisito
parcial para obtenção do grau de Mestre em
Ciências, no Programa de Pós-Graduação
em Ciências Ambientais e Florestais, Área
de Concentração em Conservação da
Natureza**

SEROPÉDICA - RJ
Fevereiro de 2023

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S237d Santos, Alan Andrade dos, 1997-
DIVERSIDADE GENÉTICA E ESTRUTURA POPULACIONAL DE
TRÊS ESPÉCIES ARBÓREAS EM UM MANGUEZAL RESTAURADO:
IMPLICAÇÕES PARA A RESTAURAÇÃO / Alan Andrade dos
Santos. - Rio de Janeiro, 2023.
53 f.: il.

Orientador: André Felipe Nunes de Freitas.
Coorientadora: Catarina da Fonseca Lira.
Dissertação(Mestrado). -- Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós Graduação em
Ciências Ambientais e Florestais, 2023.

1. Degradação ambiental. 2. Diversidade genética.
3. Restauração ecológica. 4. Manejo. I. Freitas, André
Felipe Nunes de, 1972-, orient. II. Lira, Catarina
da Fonseca, 1980-, coorient. III Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós Graduação em
Ciências Ambientais e Florestais. IV. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE FLORESTAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
AMBIENTAIS E FLORESTAIS

ALAN ANDRADE DOS SANTOS

DISSERTAÇÃO COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM
CIÊNCIAS, NO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS E FLORESTAIS,
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM CONSERVAÇÃO DA NATUREZA.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 27/ 02/ 2023

Prof. André Felipe Nunes de Freitas,
Professor da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Prof. Jerônimo Boelsums Barreto Sansevero,
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ)

Prof. Gustavo Maruyama Mori,
Universidade Estadual Paulista (UNESP)



Emitido em 2023

TERMO Nº 160/2023 - PPGCAF (12.28.01.00.00.00.27)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 28/02/2023 11:43)

ANDRE FELIPPE NUNES DE FREITAS

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR

DeptCAmb (12.28.01.00.00.00.00.29)

Matrícula: ###817#0

(Assinado digitalmente em 01/03/2023 18:04)

JERONIMO BOELSUMS BARRETO SANSEVERO

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR

DeptCAmb (12.28.01.00.00.00.00.29)

Matrícula: ###372#1

(Assinado digitalmente em 28/02/2023 14:16)

GUSTAVO MARUYAMA MORI

ASSINANTE EXTERNO

CPF: ###.###.039-##

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrj.br/documentos/> informando seu número: **160**, ano: **2023**, tipo: **TERMO**, data de emissão: **28/02/2023** e o código de verificação: **7dcb179baa**

”Ecologia sem luta de classes é jardinagem”

Chico Mendes

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.”

Agradeço infinitamente a Deus, aos meus pais, aos meus avós e ao meu irmão, auxiliaram e forneceram toda a base para que eu pudesse estar aqui e me dedicar integralmente à pesquisa.

À minha vizinha pelas tardes e noites escrevendo o final dessa dissertação ao seu lado.

Ao meu orientador André Freitas pelos puxões de orelha e pelas considerações que, com certeza, me ajudaram a me formar como pesquisador.

À professora Catarina por ter sido a "The Greatest of All Times" nessa minha trajetória de mestrado.

À conceituada Rural (UFRRJ) e ao Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro (IP/JBRJ) pela estrutura oferecida.

Às amigas Mylena, Amanda, Alessandra e Isis pelas ajudas imensuráveis em laboratório e nas saídas de campo.

Ao Adeimantus por ter nos recebido sempre com satisfação no Parque Natural Municipal Barão de Mauá e auxiliar no nosso trabalho em campo.

Ao técnico Paulo Rogério pelos auxílios em laboratório.

À professora Mônica e à sua filha pelas correções ortográficas nos meus textos da dissertação.

À minha namorada Mariana pelo suporte emocional e enorme paciência.

RESUMO

SANTOS, Alan Andrade. **Diversidade genética e estrutura populacional de três espécies arbóreas em um manguezal restaurado: Implicações para a restauração.** 2023. Dissertação de Mestrado em Ciências Ambientais e Florestais, Conservação da Natureza. Instituto de Florestas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2023.

O ecossistema de manguezal ocorre em regiões tropicais e subtropicais de todo o mundo e caracteriza-se por ser um ambiente onde as plantas são adaptadas às alterações hidrológicas constantes devido a sua ocorrência em áreas entremarés. Em função de sua localização litorânea, sofrem com distúrbios antrópicos de diferentes intensidades e origens, que levam à perda de sua cobertura original, perda de biodiversidade e de seus papéis ecossistêmicos. Este é o caso do Parque Natural Municipal Barão de Mauá (PNMBM), que, além da histórica perda de cobertura vegetal, a área foi intensamente afetada por um derramamento de óleo. Desta forma, o estudo tem como objetivo analisar a estrutura populacional das três espécies arbóreas e verificar a diversidade genética da espécie *Avicennia schaueriana* utilizada na restauração ecológica do manguezal do PNMBM após o derramamento de óleo e passa por um processo de restauração. Para a análise da estrutura populacional, foram colocadas o método de parcelas e subparcelas divididas entre as três áreas com idades de restauração distintas e pré-definidas no escopo do estudo, 60 parcelas para indivíduos adultos e 300 subparcelas para indivíduos plântulas para obter medidas estruturais dos indivíduos de *A. schaueriana*, *Laguncularia racemosa* e *Rhizophora mangle*. Para analisar a diversidade genética da população de *A. schaueriana* na área restaurada, foi utilizada a técnica de marcadores moleculares ISSR (Inter Simple Sequence Repeat). Os resultados mostraram a ausência de padrões de zonação de mangue no PNMBM e baixo número de indivíduos de *A. schaueriana* adultos e plântulas com um grande destaque da espécie *L. racemosa* presente e homogênea em todos os bosques amostrados. Os resultados do estudo de caso de diversidade genética indicam uma baixa diversidade em geral e uma alta taxa de endocruzamento da espécie *A. schaueriana*. Os estudos mostraram que a área restaurada do PNMBM necessita de manejos específicos a fim de recuperar a diversidade genética e estrutural de uma espécie pouco abundante e altamente necessária para a manutenção do sistema manguezal.

PALAVRAS-CHAVE: **degradação ambiental, diversidade genética, restauração ecológica, manejo.**

ABSTRACT

SANTOS, Alan Andrade. **Genetic diversity and population structure of three tree species in a restored mangrove: Implications for restoration.** 2023. Master's Dissertation in Environmental and Forestry Sciences, Nature Conservation. Forestry Institute, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2023.

The mangrove ecosystem occurs in tropical and subtropical regions around the world and is characterized by being an environment adapted to constant hydrological changes due to its occurrence in intertidal areas. Due to their coastal location, they suffer from anthropic disturbances of different intensities and origins, which lead to the loss of their original cover, loss of biodiversity and their ecosystem roles. This is the case of the Barão de Mauá Municipal Natural Park, which, in addition to the historic loss of vegetation cover, the area was intensely affected by an oil spill. Thus, the study aims to analyze the population structure of the three tree species and verify the genetic diversity of the species *Avicennia schaueriana* used in the ecological restoration of the PNMBM mangrove after the oil spill. For the analysis of the population structure, ecological plots divided between the three areas with different restoration ages and pre-defined in the scope of the study were placed to obtain structural measures of the individuals of *A. schaueriana*, *L. racemosa* and *R. mangle*. To analyze the genetic diversity of the *A. schaueriana* population in the restored area, the ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) molecular marker technique was used. The results showed the absence of mangrove zonation patterns in the PNMBM and a low number of *A. schaueriana* adults and seedlings with a great prominence of the *L. racemosa* species present, homogeneous in all sampled forests. The genetic diversity results indicate a low overall diversity and a high inbreeding rate. The studies showed that the restored area of the PNMBM needs specific management in order to recover the genetic and structural diversity of a species that is not very abundant and highly necessary for the maintenance of the mangrove system.

PALAVRAS-CHAVE: degradation, genetic diversity, restoration, management.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Delimitação e localização do Parque Natural Municipal Barão de Mauá em relação à baía de Guanabara (foto superior à direita), ao estado do Rio de Janeiro (mapa superior no centro) e ao Brasil (mapa superior à esquerda).

Figura 2 - Vista aérea do Parque Natural Municipal Barão de Mauá, antes do projeto de restauração, mostrando a sua divisão em Áreas (1 a 6) e seus respectivos tamanhos (ha).

Figura 3 - Vista de satélite do PNMBM, mostrando a cobertura vegetal em dois momentos: (a) nos primeiros esforços do plantio (2003); b) nos dias atuais (2022).

Figura 4 - Esquema das três Áreas estudadas do Parque Natural Municipal Barão de Mauá com 20 parcelas em cada. Linha A (LA); Linha B (LB); Linha C (LC) e Linha D (LD) são as zonas, separadas conforme o gradiente do manguezal e sua distância da costa.

Figura 5 - Esquema representativo de uma parcela de 100m² (25 x 4m) com 5 subparcelas de 1m² nos pontos centrais e paralelos à Baía de Guanabara.

Figura 6 - Folhas de *A. schaueriana* coletadas, identificadas e colocadas no recipiente de saco para chá, para armazenamento até o momento de extração.

Figura 7 - Foto de gel de agarose 1,8% para a contagem de bandas polimórficas do marcador molecular ISSR, visualizadas sob a luz UV, com o produto de PCR de indivíduos de *Avicennia schaueriana*.

Figura 8 - Regressão linear, mostrando a relação entre Altura (H; em metros) e Área basal (Ge; em m²) das espécies *Avicennia schaueriana* (Av), *Laguncularia racemosa* (Lg) e *Rhizophora mangle* (Rh) por indivíduos, respectivamente, em toda a área do PNMBM avaliada.

Figura 9 - Intervalo de classe de altura (H; em metros) das três espécies de mangue no PNMBM.

Figura 10 - Intervalo de classe de área basal (Ge; em m²) das três espécies de mangue no PNMBM.

Figura 11 - Gráfico de dispersão da altura e área basal das três espécies *A. schaueriana* (Av), *L. racemosa* (Lg) e *R. mangle* (Rh) por idades de restauração no PNMBM (Áreas 1, 2 e 3).

Figura 12 - Gráfico de dispersão de altura por linha de parcela (D, C, B e A) das três espécies (a: *A. schaueriana*, b: *L. racemosa* e c: *R. mangle*) respectivamente.

Figura 13 - Gráfico de dispersão de área basal por linha de parcela (D, C, B e A) das três espécies (a: *A. schaueriana*, b: *L. racemosa* e c: *R. mangle*) respectivamente.

Figura 14 - Distribuição de abundância de plântulas das três espécies registradas nas zonas de distância do mar na área estudada do Parque Natural Municipal Barão de Mauá, município de Magé, Rio de Janeiro.

Figura 15 - Gráfico PCoA, mostra os distanciamentos genéticos das amostras separadas por cores de acordo com a área respectiva dos indivíduos. A letra (A) indica adultos e (P) plântulas e número indicam as Área 1, 2 e 3 do PNMBM.

Figura 16 - Dendrograma mostrando a semelhança genética dos indivíduos nas três Áreas.

Figura 17 - Gráfico de barras, indicando 2 clusters de diversidade alélica entre os indivíduos das três idades de restauração, ou seja, três Áreas estudadas do PNMBM.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tabelas de primers testados com os sete primers adotados para as amostras de *Avicennia schaueriana* e suas respectivas sequências e temperaturas de anelamento (TA).

Tabela 2 - Abundância de indivíduos (n), altura média (H) e área basal (Ge) das três espécies de mangue (*Avicennia schaueriana*, *Laguncularia racemosa* e *Rhizophora mangle*) registradas nas áreas de restauração estudadas no Parque Natural Municipal Barão de Mauá, Magé, Rio de Janeiro. Abundância (n); Altura (H; em metros); Área basal (Ge; em m²).

Tabela 3 - Tabela mostrando os valores de regressão por espécies de mangue do PNMBM. df = graus de liberdade; F = resultado da estatística F; R² = coeficiente de determinação.

Tabela 4 - Tabela mostrando a abundância (n) por área e os valores médios de altura (H) e Área basal (Ge) das espécies em cada áreas de mangue no PNMBM (a; b; c mostram significância entre os valores). Abundância (n); Altura (H; em metros); Área basal (Ge; em m²).

Tabela 5 - Abundância (n), altura média (H) e área basal (Ge) das zonas de distância da linha de praia nas estudadas no Parque Natural Municipal Barão de Mauá, município de Magé, Rio de Janeiro. Abundância (n); Altura (H; em metros); Área basal (Ge; em m²).

Tabela 6 - Abundância (n) das três espécies arbóreas registradas nas três áreas de restauração estudadas no Parque Natural Municipal Barão de Mauá, município de Magé, Rio de Janeiro.

Tabela 7 - Tabela mostrando os índices genéticos das três áreas pré-definidas. Diversidade média das populações (Hs); Diversidade da espécie (Ht); Índice de diferenciação genética (Gst-B) e Endocruzamento (f).

Tabela 8 - Comparação por pares de diversidade média das populações (PhiPT = Hs), entre adultos e plântulas das três áreas de diferentes idades de plantio.

LISTA DE ABREVIACÕES

PNMBM - Parque Natural Municipal Barão de Mauá

UC - Unidade de Conservação

DAP - Diâmetro na altura do peito

DAB - Diâmetro na altura da base

ne - Abundância

Ge/ AB - Área basal

DeR - Densidade relativa

DoR - Dominância relativa

IVI/ VI - Índice de valor de importância/ Valor de importância em (%)

IVC/ VC - Índice de valor de importância/ Valor de cobertura em (%)

ISSR - Inter simple sequence repeat

PCR - Reação em cadeia da polimerase

Hs - índice de diversidade dentro das populações

Ht - índice de diversidade total da espécie

Gst-B - Coeficiente de diferenciação genética

f - Coeficiente de endogamia

DIC - Delineamento inteiramente casualizado

DP - Desvio padrão

DNA - Ácido desoxirribonucleico

dNTP - Desoxirribonucleotídeos Fosfatados

PCA - Análise de componentes principais

UV - Radiação ultravioleta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 OBJETIVOS.....	16
2.1 Objetivos gerais.....	16
2.2 Objetivos específicos.....	16
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	22
3.1 Área de estudo.....	22
3.2 Caracterização das espécies de mangue plantadas no Parque Natural Municipal Barão de Mauá.....	23
3.3 Metodologia.....	23
3.3.1 Levantamento e análises fitosociológicas.....	23
3.3.2 Análises genéticas de <i>Avicennia schaueriana</i>	24
4 RESULTADOS.....	28
4.1 Levantamento e análises fitosociológicas.....	28
4.2 Comparações entre as três idades de restauração.....	31
4.3 Zonação.....	34
4.4 Plântulas.....	36
4.5 Análises genéticas de <i>Avicennia schaueriana</i>	39
5 DISCUSSÃO.....	42
5.1 Estudo fitosociológico.....	42
5.2 Estudo genético da <i>Avicennia schaueriana</i>	44
6 CONCLUSÕES.....	47
7 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	48

1. INTRODUÇÃO

O manguezal é um ecossistema costeiro de transição entre os ambientes terrestre e marinho que ocorrem em regiões tropicais e subtropicais, e que está sujeito ao regime das marés. No mundo, os manguezais ocupam uma área de, aproximadamente, 137.760 km², das quais 11% se localizam na América do Sul (SCHAEFFER-NOVELLI, 2000; GIRI et al., 2010). No Brasil, o ecossistema está distribuído entre as latitudes 04° 20' N (Oiapoque, AP) e 28° 30' S (Laguna, SC), somente o Rio Grande do Sul não tem registro de vegetação típica de manguezal (SCHAEFFER-NOVELLI, 2018; DINIZ et al., 2019).

O ecossistema manguezal possui grande importância, pois abriga diversas espécies de fauna e flora e funciona como berçário indispensável para boa parte da vida marinha. Além disso, sua vegetação sequestra quantidades significativas de carbono, tendo importância na manutenção do ciclo deste elemento (SCHAEFFER-NOVELLI, 2000; DONATO et al., 2011). Outras funções importantes dos manguezais são a prevenção das costas litorâneas contra erosões e impactos de energia das ondas e os serviços ecossistêmicos, que fornecem bilhões de dólares por ano, contribuindo para a subsistência e o desenvolvimento costeiro de todo o mundo (POLIDORO et al., 2010).

A degradação do manguezal, em especial aquela causada pela fragmentação de habitats, gera muitos impactos na diversidade genética das populações de animais e vegetais. Um dos principais problemas causado pela fragmentação é o isolamento das populações, resultando na redução do fluxo gênico, aumento da endogamia e, conseqüentemente, na redução da variabilidade genética em longo prazo, por deriva genética (PRIMACK & RODRIGUES, 2001; ELLSTRAND, 2014).

Além disso, a redução do número de indivíduos numa população, fenômeno conhecido como gargalo genético (“bottleneck”), causa perda da variabilidade genética, processo que pode ser permanente, mesmo que ocorra a posterior recuperação do número de indivíduos da população, seja naturalmente ou por introdução. Um dos processos que reduz a diversidade genética numa população fragmentada é o aumento da endogamia, que consiste na fecundação por indivíduos aparentados, ou na autofecundação, no caso de espécies vegetais (SEBBENN, 2002; FRANKHAM et. al., 2008), fenômeno comum em populações fragmentadas e isoladas.

A perda da variabilidade genética compromete a manutenção da população, conjuntamente com a endogamia acelerada, reduzindo o sucesso reprodutivo e a habilidade de evolução da população frente às mudanças ambientais. A depressão endogâmica é caracterizada pelo menor número de crias ou por descendentes fracos e estéreis, devido à presença de alelos nocivos herdados de ambos os pais ou consequentes da redução da heterozigosidade (PRIMACK & RODRIGUES, 2001; FRANKHAM et. al., 2008).

Por outro lado, a perda de capacidade evolutiva é ocasionada pela redução de alelos raros ou combinações incomuns de alelos que poderiam levar o indivíduo a ter vantagem evolutiva diante do surgimento de doenças ou mudanças climáticas (HARTL & CLARK, 1997; PRIMACK & RODRIGUES, 2001; FRANKHAM et al., 2008). Isso pode ser provocado pelo manejo e restauração ecológica sem levar em consideração a origem da mudas ou das sementes (SALAS-LEIVA, 2009). Todos esses processos de perda de variabilidade genética sujeitam ainda mais as populações impactadas a riscos que podem levar à extinção de espécies.

Muitos estudos têm mostrado variação genética e morfológica em manguezais usando diferentes marcadores moleculares, porém, o ISSR também demonstrou ser útil na avaliação da diversidade genética em muitas espécies de plantas, incluindo espécies de mangue (DASGUPTA et al., 2015; GE et al., 1999). Em outro estudo, o ISSR mostrou-se altamente eficiente para estudo de diversidade genética em plantas de mangue na mesma área de estudo (GRANADO et al, 2018).

O maior desafio de restauração de manguezais é, de fato, verificar os tensores que estão ocasionando a possível deterioração no ambiente (SOARES et al., 2003). A falta de estudos científicos sobre este tema e a grande dificuldade técnica de fazer uma restauração de sucesso dos mangues dificultam os resultados positivos. Um estudo anterior feito na mesma área do parque desta dissertação onde esse estudo foi realizado trazia como parâmetros comparativos uma revisão da literatura mundial sobre restaurações ecológicas, a ideia do que foi feito no PNMBM, tem suas técnicas alinhadas e demonstradas como bem sucedidas (ANDRADE, 2020).

Desta forma, o entendimento de uma restauração ecológica de manguezais bem-sucedida requer análises cuidadosas de uma série de variáveis antes de colocar em prática a própria restauração (LEWIS III et al., 2019). A redução dos ecossistemas de manguezal faz com que estudos de técnicas para restauração sejam indispensáveis para projeções otimistas no futuro (FRIESS et al., 2020). Entendemos que os principais aspectos a serem identificados,

monitorados e alterados são a hidrologia e o acompanhamento a longo prazo do plantio (LEWIS III et al., 2019; FRIESS et al., 2020). O manejo de áreas de restauração de manguezais é muito importante para o sucesso da recuperação ecológica do ecossistema a preocupação com relação à diversidade genética das espécies faz com que esses parâmetros genéticos sejam prioritários em ações de restauração ecológica de um manguezal (GRANADO et al, 2018).

No estado do Rio de Janeiro, os manguezais da Baía de Guanabara localizam-se na porção central do litoral fluminense, em uma posição estratégica por conta das águas seguras da baía. Desde a época da colonização, a baía sofre com os impactos antrópicos causados especialmente pelo desenvolvimento acelerado e irregular da cidade do Rio de Janeiro e suas consequências. Hoje, ela se encontra totalmente degradada e grande parte de seu ambiente natural foi modificado ou extinto, prejudicando a população do entorno da baía (SOARES et al., 2003).

Além da perda de cobertura e modificação de habitats que os manguezais da Baía de Guanabara sofreram desde o início da sua colonização, no ano 2000 ocorreu um vazamento de petróleo, da ordem de 1,3 milhões de litros de óleo, da refinaria REDUC diretamente na Baía de Guanabara. A mancha se espalhou por 50 km² e atingiu 23 praias do litoral fluminense, impactando grande parte da área de manguezal que hoje é protegida pelo Parque Natural Municipal Barão de Mauá (PNMBM) (ECODEBATE, 2018; INSTITUTO ONDAZUL, 2020; SOARES-GOMES et al., 2016).

Após o derramamento, medidas compensatórias levaram ao processo de restauração do PNMBM, que se iniciou no ano de 2001 e, ao longo dos último 20 anos, foi realizado em diversas etapas, principalmente por dificuldades de financiamento para o plantio, o que culminou em áreas de plantio com diferentes idades de desenvolvimento (SILVA, comunicação pessoal).

Este estudo permitiu entender alguns processos de um manguezal restaurado, desafios do plantio de uma área restaurada, levando em consideração os parâmetros de diversidade genética, fluxo gênico, desenvolvimento estrutural e estágios sucessionais em níveis mais próximos dos ecossistemas de manguezal típicos.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O objetivo deste trabalho foi avaliar a estrutura populacional e genética de comunidades de manguezal em processo de restauração no Parque Natural Municipal Barão de Mauá (PNMBM), localizado no Município de Magé, Estado do Rio de Janeiro, para entender se o restabelecimento do ecossistema se deu de forma eficiente a permitir sua permanência ao longo do tempo do ponto de vista ecológico.

2.2 Objetivos Específicos

- Existem diferenças na abundância, altura e área basal das populações das três espécies nas três idades de restauração e entre zonas de distância da linha de praia?
- Existem diferenças nas abundâncias de plântulas das três espécies entre as idades de restauração e entre zonas de distância da linha de praia?
- Existe uma estruturação genética entre indivíduos da espécie *Avicennia schaueriana* nas três idades de restauração?
- Existem diferenças de diversidade genética entre os indivíduos adultos plantados e os indivíduos da regeneração natural da espécie *Avicennia schaueriana*?

3. MATERIAL & MÉTODOS

3.1 Área de estudo

O estudo foi realizado no Parque Natural Municipal Barão de Mauá (PNMBM), que se tornou uma Unidade de Conservação (UC) de proteção permanente por meio do Decreto Municipal nº 2795 de 19 de Outubro de 2012. O PNMBM possui área de 115,70 ha e está localizado a noroeste da baía de Guanabara, em Praia de Mauá, distrito de Magé, nas coordenadas geográficas 22°43'S e 43°11'O (Figura 1). O PNMBM foi criado para proteger áreas remanescentes e restauradas de manguezais, evitando a especulação imobiliária e uso insustentável de seus recursos naturais (INSTITUTO ONDAZUL, 2020). O clima é tropical,

varia de 17°C a 31°C com média de precipitação de chuvas de 1.450 mm/ano, e o ecossistema é inserido no Bioma Mata Atlântica (CLIMATEMPO, 2023).



Figura 1 - Delimitação e localização do Parque Natural Municipal Barão de Mauá em relação à baía de Guanabara (foto superior à direita), ao estado do Rio de Janeiro (mapa superior no centro) e ao Brasil (mapa superior à esquerda).

Fonte: Modificado e adaptado do Google Earth.

Historicamente coberta por manguezais, a região do distrito de Praia de Mauá sofreu, como todo o litoral da Baía da Guanabara, com a degradação ambiental causada tanto pelos diferentes ciclos econômicos que ocorreram no país, quanto, mais tarde, pela extração de madeira para uso em fornos, quanto pela expansão imobiliária na região (AMADOR, 2013). No caso da área do PNMBM, a área sofreu um histórico de degradação ambiental e perda de manguezais especificamente para uso em fornos de fornos de padarias e olarias da região e também para a especulação imobiliária (INSTITUTO ONDAZUL, 2020).

Além disso, a área passou por um intenso processo de degradação causado especificamente por um derramamento de petróleo da Petrobrás (Reduc) no ano de 2000. Desde o derramamento, esforços foram feitos para reverter a degradação em função da contaminação. Após avaliações dos órgãos federais serem como irreversíveis os danos causados pela dimensão do vazamento, o Instituto Ondazul, uma organização não governamental da sociedade civil que atua na gestão de projetos ambientais, criou o Projeto Mangue Vivo, com o objetivo de investir recursos e esforços para a recuperação ambiental do manguezal de Praia de Mauá (ECODEBATE, 2018).

O projeto Mangue Vivo fez a restauração com auxílio da população local, mutirões e com financiamento privado e público. Este programa foi organizado por áreas de plantio, divididas de 1 a 6 conforme a localização dentro da área do PNMBM (Figura 2). A área passou por um programa de restauração que durou cerca de 15 anos, até pouco depois da criação do PNMBM, e hoje ela é monitorada pela Secretaria Municipal de Meio Ambiente de Magé.



Figura 2 - Vista aérea do Parque Natural Municipal Barão de Mauá, antes do projeto de restauração, mostrando a sua divisão em Áreas (1 a 6) e seus respectivos tamanhos (ha). Fonte: Modificado e adaptado do Google Earth e Projeto Mangue Vivo.

O plantio ocorreu cronologicamente da Área 1 em direção à Área 6, porém, algumas ações independentes foram realizadas nas Áreas 4 a 6, que não foram investigadas pelo presente trabalho. A Figura 3 mostra como a área se apresentava em 2003, dois anos após o início dos plantios da Área 1 (Figura 3a), comparando-a com uma imagem de 2022, ou seja, 21 anos após iniciado o programa de restauração da área de mangue do PNMBM (Figura 3b).

O nosso estudo focou na análise e avaliação das Áreas 1, 2 e 3, cujas ações de plantio foram iniciadas em 2001 e encerradas em 2016 pelo Instituto OndAzul. Atualmente, a Área 1 tem idade de restauração de cerca de 10-13 anos, a Área 2 de 2-8 anos e a Área 3 de 1-2 anos, porém, não existem registros dos plantios. Estas áreas foram selecionadas por serem as que foram plantadas durante o programa Mangue Vivo do Instituto OndAzul e as mais antigas no PNMBM.



Figura 3 - Vista de satélite do PNMBM, mostrando a cobertura vegetal em dois momentos: (a) nos primeiros esforços do plantio (2003); b) nos dias atuais (2022).

Fonte: Modificado do Google Earth.

3.2 Caracterização das espécies de mangue plantadas no Parque Natural Municipal Barão de Mauá

Em nível de espécies, existem cinco espécies arbóreas nos manguezais brasileiros: *Rhizophora mangle* L. (Rhizophoraceae), *Avicennia schaueriana* Stapf & Leechm. ex Moldenke e *Avicennia germinans* (L.) Stearn (Acanthaceae), *Laguncularia racemosa* (L.) C. F. Gaertn. (Combretaceae) e *Conocarpus erectus* (Combretaceae) (SCHAEFFER-NOVELLI et al., 2000).

O gênero *Rhizophora* (Rhizophoraceae), popularmente conhecido como mangue vermelho, caracteriza-se como árvores com raízes que apresentam estruturas de rizóforos que partem do tronco e dos ramos, formando arcos com aspecto muito característico que ramificam-se profusamente, permitindo melhor sustentação e filtragem de sal da planta num sedimento pouco consolidado e salobro (SUGIYAMA, 1995).

O gênero *Avicennia* (Acanthaceae), popularmente conhecido como mangue preto, caracteriza-se como árvores com raízes que apresentam estruturas de pneumatóforos que auxiliam na oxigenação, folhas apresentam glândulas que expelem sal (TOMLINSON, 1986).

O gênero *Laguncularia* (Combretaceae), popularmente conhecido como mangue branco, caracteriza-se como árvores com raízes que apresentam estruturas de pneumatóforos que auxiliam na oxigenação, com glândulas em seus pecíolos avermelhados que expelem sal (TOMLINSON, 1986).

Foram coletados os espécimes das três espécies e tombadas no herbário no Jardim Botânico do Rio de Janeiro. *Avicennia schaueriana*, nº de tombo (RB834782). *Laguncularia racemosa*, nº de tombo (RB834783) e *Rhizophora mangle*, nº de tombo (RB834781).

3.3 Metodologia

3.3.1 Levantamento e análises fitossociológicas

Para avaliarmos a estrutura populacional das espécies *Avicennia schaueriana* Stapf & Leechm. ex Moldenke, *Laguncularia racemosa* (L.) C. F. Gaertn. e *Rhizophora mangle* L.

utilizadas nos plantios de restauração no PNMBM, estabelecemos 60 parcelas de 100 m² (4 x 25 m), sendo 20 parcelas em cada uma das três Áreas (Área 1, Área 2 e Área 3). Em cada área, as parcelas foram estabelecidas em linhas equidistantes organizadas em paralelo à linha costeira da baía de Guanabara em quatro linhas de parcelas, de A a D, chamadas de zonas, cada linha ou zona com cinco parcelas (Figura 4). Esta metodologia é bastante difundida em estudos de manguezais nos quais pode ocorrer uma zonação com gradiente da costa para o interior do continente (SCHAEFFER-NOVELLI & CINTRÓN, 1986). As réplicas de parcelas servem para aumentar a robustez da amostragem e aumentar as possibilidades de representatividade de toda área estudada.

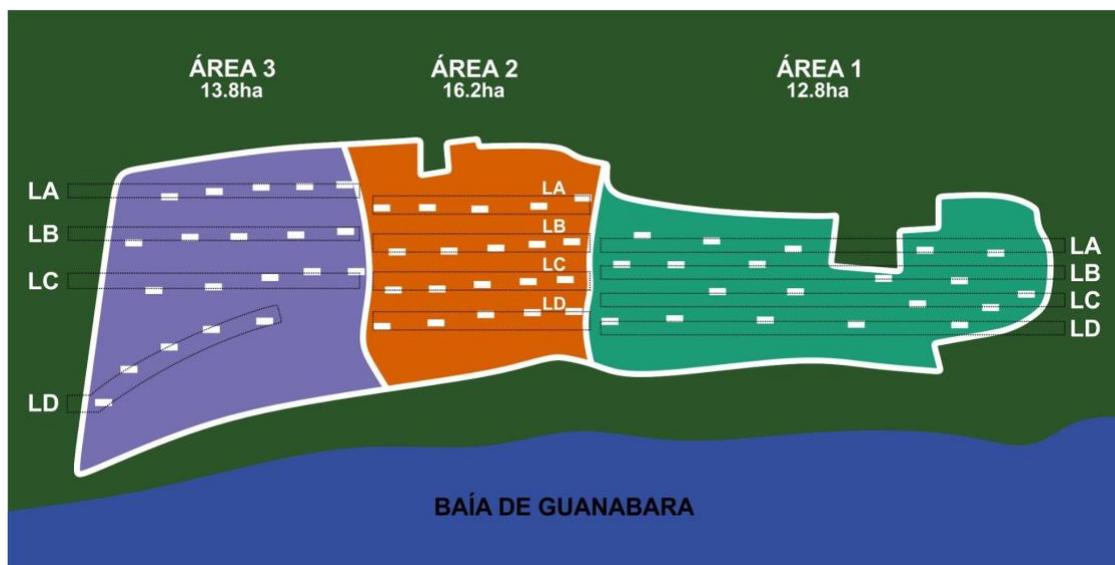


Figura 4 - Esquema das três Áreas estudadas do Parque Natural Municipal Barão de Mauá com 20 parcelas em cada. Linha A (LA); Linha B (LB); Linha C (LC) e Linha D (LD) são as zonas, separadas conforme o gradiente do manguezal e sua distância da costa.

Em cada uma das 60 parcelas, todos os indivíduos com altura igual ou superior a 1,2 m, que aqui foram considerados como adultos, foram identificados e tiveram medidos sua altura (em metros, por estimativa visual) e diâmetro à altura do peito (DAP a 1,3 m acima do solo; em centímetros). Além destas, outras informações, como número de troncos, troncos mortos e troncos fora da parcela foram registrados como metadados.

Para a amostragem das plântulas, foram estabelecidas cinco subparcelas de 1 m², alocadas na linha central das parcelas de 100 m² e espaçadas 5 m entre elas (Figura 5). Dentro das subparcelas, foram consideradas como plântulas todos os indivíduos com altura < 1,2 m. Desta forma, todas as plântulas foram identificadas, contadas e tiveram medidas as suas alturas (em centímetros) e diâmetro à altura da base (DAB, em centímetros) e a ausência ramificação, de acordo com o guia de Balke (2013) e Schaeffer-Novelli (1986).

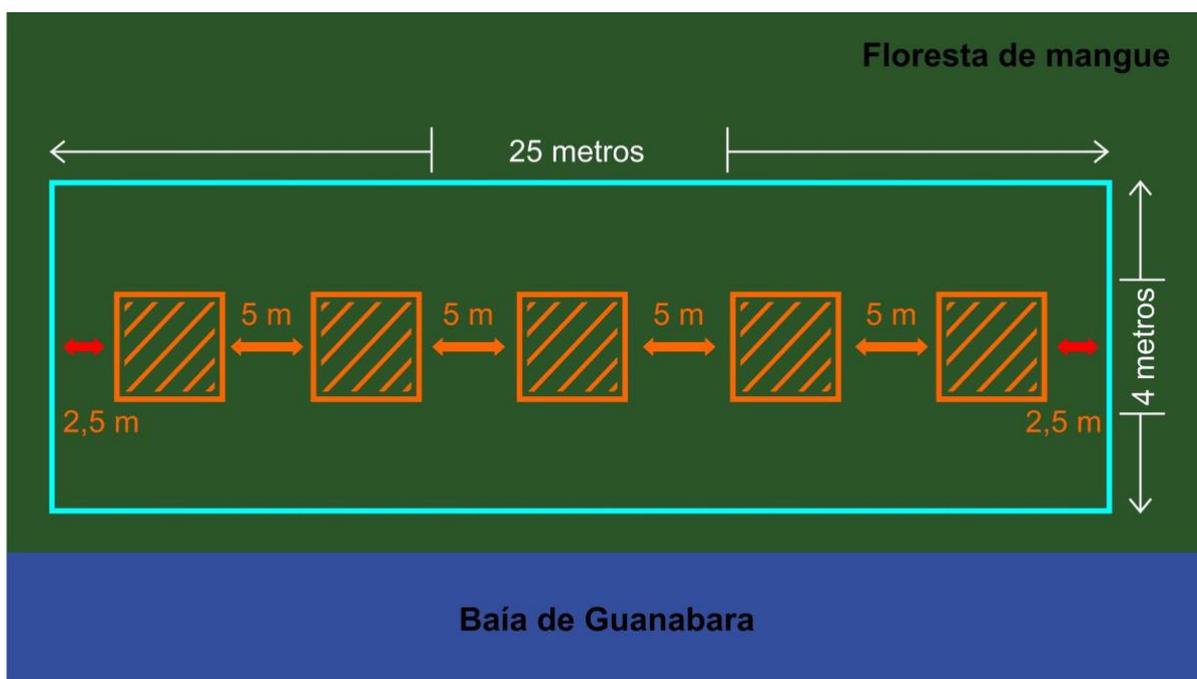


Figura 5 - Esquema representativo de uma parcela de 100m² (25 x 4m) com 5 subparcelas de 1m² nos pontos centrais e paralelos à Baía de Guanabara.

Para avaliarmos as populações de cada uma das espécies de mangue e compará-las entre as três Áreas e entre as zonas de distância da linha de praia, elaboramos tabelas de distribuição de frequência de classes de tamanho à partir dos parâmetros fitossociológicos, que aqui foram considerados como descritores da estrutura populacional. Desta forma, foram calculados os seguintes parâmetros fitossociológicos para cada uma das espécies (MORO, 2011): abundância (n): refere-se ao número de indivíduos amostrados por espécie, por área e por zona de distância

da linha de praia nas parcelas de amostragem; rea basal (Ge; em m²): calculada para cada espécie a partir do DAP dos adultos utilizando-se a fórmula: $([DAP] / 2)^2 * \pi$.

Testamos possíveis diferenças na abundância de indivíduos adultos e de plântulas por meio de Análise de Variância para múltiplos fatores (ANOVA multifatorial), considerando como fatores: as áreas, as zonas e as espécies, e combinações destes três fatores. Também testamos diferenças na abundância de adultos e plântulas de cada uma das espécies por meio de ANOVA multifatorial, desta vez considerando como fatores as áreas e as zonas e a combinação área x zona. Os cálculos de altura e DAP, registraram-se os valores mínimos, máximos e médios, assim como foram feitos os testes de significância com Kruskal-Wallis rank sum test entre as espécies e entre as áreas, pois os dados não apresentaram distribuição normal comprovada pelo teste Levene para homogeneidade de variância. Estas análises foram feitas usando os pacotes `easyanova` (RITTER & THEY, 2019), `TukeyHSD` (RITTER & THEY, 2019), `dplyr` (WICKHAM et al., 2022), `dunn.test` (DINNO, 2017), `pacman` (RINKER & KURKIEWICZ, 2018) no RStudio (RStudio Team, 2022) pelo site Posit.Cloud.

As análises de regressão linear foram feitas com modelo linear com os pacotes `ggpmisc` (ALPHALO, 2016) e `ggplot2` (WICKHAM, 2016) no RStudio (RStudio Team, 2022) pelo site Posit.Cloud. Gráficos foram feitos com o pacote `ggplot2`.

3.3.2 Análises genéticas de *Avicennia schaueriana*

Escolhemos a espécie *Avicennia schaueriana* por conta do seu baixo número de mudas usadas no plantio na área devido às dificuldades germinativas e de estabelecimento da planta no campo e a facilidade de extração de seu DNA em laboratório. Consequentemente, a sua inserção no ambiente do PNMBM foi reduzida em comparação com as outras duas espécies de mangue plantadas na área. A baixa representatividade de *A. schaueriana* na vegetação do parque é confirmada neste estudo pelas baixas quantidades de plântulas e árvores encontradas nas áreas estudadas, sendo este mais um motivo de preocupação com relação à diversidade genética da população desta espécie e sua resiliência em longo prazo.

Para a análise da diversidade genética, foram selecionadas e coletadas, aleatoriamente com espaçamento mínimo de 50 metros, 60 amostras foliares de indivíduos adultos de *A. schaueriana*, que foram plantados durante o projeto de restauração, e 60 amostras foliares de plântulas provenientes de regeneração natural, ao longo das três idades de restauração (Áreas),

sendo 20 folhas de cada área. As amostras foram guardadas em um saquinho de tecido resistente (sacos para chá) e colocadas em sílica para ocorrer o processo de secagem das folhas sem a degradação do DNA. Todas as amostras foram identificadas e mantidas em sílica até a extração do DNA (Figura 6).



Figura 6 - Folhas de *A. schaueriana* coletadas, identificadas e colocadas no recipiente de saco para chá, para armazenamento até o momento de extração.

Esta análise foi realizada utilizando-se o marcador molecular de ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) no Laboratório de Biologia Molecular do Jardim Botânico do Rio de Janeiro para avaliar o nível de variabilidade genética dentro do parque de forma geral, entre áreas com diferentes idades de plantio do PNMBM e entre adultos plantados e plântulas regenerantes nas áreas de estudo.

Após o material foliar estar totalmente seco, seguiu-se a extração do DNA do protocolo de Lira-Medeiros et al. (2015). Após a extração, as amostras foram verificadas em gel de agarose a 1% e NanodropTM 2000 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA). DNAs com qualidade alta, razão 260/280 > 1,8 e razão 260/230 > 1,8 foram então diluídos a 25 ng/μL. As reações de amplificação por PCR foram realizadas em 40 μL de volume final com 8 μL de tampão taq 1X (KCl 500 mM, Tris-HCl 100mM, pH 8,5), 6,4 μL de MgCl₂ (25mM), 1,6 uL de dNTP (10 mM), 4 μL de primer (10 mM), 0,3 μL de Taq polimerase (5 U/μL; Promega), 0,8 μL de formamida, 16,9 μL de água autoclavada milliQ e 2 μL de DNA, seguindo Ge et al. (2005) adaptado por Granado et al (2018).

Sete primers do conjunto de primers da University of British Columbia, desenvolvidos para ISSR, foram testados para *A. schaueriana* (808, 809, 811, 834, 835, 840, 842), conforme apresentado na Tabela 1. Porém, o primer 809 apresentou problemas de amplificação nos indivíduos da Área 2 e, por isso, foi excluída das análises entre adultos e plântulas.

Tabela 1 - Tabelas de primers testados com os sete primers adotados para as amostras de *Avicennia schaueriana* e suas respectivas sequências e temperaturas de anelamento (TA).

Primer	Sequência do primer	TA
808	5' [AG]8C 3'	46°C
809*	5' [AG]8G 3'	50°C
811	5' [GA]8C 3'	50°C
834	5' [AG]8YT 3'	52°C
835	5' [AG]8YC 3'	48°C
840	5' [GA]8YT 3'	52°C
842	5' [GA]8YG 3'	54°C

*Primer usado apenas na análise de todos os indivíduos entre as áreas de estudo

A PCR das amplificações foi realizada em um termociclador Veriti (Applied Biosystems, Waltham, MA, EUA) com desnaturação inicial de 94 °C por 5 min, seguido de 40 ciclos de 2 min a 94 °C, anelamento específica temperatura (Tabela 1) por 1 min, 2 min a 72 °C e uma extensão final de 7 min a 72 °C. Os produtos PCR foram separados por eletroforese em gel em géis de agarose 1,8%, em tampão TBE 1X e visualizado com luz UV. Usamos 4 µL de amostra, com 2 µL de GelRed® (Biotium, Fremont, CA, EUA) e 1 µL de tampão de carregamento (30% glicerol com xileno cianol e azul de bromofenol). Além disso, um marcador de tamanho molecular com intervalos de 100 pb (100 bp-ladder, Ludwig Biotec, Alvorada, RS, Brasil) foi usado para estimar os tamanhos dos fragmentos em géis que migraram a 100 V por 90 min.

A contagem de bandas foi feita de forma a alinhar os ladders de cada foto de gel, traçar uma linha e contabilizar as bandas amplificadas dentro de uma matriz binária de ausência e presença de bandas (0 ou 1, respectivamente) em uma planilha excel. As bandas presentes na mesma linha foram consideradas dentro do mesmo locus (Figura 7).

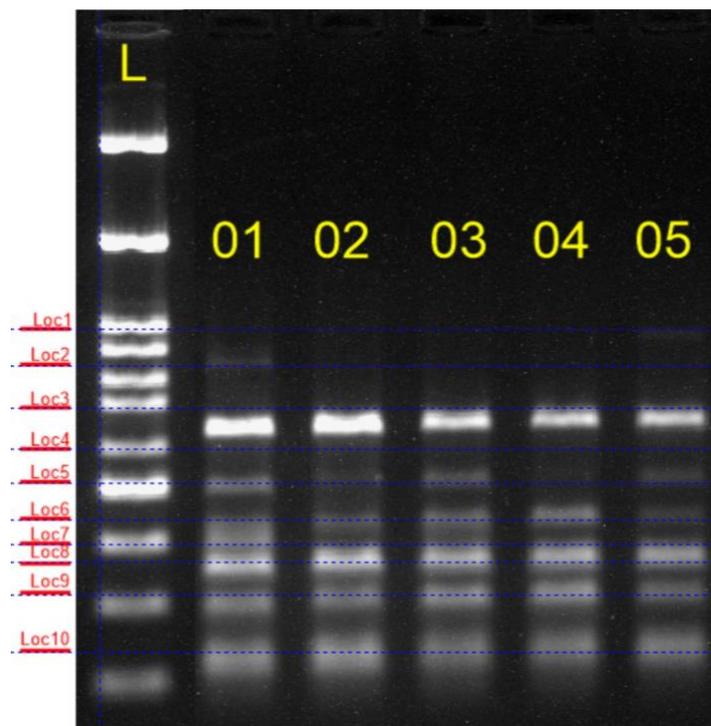


Figura 7 - Fotografia de gel de agarose 1,8% para a contagem de bandas polimórficas do marcador molecular ISSR, visualizadas sob a luz UV, com o produto de PCR de indivíduos de *Avicennia schaueriana*.

A matriz binária com o padrão de bandas para todos os indivíduos adultos e plântulas de *A. schaueriana* das áreas de estudo foram analisados através do software Hickory versão 1.1 (HOLSINGER, 2003) para medir os índices de Diversidade média das populações (H_s); Diversidade da espécie (H_t); Índice de diferenciação genética (G_{st-B}) e Endocruzamento (f), com as configurações de nBurnin 5000, nSample 25000 e thin 5. O modelo mais adequado foi o full model com valor de DIC = 1089.18, menor do que o DIC dos outros modelos. O software Genalex versão 6.5 (PEAKALL, 2012) foi usado para o gráfico de distância genética, análise Nei (h) e Shannon (I) e diferenciação par a par (Φ_{iPT}). O dendrograma foi feito no software Popgene versão 1.32 (YEH, 2000) e o software Structure Versão 2.3.4 (PRITCHARD, 2000) para o gráfico de barras sobre admixture e relação de ancestralidade entre indivíduos das três Áreas de estudo. Foram excluídos indivíduos com mais de 60% de missing data, sobrando 110 indivíduos no total para a análise molecular.

4. RESULTADOS

4.1 Levantamento e análises fitossociológicas

Considerando toda a área pré definida do estudo no PNMBM, *Laguncularia racemosa* foi a espécie com

a maior abundância de indivíduos ($n = 1296$ indivíduos), enquanto *Avicennia schaueriana* apresentou o menor número de indivíduos ($n = 74$ indivíduos). Houve diferenças significativas na abundância de indivíduos das três espécies (ANOVA: $df = 2$; $F = 23,704$; $p < 0,001$) (Tabela 2).

Laguncularia racemosa apresentou a maior altura média ($4,29 \text{ m} \pm 1,22$), enquanto *R. mangle* apresentou a menor altura média ($3,29 \text{ m} \pm 1,16$). Houve diferenças significativas nas alturas médias das três espécies, sendo a altura média de *R. mangle* significativamente menor que as alturas das demais espécies (Tabela 2).

Avicennia schaueriana apresentou a maior área basal média ($Ge = 53,8 \text{ m}^2$), enquanto *R. mangle* apresentou a menor área basal média ($17,1 \text{ m}^2 \pm 1,11$), com esta tendo área basal significativamente menor que as duas outras espécies (Tabela 2).

Para as três espécies, houve relação significativa entre a altura e a AB (em todas as regressões, $p < 0.0001$). O coeficiente de determinação (R^2) variou entre as espécies, sendo este maior para *R. mangle* ($R^2 = 0,41$) e menor para *L. racemosa* ($R^2 = 0,13$) (Tabela 3 e Figura 8).

Em termos de distribuição em classes de altura, *L. racemosa* possui a maior parte dos indivíduos com alturas variando entre 3 e 5 metros, enquanto *R. mangle* apresenta a maior parte dos indivíduos com alturas entre 1 e 4 metros (Figura 9). Já *A. schaueriana* apresentou pequena variação entre as classes de altura (Figura 9). Quando analisamos as classes de área basal, as três espécies apresentam a maior parte dos indivíduos com Ge inferior a $0,4 \text{ m}^2$ (Figura 10).

Tabela 2 - Abundância de indivíduos (n), altura média (H) e área basal (Ge) das três espécies de mangue (*Avicennia schaueriana*, *Laguncularia racemosa* e *Rhizophora mangle*) registradas nas áreas de restauração estudadas no Parque Natural Municipal Barão de Mauá, Magé, Rio de Janeiro. Abundância (n); Altura (H; em metros); Área basal média (Ge; em m^2).

Espécies	n	H	Ge
<i>Avicennia schaueriana</i>	74 a	4,15 ($\pm 1,46$) a	0,4 a

<i>Laguncularia racemosa</i>	1296 b	4,29 (\pm 1,22) a	3,7 a
<i>Rhizophora mangle</i>	911 b	3,29 (\pm 1,16) b	1,5 b

Tabela 3 - Tabela mostrando os valores da regressão entre altura e Ge por espécies de mangue do PNMBM. df = graus de liberdade; F = resultado da estatística F; R² = coeficiente de determinação.

Espécies	df	F	R ²
<i>Avicennia schaueriana</i>	72	12.78	0.1507***
<i>Laguncularia racemosa</i>	1294	183.2	0.124***
<i>Rhizophora mangle</i>	909	540.2	0.3727***

*** p < 0,001

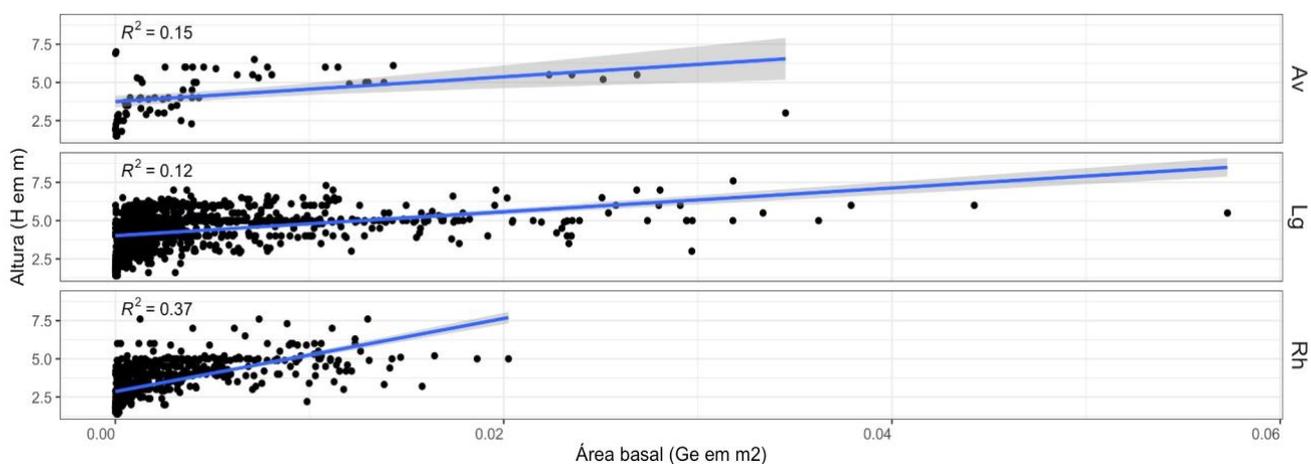


Figura 8 - Regressão linear, mostrando a relação entre Altura (H; em metros) e Área basal (Ge; em m²) das espécies *Avicennia schaueriana* (Av), *Laguncularia racemosa* (Lg) e *Rhizophora mangle* (Rh) por indivíduos, respectivamente, em toda a área do PNMBM avaliada.

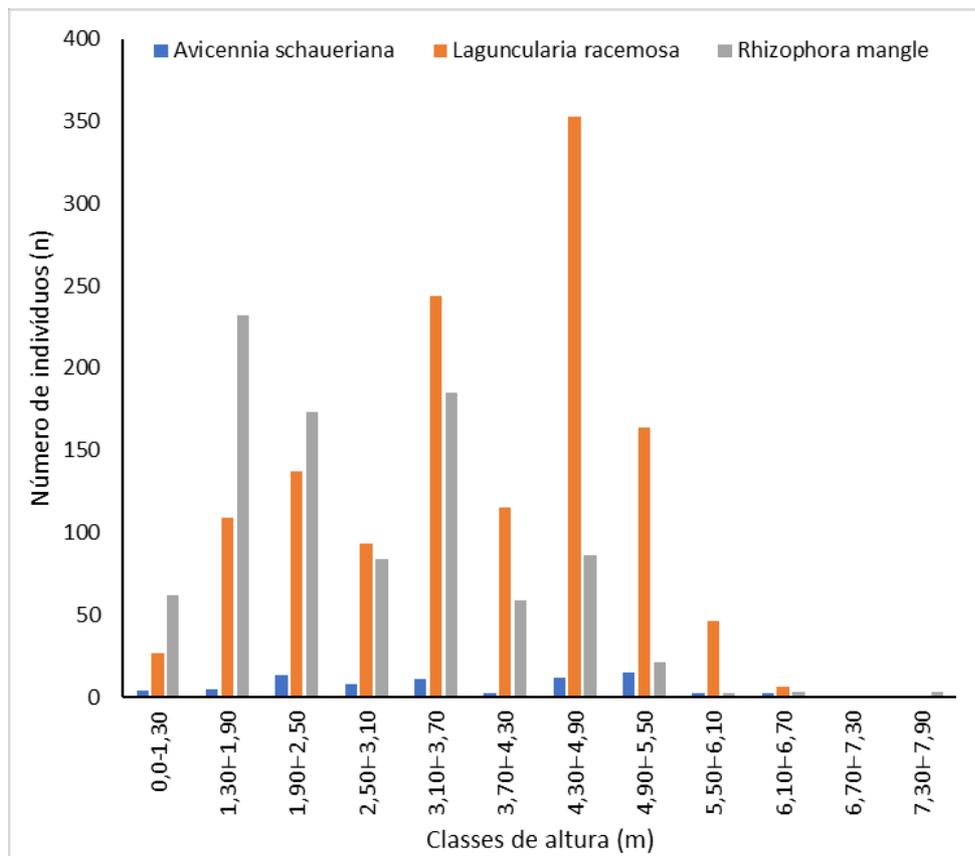


Figura 9 - Intervalo de classe de altura (H; em metros) das três espécies de mangue no PNMBM.

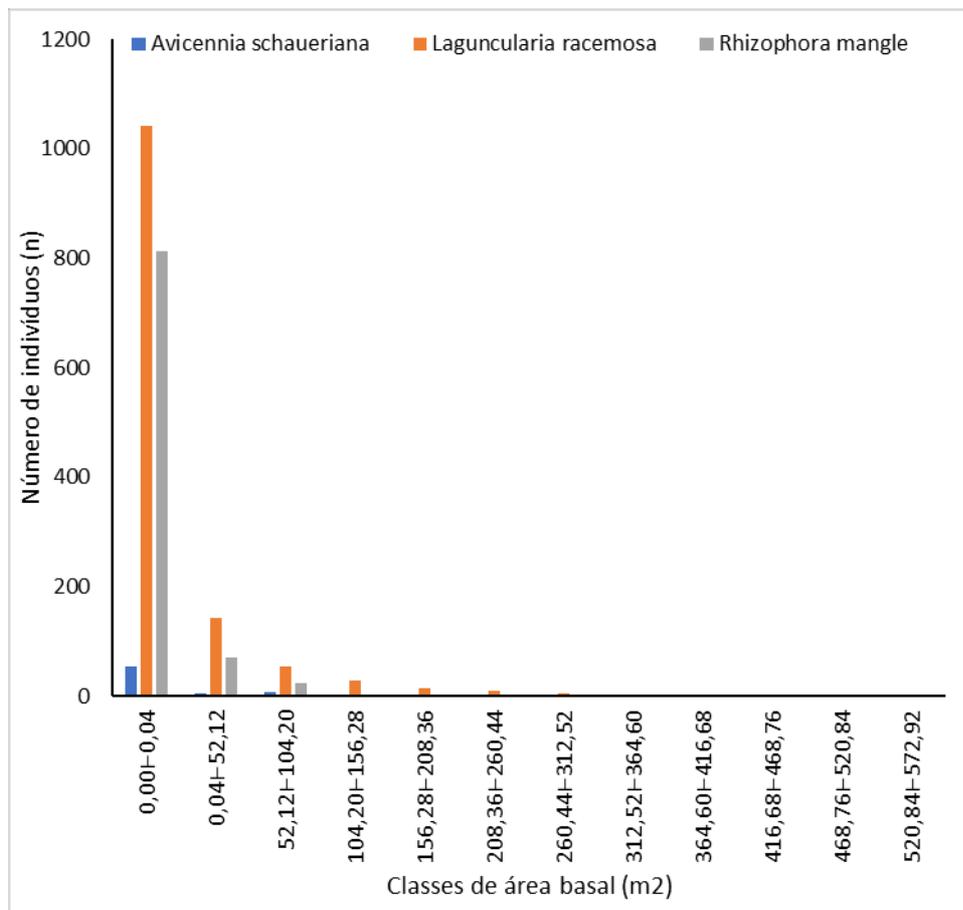


Figura 10 - Intervalo de classe de área basal (Ge; em m²) das três espécies de mangue no PNMBM.

4.2 Comparações entre as três áreas

A Área 2 apresentou a maior abundância de indivíduos (n = 951 indivíduos), enquanto a Área 1 apresentou a menor abundância (n = 515 indivíduos) (Tabela 4). Houve diferença significativa para abundância (ANOVA: df = 2; F = 3,124; p = 0,047) de indivíduos entre as espécies, sendo a Área 1 significativamente menos abundante que as duas outras áreas.

No geral, as áreas tiveram valores de altura e área basal distintas. A área mais antiga (Área 1) difere das duas outras áreas, apresentando as maiores médias, enquanto a área mais jovem (Área 3) as menores médias. Os valores de altura foram significativamente diferentes entre as três Áreas (p < 0,03). No entanto, apenas a área basal da Área 1 foi significativamente diferente das demais áreas (Tabela 4).

Quando analisadas separadamente as espécies, não houve diferença na abundância de indivíduos de *A. schaueriana* entre as três Áreas ($p = 0,083$). No entanto, houve diferenças significativas na abundância de indivíduos presentes nas três Áreas, tanto para *L. racemosa* (ANOVA: $df = 2$; $F = 5,31$; $p = 0,008$), quanto para *R. mangle* ($df = 2$; $f = 11,893$; $p < 0,001$) (Tabela 5). No caso de *L. racemosa*, a abundância da Área 3 diferiu significativamente das Áreas 1 e 2, enquanto para *R. mangle* a Área 2 difere significativamente das duas outras (Tabela 5).

Ao analisar os indivíduos adultos das três espécies separadamente, as espécies diferiram significativamente ($p < 0,05$) na altura e Ge entre as três Áreas (Tabela 5 e Figura 11). *Laguncularia racemosa* e *R. mangle* têm indivíduos em média maiores na Área 1, enquanto *A. schaueriana* possui indivíduos maiores na Área 2 (Tabela 5 e Figura 11).

Tabela 4 - Tabela mostrando a abundância (n) por área e os valores médios de altura (H) e área basal (Ge) das espécies em cada áreas de mangue no PNMBM (a; b; c mostram significância entre os valores). Abundância (n); Altura média (H; em metros); Área basal média (Ge; em m²).

Espécie	Área	n	H	Ge
<i>Avicennia schaueriana</i>	1	53 a	4.24 ($\pm 1,40$) a	0,006 a
	2	4 a	6.28 ($\pm 0,85$) b	0,016 b
	3	21 a	3.53 ($\pm 1,27$) c	0,002 c
<i>Laguncularia racemosa</i>	1	225 a	4.73 ($\pm 1,07$) a	0,007 a
	2	345 a	4.41 ($\pm 0,93$) b	0,003 b
	3	671 b	4.05 ($\pm 1,34$) c	0,002 c
<i>Rhizophora mangle</i>	1	241 a	4.14 ($\pm 1,32$) a	0,004 a
	2	602 b	3.20 ($\pm 1,03$) b	0,001 b
	3	119 a	2.44 ($\pm 0,67$) c	0,001 c

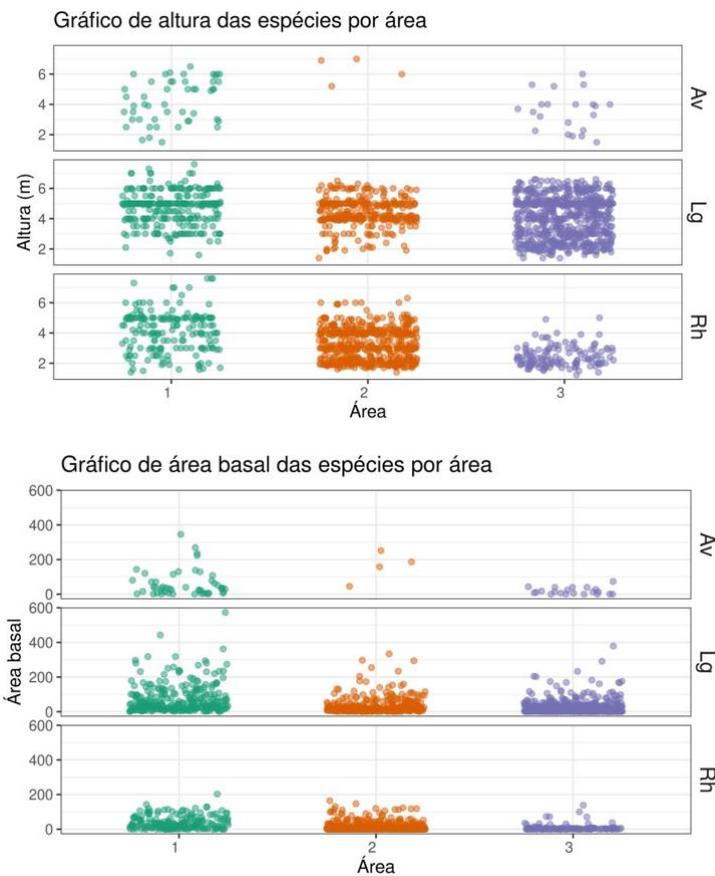


Figura 11 - Gráficos de dispersão da altura e área basal das três espécies *A. schaueriana* (Av), *L. racemosa* (Lg) e *R. mangle* (Rh) por idades de restauração no PNMBM (Áreas 1, 2 e 3).

4.3 Zonação

A abundância de indivíduos variou entre as zonas de distância do mar, sendo maior na zona C e menor na zona A, mas estas não diferiram significativamente (ANOVA: $p = 0,070$) (Tabela 6). Também não houve diferença na altura média e na área basal quando comparadas às zonas de distância do mar, mesmo quando as espécies foram analisadas separadamente (Tabela 6 e Figuras 12 e 13).

Tabela 5 - Abundância total (n), altura média (H) e área basal média (Ge) das zonas de distância da linha de praia nas estudadas no Parque Natural Municipal Barão de Mauá, município de Magé, Rio de Janeiro. Abundância total (n); Altura média (H; em metros); Área basal média (Ge; em m²).

Zonas	n	H	Ge
A	399	4,11 (± 1,21)	0,005
B	462	3,98 (± 1,53)	0,004
C	754	3,72 (± 1,24)	0,002
D	666	3,88 (± 1,22)	0,002

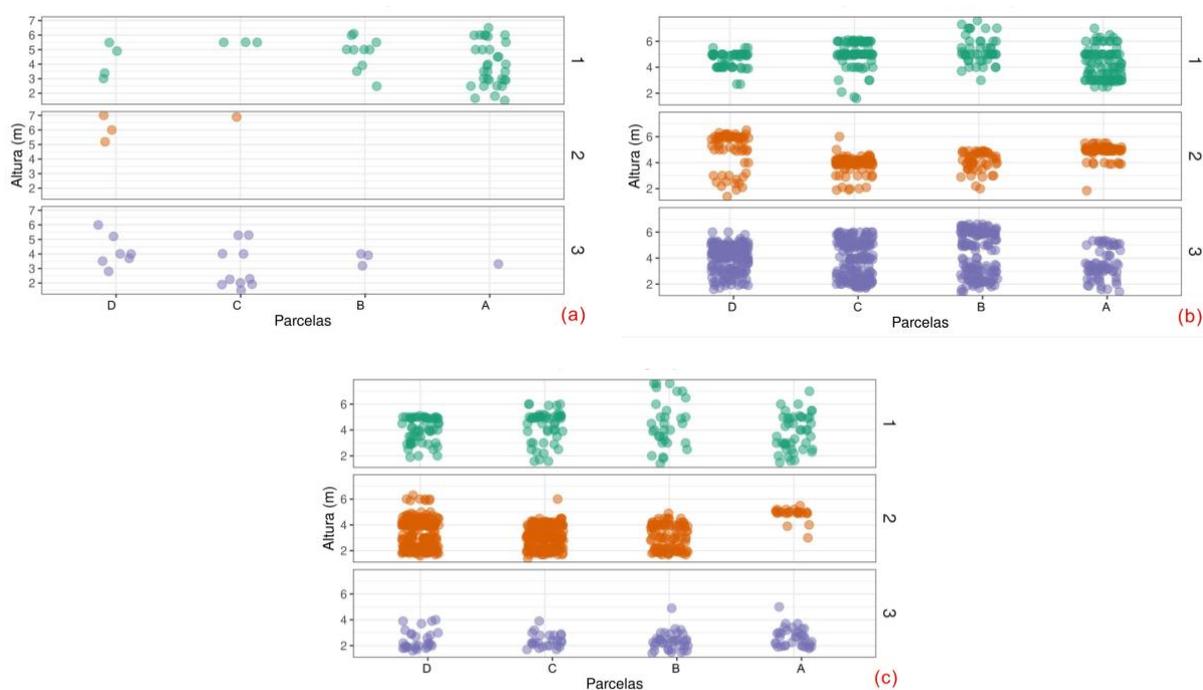


Figura 12 - Gráficos de dispersão de altura por linha de parcela (D, C, B e A) das três espécies (a: *A. schaueriana*, b: *L. racemosa* e c: *R. mangle*) respectivamente.

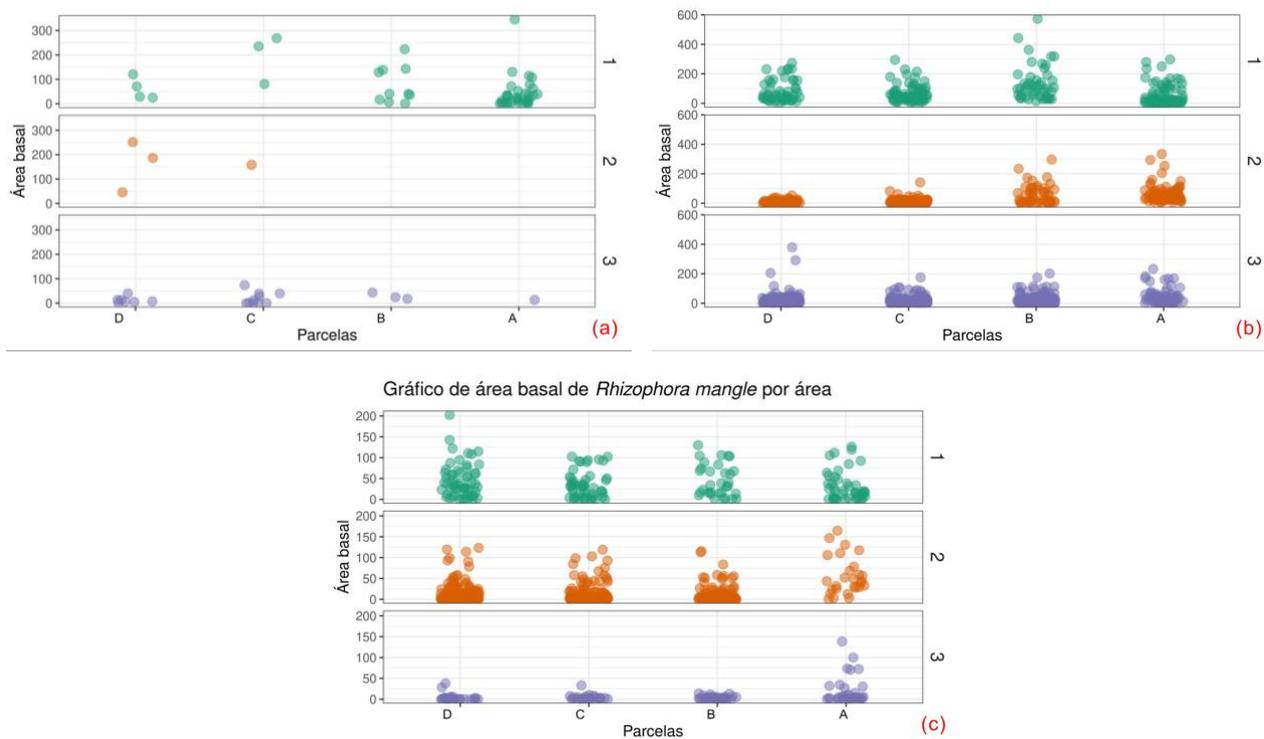


Figura 13 - Gráficos de dispersão de área basal por linha de parcela (D, C, B e A) das três espécies (a: *A. schaueriana*, b: *L. racemosa* e c: *R. mangle*) respectivamente.

4.4 Plântulas

A abundância de plântulas variou entre as áreas estudadas, sendo maior na Área 1 (n = 678 plântulas) e menor na Área 3 (n = 377 plântulas) (Tabela 7). No entanto, não houve diferença significativa nos valores de abundância de plântulas das três Áreas com diferentes idades (ANOVA: $p = 0,347$).

Ao analisarmos a abundância de plântulas entre as zonas, a zona B apresentou o maior número de plântulas (n = 469), enquanto a zona D teve o menor valor (n = 181). Porém, não houve diferença significativa na abundância total de plântulas das quatro zonas estudadas (ANOVA: $p = 0,521$) (Figura 14).

De forma geral, *L. racemosa* apresentou as maiores abundâncias de plântulas em toda a área estudada (n = 933 indivíduos; 62,2% do total), enquanto *A. schaueriana* apresentou as menores abundâncias (n = 22 indivíduos; 1,5% do total) (Tabela 7). As três espécies apresentam

as maiores abundâncias de plântulas na Área 1, mas o menor número de plântulas por espécie variou entre as três Áreas (Tabela 7).

Quando comparamos a abundância de plântulas de cada espécie nas áreas estudadas, *A. schaueriana* não apresentou diferenças significativas (ANOVA: $p = 0,083$). Por outro lado, houve diferença na abundância de plântulas entre as três Áreas tanto para *L. racemosa* (ANOVA: $df = 2$; $f = 5,321$; $p = 0,008$), quanto para *R. mangle* (ANOVA: $df = 2$; $f = 11,893$; $p < 0,001$) (Tabela 7). Não houve diferença para nenhuma das espécies na abundância de plântulas entre as zonas de distância do mar (Figura 14).

Tabela 6 - Abundância total (n) das três espécies arbóreas registradas nas três Áreas de restauração estudadas no Parque Natural Municipal Barão de Mauá, município de Magé, Rio de Janeiro.

Espécie	Áreas			Total/espécie
	1	2	3	
<i>Avicennia schaueriana</i>	19 a	1 a	2 a	22
<i>Laguncularia racemosa</i>	351 a	260 b	322 a	933
<i>Rhizophora mangle</i>	308 a	183 b	53 c	544
Total/área	678	444	377	1499

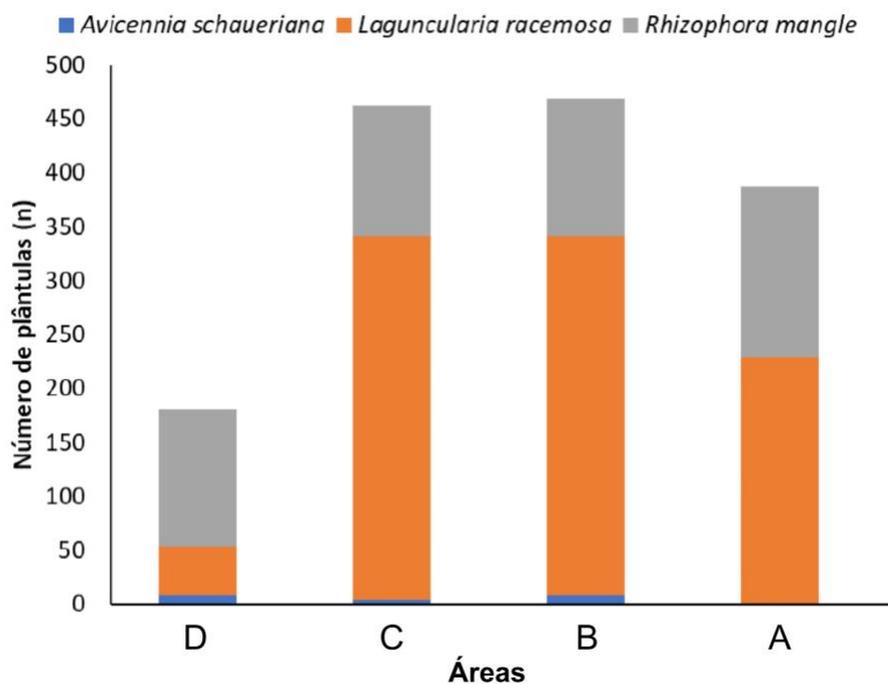


Figura 14 - Distribuição de abundância de plântulas das três espécies registradas nas zonas de distância do mar na área estudada do Parque Natural Municipal Barão de Mauá, município de Magé, Rio de Janeiro.

4.5 Análises genéticas de *Avicennia schaueriana*

Para o estudo de caso da espécie *Avicennia schaueriana* foram usados sete primers de ISSR para amplificar as amostras. Obtiveram-se 74 loci, e todos eram polimórficos ($p = 100\%$), mostrando uma alta taxa de polimorfismo do ISSR para a *Avicennia schaueriana*. Porém, tivemos que eliminar os resultados do primer 809 por excesso de missing data na Área 2, ficando com 66 locus na análise entre adultos e plântulas das áreas de estudo. Os índices para a espécie foram H_s (diversidade média das populações) = $0,3207 (\pm 0,0106)$ e H_t (diversidade da espécie) $0,3597 (\pm 0,0161)$.

Os índices de diversidade genética (H_s) de cada área foi de $0,3389 (\pm 0,0137)$, $0,3036 (\pm 0,0090)$ e $0,3019 (\pm 0,0109)$, para as Áreas 1, 2 e 3 respectivamente. O índice de diferenciação genética (G_{st-B}) foi de $0,0999 (\pm 0,0137)$ e a taxa de endocruzamento (f) foi de $0,4637 (\pm 0,2467)$, mostrando que existe alto endocruzamento dentro do parque PNMBM (Tabela 8).

Tabela 7 - Tabela mostrando os índices genéticos das três Áreas pré-definidas. Diversidade média das populações (Hs); Diversidade da espécie (Ht); Índice de diferenciação genética (Gst-B) e Endocruzamento (f).

	Hs	Ht	Gst-B	f
Área 1	0,3389 (± 0,0137)	-	-	-
Área 2	0,3036 (± 0,0090)	-	-	-
Área 3	0,3019 (± 0,0109)	-	-	-
Média	0,3148 (± 0,0098)	0,3500 (± 0,0150)	0,0999 (± 0,0137)	0,4637 (± 0,2467)

Ao analisar separadamente adultos e plântulas de cada área estudada do PNMBM, chama a atenção o distanciamento genético de alguns indivíduos de adultos e plântulas da Área 1. Além disso, existe uma semelhança genética maior entre a Área 3 e a Área 1 do que a Área 2 (Figura 15 e 16).

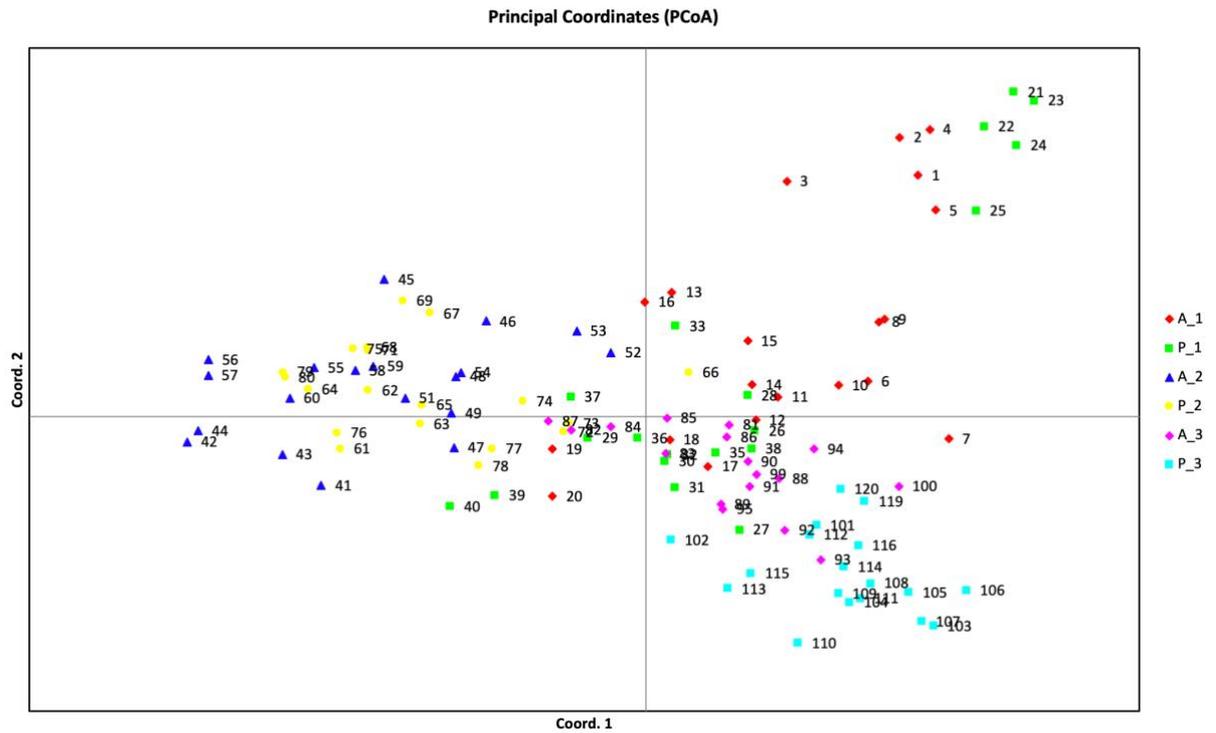


Figura 15 - Gráfico PCoA, mostra os distanciamentos genéticos das amostras separadas por cores de acordo com a área respectiva dos indivíduos. A letra (A) indica adultos e (P) plântulas e número indicam as Área 1, 2 e 3 do PNMBM.

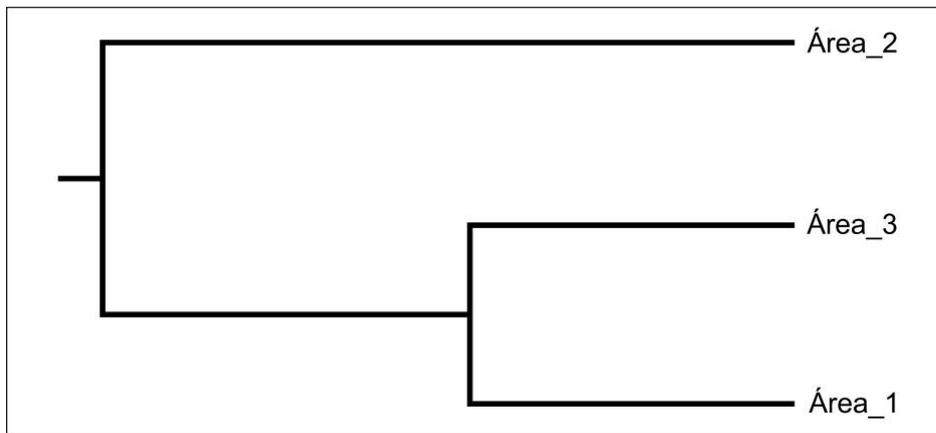


Figura 16 - Dendrograma mostrando a semelhança genética dos indivíduos nas três Áreas.

O gráfico de barras dividido em 2 Clusters (K = 2) e sub-agrupado pelos indivíduos adultos e plântulas mostra o nível de admixture dentro da população do PNMBM (Figura 17).

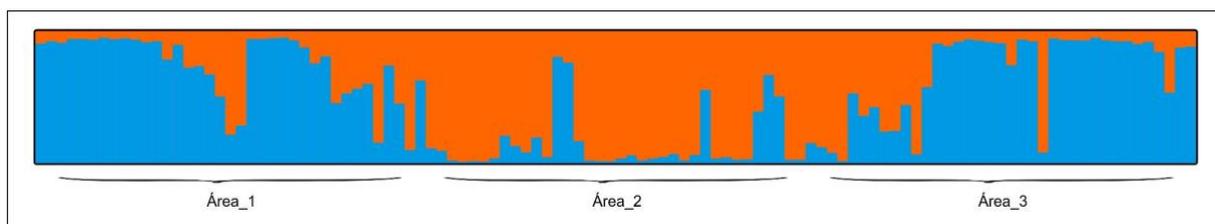


Figura 17 - Gráfico de barras, indicando 2 clusters de diversidade alélica entre os indivíduos das três idades de restauração, ou seja, três Áreas estudadas do PNMBM.

A tabela de comparação a par visa a diferenciação genética das populações (índice PhiPT; equivalente ao Gst) de indivíduos adultos e plântulas das três Áreas do PNMBM (Tabela 9). Existe baixa diferenciação genética entre indivíduos adultos e plântulas das mesmas áreas, porém, houve um grande aumento se estendendo para a Área 3, especialmente ao comparar as plântulas desta área com os outros indivíduos das outras áreas.

Tabela 8 - Comparação par a par de diferenciação genética das populações (PhiPT = Gst), entre adultos (A) e plântulas (P) das três Áreas de diferentes idades de plantio.

Pop1	Pop2	PhiPT = Gst
A_1	A_2	0,224
A_1	A_3	0,145
A_1	P_1	0,091
A_1	P_2	0,18
A_1	P_3	0,234
A_2	A_3	0,213
A_2	P_2	0,075
A_2	P_3	0,353
A_3	P_3	0,159
P_1	A_2	0,222

P_1	A_3	0,164
-----	-----	-------

P_1	P_2	0,179
-----	-----	-------

P_1	P_3	0,238
-----	-----	-------

P_2	A_3	0,17
-----	-----	------

P_2	P_3	0,311
-----	-----	-------

5. DISCUSSÃO

5.1 Estudo fitossociológico

O manguezal em processo de restauração do PNMBM tem uma estrutura de indivíduos em desenvolvimento gradativo, apresentam curvas do tipo "J" invertido associada às baixas idades de restauração, padrão esperado como cita Petri et al., (2011) e Souza & Sampaio (2001). Ao analisarmos as espécies separadamente, os adultos de *L. racemosa* e *R. mangle* apresentaram as maiores abundâncias de indivíduos, enquanto *A. schaueriana* aparentemente não teve a mesma presença no plantio, apresentando as menores abundâncias e sendo representada basicamente por indivíduos remanescentes da área antes desta ser desflorestada. A avaliação dendrométrica também mostrou diferenças nos tamanhos das três espécies, tanto em área basal média, quanto em altura média. Além disso, as áreas e as espécies estudadas apresentaram diferenças na sua estrutura geral, enquanto as zonas de distância do mar não diferiram em nenhum dos parâmetros analisados.

A abundância de plântulas não diferiu entre áreas e zonas, demonstrando uma distribuição homogênea. No entanto, quando as espécies foram analisadas separadamente, elas apresentaram comportamentos diferentes entre áreas, mas não entre zonas. Esses resultados demonstram que as três Áreas, que representam idades de regeneração distintas, seguem o desenvolvimento esperado para os bosques de mangue, mas cujas diferenças refletem as respostas individuais das espécies que compõem a restauração, tanto em termos de indivíduos adultos, quanto em termos de abundância de plântulas.

De forma geral, os indivíduos adultos das três espécies apresentaram diferenças nas estruturas de suas populações, tanto em termos de número de indivíduos, quanto em termos de tamanho dos indivíduos. *Laguncularia racemosa* e *R. mangle* apresentaram as maiores abundâncias, enquanto *A. schauerianna* possui um número muito menor de indivíduos. Isso demonstra que as duas primeiras foram mais eficientes no estabelecimento e tiveram menos taxas de mortalidade após os plantios no PNMBM, enquanto *A. schauerianna* tiveram maiores perdas ao longo do desenvolvimento dos plantios. Essas diferenças também são representadas pelos parâmetros dendrométricos, que demonstram que as populações das três espécies diferem entre si. Possivelmente, essas diferenças nas abundâncias e na estrutura das populações das três espécies demonstram exigências ecofisiológicas e herança genética distintas às condições ambientais para o estabelecimento das plântulas (BASKIN e BASKIN, 1998).

As três Áreas apresentaram diferenças na estrutura (abundância de adultos e diferenças dendrométricas), com a Área 1 possuindo indivíduos maiores (maiores alturas e áreas basais), mas menor abundância, enquanto a Área 2 apresenta as maiores densidades e a Área 3 os menores valores dos três parâmetros estruturais avaliados. Isto indica que, apesar das três Áreas terem sido restauradas em momentos relativamente cronologicamente próximos, elas estão em estágios de desenvolvimento distintos. A Área 1 já se caracteriza como uma área de mangue em estágio sucessional intermediário para avançado (SILVA et al., 2005; KILCA et al., 2010), com árvores de maior porte e menores densidades, em especial devido ao fechamento do dossel, que impede que as plantas mais jovens possam se desenvolver e estabelecer, levando a uma menor abundância e densidade.

Avicennia schaueriana, apesar de suas baixas abundâncias, foi representada por indivíduos de grande porte, que, em sua grande maioria, eram remanescentes da área antes de suas desflorestação, sendo raros os indivíduos jovens, além das baixas densidades de plântulas da espécie. É possível que isso seja um efeito das condições ambientais da área, tais como elevadas temperaturas e elevadas salinidades, que são limitantes para o estabelecimento e sobrevivência nas fases iniciais de desenvolvimento dos propágulos (OLIVEIRA, 2005).

Martins et al. (2011) relatam que, geralmente, *R. mangle* é a espécie dominante nos manguezais brasileiros. No caso do PNMBM, ela é a espécie com segunda maior abundância, sendo *L. racemosa* a que possui maior número de indivíduos. É possível que *R. mangle* seja menos abundante tanto como resposta ao número de indivíduos utilizados no plantio, quanto pelas dificuldades enfrentadas para a manutenção de suas mudas na fase inicial do projeto, que eram intensamente herbivoradas por caranguejos na área (SILVA, comunicação pessoal). A predação de plântulas por caranguejos é citada como um importante processo que afeta a distribuição e a densidade de espécies de mangue (e.g., LIMA, 2018), possivelmente afetando a dinâmica de regeneração das populações (FRUEHAUF, 2005), em especial em áreas restauradas.

Laguncularia racemosa foi a espécie dominante no PNMBM como um todo, e apresentou sua abundância e altura média maiores com relação às outras espécies, assim como as suas plântulas que obtiveram os mesmo parâmetros, caracterizando um mangue monoespecífico, a *A. schaueriana* não diferindo na abundância em nenhuma das áreas e somente uma maior influência da espécie *R. mangle* na Área 2. Resultados similares a estes foram encontrados em estudos em manguezais de Cananéia (SP) por Coelho Jr. (1998) e Cunha

Lingnon et al. (1999). Em campo, eram observados grandes densidades de *L. racemosa* em partes do mangue onde menos sofriam com a energia das marés, nas costas com baixas salinidades e ao longo de canais de águas salobras, como geralmente o gênero *Laguncularia* se comporta nos manguezais (SCHAEFFER-NOVELLI e CINTRÓN, 1986).

Através da análise por zonas de indivíduos adultos e plântulas (abundância de espécies por linha e por áreas de diferentes idades de restauração), não foi possível verificar um padrão de zonação vertical, como apresentado por Schaeffer-Novelli e Cintrón (1986). Isso pode significar que ainda não houve o tempo necessário para que houvesse a zonação, em especial pelas diferenças marcantes entre as três Áreas.

Apesar da abundância de plântulas ter variado entre áreas e zonas, não houve diferenças significativas, quando olhadas conjuntamente as três espécies. No entanto, a abundância de plântulas diferiu entre áreas quando as três espécies foram analisadas separadamente, com *L. racemosa* apresentando as maiores densidades nas Áreas 1 e 3, enquanto *R. mangle* apresentou as maiores abundâncias na Área 1. A possível explicação pode vir de Baskin e Baskin (1998) e Oliveira (2005), apontando que, quando os recursos energéticos da planta-mãe são limitados, existe uma relação inversa entre tamanho e número de sementes produzidas.

5.2 Estudo genético da *Avicennia schaueriana*

Na genética, quando comparado com as análises dos marcadores moleculares de ISSR feitas por Granado et al. (2018) com os indivíduos remanescentes do PNMBM (Área 1), imaginava-se uma continuidade dos níveis de diversidade genética da *Avicennia schaueriana*, nas áreas plantadas e na regeneração natural.

As coletas feitas nas outras 2 Áreas (Áreas 2 e 3) mostraram um nível de diversidade genética próximo ao da Área 1, corroborando com a ideia das mudas e propágulos trazidos da Área 1 nos esforços iniciais do plantio. Estes índices são parecidos porque as populações possuem uma diversidade dentro das populações e porque não avaliamos outras populações fora do PNMBM. Sendo assim, o índice médio da diversidade das populações reflete, de certa forma, o índice geral da espécie.

A separação por indivíduos adultos e plântulas em suas respectivas áreas no gráfico PCoA só mostra o quanto a Área 2 troca entre si, em níveis de diversidade genética, sem quase

mesmo sobrepor os pontos contidos no gráfico com alguns indivíduos da Área 1 e quase nenhum com indivíduos da Área 3.

Esta separação pode indicar que, nas etapas iniciais do plantio após o acidente, houve uma mistura de propágulos de diferentes manguezais do Rio de Janeiro, provavelmente, as mudas da Área 3 eram provenientes de propágulos da Área 1, enquanto a Área 2 pode ter sido plantada num momento diferente e usando propágulos de outro local. Existe uma semelhança genética da Área 1 com a Área 3 maior do que com a Área 2.

Com o pouco que restou de indivíduos remanescentes pós impactos antrópicos no parque e pré restauração, algumas plantas da espécie *A. schaueriana* foram relatadas presentes em pequenos aglomerados na porção mais próxima da baía e na porção mais próxima das casas pelo técnico responsável do replantio (SILVA, comunicação pessoal).

O local onde foi denominada a Área 3 no PNMBM durante o processo de reabilitação, não possuía tantos canais artificiais que facilitavam a hidrologia do terreno para dinamizar o plantio, então, as mudas eram feitas com propágulos da Área 1 (SILVA, comunicação pessoal). Essa informação ligada à conformação geográfica e mecânica de deslocamento do propágulo da Área 2 ganha força para entender a proximidade genética com áreas mais distantes geograficamente umas das outras (Áreas 1 e 3).

Além disso, quando analisada a tabela de combinação par a par de diferenciação genética entre indivíduos adultos e plântulas das três Áreas do PNMBM, permitiu uma melhor compreensão do que aconteceu com os indivíduos da Área 1 com a Área 2, quando comparadas entre adultos e plântulas, as áreas apresentam maior diferenciação entre elas.

Apesar de possibilidades para explicar a chegada de novos indivíduos em áreas mais distantes com um certo nível de diversidade genética, o coeficiente de endogamia (f) cresceu desde a comparação das análises de estudo anteriores feitos na mesma área (Granado et al., 2018). Com isso, a iminência de processos relacionados à perda e redução da diversidade genética são colocados em pauta, assim como descreve Sebbenn (2002) e Frankham et. al. (2008).

A baixa quantidade de indivíduos de *Avicennia schaueriana* para manter a diversidade genética alta e perpetuar a espécie até as próximas gerações é uma realidade do parque é um problema que pode ser contornado com um manejo ecológico focado em reintroduzir a espécie (PRIMACK & RODRIGUES, 2001).

6. CONCLUSÕES

A estrutura populacional do manguezal do PNMBM indica uma projeção positiva para se desenvolver e se tornar o mais próximo de um manguezal com os parâmetros de funcionamento mais importantes que se aproximam de um ecossistema original saudável, é importante o manejo das espécies a fim de tornar os espaços que as três espécies ocupam mais heterogêneos. A hidrologia e o monitoramento estão cumprindo suas funções e, ao longo prazo, os padrões de zonação serão visíveis se continuar a manutenção da unidade de conservação.

Na busca de uma restauração cada vez mais preocupada com o funcionamento ecológico do manguezal, é preciso atentar-se às mudas que serão introduzidas na restauração no PNMBM, a baixa diversidade genética pode ocasionar diversos problemas a longo prazo, o aumento da endogamia pode ser considerado um dos pontos mais críticos para perpetuação de uma espécie. A tendência do manejo ecológico é que se priorize a diversificação das matrizes desses propágulos e mudas na introdução em campo para que não ocorram problemas futuros.

7. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

AMADOR, E. S. Baía de Guanabara: ocupação histórica e avaliação ambiental. **Editora Interciência**, 2013.

ANDRADE, A. S. Restauração do manguezal do Parque Natural Municipal Barão de Mauá: 20 anos após o acidente. **Trabalho de Monografia**. Centro Universitário São José, 2020.

ALPHALO, P. J. Learn R...as you learnt your mother tongue. **Leanpub**, Helsinki, 2016.

BALKE, T.; WEBB, E. L.; ELZEN, E. V. D.; et al. Eva van den Elzen. Seedling establishment in a dynamic sedimentary environment: a conceptual framework using mangroves. **Journal of Applied Ecology**, 50, 740–747, 2013.

BERNINI, E.; REZENDE, C. E. Vegetation structure in a mangrove forest in Southeastern Brazil. **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**. 6(3): 193-209, 2011.

BASKIN, C.C.; BASKIN J.M. Germination ecology of plants with specialized life cycles and/or habitats. In: Seeds, ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. **Academic Press**, San Diego, p.459-534, 1998.

DINIZ, C.; CORTINHAS, L.; NERINO, G.; et al. Brazilian Mangrove Status: Three Decades of Satellite Data Analysis. **Remote sensing**, 11, 808, 2019.

COELHO-JR, C. Manguezal, desenvolvimento estrutural da cobertura vegetal ao longo de gradientes de inundação – Cananéia, Estado de São Paulo, Brasil. **Dissertação de Mestrado**. IOUSP, 108, 1998.

CUNHA- LIGNON.M.; ALMEIDA, R. E COELHO-JR, C. Tipos fisiográficos de bosques de mangue de Cananéia, São Paulo, Brasil. **Anais VII COLACMAR- Congresso Latino Americano sobre Ciência Del Mar**. Universidad Nacional de Trujillo, Peru. 614-615p. 1999.

CLIMATOLOGIA E HISTÓRICO DE PREVISÃO DO TEMPO EM MAGÉ, BR - **Climatempo**, 2023. Disponível em: <https://www.climatempo.com.br/climatologia/306/mage-br>, acessado em: 22 de Janeiro de 2023.

DASGUPTA, N.; NANDY, P.; SENGUPTA, C.; DAS, S. RAPD and ISSR marker mediated genetic polymorphism of two mangroves *Bruguiera gymnorrhiza* and *Heritiera fomes* from Indian Sundarbans in relation to their sustainability. *Physiol. Mol. Biol. Plants*, 21, 375–384, 2015.

DINNO, A. **dunn. test: Dunn's test of multiple comparisons using rank sums**. R package version, 2017

DONATO, D. C.; KAUFFMAN, J. B.; MURDIYARSO, D; et al. Mangroves among the most carbon-rich forests in the tropics. *Nature Geoscience*, 4, p. 293-297, 2011.

ECODEBATE – **EcoDebate**, 2018. Disponível em: <https://www.ecodebate.com.br/2018/01/24/18-anos-do-desastre-na-baia-de-guanabara-mutirao-e-parque-ecologico>, acessado em: 25 de Agosto de 2020.

ELLSTRAND, N. C. Is gene flow the most important evolutionary force in plants?. *American Journal of Botany*, 101(5), p. 737–753, 2014.

FRANKHAM, R. Where are we in conservation genetics and where do we need to go? *Conservation Genetics*, 11, 661–663, 2010.

FRIESS, A.*; YANDO, S.; ABUCHAHLA, M.O.; et al. Mangroves give cause for conservation optimism, for now. *Current Biology*, 30, p. 135-158, 2020.

FRUEHAUF, S.P. *Rhizophora mangle* (mangue vermelho) em áreas contaminadas de manguezal na Baixada Santista. **Tese de Doutorado**. Universidade de São Paulo. 232p, 2005.

GRANADO, R.; NETO, L. C. P.; LIRA, C. F.; et al. Assessing Genetic Diversity after Mangrove Restoration in Brazil: Why Is It So Important?. *Diversity*.1 - 14, 2018.

GRATIVOL, C.; LIRA-MEDEIROS, C.F.; HEMERLY, A.S.; FERREIRA, P.C.G. High efficiency and reliability of inter-simple sequence repeats (ISSR) markers for evaluation of genetic diversity in Brazilian cultivated *Jatropha curcas* L. accessions. *Mol. Biol. Rep.*, 38, 4245–4256, 2011.

- GE, X. J.; YU, Y.; YUAN, Y.-M.; HUANG, H. W.; YAN, C. Genetic diversity and geographic differentiation in endangered ammodendron (Leguminosae) populations in desert regions of Northwest China as revealed by ISSR analysis. **Ann. Bot.**, 95, 843–851, 2005.
- GE, X.J.; SUN, M. Reproductive biology and genetic diversity of a cryptoviviparous mangrove *Aegiceras corniculatum* (Myrsinaceae) using allozyme and intersimple sequence repeat (ISSR) analysis. **Mol. Ecol.**, 8, 2061–2069, 1999.
- GIRI, C.; OCHIENG, E.; TIESZEN, L. L.; et al. Status and distribution of mangrove forests of the world using Earth observation satellite data. **Global Ecol. Biogeography**, p. 1-6, 2010.
- KILCA, R.V.; COSTA, M.P.; ZANINI, R.R.; et al. Estrutura de manguezais em diferentes estágios sucessionais do estuário do rio Piauí, Sergipe-Brasil. **Pesquisas, Botânica**. 61: 171-189, 2010.
- LIMA, K. O. O. Dinâmica populacional de plântulas de *Rhizophora mangle* L. no sudeste do Brasil. **Tese de Doutorado**. Universidade Federal do Espírito Santo. 130pgs, 2018.
- LIRA-MEDEIROS, C.F.; CARDOSO, M.; FERNANDES, R.; FERREIRA, P. Analysis of genetic diversity of two mangrove species with morphological alterations in a natural environment. **Diversity**, 7, 105–117, 2015.
- LEWIS III, R; BROWN, M; FLYNN L. Methods and Criteria for Successful Mangrove Forest Rehabilitation. **Science Direct**, p. 863-887, 2019.
- MARTINS, P. T. A.; COUTO, E. C. G.; DELABIE, J. H. C. Fitossociologia e Estrutura Vegetal do Manguezal do Rio Cururupe, Ilhéus, Bahia, Brasil. **Revista de Gestão Costeira Integrada**. 7, 2011.
- MORO, M.F.; MARTINS, F.R. Métodos de levantamento do componente arbóreo-arbustivo. Pp.174-212. In Fitossociologia no Brasil - Métodos e estudos de caso, Vol. I (FELFILI, J.M., EISENLOHR, P.V., MELO, M.M.R.F., ANDRADE, L.A. & NETO, J.A.A.M., Editores). **Editora UFV**, Viçosa, MG. 556p, 2011.

OLIVEIRA, V.F. Influência do estresse hídrico e salino na germinação de propágulos de *Avicennia schaueriana* Stapf e Leechman ex Moldenke e *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn. f. **Dissertação de mestrado**. 92pgs, 2005.

PEAKALL, R.; SMOUSE P.E. GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*, 28, 2537-2539, 2012.

PETRI, D. J. C.; BERNINI, E.; SOUZA, L. M. D; REZENDE, C. E. Distribuição das espécies e estrutura do manguezal do rio Benevente, Anchieta, ES. **Biota Neotrop.**, vol. 11, no. 3, 2011.

PRIMACK, R. B.; RODRIGUES, E., Biologia da Conservação. **Londrina**. 328p, 2001.

PRITCHARD; STEPHENS; DONNELLY (2000). Structure v.2.3.4. Extensions to the method were published by Falush, Stephens and Pritchard (2003), and (2007) and Hubisz, Falush, Stephens and Pritchard (2009).

POLIDORO, B.; et al. The Loss of Species: Mangrove Extinction Risk and Geographic Areas of Global Concern. **Plos one**, 5, p. 1-10, 2010.

PROJETO MANGUE VIVO – **Instituto OndAzul.org, 2020**. Disponível em: <https://www.ondazul.org/nossos-projetos>, acessado em: 30 de Agosto de 2020.

HARTL, D.L.; CLARK, A.G. Principles of Population Genetics. **Sinauer Associates: Sunderland**, USA, 1997.

HOLSINGER, K. E. **Hickory: a package for analysis of population genetic data**. v1. 1. 2003.

HUANG, J.C.; SUN, M. Genetic diversity and relationships of sweetpotato and its wild relatives in *Ipomoea* series Batatas (Convolvulaceae) as revealed by inter-simple sequence repeat (ISSR) and restriction analysis of chloroplast DNA. **Theor. Appl. Genet.**, 100, 1050–1060, 2000.

RINKER, T. W.; KURKIEWICZ, D. **Pacman: Package Management for R**. version 0.5. 2018.

RSTUDIO TEAM. **RStudio: Integrated Development Environment for R**. RStudio, PBC, Boston, MA, 2022.

RITTER, M. N.; THEY, N. H. **Introdução ao software estatístico R**. Imbé, Rio Grande do Sul. 85 p, 2019.

SALAS-LEIVA, D. E.; MAYOR-DURÁN, V. M.; TORO-PEREA, N. Genetic diversity of black mangrove (*Avicennia germinans*) in natural and reforested areas of Salamanca Island Parkway, Colombian Caribbean. **Hydrobiologia** 620, 17–24, 2009.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y.; CINTRON-MOLERO, G. **Guia para estudo de áreas de manguezal ; estrutura, função e flora**. São Paulo: Caribbean Ecological Research. Acesso em: 05 dez. 2022. , 1986.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y.; CINTRON-MOLERO, G. Manguezais brasileiros: uma síntese sobre aspectos históricos (séculos XVI a XIX), zonação, estrutura e impactos ambientais. **Anais do Simpósio de Ecossistemas da Costa Brasileira. Subsídios a um gerenciamento ambiental**. São Paulo, ACIESP, v. I, Pp. 333-341, 1994.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y.; et al. Brazilian Mangroves. **Aquatic Ecosystem Health and Management**, 3, p. 561-570, 2000.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y. A diversidade do ecossistema manguezal. Brasília, **ICMBio**, 1 aed., p. 23- 36, 2018.

SEBBENN, A. M. Número de árvores matrizes e conceitos genéticos na coleta de sementes para reflorestamentos com espécies nativas. **Rev. Inst. Flor**. São Paulo, v. 14, n. 2, p. 115-132, 2001.

SILVA, M. A. B.; BERNINI, E.; CARMO, T. M. S. Características estruturais de bosques de mangue do estuário do rio São Mateus, ES, Brasil. **Acta bot. bras.** 19(3): 465-471, 2005.

SOARES, M.L.G.; CHAVES, F.O.; CORRÊA, F.M.; et al. Diversidade Estrutural de Bosques de Mangue e sua Relação com Distúrbios de Origem Antrópica: o caso da Baía de Guanabara (Rio de Janeiro). **101 Anuário do Instituto de Geociências – UFRJ**, 26, p. 101-116, 2003.

SOARES-GOMES, A.; DA GAMA, B. A. P.; BAPTISTA, J. A. B; et al. An environmental overview of Guanabara Bay, Rio de Janeiro. **Regional Studies in Marine Science**, 2016.

SOUZA, M. M. A. & SAMPAIO, E. V. S. B. Variação temporal da estrutura dos bosques de mangue de Suape-PE após a construção do porto. *Acta Botanica Brasilica*, 15(1): 1-12, 2001.

SUYAMA, Y. & MATSUKI, Y. MIG-seq: an effective PCR-based method for genome-wide single-nucleotide polymorphism genotyping using the next-generation sequencing platform. **Scientific reports**, p. 1-12, 2015.

TOMLINSON, P. B. "The Botany of Mangroves". Cambridge University Press, Cambridge, UK. 413 pp, 1986.

WICKHAM, H; FRANÇOIS, R; HENRY, L. **dplyr: A Grammar of Data Manipulation**, 2022.

WICKHAM, H. **ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis**. Springer-Verlag New York. ISBN 978-3-319-24277-4, 2016.

YEH, F.; YANG, R.; BOYLE, T. **Popgene: Designed specifically for the analysis of co-dominant and dominant markers using haploid and diploid data**. v1.32, 2000.