

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**Filogeografia comparativa e história demográfica de
dois marsupiais da Mata Atlântica**

Letícia Sartorato Zanchetta

Vitória, ES
Abril, 2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Filogeografia comparativa e história demográfica de
dois marsupiais da Mata Atlântica**

Letícia Sartorato Zanchetta

Orientador: Yuri Luiz Reis Leite

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Biologia Animal) da Universidade Federal do Espírito Santo com requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Biologia Animal

Vitória, ES
Abril, 2014

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

Zanchetta, Letícia Sartorato, 1988-
Z27f Filogeografia comparativa e história demográfica de dois
marsupiais da Mata Atlântica / Letícia Sartorato Zanchetta. –
2014.
52 f. : il.

Orientador: Yuri Luiz Reis Leite.
Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) – Universidade
Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e
Naturais.

1. Biogeografia. 2. DNA mitocondrial. 3. Mamífero. 4.
Gracilinanus microtarsus. 5. Marmosops incanus. I. Leite, Yuri
Luiz Reis. II. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de
Ciências Humanas e Naturais. III. Título.

CDU: 57



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
MESTRADO E DOUTORADO EM BIOLOGIA ANIMAL

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "Filogeografia comparativa e história demográfica de dois marsupiais da Mata Atlântica"

AUTORA: **LETÍCIA SARTORATO ZANCHETTA**

ORIENTADORA: Prof. Dr. YURI LUIZ REIS LEITE

Aprovada como parte das exigências para obtenção do título de MESTRA EM BIOLOGIA ANIMAL, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL, pela comissão examinadora:

Dr. YURI LUIZ REIS LEITE
Orientador

Dra. LEONORA PIRES COSTA
Membro Interno

Dr. HENRIQUE BATALHA FILHO
Membro Externo

DATA DA REALIZAÇÃO: Vitória, 30 de abril de 2014.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Espírito Santo (FAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro para a realização deste trabalho. À C.R. Bonvicino (INCA), L.P. Costa (UFES), M. Passamani (UFLA), R.C. Dall'Orto (UFES), R. Pardini, (USP) e V. Fagundes (UFES) por cederem importantes amostras de tecido ou sequências de DNA. À J. Agrizzi, J. Dalapicolla e J.F. Justino pelo auxílio na obtenção e análises dos dados moleculares e por contribuírem com discussões importantes para o desenvolvimento do estudo. Aos colegas do Laboratório de Mastozoologia e Biogeografia (LaMaB) da UFES e aos meus amigos e familiares pelo suporte emocional e compreensão durante os anos de execução da pesquisa. À Y.L.R. Leite pelos anos de orientação e ensinamentos que contribuíram imensamente para minha formação acadêmica.

SUMÁRIO

Resumo	7
Abstract.....	8
1. Introdução.....	9
2. Materiais e Métodos	
2.1. Espécimes	11
2.2. Sequenciamento de DNA	11
2.3. Alinhamento de sequências e inferências filogeográficas	12
2.4. Estrutura populacional e história demográfica	12
2.5. Relógio molecular e biogeografia.....	13
3. Resultados	
3.1. <i>Gracilinanus microtarsus</i>	14
3.2. <i>Marmosops incanus</i>	16
4. Discussão.....	18
5. Conclusão	22
Referências	23
Figuras	29
Tabelas.....	41
Anexos.....	43

Filogeografia comparativa e história demográfica de dois marsupiais da Mata Atlântica

Resumo: A Mata Atlântica é um *hotsopot* de biodiversidade e tem sido foco de diversos trabalhos por ser considerada uma unidade biogeográfica complexa ainda pouco compreendida. Estudos de filogeografia comparativa vêm desempenhando importante papel no conhecimento biodiversidade, pois através da comparação entre diferentes táxons é possível investigar ligações fundamentais entre processos populacionais e padrões regionais de diversidade e biogeografia. Diante disso, foram inferidas e comparadas as histórias demográficas e biogeográficas de duas espécies de marsupiais da Mata Atlântica, *Gracilinanus microtarsus* e *Marmosops incanus*, a fim de descobrir como essas espécies responderam às mudanças ambientais ao longo do tempo. Sequências dos genes mitocondriais citocromo b e D-loop foram utilizadas para a reconstrução de filogenias, redes de haplótipos e análises genéticas populacionais. Os resultados mostraram alta divergência genética em ambas as espécies, assim como forte estruturação geográfica, com a formação de grupos geograficamente coesos e similares entre as espécies. A distinção de haplótipos ao sul da Mata Atlântica também foi observada nas filogenias e é condizente com barreiras geográficas, como a Serra do Mar e o Rio Paraíba do Sul, por exemplo. Os clados intraespecíficos mais antigos tiveram origem no Neógeno, condizente com um período de mudanças climáticas e intensas atividades tectônicas, indicando que a estrutura genética das populações das duas espécies é resultado de processos que ocorreram muito antes do Pleistoceno. As flutuações no tamanho efetivo das populações de *G. microtarsus* e *M. incanus* foram similares, principalmente a partir último glacial há 21 mil anos atrás. Logo, os dados mostram que as alterações no ambiente ao longo do tempo geraram estruturas filogeográficas e demográficas similares nas duas espécies de marsupiais, resultantes de uma história biogeográfica comum na Mata Atlântica nos últimos 7 milhões de anos, enquanto as alterações ambientais mais recentes foram incapazes de afetar a demografia das espécies, contrariando as expectativas baseadas nas respostas ecológicas de *G. microtarsus* e *M. incanus* à redução e fragmentação do habitat.

Palavras-chave: biogeografia, *Gracilinanus microtarsus*, DNA mitocondrial, mamíferos, *Marmosops incanus*.

Comparative phylogeography and demographic history of two Atlantic Forest marsupials

Summary: The Atlantic Forest is a biodiversity hotspot and has been the focus of many research projects because it is a complex yet poorly understood biogeographical unit. Comparative phylogeographic studies have been playing an important role on biodiversity knowledge, since the comparisons among different taxa allow the investigation of fundamental links between population processes and regional patterns of diversity and biogeography. Therefore, here I inferred and compared the demographic and biogeographic histories of two Atlantic Forest marsupial species, *Gracilinanus microtarsus* and *Marmosops incanus*, to find out how they responded to environmental changes over the time. Sequences of the mitochondrial cytochrome b and D-loop genes were used for phylogenetic reconstruction, haplotype network and population genetic analyses. The results showed high genetic divergence in both species, as well strong geographic structure, with similar geographically cohesive groups in both species. The distinctiveness of haplotypes from the southern Atlantic Forest was also observed in the phylogenies, and is consistent with geographic barriers such as Serra do Mar and Rio Paraíba do Sul, for example. The oldest intraspecific clades originated in the Neogene, which is consistent with a period of climatic changes and intense tectonic events, indicating that the population genetic structure of both species is the result of processes that occurred long before the Pleistocene. The effective population size fluctuations of *G. microtarsus* and *M. incanus* were similar, mostly from the last glacial maximum 21,000 years ago. Thus, the data indicate that changes in the environment over time generated similar phylogeographic and demographic structures in these two marsupials species, resulting from a common biogeographic history in the Atlantic Forest in the last 7 million years, while recent environmental changes were unable to affect the demography of the species, contrary to expectations based on ecological responses from *G. microtarsus* e *M. incanus* to the habitat reduction and fragmentation.

Keywords: biogeography, *Gracilinanus microtarsus*, mitochondrial DNA, mammals, *Marmosops incanus*.

1. Introdução

Nos últimos anos, estudos filogeográficos com base em dados moleculares têm crescido em diversos grupos taxonômicos (Avice, 2009; Ribeiro *et al.*, 2011; Fouquet *et al.*, 2012). Com o desenvolvimento de novas técnicas de análises de dados, esses estudos vêm desempenhando importante papel no conhecimento da biodiversidade, uma vez que permitem investigar ligações fundamentais entre processos populacionais e padrões regionais de diversidade e biogeografia (Bermingham e Moritz, 1998). A filogeografia comparativa é ainda mais poderosa, pois padrões filogeográficos compartilhados por espécies não correlacionadas podem ser interpretados como resultado de um evento passado comum, revelando a história biogeográfica de um ambiente ou bioma (Costa, 2003; Bell *et al.*, 2011; Batalha-Filho *et al.*, 2013). Além disso, é possível testar hipóteses no âmbito das estruturas de probabilidade e estimar parâmetros biogeográficos e populacionais importantes, como o tempo de separação de populações, eventos de especiação e estimativa de mudanças no tamanho efetivo da população ao longo do tempo (Arbogast e Kenagi, 2001).

A Mata Atlântica tem sido foco de diversos trabalhos filogeográficos, não somente pela sua grande diversidade biológica e por ser um ecossistema prioritário para conservação, mas também por ser uma unidade biogeográfica complexa (Costa *et al.*, 2003; Batalha-Filho e Miyaki, 2011; Martins, 2011). A partir do estudo de táxons endêmicos deste bioma, foi possível perceber que a grande diversidade da Mata Atlântica não teria sido moldada por um único evento (Lara *et al.*, 1996; Mustrangi e Patton, 1997; Zamudio e Greene, 1997; Geise *et al.*, 2001; Costa, 2003; Leite, 2003). Trabalhos mais recentes (e.g., Pellegrino *et al.*, 2005; Grazziotin, *et al.*, 2006; Cabanne *et al.*, 2008; Fitzpartick *et al.*, 2009; Carnaval *et al.*, 2009; Thomé *et al.*, 2010; Resende *et al.*, 2011; Batalha-Filho *et al.*, 2012) revelaram novas hipóteses para explicar a relação de parentesco entre as populações, sua estrutura geográfica e como os táxons respondem temporal e espacialmente às mudanças ambientais. Além disso, uma das ideias mais utilizadas nas últimas décadas para explicar os padrões de diversidade neotropical é a teoria dos refúgios pleistocênicos (Haffer, 1969; Prance, 1982), recentemente revitalizada para a Mata Atlântica pela modelagem ecológica de nicho (Carnaval e Moritz, 2008), que prevê áreas de estabilidade ambiental que teriam servido como refúgios no último período glacial. Entretanto, devido à complexidade geomorfológica dessa região, além do efeito das variações climáticas do Quaternário e

de eventos neotectônicos, a Mata Atlântica apresenta padrões biogeográficos ainda pouco compreendidos, apesar do volume de dados produzidos (Carnaval e Moritz, 2008; Martins, 2011; Batalha-Filho e Miyaki, 2011).

A filogeografia de mamíferos tem sido muito utilizada na investigação da história evolutiva, indicando prováveis sítios de refúgios, rotas de migração e evidências de outros eventos biogeográficos responsáveis pelos atuais padrões de diversidade e distribuição de táxons na região Neotropical (Costa, 2003; Leite, 2003; Lara *et al.*, 2005; Valdez e D'Elía, 2013). No presente estudo, foram enfocadas duas espécies de marsupiais didelfídeos endêmicos da Mata Atlântica, *Gracilinanus microtarsus* e *Marmosops incanus*. Estas duas espécies ocorrem em ampla simpatria ao longo de suas distribuições (Figura 1) e são caracterizadas como especialistas de florestas, possuindo requerimentos ecológicos semelhantes, apesar da diferença no tamanho corporal (Stallings, 1989; Pardini *et al.*, 2010). Pequenos mamíferos não-voadores, especialistas de floresta como esses, são mais vulneráveis à redução e fragmentação do habitat, enquanto espécies generalistas seriam favorecidas com o surgimento de ambientes desflorestados (Pardini *et al.* 2010). Apesar de ambos dependerem de cobertura florestal, *G. microtarsus* consegue habitar ambientes mais abertos e fragmentados do que *M. incanus* (Pardini *et al.*, 2010). Logo, considerando essas diferentes características ecológicas e as flutuações climáticas e consequentes retrações e expansões florestais que teriam ocorrido na Mata Atlântica durante o Quaternário (Carnaval e Moritz, 2008; Carnaval *et al.*, 2009; D'Horta *et al.*, 2011; Werneck *et al.*, 2011), espera-se que essas duas espécies tenham respondido de forma diferente aos eventos históricos, resultando em estruturas filogeográficas e assinaturas demográficas distintas hoje em dia.

Diante disso, a partir do uso de dados moleculares de dois marcadores mitocondriais, o citocromo b (citb) e a região controle do DNA (D-loop), este trabalho teve como objetivos: (a) inferir e comparar as estruturas filogeográfica e demográfica de *G. microtarsus* e *M. incanus*, a fim de saber se as espécies responderam às mudanças ambientais de forma diferente ao longo do tempo; (b) inferir a história biogeográfica das áreas ocupadas pelas duas espécies a partir de padrões comuns de fragmentação e diversificação que podem ter moldado a biodiversidade na Mata Atlântica.

2. Material e Métodos

2.1. Espécimes

O material para análise foi retirado de amostras de tecidos (músculo e fígado), conservados em etanol, fornecidos pela Coleção de Tecidos Animais da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES-CTA, Vitória, ES), Museu de Biologia Professor Mello Leitão (MBML, Santa Teresa, ES), C.R. Bonvicino (Instituto Nacional de Câncer – INCA, Rio de Janeiro, RJ), M. Passamani (Universidade Federal de Lavras – UFLA, Lavras, MG), R. Pardini, (Universidade de São Paulo – USP, São Paulo, SP) e V. Fagundes (UFES, Vitória, ES). Além disso, sequências obtidas no GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) e cedidas por R.C. Dall’Orto (UFES, Vitória, ES) também foram utilizadas. No total, foram analisados 70 indivíduos de *G. agilis* e 59 de *M. incanus* distribuídos entre os estados da Bahia (BA), Espírito Santo (ES), Rio de Janeiro (RJ), São Paulo (SP) e Minas Gerais (MG), contemplando grande parte da extensão de ocorrência das espécies (Figuras 2–4 e Anexo 1). Como grupos externos, foram escolhidas as espécies de marsupiais da família Didelphidae: *Caluromys lanatus*, *Didelphis aurita*, *Gracilinanus agilis*, *Marmosa murina*, *Marmosops paulensis* e *Metachirus nudicaudatus*.

2.2. Sequenciamento de DNA

As amostras de tecido foram submetidas ao protocolo de extração de DNA total com sal (SDS/NaCl/Proteinase K) de Bruford *et al.* (1992) e seus produtos utilizados para clonagem *in vitro* pela reação em cadeia da polimerase (PCR). Foram amplificados 801 pares de base (pb) do gene mitocondrial *citb* e 329 pb da região D-loop.

Para cada reação de PCR com volume final de 12,5 µL foram adicionados 1,25 µL de tampão 10x, 0,5 µL de MgCl₂ (50 mM), 0,25 µL de solução de dNTP (10 mM por nucleotídeo), 0,15 µL de cada primer (10 mM), 0,15 µL de Taq Platinum (Invitrogen Corporation) e 1 µL de DNA (20 ng/µL). Para a amplificação do *citb* foram utilizados os *primers* MVZ05 e MVZ16 (Smith e Patton, 1993) e para o D-loop o par de *primers* L0 e E3 (Huchon *et al.*, 1999) (Anexo 2). Os perfis de PCR começavam com uma desnaturação inicial de 94 °C por 2-5 minutos, seguida por 35-39 ciclos de 94 °C por 30 segundos, temperatura de anelamento por 30-90 segundos (Anexo 2) e 72 °C por 1–3 minutos para *citb* e 68 °C por 1 minuto para D-loop, finalizando com uma extensão de 72 °C por 10 minutos.

Após a amplificação, os produtos gerados foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a fim de se estimar o tamanho do fragmento amplificado e em seguida foram purificados com a enzima ExoSAP (GE Healthcare Life Sciences), visando eliminar potenciais inibidores do sequenciamento. As amostras foram sequenciadas utilizando o kit Big Dye v3.1 (Applied Biosystems, Life Technologies) e as sequências obtidas no sequenciador automático ABI Prism 3500 (Applied Biosystems, Life Technologies).

2.3. Alinhamento de sequências e inferências filogeográficas

As sequências foram alinhadas no ClustalW de Larkin *et al.* (2007) implementado no programa MEGA 5 (Tamura *et al.*, 2011) e conferidas manualmente, sendo posteriormente utilizadas para obtenção dos valores de divergência intra e interespecíficos, de acordo com a proporção de sítios que diferem entre duas sequências (distância p).

A análise de máxima verossimilhança (MV) foi realizada na plataforma online PhyML 3.0 (Guindon e Gascuel, 2003). O suporte estatístico foi estimado através do *bootstrap* com 100 replicações, sendo considerados robustos os agrupamentos que tiveram resultados maiores que 80%. A inferência bayesiana (IB) foi feita no programa MrBayes 3.2 (Ronquist *et al.*, 2012), com três cadeias quentes e uma fria, rodando por 10^6 gerações, sendo amostrada uma árvore a cada 100 gerações, totalizando 10^4 árvores. Para gerar o consenso final, foram descartadas as primeiras 2.500 árvores. Somente grupos com probabilidade posterior bayesiana (BPP) maior do que 95% foram considerados significativos. O melhor modelo de substituição de nucleotídeos para as análises foi selecionado no programa jModelTest 0.1.1 (Posada, 2008) com utilização do Critério de Informação de Akaike e as redes de haplótipos foram construídas no programa Network 4.6 (Bandelt *et al.*, 1999) pelo método de *median-joining*.

2.4. Estrutura populacional e história demográfica

Para as análises populacionais e demográficas, os grupos foram delimitados de acordo com os clados formados nas análises filogenéticas e que continham ao menos três espécimes. O número de haplótipos, os índices de diversidade genética (haplotípica e nucleotídica), os testes de neutralidade e expansão populacional D de Tajima (Tajima, 1989) e F_s de Fu (Fu, 1997), o indicador de fluxo gênico F_{ST} e a distribuição *mismatch*

foram realizados no programa Arlequin 3.0 de Excoffier e Schneider (2005), sendo os valores com $p < 0,05$ considerados significativos.

Para testar a influência da distância geográfica na estruturação das populações foi realizado o teste de Mantel (Sokal e Rohlf, 1995) no programa PAST (Hammer *et al.*, 2001), a fim de se comparar a matriz de distância genética (distância p) com a de distância geográfica.

O *Bayesian Skyline Plot* (BSP), implementado no programa BEAST 1.7.5 (Drummond e Rambaut, 2007), foi utilizado para estimar a dinâmica da flutuação do tamanho efetivo populacional ao longo do tempo, apenas para o banco de dados do citb. A fim de minimizar perdas do sinal demográfico, a BSP foi gerada para clados com no mínimo 18 táxons terminais. Para cada um deles, foram utilizados o modelo evolutivo sugerido pelo jModelTest 0.1.1 (Posada, 2008) e calculado a taxa de mutação no BEAST 1.7.5 (Drummond e Rambaut, 2007) (Anexos 3 e 4). O relógio relaxado lognormal não-correlacionado foi empregado em todas as análises, enquanto o número total de gerações (Anexos 3 e 4) foi obtido a partir da combinação de múltiplas corridas até atingir os parâmetros ideais que, por sua vez, foram visualizadas no programa Tracer v1.5 (Rambaut e Drummond, 2009) e, assim, construídas os gráficos.

2.5. Relógio molecular e biogeografia

A datação molecular foi realizada apenas com a matriz de dados do citb no programa BEAST 1.7.5 (Drummond e Rambaut, 2007). Dois pontos de calibração baseados em registros fósseis foram utilizados: 1) o tempo de separação entre Didelphidae e Caluromyidae: entre 12,2 e 55,8 milhões de anos (Ma) (Marshall, 1976); 2) o tempo de separação entre Didelphinae e Marmosini: entre 6,8 e 55,8 Ma (Kirsch e Palma, 1995).

Os tempos de divergência foram estimados aplicando-se o relógio relaxado lognormal não-correlacionado e para árvore foi utilizando o processo Yule de especiação. A distribuição *gamma* foi utilizada como *prior* para ambas as calibrações, com *offset* de 12,2 para o primeiro ponto (Didelphidae/ Caluromyidae) e 6,8 para o segundo (Didelphinae/ Marmosini). O modelo de evolução utilizado foi *General Time Reversible* com sítios variáveis seguindo uma proporção de sítios invariáveis e uma distribuição gama (GTR+I+G). As análises foram rodadas por 150×10^6 gerações e amostradas a cada 15×10^3 para *G. microtarsus*, e por 170×10^6 gerações e amostradas a cada 17×10^3 para *M. incanus*. A qualidade dos parâmetros obtidos e o consenso das

árvores geradas, descartando os primeiros 10%, foram realizados, respectivamente, nos programas Tracer v1.5 (Rambaut e Drummond, 2009) e TreeAnnotator, que pertence ao pacote BEAST 1.7.5 (Drummond e Rambaut, 2007).

As áreas ancestrais de ocorrência de *G. microtarsus* e *M. incanus* foram estimadas através do programa RASP 2.1 (Yu *et al.*, 2011), que aplica métodos bayesianos para a reconstrução de caracteres ancestrais (BBM). Com base na distribuição de áreas endêmicas da Mata Atlântica proposta por Costa *et al.* (2000), foram estipuladas cinco áreas de distribuição geográfica: Costa do Sudeste (Costa SE), Paulista, Bahia (BA), Centro-Sul da Mata Atlântica (Centro-Sul MA) e Minas Gerais (MG) (Figura 5a). Cinco áreas de ocorrência foram mantidas como máximo para cada táxon terminal. Cladogramas finais de IB somente dos haplótipos de *citb* de cada espécie foram utilizados na análise e o modelo F81 (Felsenstein, 1981) foi usado como modelo de evolução do alcance geográfico. Dez cadeias com 50×10^3 gerações foram executadas com uma frequência de amostragem a cada 100 árvores e descartando-se 100 árvores.

3. Resultados

3.1. *Gracilinanus microtarsus*

A partir de 70 espécimes de *G. microtarsus* sequenciados, foram identificados 38 haplótipos do gene *citb* com 103 sítios polimórficos (638 pb) e encontradas divergências genéticas média de 4,4% e máxima de 7,7%. Para o D-loop, as sequências de *G. microtarsus* apresentaram características de pseudogenes (cópias não funcionais do gene) e por isso não foram utilizadas nas análises. Os pseudogenes são capazes de interferir na amplificação, sequenciamento e análise dos dados, uma vez que as sequências apresentam regiões de ambiguidades, gerando incertezas sobre o ordenamento das bases nitrogenadas do DNA. Um grande esforço foi feito na tentativa de solucionar o problema, incluindo o desenho de *primers*, mas os resultados encontrados não foram satisfatórios.

O modelo evolutivo encontrado para o grupo de dados foi GTR+I+G e os cladogramas de MV e IB para o gene *citb* resultaram em topologias com pequenas diferenças, variando principalmente com relação ao suporte estatístico (Figura 2 e Anexo 5). Além disso, em ambas as filogenias formaram-se sete clados, nomeados:

Norte ES, Centro ES, Sul ES, Caraça, MG, RJ e Planalto Paulista. No entanto, para MV a amostra MN69846 (Ilha Grande) aparece como um oitavo clado, irmão de RJ e Planalto Paulista. A maior divergência genética (6,1%) foi encontrada entre os cladogramas Planalto Paulista + RJ/Ilha Grande e os demais. A rede de haplótipos dessa espécie resultou em uma estrutura similar à encontrada nos cladogramas (Figura 2).

Para as análises de estrutura populacional, dentre os cladogramas identificados nas filogenias, apenas Caraça não teve seus índices calculados, pois o número amostral do filogruppo não se adequou ao mínimo necessário para a realização dos testes.

A divergência genética está correlacionada com a distância geográfica ($R=0,7154$ e $p<0,05$) quando todos os espécimes são analisados em conjunto, indicando isolamento por distância. Ao agrupar os espécimes de acordo com cladogramas encontrados na filogenia, apenas MG e RJ resultaram em uma correlação positiva significativa (Tabela 1). Em relação à diversidade haplotípica e nucleotídica (Tabela 1), os maiores valores correspondem aos cladogramas RJ ($h=0,933$ e $\pi=0,012$) e Planalto Paulista ($h=0,909$ e $\pi=0,008$). Os testes de neutralidade e expansão populacional quando calculados tanto com base na totalidade dos haplótipos, quanto nos filogruppos formados, não foram significativos (Tabela 1). A distribuição *mismatach*, de modo geral, apresentou um comportamento multimodal para a espécie (Figura 6), indicando estabilidade populacional, porém não foi estatisticamente significativo ($p\geq 0,05$). Os valores de F_{ST} , por sua vez, foram elevados nas comparações entre os cladogramas, variando de 0,589 a 0,914 e indicando forte estruturação geográfica e pouco fluxo gênico (Tabela 2).

O tamanho efetivo das populações de *G. microtarsus* ao longo do tempo, foram calculados para quatro cladogramas, sendo: Norte ES + Centro ES + Caraça + Sul ES + MG (Figura 7A); Norte ES + Centro ES + Caraça + Sul ES (Figura 7B); MG (Figura 7C); e Planalto Paulista + RJ (Figura 7D). Foi necessária a combinação de filogruppos para a formação de cladogramas mais abrangente, a fim de se atingir o número amostral mínimo para a realização da análise. De modo geral, os gráficos apresentaram uma tendência similar entre eles, com início de flutuação no tamanho populacional a partir de 250 mil anos atrás, quando se iniciou um período de declínio, atingindo o seu máximo há 100 mil anos, seguido de um período de crescimento populacional nos últimos 50 mil anos.

Os tempos de divergência encontrados (Figura 8) apontam a separação entre as espécies *G. microtarsus* e *G. agilis* no Mioceno, há 7,83 Ma (*highest posterior density* [HPD]=5,72–10,26 Ma). O início da separação entre os agrupamentos foi estimado em

7,2 Ma (HPD=5,05–9,79), a partir separação do clado Planalto Paulista + RJ com os demais. No entanto, os outros grupos surgiram principalmente durante o Plioceno, enquanto as divergências mais recentes ocorreram há menos de 1,0 Ma (Pleistoceno).

O ancestral comum mais recente (ACMR) de *G. microtarsus* possui a maior probabilidade de distribuição na Costa SE (Figura 5B). Entretanto, o clado Planalto Paulista tem o ACMR distribuído na região Paulista, apesar de o AMCR entre os clados Planalto Paulista + RJ ter apresentado maior probabilidade de distribuição na Costa SE. Além disso, os haplótipos Hap4 e Hap8 (Anexo 6), da região Centro Sul MA, tiveram a distribuição do ACMR também a área Costa SE.

3.2. *Marmosops incanus*

As 59 amostras do gene *citb* sequenciadas para *M. incanus* resultaram em 35 haplótipos com 162 sítios polimórficos (747 pb) e em uma divergência genética média de 4,1% e máxima de 13,7%. Para o marcador D-loop, a partir dos 57 espécimes sequenciados, foram encontrados 20 haplótipos com 40 sítios polimórficos (329 pb) e divergências genéticas média e máxima de 2,8% e 6,2% , respectivamente.

O modelo evolutivo encontrado para *citb* foi o GTR+I+G, enquanto para o D-loop foi encontrado o modelo Hasegawa-Kishino-Yano com sítios invariáveis e distribuição *gamma* (HKY+I+G). Para os dois genes, os cladogramas de MV e IB geraram árvores com topologias e valores de suportes estatísticos diferentes (Figuras 3 e 4 e Anexos 7 e 8). Nas filogenias de *citb*, as árvores de IB apresentaram politomias, gerando incertezas quanto ao relacionamento dos clados, enquanto as árvores de MV apresentaram clados sem suporte estatístico. Além disso, se pode observar a formação de nove filogrupos, denominados: Norte ES, Centro ES 1, Centro ES 2, Sul ES, BA, Rio Doce, MG, Planalto Paulista e RJ, na qual a maior divergência genética encontrada foi entre os clados Planalto Paulista + RJ e os demais, no valor de 10,1%. Na árvore de MV para o D-loop, também foi observado a formação dos nove clados supracitados, sendo a maior divergência genética encontrada de 5,3% entre os grupos Planalto Paulista e os demais (exceto RJ). No entanto, na filogenia de IB de D-loop, não houve formação do grupo Rio Doce, resultando em um total de oito clados, com maior divergência genética 5,3% entre Planalto Paulista e Norte ES + Centro ES 1 + Centro ES 2 + Sul ES. As redes de haplótipos para ambos os marcadores moleculares resultaram em estruturas similares ao encontrado nos cladogramas (Figuras 3 e 4).

Dentro os nove clados identificados nas filogenias, apenas Rio Doce, para *citb* e RJ, para D-loop, não tiveram seus índices populacionais e demográficos calculados, pois o número amostral dos filogrupos não se adequou ao mínimo necessário para a realização dos testes.

Foi encontrada correlação positiva significativa entre a distância genética e geográfica apenas para o clado Norte ES, para ambos os genes (Tabelas 3 e 4). A mesma correlação positiva significativa foi encontrada para a espécie como um todo, tanto com base no *citb* ($R=0,6509$, $p<0,05$) quanto para D-loop ($R=0,1013$, $p<0,05$).

Os maiores valores de diversidade genética encontrados em *M. incanus* correspondem ao clado RJ ($h=1$ e $\pi=0,015$) para *citb* e aos clados Norte ES ($h=0,775$ e $\pi=0,004$) para D-loop (Tabelas 3 e 4). Os testes de neutralidade e expansão populacional não foram significativos para o gene *citb*, para totalidade dos haplótipos (Tabela 3). Somente os clados Centro ES 1, Centro ES 2, Sul ES e MG apresentaram índices negativos de D de Tajima e F_s de Fu significativos ($p<0,05$), indicando crescimento populacional. Já para o D-loop, os índices só foram significativos para o clado Norte ES, indicando expansão populacional (Tabela 4). Já o caráter multimodal encontrado nas distribuições *mismatach* (Figuras 9 e 10) indica estabilidade na estrutura da população, porém, nenhum dos resultados foram significativos ($p\geq 0,05$). Os valores de F_{ST} encontrados para os dois genes, por sua vez, indicam estruturação geográfica e pouco fluxo gênico, variando de 0,776 a 0,985 para *citb* e de 0,771 a 1 para D-loop (Tabelas 5 e 6).

A flutuação do tamanho populacional de *M. incanus*, por sua vez, foi calculada para quatro clados, sendo: Norte ES + Centro ES 1 + Centro ES 2 + Sul ES + Rio Doce + MG + BA (Figura 7E); Norte ES + Centro ES 1 + Centro ES 2 + Sul ES + Rio Doce + MG (Figura 7F); Centro ES1 + Centro ES 2 + Sul ES + Rio Doce (Figura 7G); e Norte ES + MG (Figura 7H). Foi necessária a combinação de filogrupos para a formação de clados mais abrangentes, a fim de se atingir o número amostral mínimo para a realização da análise. De modo geral, os gráficos apresentaram uma tendência similar entre eles, apresentando uma queda no tamanho populacional a partir de 100 mil anos atrás, atingindo seu máximo declínio há 50 mil anos, seguido de um período de crescimento que dura até o presente.

A filogenia resultante da datação molecular para *M. incanus* (Figura 11), indica o surgimento da espécie durante o Mioceno (8,97 Ma; HPD=6,8–11,40 Ma), assim como início da separação dos agrupamentos. Já os clados inclusos nos agrupamentos se

originaram no Plioceno e o a separação mais recente data o Pleistoceno (0,14 Ma; HPD=0–0,84 Ma).

A maior probabilidade de distribuição do ACMR de *M. incanus* está na Costa SE (Figura 5C). Porém, o ACMR dos haplótipos do clado Planalto Paulista tem uma distribuição na região Paulista, enquanto o dos haplótipos do clado BA tiveram origem ancestral na área denominada BA. Além disso, os haplótipos Hap1 e Hap2, apesar de pertencerem às regiões Centro Sul MA e MG, respectivamente, tiveram a distribuição do ACMR na área Costa SE.

4. Discussão

De forma geral, a distribuição geográfica dos clados e suas relações filogenéticas confirmam resultados anteriores baseados em amostras menores, tanto no caso de *M. incanus* (Musturangi e Patton, 1997), quanto de *G. microtarsus* (Lóss *et al.*, 2011). Com base em apenas 13 sequências de cit b de *G. microtarsus*, Lóss *et al.* (2011) encontraram três clados geograficamente estruturados: RJ/SP, MG e Sul, sendo que os dois primeiros foram recuperados no presente trabalho e correspondem aos grupos Planalto Paulista + RJ e Caraça + MG, respectivamente. Musturangi e Patton (1997), por sua vez, analisaram 47 sequências de cit b de *M. incanus* e encontraram sete filogrupos, sendo cinco deles recuperados no presente estudo e identificados como: BA, Norte ES, MG, RJ e Planalto Paulista. Chama atenção, também, o fato de os clados Caraça, para *G. microtarsus* e Rio Doce, para *M. incanus*, aparecerem como grupo irmão dos grupos do ES, ao invés de serem filogeneticamente mais próximos do clado de MG, já que seus espécimes pertencem à mesma região geográfica que os representantes do filogrupo MG. No entanto, o surgimento destes clados pode estar relacionado às características do ambiente que levaram ao isolamento entre as populações. A Serra do Caraça, por exemplo, é um trecho da cadeia montanhosa do Espinhaço, na qual se encontram sete cumes que podem atingir até 2073 metros. Dessa forma, a elevada altitude pode servir como uma barreira de fluxo gênico para espécimes de *G. microtarsus* que habitam a região. Já os representantes de *M. incanus* do clado Rio Doce são oriundos do Parque Estadual do Rio Doce que se localiza entre a Serra do Espinhaço e a face oeste da Serra da Mantiqueira, dificultando o fluxo de genes entre as populações de MG (Figura 12).

Os filogrupos das regiões central e norte da distribuição dos espécimes (BA, Norte ES, Centro ES, Sul ES e MG, Caraça e Rio Doce) demonstraram mais proximidade entre si do que com as amostras ao sul (RJ e Planalto Paulista), principalmente no caso de *M. incanus*. Este padrão também foi encontrado em outros vertebrados da Mata Atlântica, como anuros (Thomé *et al.*, 2010; Tonini *et al.*, 2013), aves (Willis, 1988) e alguns pequenos mamíferos não-voadores (Mustrangi e Patton, 1997; Costa *et al.*, 2000), sugerindo uma história biogeográfica comum na Mata Atlântica (Mustrangi e Patton, 1997). Em ambas as espécies analisadas no presente estudo existem filogrupos com abrangência e limites geográficos similares, condizentes com barreiras geográficas bastante discutidas na literatura (*e.g.*, Grazotin *et al.*, 2006; Carnaval e Moritz, 2008; Batalha-Filho *et al.*, 2013), como os rios Doce e Paraíba do Sul, as serras da Mantiqueira, do Mar, do Espinhaço e do Caparaó (Figura 12).

O modelo de Carnaval e Moritz (2008) de refúgios pleistocênicos prediz dois refúgios na Mata Atlântica, um ao norte do Rio São Francisco denominado Pernambuco, e outro entre os rios São Francisco e Doce denominado Bahia, enquanto a região ao sul da Mata Atlântica seria amplamente dominada por áreas de instabilidade climática (Carnaval e Moritz, 2008). As áreas de refúgio seriam caracterizadas por suportar populações com tamanhos constantes ao longo do tempo e alta diversidade haplotípica e nucleotídica, enquanto aquelas mais ao sul estariam sujeitas aos processos de contração e expansão demográfica (Carnaval e Moritz, 2008; Martins, 2011). Para *G. microtarsus*, apenas o clado MG apresentou indícios de crescimento populacional, concordando com o modelo de Carnaval e Moritz (2008). Já para *M. incanus*, os grupos que apresentaram indícios de expansão da população, para *ctb*, correspondem aos clados Centro ES 1, Centro ES 2, Sul ES e MG, que também estão de acordo com o modelo. No entanto, para D-loop, o único grupo que apresentou expansão populacional foi Norte ES, que deveria ter tamanho populacional constante em função da estabilidade climática ao norte do Rio Doce prevista por Carnaval e Moritz (2008). Além disso, para as duas espécies, as maiores diversidades genéticas encontradas correspondem aos agrupamentos ao sul do Rio Doce, indo de encontro ao modelo de Carnaval e Moritz (2008).

As quebras filogeográficas ao sul da Mata Atlântica observadas nas análises filogeográficas de *G. microtarsus* e *M. incanus* (Serra do Mar, Serra da Mantiqueira e Rio Paraíba do Sul) também foram frequentemente encontradas em trabalhos realizados com outros táxons (*e.g.*, Grazziotin *et al.*, 2006; Cabanne *et al.*, 2008; Thomé *et al.*,

2010; Tonini *et al.*, 2013; Valdez e D'Elía, 2013). Carnaval e Moritz (2008) argumentam que a discordância entre suas previsões e as de outros autores podem ser produto de um mau desempenho da modelagem da área devido a fatores como complexa topografia e por não terem incorporados diferenças no gradiente altitudinal, resultando na ausência de áreas florestadas estáveis ao sul da Mata Atlântica (Batalha-Filho e Miyaki, 2011; Martins, 2011).

Apesar de alguma congruência parcial com a teoria de refúgios, a estrutura filogenética encontrada para *G. microtarsus* e *M. incanus* não parece ser atribuída a um único evento ou processo. As áreas de estabilidade climática previstas por Carnaval e Moritz (2008) são do final do Quaternário (21.000 anos atrás) e não podem ser relacionadas aos eventos de divergência entre os clados de *G. microtarsus* e *M. incanus*, pois eles datam do Neógeno (Mioceno e Plioceno). No entanto, para Haffer (1969) as glaciações teriam se estendido de forma cíclica ao longo do Plioceno e Pleistoceno, gerando vários pulsos de contração e expansão, podendo ter iniciado a divergência de alguns clados. Além disso, atividades tectônicas, introgressão marinha e isolamento por montanhas também podem ser responsáveis pela diversificação nessas espécies. A Serra do Mar e a Serra da Mantiqueira, por exemplo, tiveram a maior parte dos eventos tectônicos que envolveram o seu soerguimento durante o Plioceno e o início do Quaternário (Almeida, 1976), coincidindo parcialmente com a estruturação dos clados nas espécies de *G. microtarsus* e *M. incanus*, há 3,41–7,45 Ma. As mudanças tectônicas e climáticas que aconteceram no sul e sudeste do Brasil durante o final do Neógeno fragmentaram a Mata Atlântica, induzindo à separação entre os clados e gerando as grandes divergências genéticas encontradas entre eles (Lara e Patton, 2000; Grazzotini *et al.*, 2006; Thomé *et al.*, 2010), assim como para as populações de duas espécies de anuros da Mata Atlântica, *Dendropsophus elegans* e *Chiasmocleis carvalhoi*, onde as primeiras separações ocorreram durante o Mioceno (6,56 e 5,72 Ma, respectivamente) (Tonini *et al.*, 2013). Os resultados indicam que o Rio Doce, por sua vez, também agiu como barreira durante o Plioceno, mas em momentos diferentes da história de cada espécie: há 5,30 Ma em *M. incanus* e 3,41 Ma em *G. microtarsus*. O modelo de Carnaval e Moritz (2008) pode explicar o surgimento dos clados mais recentes, uma vez que estes datam principalmente do Pleistoceno (2,25–0,7 Ma).

Sob um aspecto demográfico, as flutuações do tamanho efetivo das populações de *G. microtarsus* e *M. incanus* ao longo do tempo tiveram comportamentos similares, porém em momentos distintos. As populações de *G. microtarsus* atingiram o seu

máximo declínio há aproximadamente 100 mil anos, período em que o tamanho populacional de *M. incanus* começava a diminuir. O máximo declínio de *M. incanus* ocorreu há 50 mil anos, momento em que as populações de *G. microtarsus* já estavam se recuperando. Desde então, as duas espécies passaram por um período de expansão, atingindo o seu ápice há 25 mil anos. Essas alterações do tamanho efetivo populacional se passam durante o Pleistoceno, período caracterizado por grandes flutuações climáticas. Tais mudanças no ambiente podem explicar as flutuações populacionais das espécies, principalmente nos últimos 100 mil anos, pois coincidem com a época de oscilação entre os períodos interglacial (130 mil anos atrás), último glacial (21 mil anos atrás) e o clima atual (Werneck *et al.*, 2011). Diante disso, nota-se que por apenas um momento (há 50 mil anos) a população de *G. microtarsus* estava em crescimento durante o período de queda do tamanho efetivo de *M. incanus*, o que está de acordo com a expectativa a partir dos resultados ecológicos de Pardini *et al.* (2010), pois a redução da cobertura florestal favorece a primeira espécie e desfavoreceu a segunda. Entretanto, ao se observar a tendência geral dos gráficos e, principalmente, os últimos 25 mil anos, não é possível perceber diferenças entre as histórias demográficas das espécies, contrariando o esperado a partir dos cenários ecológicos propostos por Pardini *et al.* (2010). Além disso, de modo geral, os resultados das demais análises populacionais, como os testes de neutralidade e expansão população e de distribuição *mismacth*, não foram significativos, o que pode ser um resultado das diferentes abordagens das análises. Enquanto os testes de neutralidade são estimativas pontuais que englobam toda a história da população, o BSP estima as mudanças da população ao longo do tempo (Graziotin *et al.*, 2006).

Para se entender os padrões de diversidade das espécies, além da avaliação temporal, é preciso também levar em consideração os processos espaciais que moldaram a atual distribuição (Costa *et al.*, 2000). A reconstrução de padrões de diversificação deve englobar tanto os conhecimentos das áreas de endemismo, quanto a sua história (Cracraft, 1985). Partindo desta ideia, Costa *et al.* (2000) identificaram áreas de endemismo para mamíferos da América do Sul, com ênfase nos pequenos mamíferos da Mata Atlântica. As áreas de endemismo propostos por Costa *et al.* (2000) foram utilizadas para a reconstrução da áreas de ancestrais de *G. microtarsus* e *M. incanus*. Costa SE é a área ancestral nas duas espécies de marsupiais para grande parte dos clados formados. Este resultado, juntamente com altos valores de F_{ST} e divergências genéticas, indicam que no passado as espécies estavam distribuídas ao longo da costa

central da Mata Atlântica e que eventos vicariantes e de dispersão levaram as populações à estrutura que encontramos hoje. Os haplótipos com origem em Paulista ou BA, por exemplo, podem ser oriundos devido ao soerguimento da Serra do Mar e pelo isolamento geográfico de populações na Bahia, respectivamente, dificultando o fluxo gênico entre as regiões.

Os valores encontrados para teste de Mantel e F_{ST} reforçam a ideia de estruturação geográfica observada nas filogenias e redes de haplótipos que, por sua vez, podem ser associados ao comportamento de especialista de florestas das espécies e à menor capacidade de dispersão, causando o isolamento entre as populações (Jocque *et al.*, 2010). A categoria I de padrões filogeográficos definidos por Avise *et al.* (1987), em que as populações são altamente divergentes e fortemente estruturadas geograficamente, caracteriza os resultados encontrados neste trabalho e corrobora o encontrado na literatura (Mustrangi e Patton, 1997). A circunstância evolutiva mais provável para este padrão é de quebra ou limitação do fluxo gênico entre as populações devido à existência de uma barreira externa (*e.g.*, zoogeográfica) e/ou a extinção de genótipos intermediários (Avise *et al.*, 1987). O padrão encontrado fortalece a ideia da influência das barreiras geográficas em grande parte comuns na diversificação dos grupos de *G. microtarsus* e *M. incanus*.

5. Conclusão

Gracilinanus microtarsus e *M. incanus* apresentaram forte estruturação geográfica e concordância na divergência dos haplótipos ao sul das distribuições, que deve ser resultado de processos comuns no passado. Os dados indicam que tal processo ocorreu no Neógeno, portanto ele deve ter sido moldado principalmente por forças tectônicas, já que as flutuações climáticas mais drásticas ocorreram no Pleistoceno. Clados com congruência geográfica parcial nas filogenias das duas espécies apresentaram diferenças temporais antigas indicando que diferentes eventos ou processos foram responsáveis pela delimitação da estrutura das linhagens. Alterações ambientais mais recentes, por sua vez, afetaram a história demográfica das espécies, mas as diferenças encontradas não foram capazes ou fortes o suficiente para gerar assinaturas filogeográficas. Diante disso, os dados obtidos neste trabalho não se encaixam no modelo dos refúgios pleistocênicos proposto por Carnaval e Moritz (2008)

para explicar a biogeografia histórica e a diversificação das espécies da Mata Atlântica. Flutuações no tamanho populacional condizentes com as diferentes respostas ecológicas de *G. microtarsus* e *M. incanus* à fragmentação (Pardini *et al.* 2010) foram observadas por apenas um período (50 mil anos atrás), pois ambas as espécies tiveram crescimento populacional desde o último período glacial.

Referências

- Almeida, F.F.M. 1976. The system of continental rifts bordering the Santos Basin, Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 48, 15–26.
- Arbogast, B.; Kenagy, G.I. 2001. Comparative phylogeography as an integrative approach to historical biogeography. *Journal of Biogeography*, 28, 819–825.
- Avice, J.C.; Arnold, J.; Ball, R.M.; Bermingham, E.; Lamb, T.; Neigel, J.E.; Reeb, C.A.; Saunders, N. C. 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18, 489–522.
- Avice, J.C. 2009. Phylogeography: retrospect and prospect. *Journal of Biogeography*, 36, 3–15.
- Bandelt, H.J.; Foster, P.; Röhl, A. 1999. Median-Joining Networks for Inferring Intraspecific Phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16, 37–48.
- Batalha-Filho, H.; Miyaki, C.Y. 2011. Filogeografia da Mata Atlântica. *Revista da Biologia*, 7, 31–34.
- Batalha-Filho, H.; Cabanne, G.S.; Miyaki, C.Y. 2012. Phylogeography of an Atlantic forest passerine reveals demographic stability through the last glacial maximum. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 65:3, 892–902.
- Batalha-Filho, H.; Irestedt, M.; Fjeldsa, J.; Ericson, P.G.P.; Silveira, L.F.; Miyaki, C.Y. 2013. Molecular systematics and evolution of the *Synallaxis ruficapilla* (Aves: Furnariidae) in the Atlantic Forest. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 67, 86–94.
- Bell, R.C.; MacKenzie, J.B.; Hickerson, M.J.; Chavarría, K.L.; Cunningham, M.; Williams, S.; Moritz, C. 2012. Comparative multi-locus phylogeography confirms multiple vicariance events in co-distributed rainforest frogs. *Proceedings of the Royal Society B*, 279:7, 991–999.

- Bermingham, E.; Moritz, C. 1998. Comparative Phylogeography: Concepts and applications. *Molecular Ecology*, 7, 367–369.
- Bruford, M.W.; Hanotte, O.; Brookfield, J.F.Y.; Burke, T. 1992. Single-locus and DNA fingerprinting. In Hoelzel, A.R. (Ed.). *Molecular genetic analyses of populations. A Practical Approach*. Oxford: IRL Press, 225–269.
- Cabanne, G.S.; Santos, F.R.; Miyaki, C.Y. 2007. Phylogeography of *Xiphorhynchus fuscus* (Passeriformes, Dendrocolaptidae): vicariance and recent demographic expansion in southern Atlantic forest. *Biological Journal of the Linnean Society*, 91, 73–84.
- Carnaval, A.C.; Moritz, C. 2008. Historical climate modeling predicts patterns of current biodiversity in the Brazilian Atlantic forest. *Journal of Biogeography*, 35, 1187–1201.
- Carnaval, A.C.; Hickerson, M.J.; Haddad, C.F.B.; Rodrigues, M.T.; Moritz, C. 2009. Stability predicts genetic diversity in the Brazilian Atlantic forest hotspot. *Science*, 323: 5915, 785–789.
- Cracraft, J. 1985. Historical biogeography and patterns of differentiation within the South American avifauna: areas of endemism. In Buckley, P.A.; Foster, M.S.; Morton, E.S.; Ridgely, R.S.; Buckley F.G. (Eds). *Neotropical ornithology*. American Ornithologists Union, Washington, DC: Ornithological Monographs. 36, 49–84.
- Costa, L.P. 2003. The historical bridge between the Amazon and the Atlantic Forest of Brazil: a study of molecular phylogeography with small mammals. *Journal of Biogeography*, 30, 71–86.
- Costa, L.P.; Leite, Y.L.R.; Fonseca, G.A.B.; Fonseca, M.T. 2000. Biogeography of the South American forest mammals: endemism and diversity in the Atlantic Forest. *Biotropica*, 32, 872–881.
- Costa, L.P.; Leite, Y.L.R.; Patton, J.L. 2003. Phylogeography and systematic notes on two species of gracile mouse opossums, genus *Gracilinanus* (Marsupialia: Didelphidae) from Brazil. *Proceedings of Biological Society of Washington*, 116: 2, 275–292.
- D’Horta F.M.; Cabanne, G.S.; Meyer, D.; Miyaki, C.Y. 2011. The genetic effects of Late Quaternary climatic changes over tropical latitudinal gradient: diversification of an Atlantic Forest passerine. *Molecular Ecology*, 20, 1923–1935.

- Drummond, A.J.; Rambaut, A. 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology*, 7, 214.
- Excoffier, L.G.L.; Schneider, S. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 1, 47–50.
- Felsenstein, J. 1981. Evolutionary trees from DNA sequences: A maximum likelihood approach. *Journal of Molecular Evolution*, 17: 6, 368–376.
- Fitzpatrick, S.W.; Brasileiro, C.A.; Haddad, C.F.B.; Zamudio, K.R. 2009. Geographical variation in genetic structure of an Atlantic Coastal Forest frog reveals regional differences in habitat stability. *Molecular Ecology*, 18, 2877–2896.
- Fouquet, A.; Noonan, B.P.; Rodrigues, M.T.; Pech, N.; Gilles, A.; Gemmill, N.J. 2012. Multiple Quaternary Refugia in the Eastern Guiana Shield revealed by comparative phylogeography of 12 frog species. *Systematic Biology*, 61:3, 461–489.
- Fu, X.Y. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking, and background selection. *Genetics*, 147, 915–925.
- Geise, L.; Smith, M.F.; Patton, J.L. 2001. Diversification in the genus *Akodon* (Rodentia: Sigmodontinae) in Southeastern South America: mitochondrial DNA sequence analysis. *Journal of Mammalogy*, 82, 92–101.
- Grazziotin, F.G.; Monzel, M.; Echeverrigaray, S.; Bonatto, S.L. 2006. Phylogeography of the *Bothrops jararaca* complex (Serpentes: Iperidae): past fragmentation and island colonization in the Brazilian Atlantic Forest. *Molecular Ecology*, 15, 3969–3982.
- Guindon, S.; Gascuel, O. 2003. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Systematic Biology*, 52, 696–704.
- Haffer, J. 1969. Speciation in Amazonian forest birds. *Science*, 165, 131–137.
- Hammer, Ø.; Harper, D.A.T.; Ryan, P.D. 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4, 9.
- Huchon, D.; Delsuc, F.; Catzeflis, F.M.; Douzery, E.J.P. 1999. Armadillos exhibit less genetic polymorphism in North America than in South America: Nuclear and mitochondrial data confirm a founder effect in *Dasyurus novemcinctus* (Xenarthra). *Molecular Ecology*, 8, 1743–1748.

- Jocque, M.; Field, R.; Brendonck, L.; De Meester, L. 2010. Climatic control of dispersal-ecological specialization trade-offs: a metacommunity process at the heart of the latitudinal diversity gradient? *Global Ecology and Biogeography*, 19:1, 244–252.
- Kirsch, J.A.W.; Palma, R.E. 1995. DNA/DNA hybridization studies of carnivorous marsupials. V. A further estimate of relationships among opossums (Marsupialia: Didelphidae). *Mammalia*, 59, 403–425.
- Lara, M.C.; Patton, J.; da Silva, M.N.F. 1996. The simultaneous diversification of South America echimyid rodents (Hystricognathi) based on complete cytochrome b sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 5, 403–413.
- Lara, M.C.; Patton, J.L. 2000. Evolutionary diversification of spiny rats (genus *Trinomys*, Rodentia: Echimyidae) in the Atlantic Forest of Brazil. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 130, 661–686.
- Lara, M.C.; Geise, L.; Schneider, C.J. 2005. Diversification of small mammals in the Atlantic Forest of Brazil: testing the alternatives. In: Lacey, E.A.; Myers, P. (Eds.) *Mammalian diversification from chromosomes to phylogeography (a celebration of the career of James L. Patton)*. Berkeley: University of California Press, 311–333.
- Larkin, M.A.; Blackshields, G.; Brown, N.P.; Chenna, R.; McGettigan, P.A.; McWilliam, H.; Valentin, F.; Wallace, I.M.; Wilm, A.; Lopez, R.; Thompson, J.D.; Gibson, T.J.; Higgins, D.G. 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, 23, 2947–2948.
- Leite, Y.L.R. 2003. Evolution and Systematics of the Atlantic Tree Rats, genus *Phyllomys* (Rodentia. Echimyidae), with Description of Two New Species. *University of California Publications in Zoology*, 132, 1–118.
- Lóss, S.; Costa, L.P.; Leite, Y.L.R. 2011. Geographic variation, phylogeny and systematic status of *Gracilinanus microtarsus* (Mammalia: Didelphimorphia: Didelphidae). *Zootaxa*, 2761, 1–33.
- Marshall, L.G. 1976. New didelphine marsupials from the La-Venta fauna Miocene of Colombia South America. *Journal of Paleontology* 50, 402–418.
- Martins, F.M. 2011. Historical biogeography of the Brazilian Atlantic forest and the Carnaval–Moritz model of Pleistocene refugia: what do phylogeographical studies tell us? *Biological Journal of the Linnean Society*, 104, 499–509.

- Mustrangi, M.A.; Patton, J.L. 1997. Phylogeography and systematic of the slender mouse opossum *Marmosops* (Marsupialia: Didelphidae). *University of California Press*, 94 pp.
- Pardini, R.; Bueno, A.A.; Gardner, T.A.; Prado, P.I.; Metzger, J.P. 2010. Beyond the Fragmentation Threshold Hypothesis: Regime Shifts in Biodiversity Across Fragmented Landscapes. *PloS One*, 5, 1–10.
- Pellegrino, K.C.M. Rodrigues, M.T.; Waite, A.N.; Morando, M. Yatiyo, Y.Y.; Sites, J.W.; Sites Jr, J.W. 2005. Phylogeography and species limits in the *Gymnodactylus darwinii* complex (Gekkonidae, Squamata): genetic structure coincides with river systems in the Brazilian Atlantic forest. *Biological Journal of the Linnean Society*, 85, 13–26.
- Posada, D. 2008. jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Molecular Biology and Evolution*, 25, 1253–1256.
- Prance, G.T. 1982. *Biological diversification in the tropics*. New York: Columbia University Press.
- Rambaut, A.; Drummond, A.J. 2009. Tracer version 1.5. Disponível em: <<http://beast.bio.ed.ac.uk>> Acesso em: 7 julho 2014.
- Resende, H.C.; Yotoko, K.S.C.; Delabie, J.H.C.; Costa, M.A.; Campiolo, S.; Tavares, M.G.; Campos, L.A.O.; Fernandes-Salomão, T.M. 2010. Pliocene and Pleistocene events shaping the genetic diversity within the central corridor of the Brazilian Atlantic Forest. *Biological Journal of the Linnean Society*, 101, 949–960.
- Ribeiro, R.C. Lemos-Filho, J.P.; Ramos, A.C.; Lovato, M.B. 2011. Phylogeography of the endangered rosewood *Dalbergia nigra* (Fabacea) insights in to the evolutionary history and conservation of the Brazilian Atlantic Forest. *Heredity*, 106, 46–57.
- Ronquist, F.; Teslenko, M.; van der Mark, P.; Ayres, D.L.; Darling, A.; Höhna, S.; Larget, B.; Liu, L.; Suchard, M.A.; Huelsenbeck, J.P. 2012. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*. 61:3, 539–542.
- Smith, M.F.; Patton, J.L. 1993. Diversification of South American muroid rodents: evidence from mitochondrial DNA sequence data for the Akodontine tribe. *Biological Journal of the Linnean Society*, 50, 149–177.
- Sokal, R.R.; Rohlf, F.J. 1995. *Biometry: The principles and practice of statistics in biological research*. 3. ed. New York: W.H. Freeman, 887 pp.

- Stallings, J.R. 1989. Small mammals inventories in an Eastern Brazilian Park. *Bulletin of the Florida State Museum. Biological Sciences*, 34: 4, 153–200.
- Tajima, F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutational hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123, 585–595.
- Tamura, K.; Peterson, D.; Peterson, N.; Stecher, G.; Nei, M.; Kumar, S. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28, 2731–2739.
- Thomé, M.T.C.; Zamudio, K.R.; Giovanelli, J.G.R.; Haddad, C.F.B., Baldissera Jr., F.A.; Alexandrino, J. 2010. Phylogeography of endemic toads and post-Pliocene persistence of the Brazilian Atlantic Forest. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 55, 1018–1031.
- Tonini, J.F.R.; Costa, L.P.; Carnaval, A.C. 2013. Phylogeographic structure is strong in the Atlantic Forest; predictive power of correlative paleodistribution models, not always. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 51:2, 114–121.
- Valdez, L.; D'Elía, G. 2012. Differentiation in the Atlantic Forest: phylogeography of *Akodon montensis* (Rodentia, Sigmodontinae) and the Carnaval-Moritz model of Pleistocene refugia. *Journal of Mammalogy*, 94:4, 911–922.
- Werneck, F.P.; Costa, G.C.; Colli, G.R.; Prado, D.E.; Sites Jr, J.W. 2011. Revisiting the historical distribution of seasonally dry tropical forests: new insights based on palaeodistribution modelling and palynological evidence. *Global Ecology and Biogeography*, 20:2, 272–288.
- Willis, E.O. 1988. *Drymophila rubricolis* (Bertoni, 1901) is a valid species (Aves, Formicariidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 48, 431–438.
- Yu, Y.; Harris, A.J.; HE, X.J. 2011. RASP (Reconstruct ancestral state in phylogenies). Ver. 2.1. Disponível em: <<http://mnh.scu.edu.cn/soft/blog/RASP>> Acesso em 7 julho 2014.
- Zamudio, K.R.; Greene, H.W. 1997. Phylogeography of the Bushmaster (*Lachesis muta*, Viperidae): implication for neotropical biogeography, systematic and conservation. *Biological Journal of the Linnean Society*, 62, 421–442.

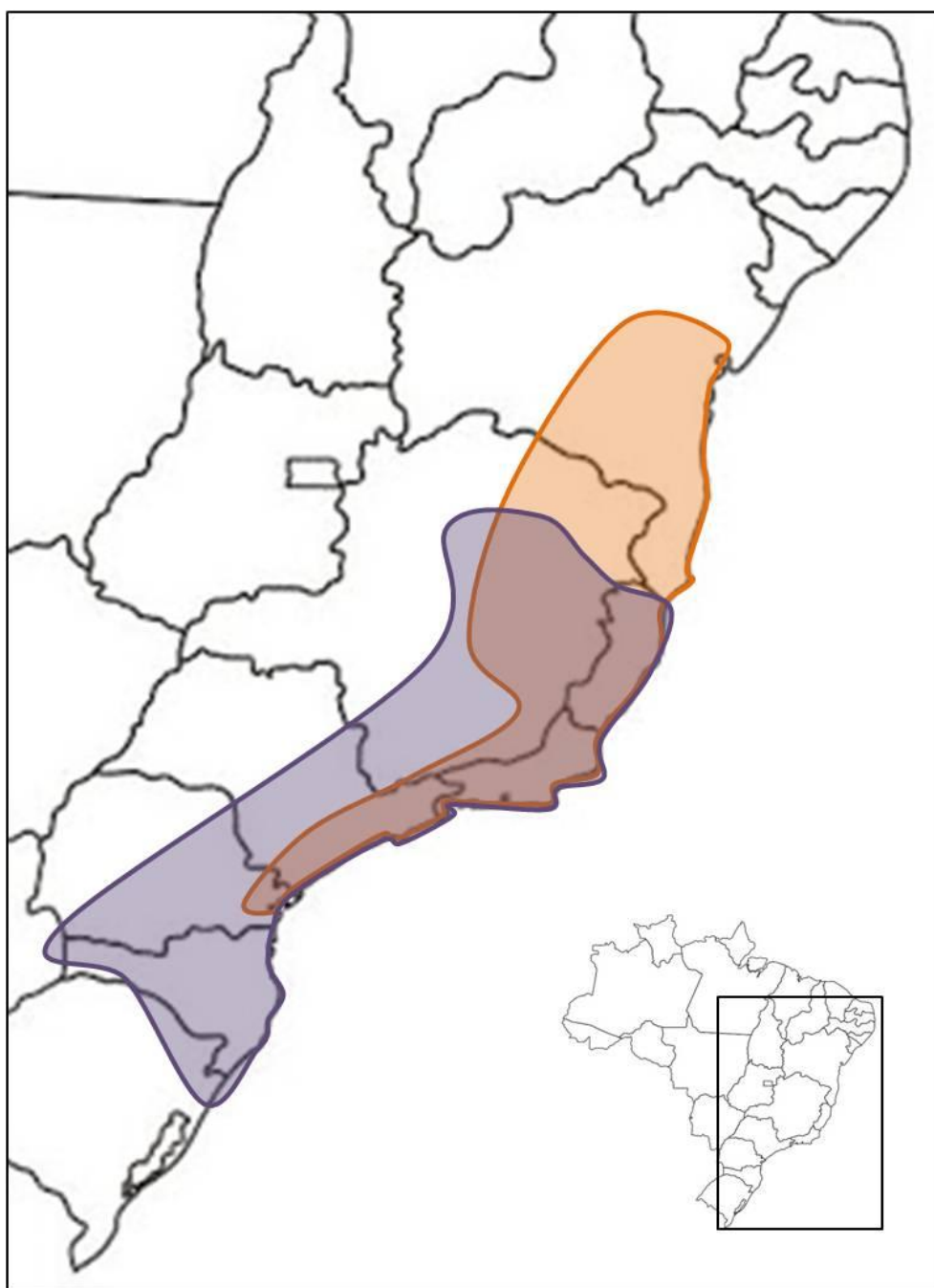


Figura 1. Limites de ocorrência geográfica de *Gracilinianus microtarsus* (roxo) e *Marmosops incanus* (laranja) na Mata Atlântica. A região de sobreposição entre os polígonos indica a área de simpatria entre as espécies.

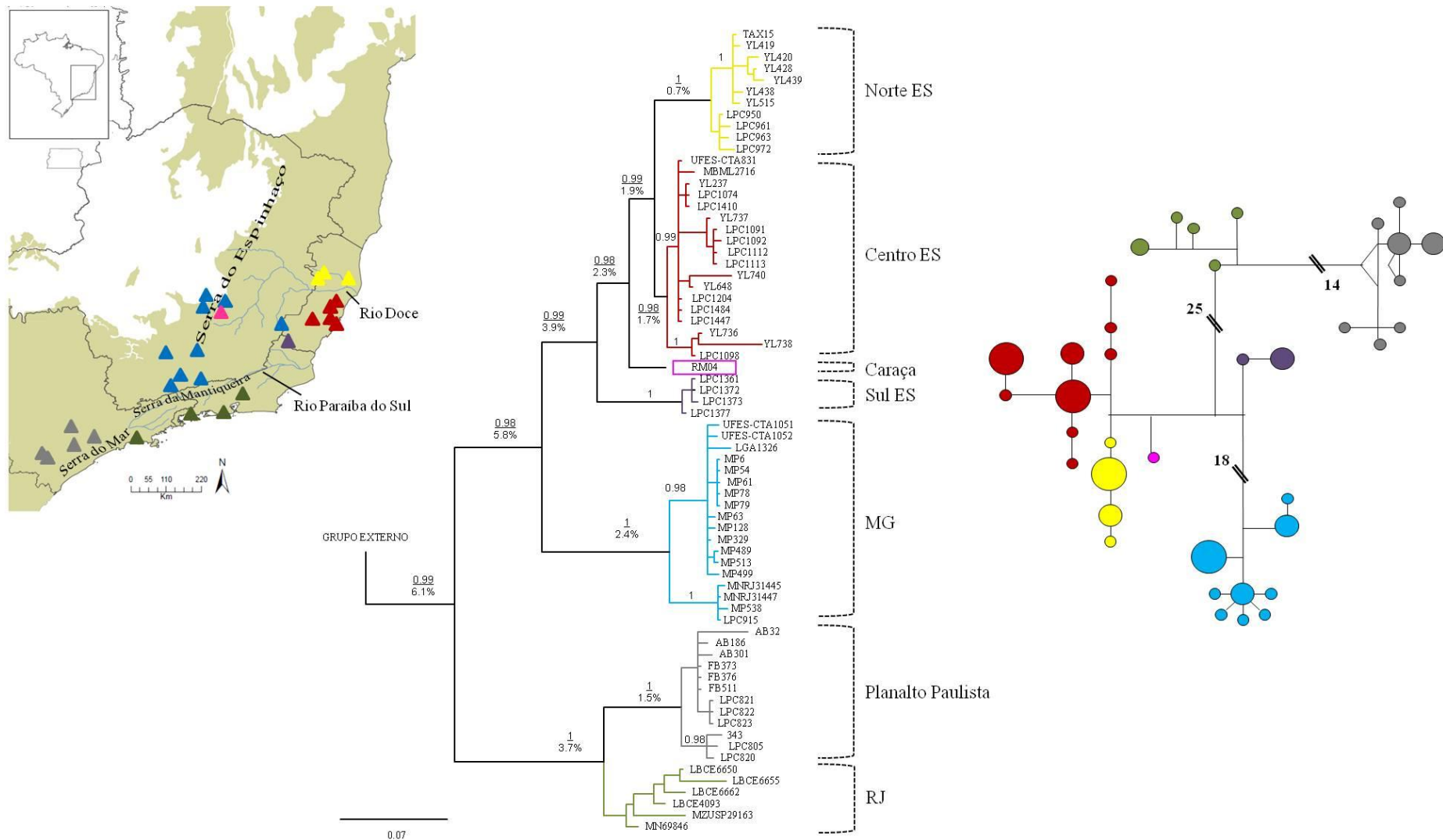


Figura 2. Distribuição geográfica, árvore de Inferência Bayesiana (IB) e rede de haplótipos de *Gracilinanus microtarsus* para o gene citocromo b. Em IB, valores acima dos traços indicam os grupos com probabilidade posterior acima de 0.95 e valores abaixo dos traços indicam a divergência genética (%) entre os clados. Na rede de haplótipos os valores indicam o número de mutações entre os haplótipos. ES, Espírito Santo; MG, Minas Gerais; RJ, Rio de Janeiro.

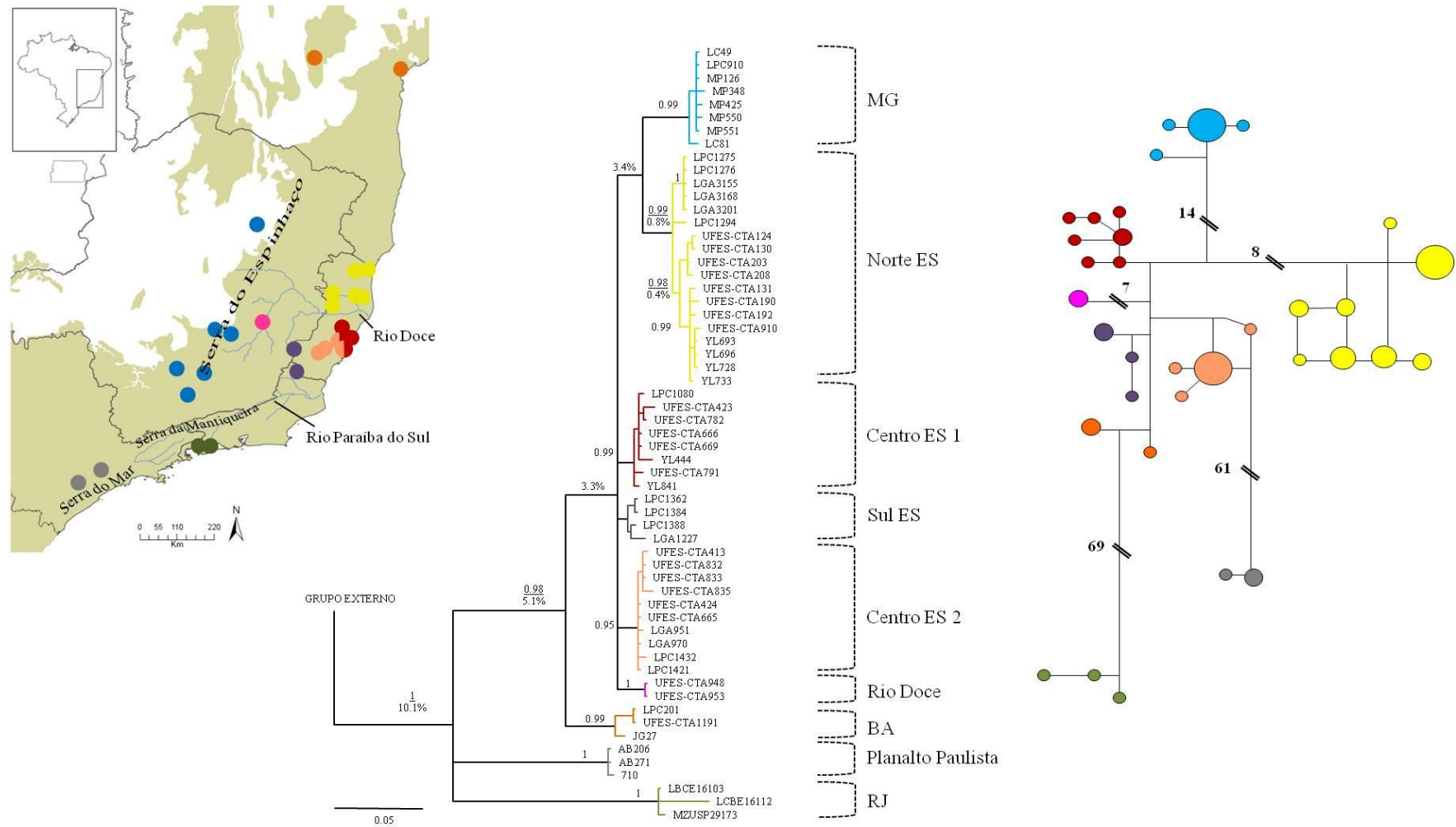


Figura 3. Distribuição geográfica, árvore de Inferência Bayesiana (IB) e rede de haplótipos do gene citocromo b para *Marmosops incanus*. Círculos em vermelho e salmão representam localidades com haplótipos compartilhados entre os clados Centro ES 1 e Centro ES 2. Em IB, valores acima dos traços indicam os grupos com probabilidade posterior acima de 0.95 e valores abaixo dos traços indicam a divergência genética (%) entre os clados. Na rede de haplótipos os valores indicam o número de mutações entre os haplótipos. ES, Espírito Santo; MG, Minas Gerais; RJ, Rio de Janeiro.

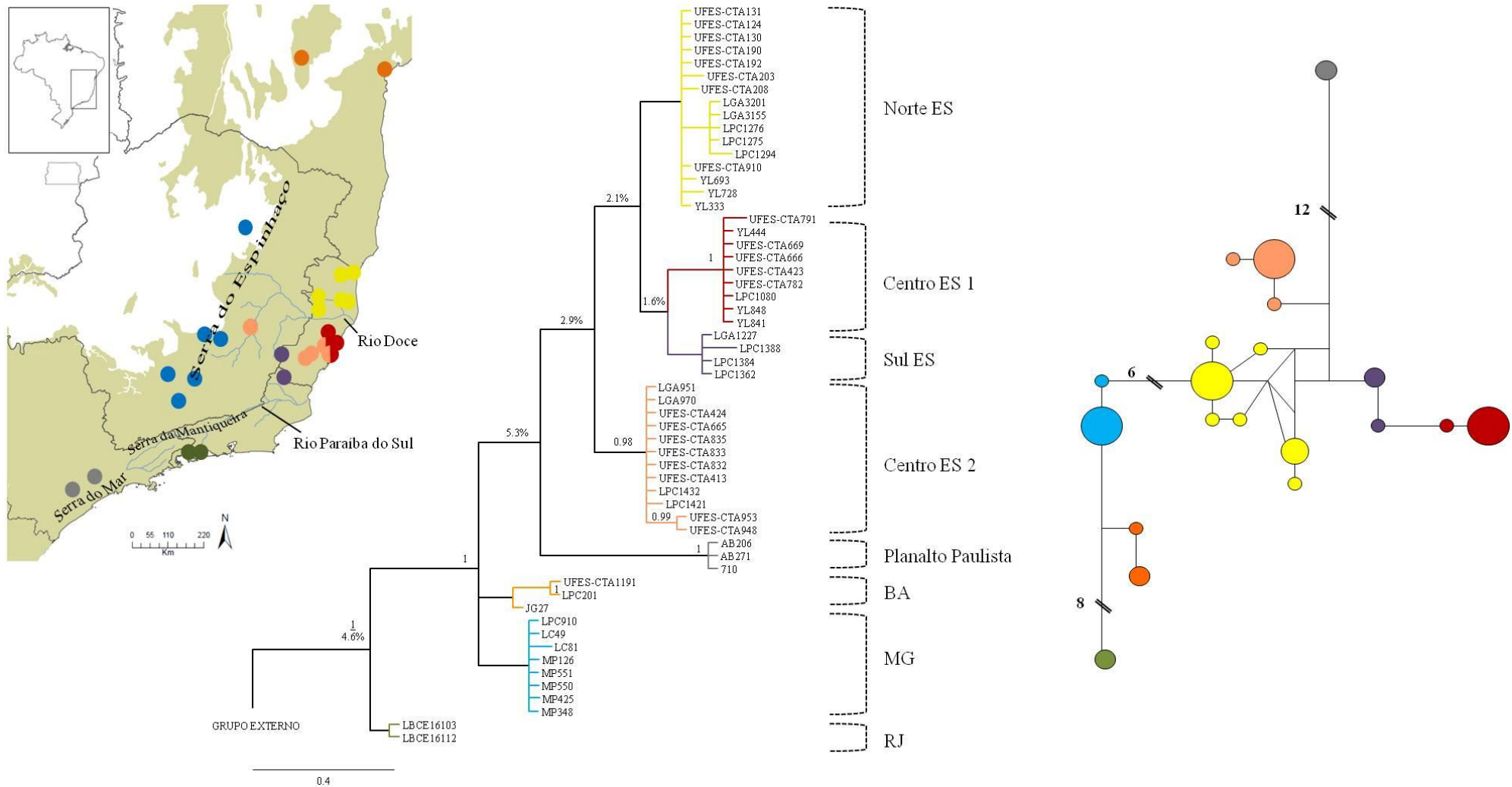


Figura 4. Distribuição geográfica, árvore de Inferência Bayesiana (IB) e rede de haplótipos do gene D-loop para *Marmosops incanus*. Em IB, valores acima dos traços indicam os grupos com probabilidade posterior acima de 0.95 e valores abaixo dos traços indicam a divergência genética (%) entre os clados. ES, Espírito Santo; MG, Minas Gerais; RJ, Rio de Janeiro.

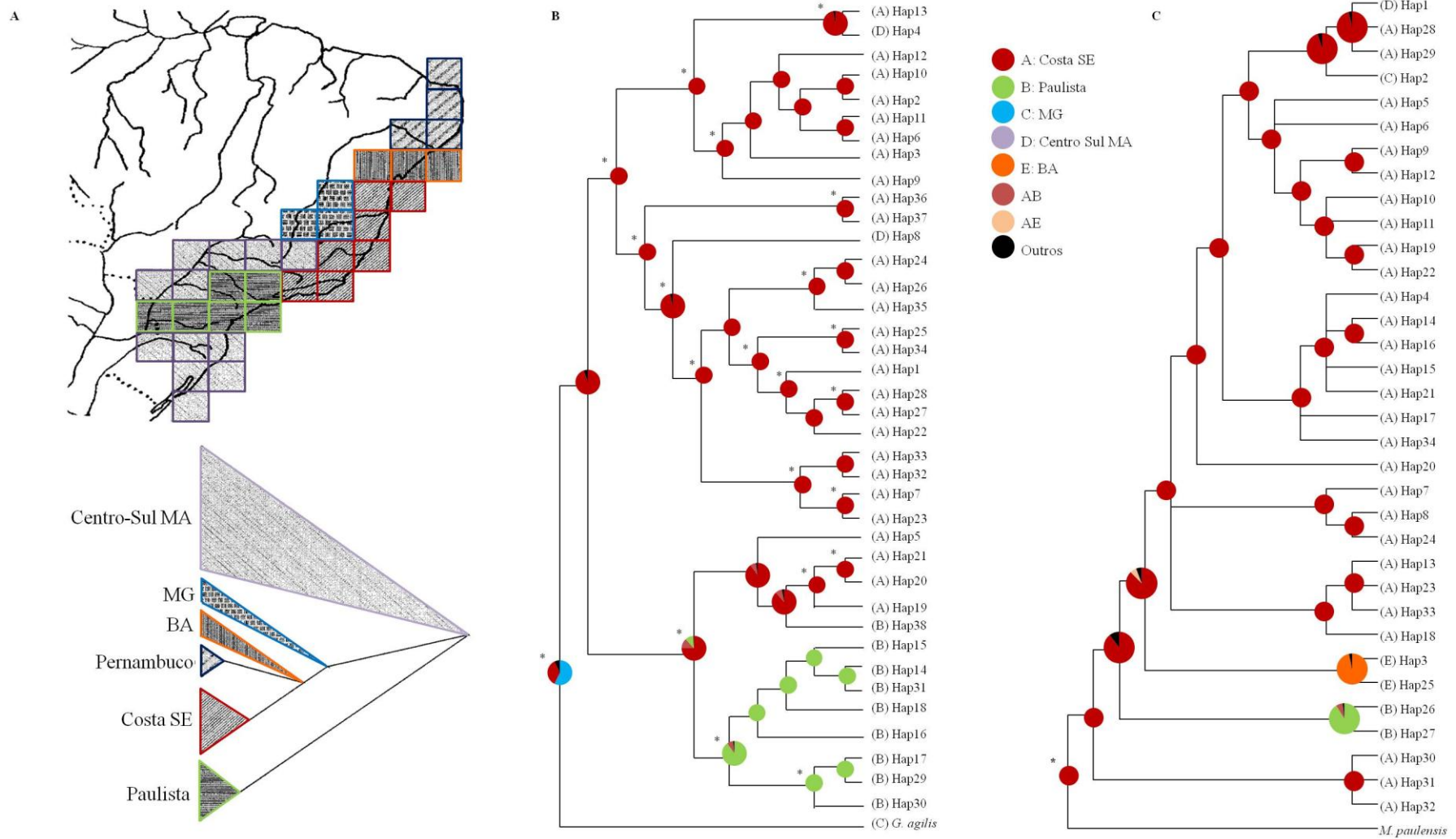


Figura 5. Mapa utilizado como base para reconstrução das áreas ancestrais (modificado de Costa *et al.*, 2000). Cladograma da reconstrução das áreas ancestrais de (A) *Gracilinanus microtarsus* e (B) *Marmosops incanus*, baseada na Inferência Bayesiana gerada para o gene citocromo b. Os gráficos em círculos indicam as probabilidades de áreas ancestrais aproximadas de acordo com a legenda. Os * indicam ramos com probabilidade posterior acima de 0.95. BA, Bahia; MA, Mata Atlântica; MG, Minas Gerais; SE, Sudeste.

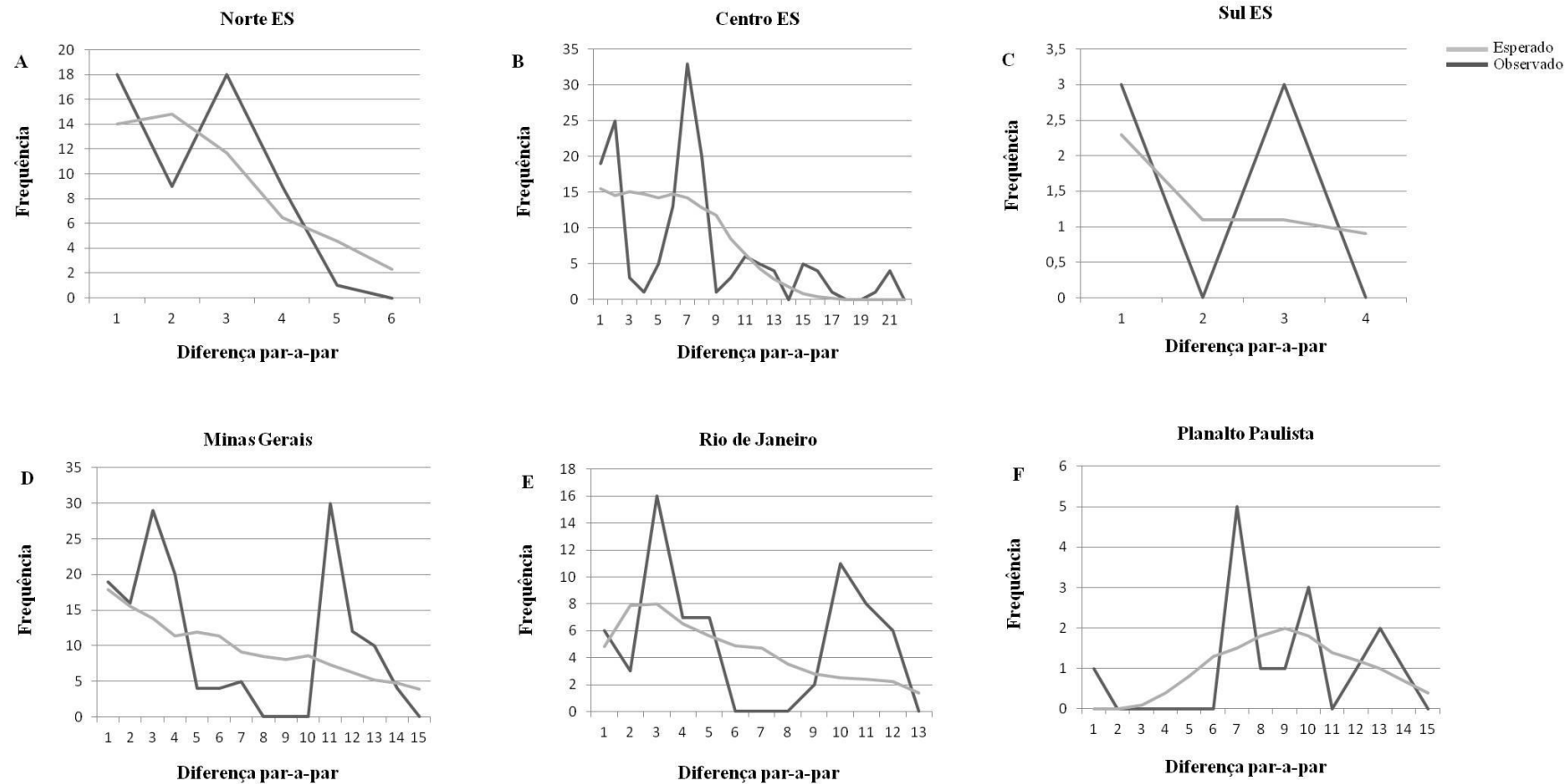


Figura 6. Distribuição *mismatch* do gene citocromo b para *Gracilinanus microtarsus*. As linhas claras representam as frequências esperadas e as linhas escuras as frequências observadas. $p > 0,05$ para todos os gráficos.

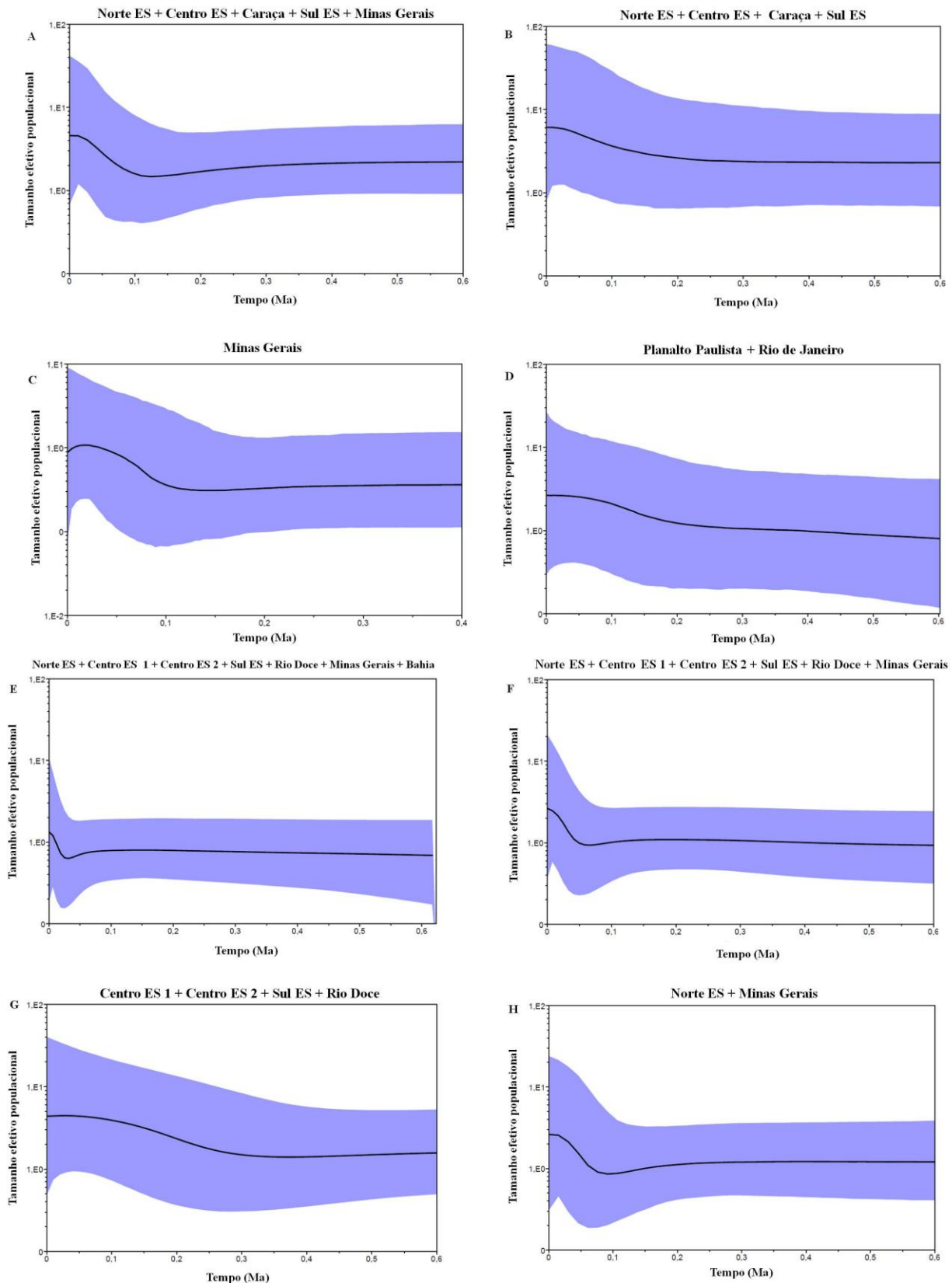


Figura 7. Gráficos de *Bayesian Skyline Plot* (BSP) baseado nos genes citocromo b para (A–D) *Gracilinanus microtarsus* e (E–H) *Marmosops incanus*. A linha sólida representa o valor da mediana do e área preenchida corresponde ao intervalo com 95% de confiança. Ma, milhões de anos.

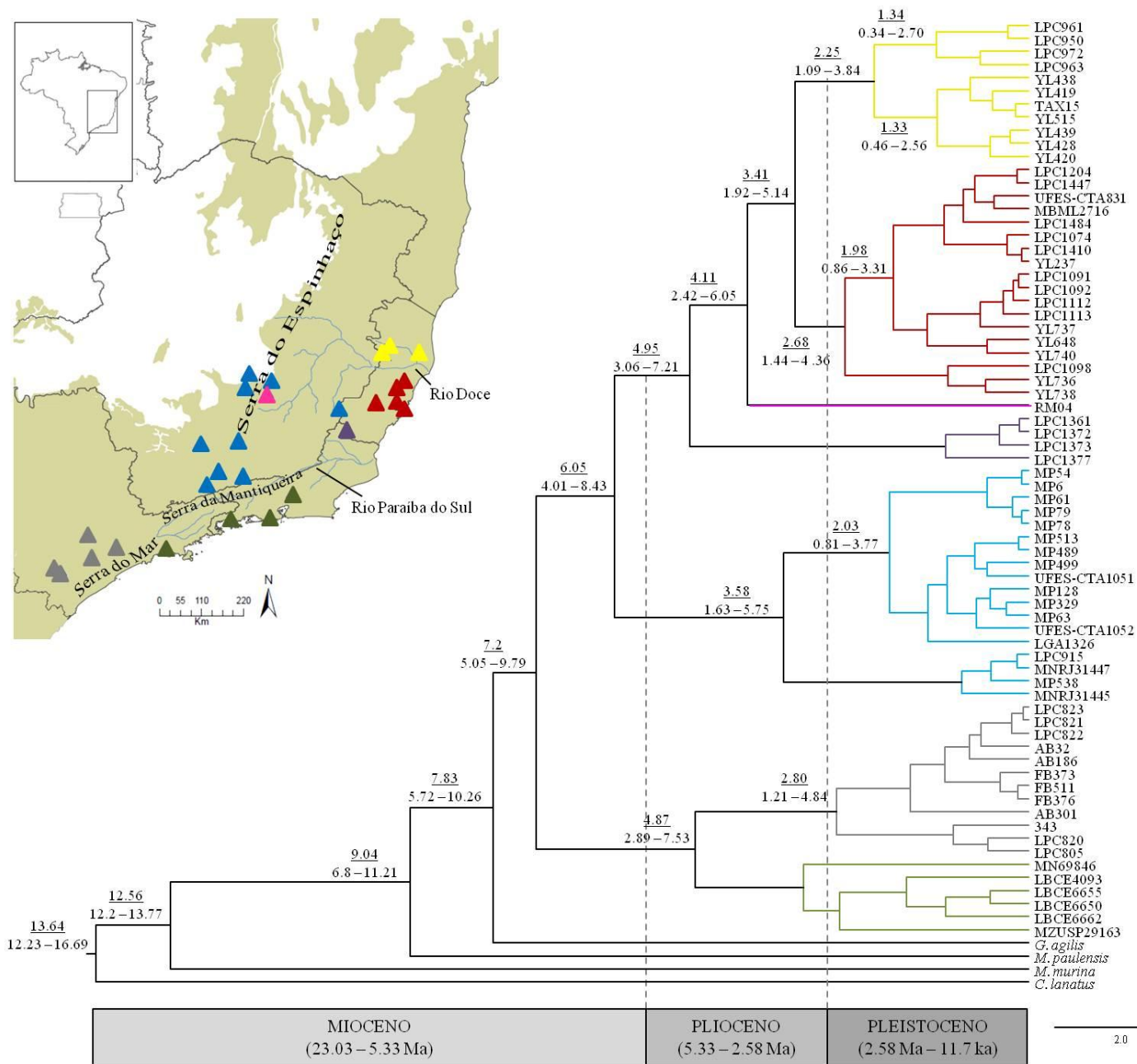


Figura 8. Árvore de datação pelo relógio molecular de *Gracilinananus microtarsus*, baseada na Inferência Bayesiana a partir de sequências do gene citocromo b. Valores nos ramos indicam o tempo de divergência médio entre as linhagens e os respectivos intervalos de confiança de 95%.

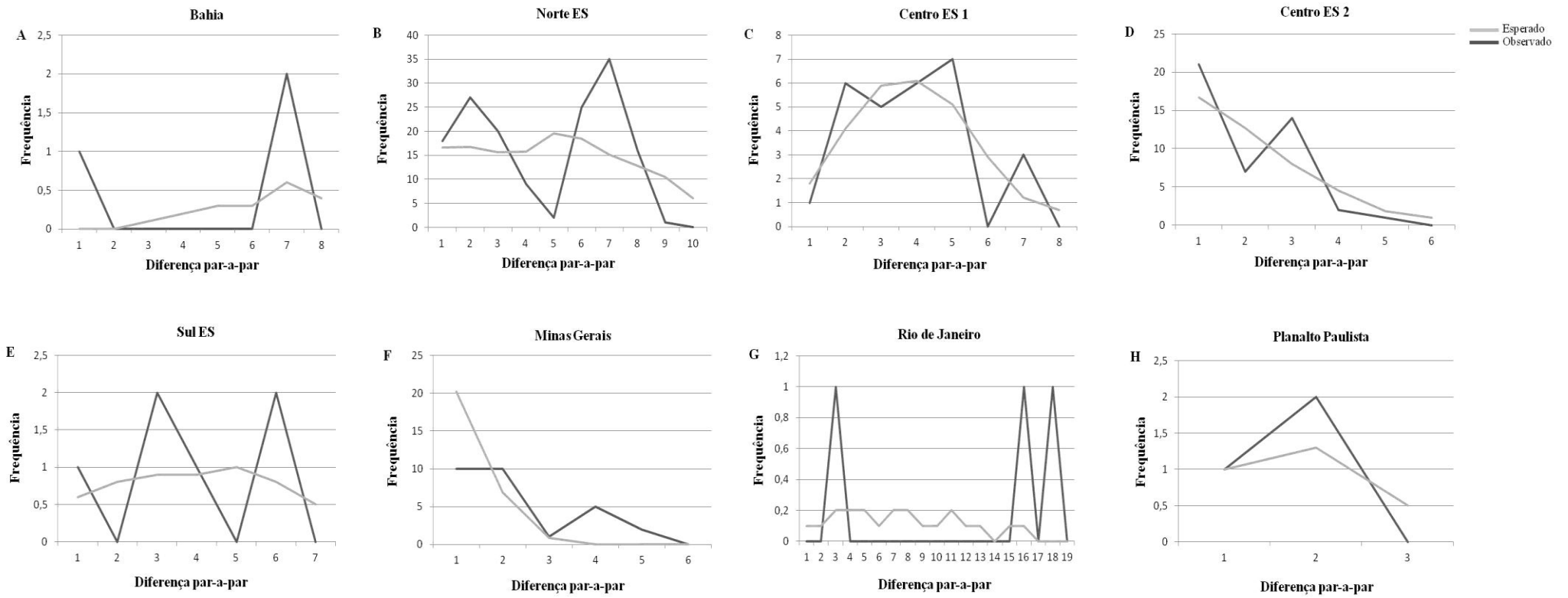


Figura 9. Distribuição *mismatch* do gene citocromo b para *Marmosops incanus*. As linhas claras representam as frequências esperadas e as linhas escuras as frequências observadas. $p > 0,05$ para todos os gráficos.

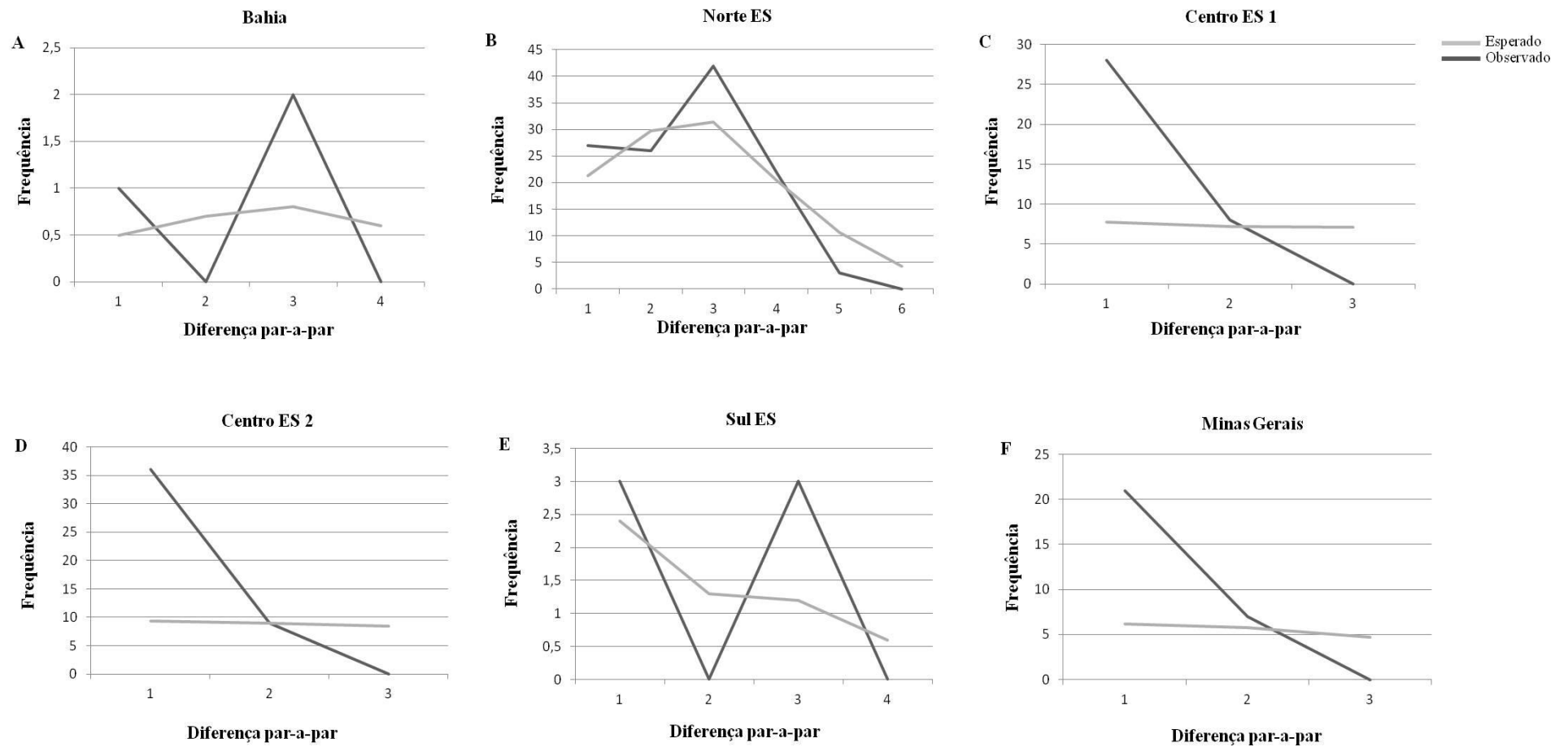


Figura 10. Distribuição *mismatch* do gene D-loop para *Marmosops incanus*. As linhas claras representam as frequências esperadas e as linhas escuras as frequências observadas. $p > 0,05$ para todos os gráficos.

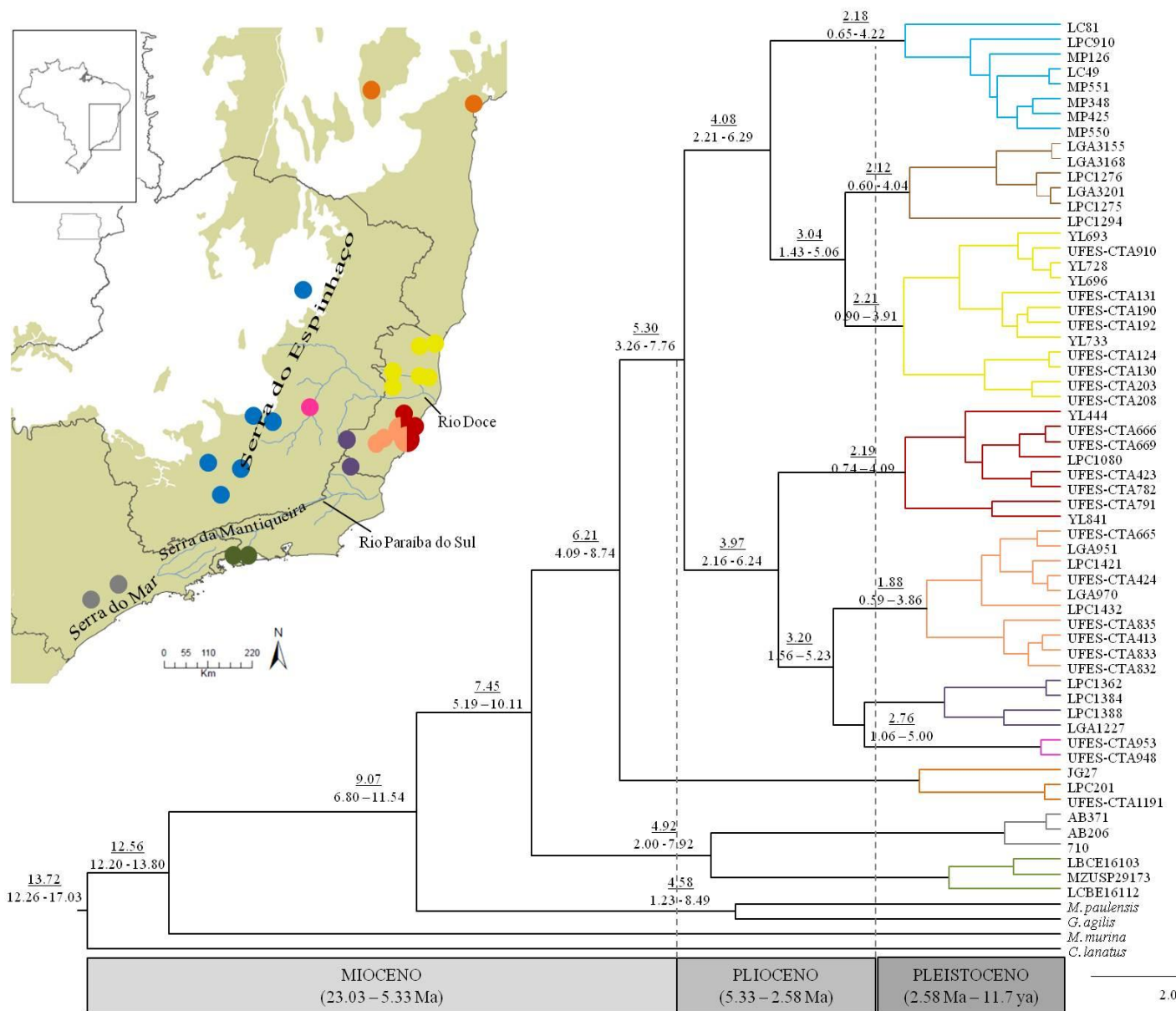


Figura 11. Árvore de datação pelo relógio molecular de *Marmosops incanus*, baseada na Inferência Bayesiana a partir de sequências do gene citocromo b. Valores nos ramos indicam o tempo de divergência médio entre as linhagens e os respectivos intervalos de confiança de 95%.

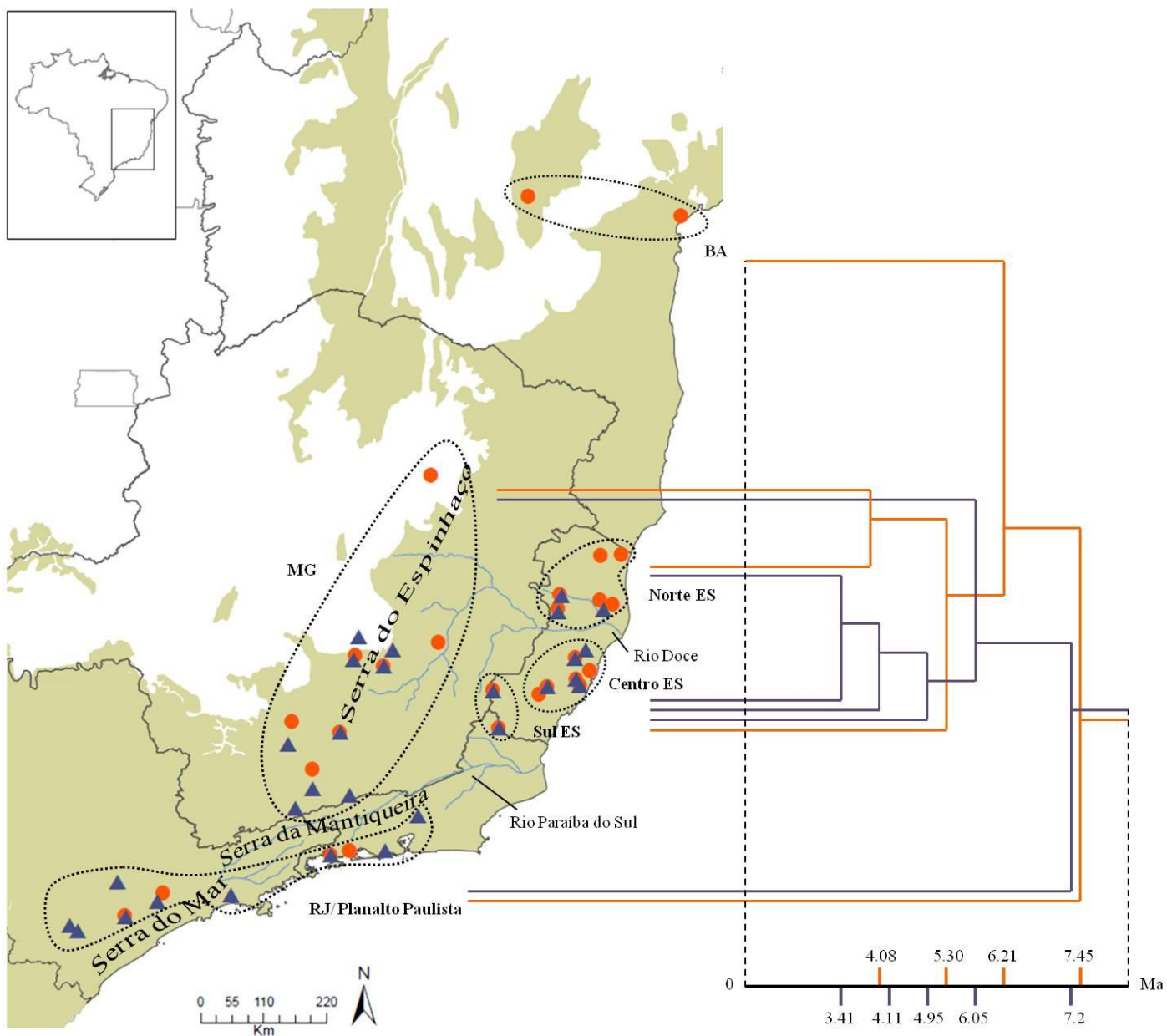


Figura 12. Distribuição dos espécimes amostrados de *Gracilinianus microtarsus* (triângulos) e *Marmosops incanus* (círculos) ao longo da Mata Atlântica, destacado de acordo com os agrupamentos formados para as análises de estrutura populacional e história demográfica; e árvore da relação entre as áreas baseada na datação molecular de *G. microtarsus* (roxo) e *M. incanus* (laranja). BA, Bahia; ES, Espírito Santo; MG, Minas Gerais; RJ, Rio de Janeiro.

Tabela 1. Índices de diversidade genética, indicadores de expansão demográfica e teste de Mantel do gene citocromo b para *Gracilinanus microtarsus*.

	N	N _h	S	h	SD	π	SD	D	F _s	R
<i>G. microtarsus</i>	70	38	103	0.972	±0.007	0,043	±0.021	1,06	-0,863	0.7154*
Norte ES	11	4	4	0.672	±0.123	0.002	±0.001	0.043	-0.052	0.2120
Centro ES	18	9	24	0.875	±0.051	0.009	±0.005	-0.6211	0.092	-0.2194
Sul ES	4	2	2	0.500	±0.265	0.001	±0.001	-0.709	1.098	NC
MG	18	9	19	0.875	±0.051	0.008	±0.004	-0.189	-0.258	0.5639*
Caraça	1	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
RJ	6	5	19	0.933	±0.121	0.012	±0.007	-0.240	0.447	0.9145*
Planalto Paulista	12	8	15	0.909	±0.064	0.008	±0.004	0.224	-0.931	0.0261

N, número de sequências; N_h, número de haplótipos; S, sítios polimórficos; h, diversidade haplotípica; π, diversidade nucleotídica; D, D de Tajima; F_s, F_s de Fu; R, teste de Mantel; SD, desvio padrão; ES, Espírito Santo; MG, Minas Gerais; RJ, Rio de Janeiro. *, p<0,05.

Tabela 2. Valores de F_{ST} (esquerda e abaixo) e de distância genética (direita a acima; distância p) do gene citocromo b para os clados de *Gracilinanus microtarsus*.

	Norte ES	Centro ES	Sul ES	MG	Caraça	RJ	Planalto Paulista
Norte ES	–	0.015	0.038	0.056	0.017	0.063	0.062
Centro ES	0.589*	–	0.039	0.057	0.020	0.062	0.061
Sul ES	0.947*	0.804*	–	0.053	0.034	0.057	0.068
MG	0.894*	0.847*	0.867*	–	0.053	0.064	0.060
Caraça	NC	NC	NC	NC	–	0.062	0.062
RJ	0.908*	0.837*	0.853*	0.853*	NC	–	0.035
Planalto Paulista	0.914*	0.855*	0.886*	0.862*	NC	0.721*	–

ES, Espírito Santo; MG, Minas Gerais; RJ, Rio de Janeiro. *, p<0,05.

Tabela 3. Índices de diversidade genética, indicadores de expansão demográfica e teste de Mantel do gene citocromo b para *Marmosops incanus*.

	N	N _h	S	h	SD	π	SD	D	F _s	R
<i>M. incanus</i>	59	35	162	0,971	±0.009	0,041	±0.020	-0,418	-0,557	0.6509*
BA	3	2	6	0.666	±0.314	0.005	±0.004	0.000	2.639	1
Norte ES	18	8	12	0.882	±0.046	0.004	±0.002	0.160	-0.537	0.7254*
Centro ES 1	8	7	10	0.964	±0.077	0.003	±0.002	-1.283	-3.392*	-0.0521
Centro ES 2	10	4	5	0.533	±0.180	0.001	±0.001	-1.741*	-0.876	-0.1618
Sul ES	4	3	5	0.833	±0.222	0.003	±0.002	-1.741*	-0.876	0.8970
MG	8	4	5	0.642	±0.184	0.001	±0.001	-1.595*	-0.785	0.8325
Rio Doce	2	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
RJ	3	3	17	1.000	±0.272	0.015	±0.011	0.000	1.271	-0.3747
Planalto Paulista	3	2	1	0.666	±0.314	0.000	±0.001	0.000	0.200	-0.5

N, número de sequências; N_h, número de haplótipos; S, sítios polimórficos; h, diversidade haplotípica; π, diversidade nucleotídica; D, D de Tajima; F_s, F_s de Fu; R, teste de Mantel; SD, desvio padrão; ES, Espírito Santo; MG, Minas Gerais; RJ, Rio de Janeiro. *, p<0,05.

Tabela 4. Índices de diversidade genética, indicadores de expansão demográfica e teste de Mantel do gene D-loop para *Marmosops incanus*.

	N	N _h	S	h	SD	π	SD	D	F _s	R
<i>M. incanus</i> (D-loop)	57	20	40	0,924	±0.015	0,029	±0.015	0,445	-0,244	0.1013*
BA	3	2	2	0.666	±0.314	0.004	±0.004	0.000	1.060	1
Norte ES	16	7	6	0.775	±0.087	0.004	±0.003	-0.457	-2.494*	0.6116*
Centro ES 1	9	2	1	0.222	±0.166	0.000	±0.001	-1.088	-0.263	0.1021
Centro ES 2	12	3	3	0.439	±0.158	0.002	±0.002	-0.728	0.180	0.882*
Sul ES	4	2	2	0.500	±0.265	0.003	±0.003	-0.709	1.098	-0.3103
MG	8	2	1	0.250	±0.180	0.000	±0.001	-1.054	-0.181	0.9189
RJ	2	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Planalto Paulista	3	1	0	0.000	±0.000	0.000	±0.000	0.000	NC	NC

N, número de seqüências; N_h, número de haplótipos; S, sítios polimórficos; h, diversidade haplotípica; π , diversidade nucleotídica; D, D de Tajima; F_s, F_s de Fu; R, teste de Mantel; SD, desvio padrão; ES, Espírito Santo; MG, Minas Gerais; RJ, Rio de Janeiro. *, $p < 0,05$.

Tabela 5. Valores de F_{ST} (esquerda e abaixo) e de distância genética (direita a acima; distância p) do gene citocromo b para os clados de *Marmosops incanus*.

	BA	Norte ES	Centro ES 1	Centro ES 2	Sul ES	MG	Rio Doce	RJ	Planalto Paulista
BA	–	0.054	0.052	0.044	0.043	0.051	0.053	0.104	0.093
Norte ES	0.909*	–	0.029	0.034	0.028	0.034	0.31	0.114	0.088
Centro ES 1	0.919*	0.845*	–	0.020	0.017	0.035	0.020	0.123	0.093
Centro ES 2	0.952*	0.893*	0.880*	–	0.012	0.035	0.019	0.114	0.084
Sul ES	0.896*	0.834*	0.776*	0.833*	–	0.034	0.016	0.111	0.092
MG	0.950*	0.884*	0.921*	0.957*	0.930*	–	0.039	0.111	0.087
Rio Doce	NC	NC	NC	NC	NC	NC	–	0.166	0.091
RJ	0.901	0.946*	0.947*	0.965*	0.924*	0.957*	NC	–	0.104
Planalto Paulista	0.966	0.950*	0.966*	0.985*	0.971*	0.982*	NC	0.923	–

ES, Espírito Santo; BA, Bahia; MG, Minas Gerais; RJ, Rio de Janeiro. *, $p < 0,05$.

Tabela 6. Valores de F_{ST} (esquerda e abaixo) e de distância genética (direita a acima; distância p) do gene D-loop para os clados de *Marmosops incanus*.

	BA	Norte ES	Centro ES 1	Centro ES 2	Sul ES	MG	RJ	Planalto Paulista
BA	–	0.029	0.044	0.038	0.035	0.023	0.035	0.046
Norte ES	0.850*	–	0.22	0.031	0.019	0.024	0.056	0.056
Centro ES 1	0.970*	0.851*	–	0.028	0.016	0.043	0.059	0.058
Centro ES 2	0.934*	0.878*	0.941*	–	0.025	0.033	0.040	0.049
Sul ES	0.909*	0.771*	0.912*	0.896*	–	0.035	0.054	0.049
MG	0.932*	0.873*	0.984*	0.951*	0.961*	–	0.053	0.053
RJ	0.928	0.915*	0.990*	0.952*	0.961*	0.983*	–	0.052
Planalto Paulista	0.960	0.929*	0.991*	0.961*	0.964*	0.989*	1.00	–

ES, Espírito Santo; BA, Bahia; MG, Minas Gerais; RJ, Rio de Janeiro. *, $p < 0,05$.

Anexo 1. Lista de espécimes de *Gracilinanus microtarsus*, *Marmosops incanus* e os grupos externos utilizados, com seus respectivos números de tombo ou acesso do GenBank, número de campo e localidade de coleta.

Espécie	Número de tombo ou acesso GenBank	Número de campo	Localidade	Estado	Latitude	Longitude
<i>C. lanatus</i>	U34663.1	-	-	-	-	-
<i>D. aurita</i>	AF089798.1	-	Fazenda União, Casmiro de Abreu	RJ	-	-
<i>G. agilis</i>	-	MP213	Norte de Minas	MG	-	-
<i>G. microtarsus</i>	MBML2716	-	Morro da Vargem, Mosteiro Zen Budista, Ibirapu	ES	-19.8319	-40.3697
<i>G. microtarsus</i>	-	301	Sítio Dilúvio, Reserva Florestal do Morro Grande, Cotia	SP	-23.7302	-47.0117
<i>G. microtarsus</i>	-	343	Reserva Florestal do Morro Grande, Cotia	SP	-23.7302	-47.0117
<i>G. microtarsus</i>	MZUSP29163	-	Estação Biológica Boracéia, Salesópolis	SP	-23,62754	45,869401
<i>G. microtarsus</i>	-	AB186	Sítio Osasco, Tapiraí	SP	-23.9600	-47.5046
<i>G. microtarsus</i>	-	AB32	Sítio Citadini, Ribeirão Grande	SP	-24.0992	-48.3653
<i>G. microtarsus</i>	MN31445	EDH12	Fazenda das Bicas, Lagoa Santa	MG	-19.6272	-43.8897
			Estação de Pesquisa e Desenvolvimento Ambiental de Peti, São Gonçalo do Rio Abaixo		-19.8261	-43.3622
<i>G. microtarsus</i>	MN31447	EDH16		MG		
<i>G. microtarsus</i>	-	FB373	Sítio Paulino, Ribeirão Grande	SP	-24.0992	-48.3653
<i>G. microtarsus</i>	-	FB376	Sítio Taboal, Ribeirão Grande	SP	-24.1805	-48.2390
<i>G. microtarsus</i>	-	FB511	Sítio Valter, Ribeirão Grande	SP	-24.1805	-48.2390
<i>G. microtarsus</i>	-	LBCE4093	Pedra Branca-Colônia, Rio de Janeiro	RJ	-22,9405	-43,4805
<i>G. microtarsus</i>	-	LBCE6650	Teresópolis	RJ	-22,4123	-42,9664
<i>G. microtarsus</i>	KF313982.1	LBCE6655	Teresópolis	RJ	-22,4123	-42,9664
<i>G. microtarsus</i>	-	LBCE6662	Teresópolis	RJ	-22,4123	-42,9664
<i>G. microtarsus</i>	UFES-CTA1051	LC1	Cruzeiro, Santa Rita de Jacutinga	MG	-22.0833	-44.0333
<i>G. microtarsus</i>	UFES-CTA1052	LC2	Cruzeiro, Santa Rita de Jacutinga	MG	-22.0833	-44.0333
<i>G. microtarsus</i>	-	LGA1326	Parque Nacional do Caparaó, Dolores do Rio Preto	ES	-20,4802	-41,8038
<i>G. microtarsus</i>	MN69846	LP40	Vila Dois Rios, Ilha Grande	RJ	-23.0067	-44.3181
<i>G. microtarsus</i>	-	LPC805	Floresta Nacional de Ipanema, Sorocaba	SP	-23,4352	-47,6280
<i>G. microtarsus</i>	-	LPC820	Floresta Nacional de Ipanema, Sorocaba	SP	-23,4352	-47,6280
<i>G. microtarsus</i>	-	LPC821	Floresta Nacional de Ipanema, Sorocaba	SP	-23,4352	-47,6280
<i>G. microtarsus</i>	-	LPC822	Floresta Nacional de Ipanema, Sorocaba	SP	-23,4352	-47,6280
<i>G. microtarsus</i>	-	LPC823	Floresta Nacional de Ipanema, Sorocaba	SP	-23,4352	-47,6280
<i>G. microtarsus</i>	-	LPC915	Parque Aggeio Pio Sobrinho, Belo Horizonte	MG	-19.98083	-43.9708
<i>G. microtarsus</i>	-	LPC950	Mata da Pedra do Camelo, Pancas	ES	-19.2375	-40,7969
<i>G. microtarsus</i>	-	LPC961	Mata da Pedra do Camelo, Pancas	ES	-19.2375	-40,7969
<i>G. microtarsus</i>	-	LPC963	Mata da Pedra do Camelo, Pancas	ES	-19.2375	-40,7969
<i>G. microtarsus</i>	-	LPC972	Mata da Pedra do Camelo, Pancas	ES	-19.2375	-40,7969

<i>G. microtarsus</i>	-	LPC1074	Reserva Biológica Duas Bocas, Cariacica	ES	-20.2811	-40.5219
<i>G. microtarsus</i>	-	LPC1091	Reserva Biológica Duas Bocas, Cariacica	ES	-20.2811	-40.5219
<i>G. microtarsus</i>	-	LPC1092	Reserva Biológica Duas Bocas, Cariacica	ES	-20,2811	-40,5219
<i>G. microtarsus</i>	-	LPC1098	Reserva Biológica Duas Bocas, Cariacica	ES	-20,2811	-40,5219
<i>G. microtarsus</i>	-	LPC1112	Reserva Biológica Duas Bocas, Cariacica	ES	-20,2811	-40,5219
<i>G. microtarsus</i>	-	LPC1113	Reserva Biológica Duas Bocas, Cariacica	ES	-20,2811	-40,5219
<i>G. microtarsus</i>	-	LPC1204	Ribeira, Viana	ES	-20.3769	-40.4583
<i>G. microtarsus</i>	-	LPC1361	Sapucaia (ou Pinheiros), Alegoria, São José do Calçado	ES	-21.0425	-41,7191
<i>G. microtarsus</i>	-	LPC1372	Sapucaia (ou Pinheiros), Alegoria, São José do Calçado	ES	-21.0425	-41,7191
<i>G. microtarsus</i>	-	LPC1373	Sapucaia (ou Pinheiros), Alegoria, São José do Calçado	ES	-21.0425	-41,7191
<i>G. microtarsus</i>	-	LPC1377	Sapucaia (ou Pinheiros), Alegoria, São José do Calçado	ES	-21,0425	-41,7191
<i>G. microtarsus</i>	-	LPC1410	Sítio Pedra D'Água, Área de Proteção Ambiental do Mestre Álvaro, Serra	ES	-20,1400	-40,3200
<i>G. microtarsus</i>	-	LPC1447	Parque Estadual do Forno Grande, Castelo	ES	-20,5157	41,085500
<i>G. microtarsus</i>	-	LPC1484	Parque Estadual do Forno Grande, Castelo	ES	-20,5157	41,085500
<i>G. microtarsus</i>	-	MP6	Universidade Federal de Lavras, Lavras	MG	-21.2453	-44.9997
<i>G. microtarsus</i>	-	MP54	Universidade Federal de Lavras, Lavras	MG	-21.2453	-44.9997
<i>G. microtarsus</i>	-	MP61	Universidade Federal de Lavras, Lavras	MG	-21.2453	-44.9997
<i>G. microtarsus</i>	-	MP63	Universidade Federal de Lavras, Lavras	MG	-21.2453	-44.9997
<i>G. microtarsus</i>	-	MP78	Universidade Federal de Lavras, Lavras	MG	-21.2453	-44.9997
<i>G. microtarsus</i>	-	MP79	Universidade Federal de Lavras, Lavras	MG	-21.2453	-44.9997
<i>G. microtarsus</i>	-	MP128	Serra do Carrapato, Lavras	MG	-21.2875	-44,983
<i>G. microtarsus</i>	-	MP329	Aiuruoca	MG	-21.9756	-44.6031
<i>G. microtarsus</i>	-	MP489	Itamonte	MG	-22.2839	-44.8700
<i>G. microtarsus</i>	-	MP499	Itamonte	MG	-22.2839	-44.8700
<i>G. microtarsus</i>	-	MP513	Itamonte	MG	-22.2839	-44.8700
<i>G. microtarsus</i>	-	MP538	Tiradentes	MG	-21.1103	-44.1781
<i>G. microtarsus</i>	-	RM04	Parque do Caraça, Santa Bárbara	MG	19.960119	43.414892
<i>G. microtarsus</i>	-	TAX15	Reserva Natural da Vale, Sooretama	ES	-19.1969	-40.0978
<i>G. microtarsus</i>	-	YL237	Estação Biológica de Santa Lúcia, Santa Teresa	ES	-19.9650	-40.5397
<i>G. microtarsus</i>	UFES-CTA831	YL240	Parque Estadual de Pedra Azul, Domingos Martins	ES	-20.4000	-40.9666
<i>G. microtarsus</i>	-	YL419	Mata da Lagoa, Sítio Krok, Águia Branca	ES	-18,9797	-40,7469
<i>G. microtarsus</i>	-	YL420	Mata da Lagoa, Sítio Krok, Águia Branca	ES	-18,9797	-40,7469
<i>G. microtarsus</i>	-	YL428	Mata da Lagoa, Sítio Krok, Águia Branca	ES	-18,9797	-40,7469
<i>G. microtarsus</i>	-	YL438	Mata da Lagoa, Sítio Krok, Águia Branca	ES	-18,9797	-40,7469
<i>G. microtarsus</i>	-	YL439	Mata da Lagoa, Sítio Krok, Águia Branca	ES	-18,9797	-40,7469
<i>G. microtarsus</i>	-	YL515	Fazenda do Zequinha Manduca, Águia Branca	ES	-18.8747	-40.8138

<i>G. microtarsus</i>	-	YL648	Estação Biológica de Santa Lúcia, Santa Teresa	ES	-19,9650	-40,5394
<i>G. microtarsus</i>	-	YL736	Estação Biológica de Santa Lúcia, Santa Teresa	ES	-19,9650	-40,5394
<i>G. microtarsus</i>	-	YL737	Estação Biológica de Santa Lúcia, Santa Teresa	ES	-19,9650	-40,5394
<i>G. microtarsus</i>	-	YL738	Estação Biológica de Santa Lúcia, Santa Teresa	ES	-199.650	-40,5394
<i>G. microtarsus</i>	-	YL740	Estação Biológica de Santa Lúcia, Santa Teresa	ES	-19,9650	-40,5394
<i>M. murina</i>	AJ487101.1	-	Kourou, Guiana Francesa	-	-	-
<i>M. murina</i>	KF313985.1	CRB2100	Barcelos	AM	-	-
<i>M. incanus</i>	-	710	Sítio Gigante, Reserva Florestal do Morro Grande, Cotia	SP	-23.6040	-46.9192
<i>M. incanus</i>	-	AB206	Sítio Antenor, Tapiraí	SP	-23.6041	-47.5072
<i>M. incanus</i>	-	AB271	Sítio Fuzuê, Tapiraí	SP	-23.6041	-47.5072
<i>M. incanus</i>	-	JG27	Jaguaripe	BA	-23.6063	-38,8892
<i>M. incanus</i>	-	LBCE16103	Vila Dois Rios, Ilha Grande	RJ	-23.6094	-44.3181
<i>M. incanus</i>	-	LBCE16112	Vila Dois Rios, Ilha Grande	RJ	-23.6095	-44.3181
<i>M. incanus</i>	-	LC49	Parque do Caraça, Santa Bárbara	MG	-23.6088	-43,5000
<i>M. incanus</i>	-	LC81	Estação Ecológica de Acauã, Turmalina	MG	-23.6089	-42,7666
<i>M. incanus</i>	-	LGA951	Domingos Martins	ES	-23.6068	-40.9666
<i>M. incanus</i>	-	LGA970	Domingos Martins	ES	-23.6069	-40.9666
<i>M. incanus</i>	-	LGA1227	Parque Nacional do Caparaó, Dolores do Rio Preto	ES	-23.6064	-41.8084
<i>M. incanus</i>	-	LGA3155	Reserva Biológica Córrego do Veado, Pinheiros	ES	-23.6065	-40,1416
<i>M. incanus</i>	-	LGA3168	Reserva Biológica Córrego do Veado, Pinheiros	ES	-23.6066	-40,1416
<i>M. incanus</i>	-	LGA3201	Reserva Biológica Córrego do Veado, Pinheiros	ES	-23.6067	-40,1416
<i>M. incanus</i>	-	LPC201	Fazenda Santa Rita, Andaraí	BA	-23.6087	-41.2613
<i>M. incanus</i>	UFES-CTA1191	LPC231	Fazenda Santa Rita, Andaraí	BA	-23.6042	-41,2613
<i>M. incanus</i>	-	LPC910	Parque das Mangabeiras, Belo Horizonte	MG	-23.6076	-43.9378
<i>M. incanus</i>	UFES-CTA791	LPC921	Estação Biológica de Santa Lúcia, Santa Teresa	ES	-23.6056	-40,5250
<i>M. incanus</i>	UFES-CTA208	LPC943	Mata da Pedra do Camelo, Pancas	ES	-23.6048	-40,7969
<i>M. incanus</i>	UFES-CTA203	LPC958	Córrego Palmital, Mata dos Stur, Pancas	ES	-23.6085	-40,7952
<i>M. incanus</i>	UFES-CTA124	LPC967	Córrego Palmital, Mata dos Stur, Pancas	ES	-23.6043	-40,7952
<i>M. incanus</i>	-	LPC1080	Reserva Biológica Duas Bocas, Cariacica	ES	-23.6090	-40,5219
<i>M. incanus</i>	UFES-CTA413	LPC1123	Reserva Biológica Duas Bocas, Cariacica	ES	-23.6049	-40,5219
<i>M. incanus</i>	UFES-CTA424	LPC1135	Reserva Biológica Duas Bocas, Cariacica	ES	-23.6051	-40,5219
<i>M. incanus</i>	UFES-CTA423	LPC1160	Reserva Biológica Duas Bocas, Cariacica	ES	-23.6050	-40,5219
<i>M. incanus</i>	UFES-CTA666	LPC1183	Ribeira, Viana	ES	-23.6053	-40,4583
<i>M. incanus</i>	UFES-CTA665	LPC1190	Ribeira, Viana	ES	-23.6052	-40,4583
<i>M. incanus</i>	-	LPC1275	Floresta Nacional do Rio Preto, Conceição da Barra	ES	-23.6070	-39.8225
<i>M. incanus</i>	-	LPC1276	Floresta Nacional do Rio Preto, Conceição da Barra	ES	-23.6071	-39.8225
<i>M. incanus</i>	-	LPC1294	Floresta Nacional do Rio Preto, Conceição da Barra	ES	-23.6072	-39.8225

<i>M. incanus</i>	-	LPC1362	Sapucaia (ou Pinheiros), Alegoria, São José do Calçado	ES	-23.6073	-41.7191
<i>M. incanus</i>	-	LPC1384	Sapucaia (ou Pinheiros), Alegoria, São José do Calçado	ES	-23.6074	-41.7191
<i>M. incanus</i>	-	LPC1388	Pirineus, Airituba	ES	-23.6075	-41.6708
<i>M. incanus</i>	-	LPC1421	Parque Estadual do Forno Grande, Castelo	ES	-23.6100	-41,0855
<i>M. incanus</i>	-	LPC1432	Parque Estadual do Forno Grande, Castelo	ES	-23.6099	-41,0855
<i>M. incanus</i>	MZUSP29173	MAM186	Ibicuí	RJ	-23.6096	-44,0333
<i>M. incanus</i>	-	MP126	Mata Triste, Minduri	MG	-23.6077	-44.6039
<i>M. incanus</i>	-	MP348	Santo Antônio do Amparo	MG	-23.6092	-44.9189
<i>M. incanus</i>	-	MP425	Tiradentes	MG	-23.6078	-44.1781
<i>M. incanus</i>	-	MP550	Tiradentes	MG	-23.6079	-44.1781
<i>M. incanus</i>	-	MP551	Tiradentes	MG	-23.6080	-44.1781
<i>M. incanus</i>	UFES-CTA669	SLF264	Pimenta, Viana	ES	-23.6054	-40,4683
<i>M. incanus</i>	UFES-CTA910	YL40	Fazenda Santa Terezinha, Linhares	ES	-23.6060	-39,9500
<i>M. incanus</i>	UFES-CTA948	YL84	Parque Estadual do Rio Doce, Marliéria	MG	-23.6061	-42,6500
<i>M. incanus</i>	UFES-CTA953	YL91	Parque Estadual do Rio Doce, Marliéria	MG	-23.6062	-42,6500
<i>M. incanus</i>	UFES-CTA832	YL239	Parque Estadual de Pedra Azul, Domingos Martins	ES	-23.6057	-40,9666
<i>M. incanus</i>	UFES-CTA833	YL241	Parque Estadual de Pedra Azul, Domingos Martins	ES	-23.6058	-40,9666
<i>M. incanus</i>	UFES-CTA835	YL242	Parque Estadual de Pedra Azul, Domingos Martins	ES	-23.6059	-40,9666
<i>M. incanus</i>	UFES-CTA782	YL251	Estação Biológica de Santa Lúcia, Santa Teresa	ES	-23.6055	-40,5397
<i>M. incanus</i>	UFES-CTA130	YL336	Fazenda Lacerda, Águas Claras, Águia Branca	ES	-23.6044	-40,7705
<i>M. incanus</i>	UFES-CTA192	YL346	Mata Norte, Sítio Krok, Águia Branca	ES	-23.6047	-40,7463
<i>M. incanus</i>	UFES-CTA131	YL355	Fazenda Lacerda, Águas Claras, Águia Branca	ES	-23.6045	-40,7705
<i>M. incanus</i>	UFES-CTA190	YL387	Mata Norte, Sítio Krok, Águia Branca	ES	-23.6046	-40,7463
<i>M. incanus</i>	-	YL444	Estação Biológica de Santa Lúcia, Santa Teresa	ES	-23.6091	-40,5397
<i>M. incanus</i>	-	YL693	Reserva Biológica de Sooretama, Sooretama	ES	-23.6081	-40,1452
<i>M. incanus</i>	-	YL696	Reserva Biológica de Sooretama, Sooretama	ES	-23.6082	-40,1452
<i>M. incanus</i>	-	YL728	Reserva Biológica de Sooretama, Sooretama	ES	-23.6083	-40,1452
<i>M. incanus</i>	-	YL733	Reserva Biológica de Sooretama, Sooretama	ES	-23.6084	-40,1452
<i>M. incanus</i>	-	YL841	Sítio Pedra D'Água, Área de Proteção Ambiental do Mestre Álvaro, Serra	ES	-23.6098	-40,3145
<i>M. incanus</i>	-	YL848	Sítio Pedra D'Água, Área de Proteção Ambiental do Mestre Álvaro, Serra	ES	-23.6098	-40,3145
<i>M. paulensis</i>	-	LGA1339	Parque Nacional do Caparaó, Dores do Rio Preto	ES	-20.4802	-41.8038
<i>M. nudicaudatus</i>	AJ639866.1	-	-	-	-	-

AB/FB, Renata Pardini; LBCE, Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Reservatórios; LC/LPC, Leonora Pires Costa; LGA, Laboratório de Genética Animal; MBML, Museu de biologia Professo Mello Leitão; MN, Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro; MP, Marcelo Passamani; RM, Raquel Moura; UFES-CTA, Coleção de Tecidos Animais da Universidade Federal do Espírito Santo; YL, Yuri Leite.

Anexo 2. *Primers* de citocromo b (citb) e D-loop utilizados no presente estudo com suas respectivas seqüências e temperaturas de anelamento (Ta).

Gene	Primer	Seqüência	Ta	Referência
citb	MVZ05	5'-CGAAGCTTGATATGAAAAACCATCGTTG-3'	48 °C	Smith e Patton, 1993
citb	MVZ16	5'-AAA TAGGAARTATCAYTCTGGTTTRAT-3'	48 °C	Smith e Patton, 1993
D-loop	L0	5'-CCCAAAGCTGAAATTCTACTTAAACTA-3'	54 °C	Huchon <i>et al.</i> , 1999
D-loop	E3	5'-A-TGACCCTGAAGAAASAACCAG-3'	54 °C	Huchon <i>et al.</i> , 1999

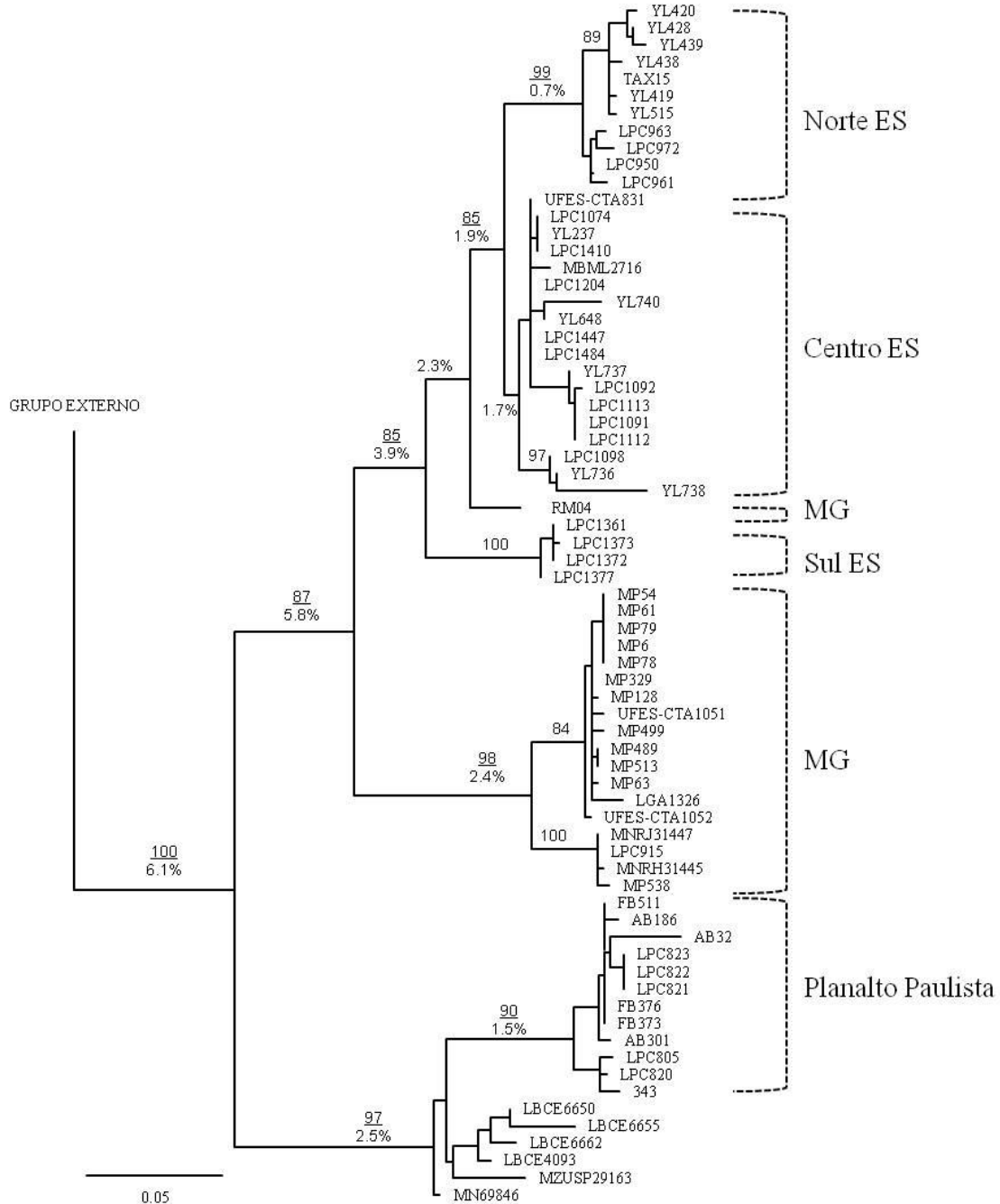
Anexo 3. Taxa de mutação do gene citocromo b e número de gerações para cada clado de *Gracilinanus microtarsus* utilizados na *Bayesian Skyline Plot*.

Clados	Taxa de mutação (milhões de anos)	Nº gerações (milhões)
Norte ES + Centro ES + Caraça + Sul ES + MG	0.0193	20
Norte ES + Centro ES + Caraça + Sul ES	0.0121	20
MG	0.0151	10
Planalto Paulista + RJ	0.0179	10

Anexo 4. Taxa de mutação do gene citocromo b e número de gerações para cada clado de *Marmosops incanus* utilizados na *Bayesian Skyline Plot*.

Clados	Taxa de mutação (milhões de anos)	Nº gerações (milhões)
Norte ES + Centro ES 1 + Centro ES 2 + Sul ES + Rio Doce + MG + BA	0.0338	430
Norte ES + Centro ES 1 + Centro ES 2 + Sul ES + Rio Doce + MG	0.018	330
Centro ES 1 + Centro ES 2 + Sul ES + Rio Doce	0.006	600
Norte ES + MG	0.0076	30

Anexo 5. Árvore de Máxima Verossimilhança do gene citocromo b para *Gracilinanus microtarsus*. Valores acima dos traços indicam os grupos com *bootstrap* acima de 80%; valores abaixo dos traços indicam a divergência genética (%) entre os clados. ES, Espírito Santo; MG, Minas Gerais; RJ, Rio de Janeiro.



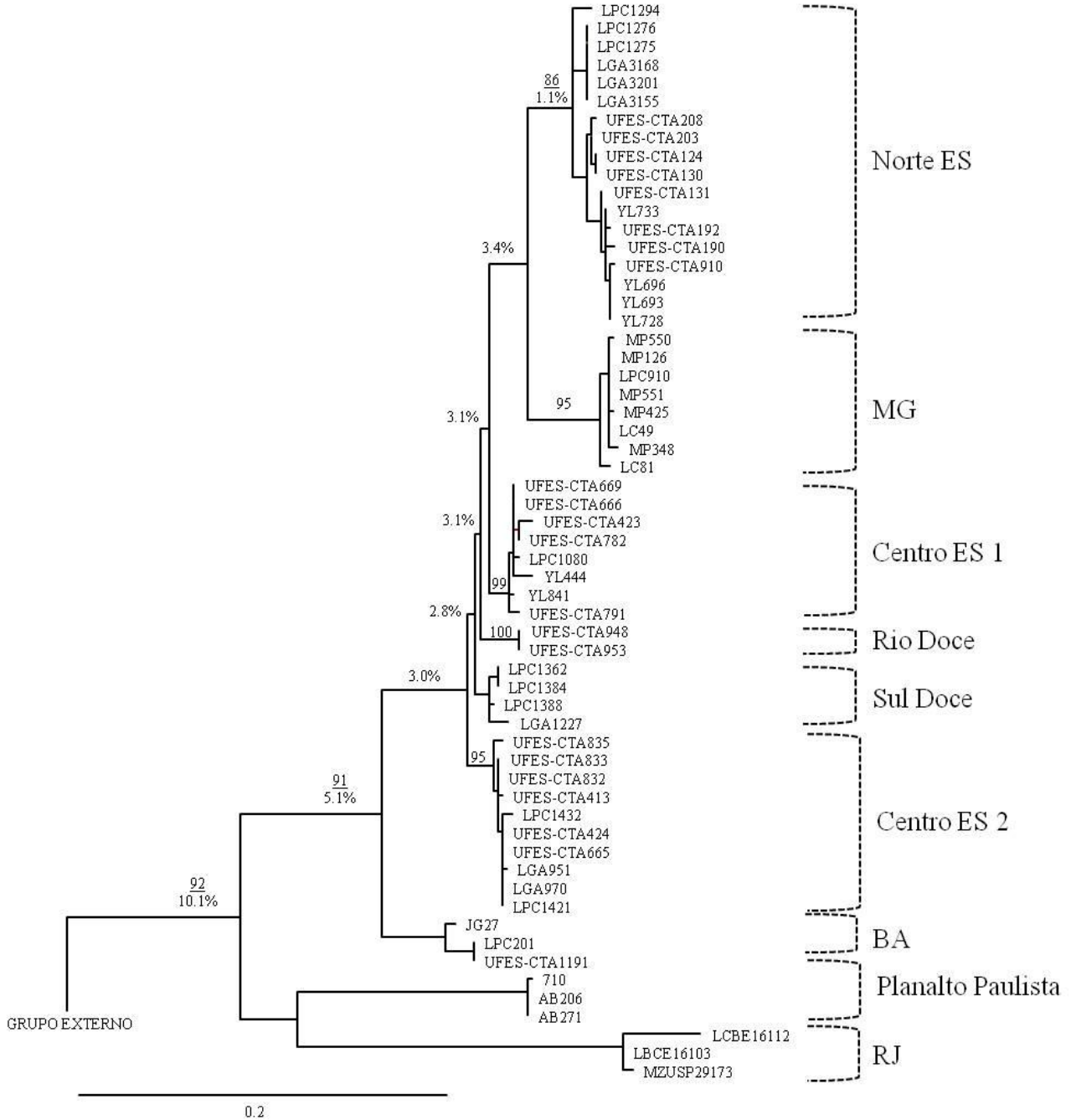
Anexo 6. Lista de identificação dos haplótipos de *Gracilinanus microtarsus* e *Marmosops incanus*.

Espécie	Haplótipo	Identificação
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap1	MBML 2716; UFES-CTA 831; LPC 1204; LPC 1484; LPC 1447
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap2	UFES-CTA 1051
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap3	UFES-CTA 1052
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap4	MN 31445; MN 31447; LPC 915
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap5	MN 69846
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap6	LGA 1326
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap7	TAX 15; YL 420; YL 428; YL 438; YL 439; YL 515
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap8	RM 04
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap9	MP 54; MP 6; MP 61; MP 78; MP 79
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap10	MP 63
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap11	MP 128; MP 329; MP 489; MP 513
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap12	MP 499
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap13	MP 538
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap14	AB 32
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap15	AB 186
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap16	301
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap17	343
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap18	FB 373; FB 376; FB 511
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap19	LBCE 4093
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap20	LBCE 6650; LBCE 6655
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap21	LBCE 6662
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap22	LPC 1074; YL 237; LPC 1410
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap23	YL 419
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap24	YL 736
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap25	YL 737
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap26	YL 738
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap27	YL 740
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap28	YL 648
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap29	LPC 805
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap30	LPC 820
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap31	LPC 821; LPC 822; LPC 823
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap32	LPC 950; LPC 961; LPC 963
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap33	LPC 972
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap34	LPC 1091; LPC 1092; LPC 1112; LPC 1113
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap35	LPC 1098
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap36	LPC 1361; LPC 1372; LPC 1373
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap37	LPC 1377
<i>Gracilinanus microtarsus</i>	Hap38	MZUSP 29163
<i>Marmosops incanus</i>	Hap1	LPC 910; MP 126; MP 550; MP 551; LC49
<i>Marmosops incanus</i>	Hap2	LC 81
<i>Marmosops incanus</i>	Hap3	UFES-CTA 1191; LPC 201
<i>Marmosops incanus</i>	Hap4	LPC 1080
<i>Marmosops incanus</i>	Hap5	LGA 3155; LGA 3168; LGA 3201; LPC 1275; LPC 1276

<i>Marmosops incanus</i>	Hap6	LPC 1294
<i>Marmosops incanus</i>	Hap7	LPC 1362; LPC 1384
<i>Marmosops incanus</i>	Hap8	LPC 1388
<i>Marmosops incanus</i>	Hap9	UFES-CTA 124; UFES-CTA 130
<i>Marmosops incanus</i>	Hap10	UFES-CTA 131; UFES-CTA 192; YL 733
<i>Marmosops incanus</i>	Hap11	UFES-CTA 190
<i>Marmosops incanus</i>	Hap12	UFES-CTA 203; UFES-CTA 208
<i>Marmosops incanus</i>	Hap13	UFES-CTA 413; UFES-CTA 424; UFES-CTA 665; UFES-CTA 832; UFES-CTA 833; LGA 970; LPC 1421
<i>Marmosops incanus</i>	Hap14	UFES-CTA 423
<i>Marmosops incanus</i>	Hap15	UFES-CTA 666; UFES-CTA 6669
<i>Marmosops incanus</i>	Hap16	UFES-CTA 782
<i>Marmosops incanus</i>	Hap17	UFES-CTA 791
<i>Marmosops incanus</i>	Hap18	UFES-CTA 835
<i>Marmosops incanus</i>	Hap19	UFES-CTA 910
<i>Marmosops incanus</i>	Hap20	UFES-CTA 948; UFES-CTA 953
<i>Marmosops incanus</i>	Hap21	YL 444
<i>Marmosops incanus</i>	Hap22	YL 693; YL 696; YL 728
<i>Marmosops incanus</i>	Hap23	LGA 951
<i>Marmosops incanus</i>	Hap24	LGA 1227
<i>Marmosops incanus</i>	Hap25	JG 27
<i>Marmosops incanus</i>	Hap26	AB 271; AB 206
<i>Marmosops incanus</i>	Hap27	710
<i>Marmosops incanus</i>	Hap28	MP 348
<i>Marmosops incanus</i>	Hap29	MP 425
<i>Marmosops incanus</i>	Hap30	LBCE 16103
<i>Marmosops incanus</i>	Hap31	LBCE 16112
<i>Marmosops incanus</i>	Hap32	MZUSP 29173
<i>Marmosops incanus</i>	Hap33	YL 841
<i>Marmosops incanus</i>	Hap34	LPC 1432

AB/FB, Renata Pardini; LBCE, Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Reservatórios; LC/LPC, Leonora Pires Costa; LGA, Laboratório de Genética Animal; MBML, Museu de biologia Professor Mello Leitão; MN, Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro; MP, Marcelo Passamani; RM, Raquel Moura; UFES-CTA, Coleção de Tecidos Animais da Universidade Federal do Espírito Santo; YL, Yuri Leite.

Anexo 7. Árvore de Máxima Verossimilhança do gene citocromo b para *Marmosops incanus*. Valores acima dos traços indicam os grupos com *bootstrap* acima de 80%; valores abaixo dos traços indicam a divergência genética (%) entre os clados. ES, Espírito Santo; MG, Minas Gerais; RJ, Rio de Janeiro.



Anexo 8. Árvore de Máxima Verossimilhança do gene D-loop para *Marmosops incanus*. Valores acima dos traços indicam os grupos com *bootstrap* acima de 80%; valores abaixo dos traços indicam a divergência genética (%) entre os clados. ES, Espírito Santo; MG, Minas Gerais; Norte/ Sul Doce, Margem Norte/ Sul do Rio Doce; RJ, Rio de Janeiro; SP, São Paulo.

