

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

**Estrutura genética do marsupial *Marmosops incanus*  
em paisagens de Mata Atlântica no Espírito Santo**

**João Luiz Guedes da Fonseca**

Vitória, ES  
Fevereiro, 2017

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

**Estrutura genética do marsupial *Marmosops incanus*  
em paisagens de Mata Atlântica no Espírito Santo**

**João Luiz Guedes da Fonseca**

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  
Fevereiro, 2017

## Agradecimentos

Nesses dois anos de duração de um programa de mestrado, são muitas as pessoas que nos ajudam e sem as quais esse trabalho não seria viável. Aprendi muito com muitas pessoas, todas brilhantes no que fazem. Depois de dois anos, muitos nomes devem ser mencionados, se a memória ajudar, espero que todas sejam aqui citadas com a justiça que merecem.

Eu agradeço em primeiro lugar à minha incrível companheira e esposa, Samyra, que sempre que podia dedicava seu tempo a me acalmar - e me pressionar ao mesmo tempo - quando os prazos apertavam e sempre confiou na minha capacidade de completar os desafios com sucesso. Não menos importante, agradeço aos meus pais José Luiz e Nice, minha irmã Lorraine, e demais familiares que sempre apoiaram minha educação e permitiram que hoje eu esteja prestes a defender minha dissertação de mestrado. Agradeço a todos os meus amigos pelo companheirismo e suporte em todos os momentos, em especial a Ricieri, que deposita uma confiança em habilidades nas quais eu mesmo desconfio que possuo.

A todas as pessoas que dedicaram seu tempo para me ensinar algo novo, ofereço os meus sinceros agradecimentos. Em especial, a todos os meus professores, não só durante o período de mestrado, mas durante toda a minha vida acadêmica, pois sem eles eu não chegaria até aqui. A meu professor e orientador Yuri por toda paciência e tempo dedicado às reuniões comigo, mesmo não tendo esse tempo, e pelos insights inspiradores que sempre apareceram em todas as nossas conversas. À minha professora e colega de laboratório Carol, que me ensinou muito do que eu precisava para terminar esse trabalho. A todos os meus demais professores. Agradeço aos meus colegas de laboratório, que sempre estavam dispostos a me ajudar nas mais diversas dificuldades que encontrei, em especial Ana Heloísa, Victor, Roger, aos para sempre lamabianos, mesmo estando longe, Jeronymo, Alan e Edú, e também a todos os meus colegas de outros laboratórios.

Não tenho palavras para agradecer o quanto a Juliana, oráculo não oficial do núcleo, me ensinou e me ajudou na coleta de dados. Sem ela, eu não teria nada para analisar. Outra pessoa a quem eu devo enormemente meu aprendizado é Thiony Simon, que me ensinou tudo que eu precisava saber sobre microssatélites e foi um excelente professor na minha zoologia de campo. Uma pessoa que eu admiro muito e que infelizmente não está mais entre nós.

Agradeço à técnica da coleção de tecidos e de mamíferos Monique por toda a ajuda em procurar e identificar espécimes na coleção e me ceder a maioria das amostras que eu utilizei aqui. Agradeço também à Leonora Pires Costa, curadora da Coleção de Tecidos Animais da Universidade Federal do Espírito Santo (CTA-UFES) e Valéria Fagundes por terem cedido amostras essenciais para as conclusões que eu obtive nesse trabalho.

Agradeço a todas as pessoas que me ajudaram e apoiaram, direta ou indiretamente, por esses dois anos que, mesmo não os citando aqui nominalmente, recebem de mim meus mais sinceros agradecimentos e estima.

Agradeço aos membros da banca de defesa: Lena Geise, Ana Paula C. Farro, Sarah M. Vargas e Vilacio Caldara Júnior. Por fim, agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado, à Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) pelos financiamentos e à Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) pela infraestrutura de pesquisa.

# Sumário

AGRADECIMENTOS .....	3
RESUMO .....	5
INTRODUÇÃO.....	6
MATERIAIS E MÉTODOS .....	7
Região de estudo e amostragem .....	7
Marcadores e controle de qualidade da genotipagem .....	8
Estrutura populacional e quantificação da variação genética .....	9
Diversidade e divergência genética .....	9
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	10
Diversidade e diferenciação genética .....	10
Fragmentos pequenos conectados ou grandes isolados? .....	13
Os caminhos do fluxo gênico e suas implicações para conservação e manejo.....	17
REFERÊNCIAS .....	18
MATERIAL SUPLEMENTAR.....	22

## Resumo

A estrutura, a configuração e a quantidade de hábitat disponível no ambiente ajudam a determinar a viabilidade genética de uma população ou espécie. Em genética da paisagem, conceitos de ecologia da paisagem e genética de populações são utilizados em conjunto para avaliar a conectividade estrutural do ambiente de modo a permitir o entendimento da conectividade funcional de populações na paisagem. *Marmosops incanus* é um marsupial didelfídeo dependente de floresta com ampla distribuição no bioma Mata Atlântica que é encontrada em maior abundância em ambiente de floresta contínua em algumas regiões, mas em ambientes mais fragmentados em outras regiões, como no Espírito Santo. Nesse trabalho, comparamos a estrutura genética de *M. incanus* em paisagens de Mata Atlântica do Espírito Santo através de técnicas de isolamento por resistência com o objetivo de se identificar a conectividade genética e possíveis rotas de fluxo gênico entre as populações. Utilizamos oito loci de marcadores microssatélite para avaliar a estrutura, divergência e diversidade genética em 13 localidades. Também testamos a hipótese de que a quantidade de floresta nas diferentes paisagens é determinante para a diversidade e distinção genética da espécie. *Marmosops incanus* está estruturada em seis agrupamentos genéticos distintos: quatro ao norte do rio Doce que apresentaram maior isolamento genético, e dois ao sul, incluindo o maior agrupamento (denominado Centro-Sul), formado por seis localidades com grande fluxo gênico e valores altos de riqueza alélica. Os resultados obtidos apontam para respostas genéticas diferenciadas da espécie à fragmentação ao norte e ao sul do Rio Doce. No geral, populações de *M. incanus* em ambientes de floresta contínua ao norte estão mais isoladas geneticamente do que populações em hábitats mais fragmentadas no sul estado. Os mapas das possíveis rotas de fluxo gênico indicam que isso se deve principalmente à configuração dos fragmentos remanescentes. Deve-se exercer cautela ao extrapolar resultados de genética da paisagem encontrados em uma região para outra e que a configuração do hábitat na paisagem é mais determinante para a saúde genética de espécies florestais do que a quantidade de hábitat.

**Palavras-chave:** conectividade, Didelphidae, isolamento por resistência, genética da paisagem, microssatélites.

## Introdução

A transformação de um ambiente contínuo em um com fragmentos cada vez menores e mais distantes uns dos outros faz com que grupos de indivíduos percam ou tenham dificuldade de acesso aos recursos importantes para sua sobrevivência. Fragmentação de hábitat exerce sérios efeitos negativos em populações naturais e esse processo é considerado um dos maiores desafios para a conservação da biodiversidade (Segelbacher et al. 2010). Populações sob estresse ambiental que sofrem com os efeitos de perda de hábitat e diminuição da oferta e variedade de alimentos e abrigo tornam-se pequenas e isoladas, tendem a apresentar maiores níveis de endogamia e estão mais susceptíveis aos efeitos negativos de mudanças ambientais pela perda de diversidade genética, o que torna o risco de extinção mais acentuado (Fahrig 2003).

O estado atual da Mata Atlântica, um dos mais importantes *hotspots* da biodiversidade mundial (Myers et al. 2000), é de fragmentação extrema. Apesar de alguns trabalhos indicarem que o ritmo de degradação diminuiu, a quantidade remanescente de ambientes naturais e o nível de conectividade são muito baixos (Ribeiro et al. 2009). Os fragmentos remanescentes são geralmente isolados por matrizes de ambiente inóspito para a movimentação de várias espécies, dificultando ou impedindo a movimentação de indivíduos de um fragmento para outro.

Atualmente, os maiores esforços em conservação da biodiversidade estão concentrados na manutenção da conectividade dos ambientes já fragmentados e não exatamente na recuperação de ambientes ancestrais (Beier et al. 2011). Ambientes devidamente conectados, ainda que fragmentados, podem permitir o fluxo gênico relativamente livre. Isso resulta em uma diminuição dos níveis de endogamia e um progressivo aumento da viabilidade das populações de uma espécie. Portanto, estudos que visem esclarecer o estado atual da conectividade efetiva de paisagens possuem uma grande importância ao trazer informação e objetividade às políticas públicas de conservação (Rayfield et al. 2011).

O conhecimento atual sobre efeitos da fragmentação da Mata Atlântica encontra-se compartimentalizado em diferentes disciplinas que basicamente buscam respostas para as mesmas perguntas básicas e existe pouco diálogo entre pesquisas nas áreas de ecologia e genética. Em ecologia da paisagem, busca-se principalmente a identificação aspectos de conectividade estrutural de ambientes fragmentados, mas o efeito genético dos processos de fragmentação não é levado em consideração (Holderegger & Wagner 2006). Em genética de populações, busca-se entender aspectos relativos à conectividade funcional do ambiente, diferentes aspectos da paisagem são tratados como variáveis pouco relevantes e na maioria das vezes, somente a distância geográfica entre as amostras é levada em consideração (Holderegger & Wagner 2008). Para tanto, a genética da paisagem (Manel et al. 2003) é uma disciplina que surgiu propondo um esforço integrado em técnicas de ecologia da paisagem e genética de populações com vistas a suprir o que é ausente nas duas. Essa disciplina é especialmente promissora ao conseguir respostas multidisciplinares para questões que envolvam fragmentação. A genética da paisagem não consiste em um conjunto específico de técnicas, mas sim em uma mudança de paradigma, uma nova série de diretrizes a serem seguidas para estudos que visam a conservação da biodiversidade (Storfer et al. 2007).

Pequenos mamíferos são um bom modelo para estudos ecológicos e genéticos na escala da paisagem devido ao pequeno tamanho corporal, baixa vagilidade, grande abundância (Vieira et al. 2009) e pela sensibilidade às transformações da paisagem induzidas pelo homem (Ruiz-Gonzalez et al. 2015). Muitos pequenos mamíferos, principalmente os arborícolas, são dependentes de florestas e a consequência da perda de áreas florestais é a redução da abundância, de diversidade genética, ou mesmo a extinção local de várias espécies (Figueiredo & Fernandez 2004). Vários trabalhos

ecológicos identificaram que as respostas de pequenos mamíferos à fragmentação da Mata Atlântica podem não ser universais para todos os táxons e que podem variar também de acordo com a região amostrada (Brito & Fernandez 2002; Olifiers et al. 2004; Pardini 2004; Pardini et al. 2005). Esse parece ser o caso do pequeno marsupial didelfídeo *Marmosops incanus*, de hábito escansorial e dependente de floresta, que possui área de vida de aproximadamente 0,9 ha (Passamani & da Rosa 2015). No Rio de Janeiro, *M. incanus* é encontrado em maior abundância em fragmentos periurbanos e perirrurais e do que em floresta contínua (Vieira et al. 2009). No Espírito Santo (Passamani & Fernandez 2011b), *M. incanus* apresentou maior abundância em fragmentos menores, sendo bastante resiliente aos efeitos de fragmentação, atravessando matrizes diversas, como plantações de eucalipto e café (Passamani & Ribeiro 2009; Passamani & Fernandez 2011a). Já em São Paulo e no sul da Bahia, *M. incanus* foi encontrado em maior abundância em fragmentos maiores e de floresta madura e contínua (Pardini 2004; Pardini et al. 2005). Também em São Paulo, populações dessa espécie apresentaram menor diversidade genética e maiores valores de divergência genética em regiões fragmentadas, com menos cobertura florestal, do que em regiões de floresta contínua (Balkenhol et al. 2013), o que é um forte indício de uma resposta negativa à fragmentação, condizente com os resultados de trabalhos de ecologia de populações nessa mesma região (Pardini et al. 2005). No entanto, ainda não foram realizados estudos genéticos com a finalidade de se estimar os efeitos da fragmentação de hábitat nessa espécie nas regiões em que aparenta não sofrer os efeitos negativos desse processo.

O presente trabalho investigou a estrutura genética de *M. incanus* em paisagens de Mata Atlântica do Espírito Santo com o objetivo de se identificar a conectividade genética e possíveis rotas de fluxo gênico entre as populações. Comparamos isolamento por distância com isolamento por resistência para descobrir se a quantidade de floresta disponível na paisagem é mais determinante do que a distância geográfica entre localidades e se a configuração do hábitat exerce mais influência na estrutura genética do que a quantidade de hábitat *per se*.

## **Materiais e métodos**

### **Região de estudo e amostragem**

Os espécimes utilizados nesse trabalho são provenientes de 13 localidades do bioma Mata Atlântica do estado do Espírito Santo, sendo 8 delas áreas de proteção ambiental e as demais propriedades particulares. As distâncias entre as localidades variam de 12 a 365 km. A região aqui amostrada tem uma extensão de aproximadamente 46.000 km<sup>2</sup> e apresenta dois climas diferentes, o tropical chuvoso nas áreas baixas e o mesotérmico úmido, que ocorre na região serrana do sul do estado. O bioma Mata Atlântica com seus ecossistemas adjacentes ocorre em toda a extensão do estado e o tipo de fitofisionomia predominante (~70%) é o da floresta ombrófila densa, além de floresta estacional semidecidual e floresta ombrófila aberta (Lederman & Padovan 2005). As localidades estão em regiões que variam de 32 a 1.250 m de altitude.

Foram utilizadas 210 amostras de tecido de espécimes de *M. incanus* depositados na Coleção de Tecidos Animais da Universidade Federal do Espírito Santo (CTA-UFES) e cedidos por pesquisadores (Tabela S1). As peles e crânios dos espécimes foram utilizados, quando possível, para confirmação da identificação taxonômica. Cada localidade teve amostra média de 16 indivíduos, com máximo de 31 (Águia Branca) e mínimo de 3 (Guarapari).

## Marcadores e controle de qualidade da genotipagem

Todo o procedimento laboratorial foi realizado no Núcleo de Genética Aplicada à Conservação da Biodiversidade da Universidade Federal do Espírito Santo (NGACB-UFES). Nós extraímos amostras de DNA genômico provenientes de fígado ou orelha dos espécimes de *M. incanus* através do protocolo de extração salina (Bruford et al. 1992).

Todas as amostras foram amplificadas por reação de polimerização em cadeia (PCR) inicialmente para 12 loci de microssatélites, sendo 8 isolados da espécie foco desse trabalho e 4 isolados de outras espécies de marsupiais didelfídeos (*Micoureus demerarae*, *Didelphis marsupialis* e *Monodelphis domestica*) (Sommer et al. 2009). Todos os loci utilizados foram testados previamente em *M. incanus*, amplificaram com sucesso e apresentaram variação (Sommer et al. 2009). O protocolo utilizado foi uma adaptação dos procedimentos de Sommer (2009) e a utilização da cauda m13 para a análise de fragmentos de microssatélites descrita por Schuelke (2000). Utilizamos iniciadores reverso e avante com a adição da cauda m13 e um primer adicional fluorescente com a sequência da cauda M13. Obtivemos sucesso de amplificação com 9 dos 12 loci escolhidos.

Todas as reações individuais de PCR foram feitas para cada indivíduo por loci a um volume final de 12,5 µL: 1,25 µL de solução tampão, 0,45 µL de MgCl<sub>2</sub>, 0,25 µL de solução de dNTP (10 mM para cada um dos 4 nucleotídeos principais), 0,05 µL do primer avante, 0,2 µL do primer reverso, 0,2 µL do primer fluorescente da cauda M13, 0,15 µL de Taq Platinum (Invitrogen Corporation) e 1 µL de DNA molde diluído a 50ng/µL. O perfil de PCR para todos os marcadores foi o mesmo: 5 minutos de desnaturação inicial a 90° C; 30 ciclos consistindo em desnaturação por 30 segundos a 90° C, 45 segundos de anelamento a 60° C e 45 segundos de extensão a 72° C; 8 ciclos adicionais com 30 segundos de desnaturação a 90° C, 45 segundos de anelamento a 53° C e 45 segundos de extensão a 72° C. Por fim, um período de extensão final de 30 minutos a 72° C.

A análise de fragmentos dos produtos amplificados foi realizada no sequenciador automático ABI Prism 3500 (Applied Biosystems, Life Technologies) com 4 marcadores por indivíduo na forma multiplex, cada marcador com uma das 4 fluorescências disponíveis: 6-FAM, NED, VIC e PET. A genotipagem foi realizada automaticamente no software Geneious versão 9 (Kearse et al., 2012) e os genótipos foram verificados manualmente para todas as amostras e corrigidos quando necessário. A análise de fragmentos dos marcadores foi verificada também no software Tandem versão 1.09 (Matschiner & Salzburger 2009) para a correção dos tamanhos dos alelos e verificação de possíveis valores discrepantes na amostra. O marcador mdo228 apresentou muita incerteza para os tamanhos alélicos ao ser corrigido pelo programa Tandem e decidimos retirá-lo das análises subsequentes.

A presença de alelos nulos foi avaliada para todos os loci globalmente e para cada população através dos métodos descritos por Chakraborty et al. (1992) e Brookfield (1996) realizado pelo pacote popgenreport (Adamack & Gruber 2014) no R versão 3.3.2 (R Development Core Team 2008). Testamos a amostra para equilíbrio de Hardy-Weinberg e desequilíbrio de ligação através do pacote HWxtest (Engels 2009) no R e Arlequin versão 3.5 (Excoffier et al. 2005) respectivamente. Os 8 marcadores utilizados apresentaram variação de 7 (Minc4) a 52 (Minc8) com uma média de 25 alelos distintos por locus. Por localidade, a quantidade de alelos totais amostrados variou de 117 (Águia Branca) a 30 (Guarapari) com uma média de 71 alelos encontrados por localidade.

Levando-se em consideração todas as localidades em conjunto, os 8 loci apresentaram evidências de ocorrência de alelos nulos, porém em baixa frequência (média de 9,75%). Alelos nulos com frequência abaixo de 8% não afetam significativamente a análise (Putman & Carbone 2014) e somente um locus apresentou frequência acima desse valor (Minc2, 12%). Contudo, decidimos

manter esse marcador nas análises subsequentes devido à sua alta variabilidade e porque alelos nulos com essa frequência são preferíveis a menos loci para a inferência de divergência genética (Carlsson 2008).

### **Estrutura populacional e quantificação da variação genética**

Utilizamos o método de agrupamento bayesiano espacialmente explícito implementado pelo pacote GENELAND (Guillot et al. 2005) na plataforma R. Esse método utiliza inferência bayesiana para alistar indivíduos a  $k$  agrupamentos discretos baseado no compartilhamento de genótipos e descontinuidades espaciais. O GENELAND implementa um método diferente de agrupamento bayesiano realizado por outros programas ao levar em consideração às coordenadas geográficas de cada indivíduo para a geração do modelo. Foram realizadas 10 corridas independentes de modelos que variavam de  $k = 1$  a 13 agrupamentos cada uma, frequências alélicas não correlacionadas, 200.000 replicações com *thinning* = 100.

Utilizamos o programa QGIS versão 2.18.1 (QGIS Development Team 2016) para quantificar a proporção de floresta em cada localidade. Ao redor das 13 localidades foram criadas áreas-tampão de 10.000 ha e foi medida a quantidade de floresta dentro dessas áreas. A camada utilizada tipo *shapefile* foi a de remanescentes florestais de Mata Atlântica estimada em 2010 (SOS Mata Atlântica 2011). Esse tamanho de área foi escolhido a fim de compararmos os resultados obtidos com os resultados de Balkenhol et al. (2013) com a mesma espécie em São Paulo.

Utilizamos a riqueza alélica média para quantificar a variação genética nas diferentes localidades. Essa medida nos indica a quantidade de alelos diferentes que estão presentes na localidade, corrigida em função do tamanho da amostra pelo método de rarefação. Espera-se que quanto mais alelos, maior é a diversidade da região e mais fluxo gênico está ocorrendo entre localidades, pois haveria menos chance de fixação de alelos. Outra métrica escolhida foi a de riqueza média de alelos privados, que são alelos que só são observados em uma dada localidade. Essa métrica nos permite estimar a distinção genética de uma localidade, o quanto alelos presentes ali não estão sendo compartilhados com outras regiões. Ou seja, espera-se que quanto maior a riqueza média de alelos privados de uma localidade, mais isolada estaria essa região pois haveria pouco compartilhamento de alelos com outras localidades. Uma localidade pode ter um valor de riqueza alélica alto, o que indicaria uma grande diversidade presente, mas uma riqueza média de alelos privados elevada também, que nos indica que apesar de uma diversidade alta, essa diversidade está isolada na localidade. Essas medidas foram obtidas através do programa HPHare versão 1.0 (Kalinowski 2005) que utiliza o método de rarefação para a correção do viés do tamanho amostral diferente para cada localidade.

Outra métrica utilizada foi o estimador de divergência genética par a par  $D$  de Jost (Jost 2008) realizado no pacote *mmod* (Winter 2012) do R. Esse estimador é uma modificação do amplamente utilizado  $F_{st}$ . Foi gerada uma matriz de valores de divergência para a par entre as 13 localidades. Estimativas de  $p$ -valor e intervalo de confiança foram gerados por *bootstrap* de 1.000 replicações através do pacote *DEMEtics* (Gerlach, et al. 2010) no R.

### **Diversidade e divergência genética**

Dois métodos de isolamento por resistência foram utilizados nesse estudo, o da teoria de circuitos (McRae et al. 2008) e o do caminho menos custoso (Etherington 2016). O primeiro utiliza-se de técnicas importadas da teoria de circuitos elétricos, na qual, a partir dessas, realiza analogias de seus conceitos e equações com os conceitos genéticos e de movimento de indivíduos, inferido através da teoria de caminhada aleatória (do inglês, *random walk*). A partir daí, são atribuídos

valores de resistência elétrica acumulada em todas as rotas possíveis de movimentação de um ponto a outro, onde resistência elétrica é análoga a resistência ao fluxo gênico. O método de caminho menos custoso identifica e quantifica a resistência da rota de movimentação possível que possui a menor resistência entre dois pontos.

Utilizamos o modelo de isolamento por resistência através da teoria de circuitos no programa CIRCUITSCAPE versão 4.0.5 (McRae et al. 2013) e a de caminho de menor custo pela função landgenreport (Gruber & Adamack 2015) do pacote popgenreport do R. Para isso utilizamos um mapa de resolução de 8 ha por pixel que quantifica proporção de floresta em cada pixel. Esse mapa foi gerado através da análise por satélite de frequência de onda na faixa da cor verde refletida (Hansen et al. 2013). Tal metodologia identifica regiões de certos tipos de plantação arbórea e arbustiva, como eucalipto, seringueira e café, como florestas. Apesar disso, regiões com floresta nativa permanecem com valores mais altos e mais uniformes, tornando-as visivelmente discerníveis de áreas florestais não naturais. Preferimos esse tipo de mapa ao mapa de remanescentes de Mata Atlântica porque existem evidências que *M. incanus* utiliza esses estratos arbóreos e arbustivos de plantações de eucalipto e café para o movimento (Passamani & Ribeiro 2009; Passamani & Fernandez 2011a). Esse mapa foi transformado exponencialmente em oito diferentes superfícies de resistência segundo equação proposta por Keeley et al. (2016). Os valores de  $c$  na equação variaram de 0,25 a 32, onde  $c$  é o fator exponencial que determina a curvatura da relação entre as duas variáveis. Segundo essa metodologia, quanto maior o valor de  $c$ , mais o modelo de superfície de resistência permitiria o movimento através de paisagens na qual a espécie não está tão adaptada. Isso nos permitiu testar modelos nos quais *M. incanus* utilizaria áreas na paisagem para a movimentação que não seriam de hábitat propriamente dito ( $c > 0,25$ ) e o modelo mais estrito, linear, no qual as maiores probabilidades de movimento seriam através de hábitat (floresta) ou o mais próximo disso. Foram geradas matrizes de resistência par a par para cada modelo utilizado entre as 13 localidades.

Outra abordagem realizada foi comparar a proporção de floresta de cada localidade com os valores de riqueza alélica média e riqueza média de alelos privados através de correlação de Pearson no R. O objetivo desse teste foi o de verificar se a quantidade de floresta presente na paisagem em que a população está inserida tem algum efeito na diversidade genética, pela riqueza alélica, ou na distinção genética, pela riqueza média de alelos privados.

Foram utilizados testes parciais de Mantel através da função wasserman do pacote popgenreport do R. Essa função realiza uma série de testes de Mantel de comparação das matrizes de resistência com a matriz de divergência genética retirando-se a variância da matriz de distância geográfica euclidiana e da matriz de distância geográfica euclidiana com a de divergência genética retirando-se o efeito das matrizes de resistência, o que permite testar a significância dos modelos de isolamento por resistência sobre o modelo de isolamento por distância (Wasserman et al. 2010).

## Resultados e Discussão

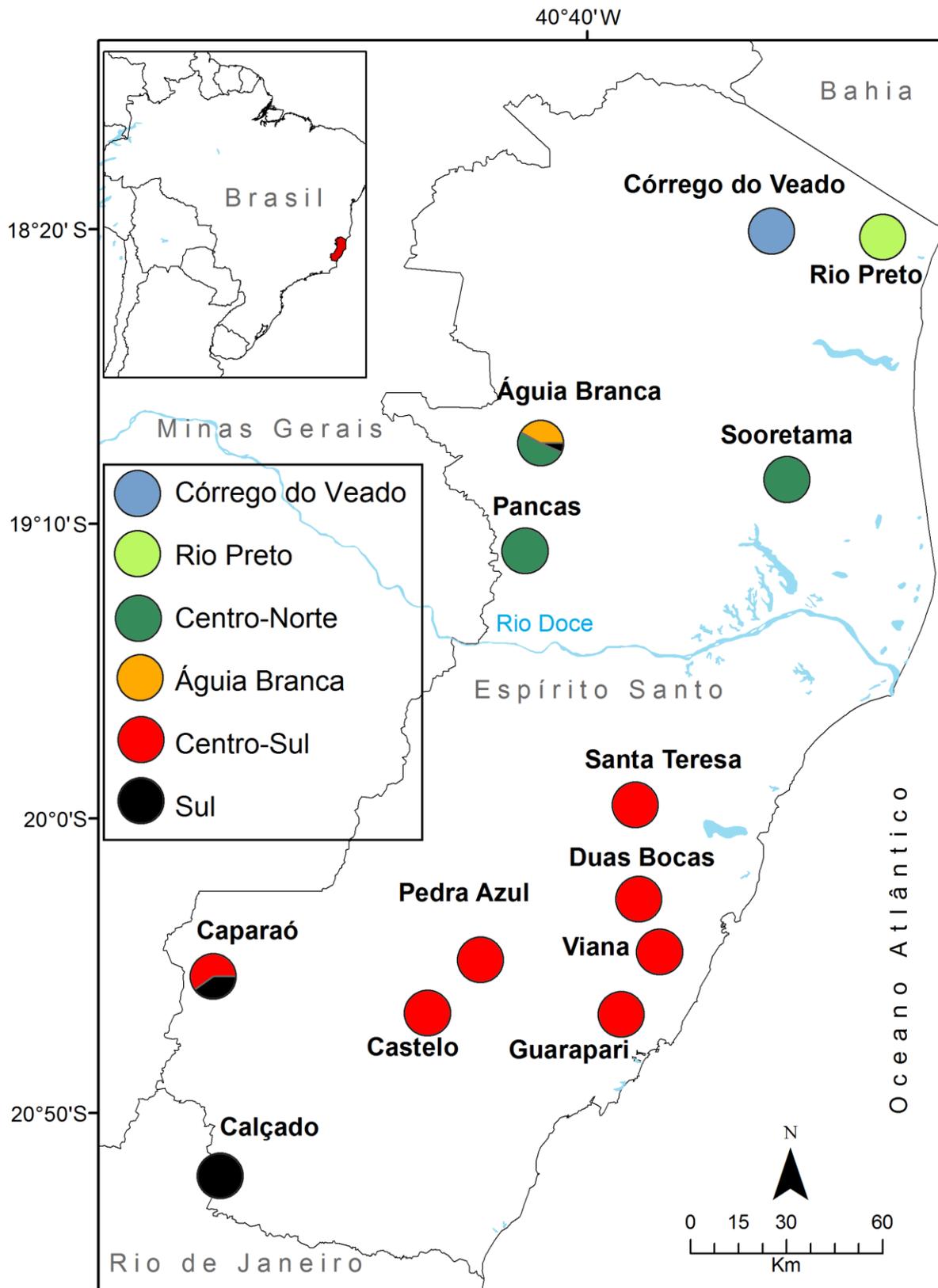
### Diversidade e diferenciação genética

Globalmente a amostra apresentou desvios significativos do equilíbrio de Hardy-Weinberg (HW), o que é de se esperar de uma amostra distribuída em uma extensão geográfica tão grande como a utilizada aqui (cerca de 50.000 km<sup>2</sup>) (Cardeñosa et al. 2014). A maioria das localidades apresentou desvios significativos de HW para no máximo dois marcadores (Tabela S2). Dessas, quatro não apresentaram desvios do equilíbrio para nenhum marcador. Duas localidades apresentaram

desvios significativos para três marcadores e somente Rio Preto apresentou desvios significativos para quatro marcadores. Não houve nenhum marcador específico que apresentou desvios em mais que cinco localidades. Os testes de desequilíbrio de ligação não mostraram evidências significativas de que pares específicos de marcadores estejam ligados, ou seja, que não segregam independentemente. Alguns pares de marcadores foram significativos para algumas localidades, mas esse resultado não foi coincidente em outras localidades.

*Marmosops incanus* está dividida em 6 agrupamentos genéticos distintos nas paisagens estudadas (Figura 1), 4 ao norte do Rio Doce e 2 ao sul desse rio. As amostras mais ao norte estão isoladas das demais e entre elas, cada uma representando um conjunto genético diferente, denominados Rio Preto e Córrego do Veado. Pancas e Sooretama pertencem ao mesmo agrupamento (Centro-Norte), enquanto Águia Branca tem representantes de três agrupamentos diferentes, 15 indivíduos do agrupamento Centro-Norte, 13 endêmicos (só ocorrem em Águia Branca) e 2 indivíduos do agrupamento Sul. As seis localidades centrais ao sul do Rio Doce (Santa Teresa, Duas Bocas, Viana, Guarapari, Pedra Azul e Castelo) formam o maior agrupamento, denominado Centro-Sul. As amostras do Caparaó possuem dois indivíduos pertencentes ao agrupamento Centro-Sul e dois indivíduos mais relacionados com um agrupamento diverso, chamado aqui de Sul, representado majoritariamente pela localidade de Calçado.

Trabalhos recentes que analisaram a filogeografia de *M. incanus* a partir de dados de genes mitocondriais (Sousa 2013; Zanchetta 2014) obtiveram resultados similares aos encontrados no presente trabalho com análises de microssatélite. O trabalho que utilizou o gene mitocondrial Citocromo oxidase subunidade I (COI) encontrou um clado central no Espírito Santo ao sul do rio Doce com maior coesão (Sousa 2013), porém não foram utilizadas amostras do norte desse rio. Outro trabalho com os marcadores mitocondriais D-loop e Citocromo B e em grande parte com as mesmas amostras utilizadas no presente estudo indicou um clado na região sul do Espírito Santo com as localidades do Caparaó e Calçado, dois clados na região central ao sul do rio Doce e um clado com todas as localidades ao norte do rio Doce (Zanchetta 2014). Ou seja, a estrutura genética encontrada no presente estudo corrobora os resultados anteriores, mas apresenta um maior refinamento do que o DNA mitocondrial em função da taxa de evolução mais alta dos microssatélites (Putman & Carbone 2014).



**Figura 1:** Localidades amostradas no estado do Espírito Santo e os agrupamentos populacionais de *Marmosops incanus* obtidos a partir dos marcadores microssatélites. Gráficos representam a proporção de indivíduos alocados aos seis agrupamentos (cores) em cada localidade.

As populações de *M. incanus* estão estruturadas geograficamente nas paisagens da região de estudo. Entretanto, as maiores probabilidades de alistamento de indivíduos a um dos seis grupos formados foram baixas (<40%), o que indica a ocorrência de alguma proporção de fluxo gênico entre os seis agrupamentos. As populações da região central, ao sul do rio Doce, estão muito conectadas, pois todos os indivíduos de todas as localidades dessa região tiveram maior probabilidade de pertencerem ao agrupamento Centro-Sul. Isso é uma evidência de fluxo gênico entre as localidades nessa região, apesar da fragmentação florestal. Além disso, as localidades dessa região possuem valores de riqueza alélica altos quando comparados àqueles de localidades mais isoladas, como Córrego do Veado, Rio Preto e as do agrupamento Sul. Amostras do Centro-Sul também apresentam baixa distinção genética por riqueza de alelos privados, o que corrobora o resultado de que todas essas localidades formam uma única população com fluxo gênico relativamente facilitado. Por outro lado, ao norte do rio Doce, o fluxo gênico é mais limitado e parece existir uma tendência de que cada localidade represente um agrupamento populacional geneticamente isolado, principalmente no extremo norte (Córrego do Veado e Rio Preto). Sooretama, Pancas e Águia Branca compartilham indivíduos alocados ao mesmo agrupamento populacional (Centro-Norte), que domina as duas primeiras localidades, mas não Águia Branca.

Sooretama engloba um dos maiores fragmentos protegidos de Mata Atlântica contínua, a Reserva Biológica de Sooretama (ca. 30.000 ha) que apresentou a maior proporção de floresta nativa na paisagem (70%) dentro da área tampão de 10.000 ha. Devido à boa qualidade e da extensão de hábitat disponível na paisagem de Sooretama, seria de se esperar que Sooretama exercesse um papel de fonte para ambientes próximos mais reduzidos e fragmentados, como Pancas e Águia Branca, que serviriam de ralo (Holderregger & Gugerli 2012). Contudo, os dados não corroboram essa hipótese uma vez que a diversidade alélica encontrada em Pancas e Águia Branca é maior que em Sooretama. Sooretama também apresentou alto grau de distinção genética pelo valor de riqueza de alelos privados, mas ainda abaixo de Córrego do Veado e Rio Preto, ambas unidades de conservação pequenas (2.357 e 2.817 ha, respectivamente) e situadas mais ao norte. O alto índice de distinção genética de Sooretama em relação às demais indica que apesar da grande qualidade e quantidade de hábitat disponível na paisagem, as populações de *M. incanus* ali presentes podem estar pouco conectadas ou até geneticamente desconectadas de outras regiões, principalmente ao norte (Tabela S3).

As populações de Rio Preto e Córrego do Veado possuem os menores índices de riqueza alélica, apesar dos altos valores de distinção genética, o que significa que além de estarem isoladas entre si, essas paisagens ainda encontram-se quase completamente desconectadas de outras fontes potenciais, como Sooretama. Essa conclusão é corroborada pelo alto valor de divergência genética entre populações de *M. incanus* dessas duas localidades (0,461), apesar da distância geográfica entre elas ser pequena (~34 km). Comparativamente, duas localidades do agrupamento Centro-Sul (Santa Teresa e Castelo) distantes ~95 km possuem divergência genética de apenas 0,206 (Tabela S4).

### **Fragmentos pequenos conectados ou grandes isolados?**

A distribuição das populações de uma espécie na paisagem é importante para o entendimento da sua conectividade funcional (fluxo gênico efetivo). Se essas populações encontram-se uniformemente distribuídas em uma paisagem relativamente uniforme, espera-se que a estrutura da paisagem exerça pouca influência na conectividade funcional e o fluxo gênico seja explicado pela proximidade geográfica entre as populações. Entretanto, se populações de uma espécie estão fragmentadas em sua distribuição em uma paisagem com estrutura heterogênea, espera-se que o

fluxo gênico seja primariamente explicado pela estrutura da paisagem (Cushman et al. 2006), especialmente para espécies com baixa capacidade de dispersão. O resultado de ambas as abordagens utilizadas aqui (teoria de circuitos e de caminho menos custoso) foi significativo em relação à matriz de distâncias geográfica par-a-par, indicando que o que melhor explica a divergência genética entre as localidades ao se particionar o efeito da distância geográfica é a superfície de resistência de relação linear de adequabilidade com resistência ( $r = 0,4696$ ;  $p < 0,001$ ) (Tabela S5). Além disso, a matriz de resistências par-a-par com base na teoria de circuitos explica melhor a divergência genética entre as treze localidades do que o caminho menos custoso ( $r = 0,452$ ;  $p < 0,001$ ) (Tabela S5). Um mapa de fluxo gênico foi então gerado para a superfície de resistência de relação linear ( $c = 0,25$ ), utilizando corrente elétrica de forma análoga ao fluxo gênico pelo modelo da teoria de circuitos (Figura 2). Outro mapa com linhas representando os caminhos menos custosos entre as localidades foi também gerado (Figura 2). Já a relação entre distância euclidiana geográfica e divergência genética não foi significativa ao particionar-se o efeito da resistência em ambos os métodos ( $p > 0,2$ ). Esse resultado é um forte indício de que a estrutura da paisagem nas localidades amostradas é o fator primário que explica a estrutura genética de *M. incanus* na região de estudo no Espírito Santo.

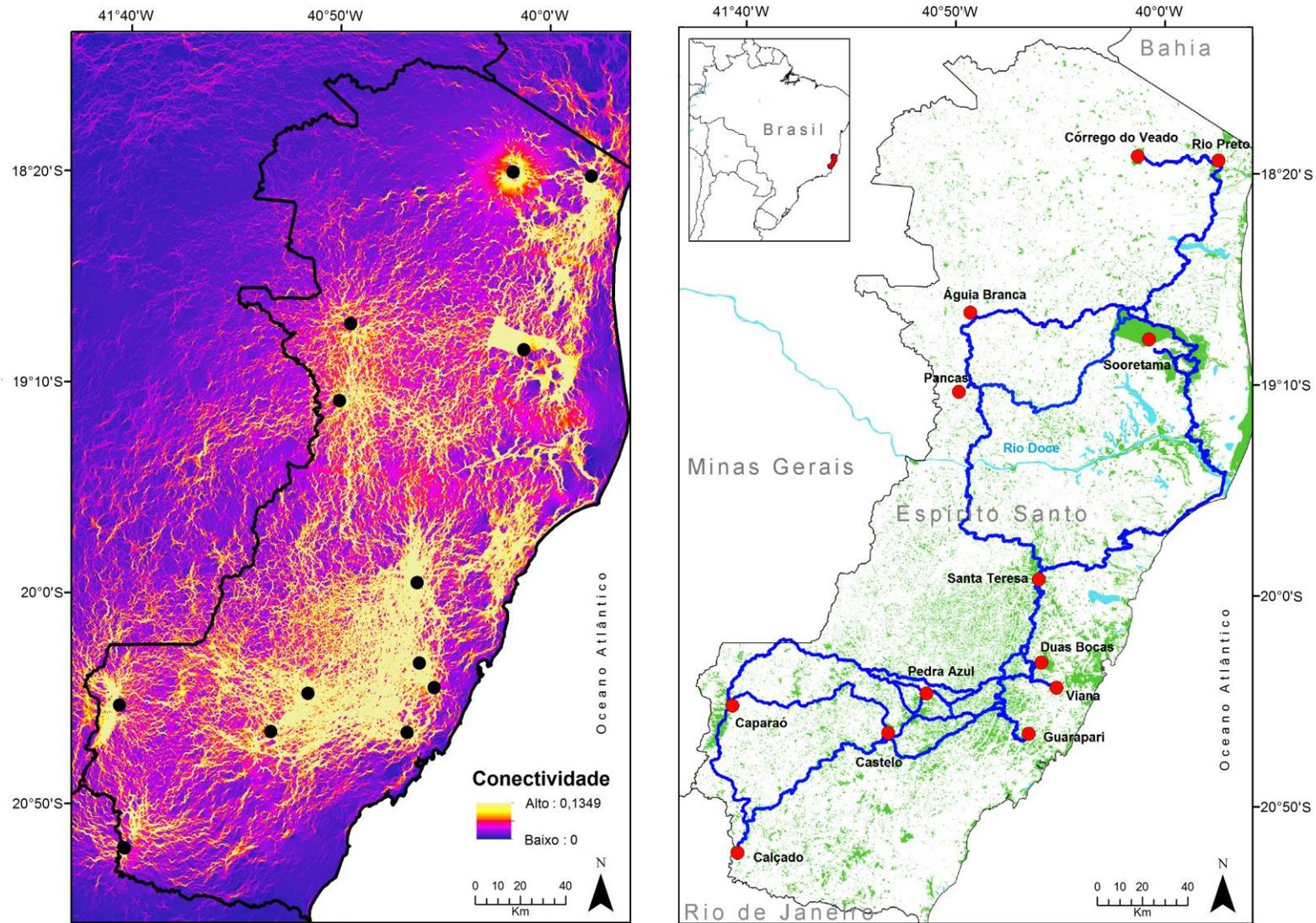
Os valores de riqueza alélica média para cada população não variaram muito: de 3,36 (Córrego do Veado) a 4,64 (Pancas), com uma média de 4,05. Já os de riqueza média de alelos privados tiveram uma variação muito maior (de 0,18 em Guarapari a 0,82 em Pancas). A proporção de floresta nas áreas tampão de 10.000ha variou de 70% (Sooretama) a 3% (Águia Branca). Não houve correlação significativa entre a proporção de floresta com os estimadores de diversidade, riqueza alélica média, ou riqueza média de alelos privados ( $p > 0,4$ ) (Figura S1). A falta de correlação entre porcentagem de floresta e riqueza alélica e os resultados significativos das análises de isolamento por resistência mostraram a importância da conectividade entre fragmentos. Para uma espécie dependente de floresta e de baixa vagilidade, como *M. incanus* (Rocha et al. 2014), a presença de hábitat entre fragmentos na paisagem é tão ou mais importante para a conectividade do que a quantidade de hábitat *per se* na paisagem. De fato, indivíduos de *M. incanus* utilizam fragmentos de floresta em regiões configuradas em corredores como hábitat, podendo habitar o fragmento por todo ciclo de vida (Rocha et al. 2014). A região Centro-Sul, com muitos fragmentos próximos entre si, apresenta muito mais conectividade (Figura 2) do que regiões com fragmentos grandes (e.g., Sooretama), mas distantes entre si, como ao norte do Rio Doce. Essa conclusão foi corroborada também na análise de agrupamento bayesiano, pois o agrupamento Centro-Sul é bastante coeso geneticamente, apesar das localidades estarem relativamente distantes entre si. Por outro lado, conforme discutido acima, Córrego do Veado e Rio Preto formam agrupamentos diferentes apesar da proximidade geográfica e apresentam baixa conectividade, apesar de estarem próximas. Ambas essas localidades são áreas protegidas, mas o entorno da paisagem é composto basicamente por pastagens e plantações de eucalipto, que, embora permita o movimento, provavelmente dificulta o fluxo gênico de *M. incanus* (Passamani & Fernandez 2011b). Portanto, mais hábitat disponível é importante, mas mais importante que isso, esse hábitat deve estar bem conectado para que ocorra fluxo gênico entre fragmentos.

A deriva genética em populações que estão sob intenso isolamento por distância ou por resistência tende a exercer um impacto mais forte nessas populações, causando um rápido declínio em diversidade genética (Landguth et al. 2010). A segunda opção parece ser o caso das populações presentes nos agrupamentos Rio Preto e Córrego do Veado uma vez que o isolamento por distância entre essas regiões é improvável devido à proximidade geográfica entre elas. O agrupamento Sul também possui valores de riqueza alélica bastante baixa, o que é um indício de que pode estar sob

o mesmo processo de perda de diversidade genética por deriva genética que os dois agrupamentos no extremo norte. Contudo, as localidades do agrupamento sul, Caparaó e Calçado têm uma amostragem muito baixa comparativamente à Rio Preto e Córrego do Veado de modo que é de se esperar que a diversidade amostrada seja mais baixa.

Um trabalho com a mesma espécie em outra região (planalto paulista, mais ao sul) do mesmo bioma documentou uma relação diretamente proporcional, embora não-linear, entre quantidade de floresta e diversidade genética (Balkenhol et al. 2013). Isso indica que populações de *M. incanus* podem ser afetadas de maneira diferente pela fragmentação em diferentes regiões e as conclusões de genética da paisagem para uma região podem não ser diretamente extrapolados para outras regiões. Isso é interessante principalmente para espécies distribuídas em grandes extensões geográficas como *M. incanus*. Propomos aqui, duas hipóteses para essa divergência, que não são mutuamente exclusivas: (1) Populações das diferentes regiões podem estar adaptadas a condições diversas e, portanto, apresentam respostas distintas à perda de hábitat. A região estudada por Balkenhol et al. (2013) está bem próxima do limite sul da distribuição da espécie e o Espírito Santo se encontra bem no centro da distribuição (Bezerra & Geise 2015). Espera-se que quanto mais próximas da borda da distribuição, as populações de uma espécie sejam menores, mais isoladas e menos adaptadas àquela região (Kark et al. 2004). O estado de São Paulo possui uma grande área central que corta o estado de norte a sul considerada parte do bioma Cerrado. Portanto, a fauna de competidores e predadores de *M. incanus*, o tipo de vegetação e as interações biológicas, que ocorrem nas regiões de ecótono com o bioma Mata Atlântica, a leste e a oeste, são provavelmente muito diferentes das que ocorrem no Espírito Santo, que está completamente inserido no domínio da Mata Atlântica; (2) O histórico da perda de hábitat nas duas regiões é diferente e essas diferenças podem ser de natureza complexa. O tipo de ocupação histórica do solo da matriz entre fragmentos, o tipo de vegetação e o tempo de isolamento dos fragmentos, distintos nas duas regiões (Dean 1995), pode ter exercido um impacto diferenciado sobre a espécie. *Marmosops incanus* é frequentemente a espécie mais coletada em campo no Espírito Santo e apresenta uma tendência de ser mais abundante em fragmentos pequenos (Passamani & Ribeiro 2009; Passamani & Fernandez 2011b), enquanto em outras regiões, ela pode ser até considerada rara ou ausente nesse tipo de ambiente (e.g. Pardini 2004 e Balkenhol 2013). Ainda, um ou mais desses fatores pode ter ocorrido historicamente e não houve tempo suficiente para que a resposta genética fosse observável (Epps & Keyghobadi 2015). Como esses ambientes são altamente dinâmicos, pode existir uma divergência entre padrões encontrados na paisagem e na genética analisados em determinado ponto do tempo.

Em comparação com os trabalhos em ecologia realizados no Espírito Santo (Passamani & Fernandez 2011b), as populações de *M. incanus* parecem responder geneticamente de forma similar, aparentando não serem tão negativamente afetadas pela fragmentação de hábitat quanto em São Paulo (Pardini et al. 2005; Balkenhol et al. 2013). Na paisagem de Santa Teresa, a espécie foi encontrada em maior abundância em áreas com fragmentos pequenos do que em floresta contínua (Passamani & Fernandez 2011b). Essa paisagem é bastante fragmentada, porém os fragmentos de floresta ali presentes estão muito conectados. Localidades com fragmentos maiores de floresta não correspondem a maior conectividade ou diversidade genética. Pelo contrário, a região amostrada com maior conectividade foi a região Centro-Sul, onde existem fragmentos pequenos, porém em grande quantidade e próximos uns aos outros (Figura 2).



**Figura 2:** Mapas gerados com base na teoria de circuitos (esquerda) mostrando a conectividade entre os pontos e no caminho menos custoso (direita), mostrando os caminhos que oferecem menor resistência ao movimento de um ponto a outro.

Um outro fator importante testado no presente estudo foi se as populações de *M. incanus* estariam estruturadas pela presença de floresta nativa somente ou se plantações arbóreas (e.g., eucalipto) na paisagem seriam também adequadas, considerando as evidências de que essa espécie tem capacidade de utilizar esse tipo de matriz para movimento (Passamani & Fernandez 2011a). Pela comparação das diferentes transformações nos mapas de superfície de resistência encontramos que floresta propriamente dita responde mais pela estruturação genética de *M. incanus* do que matrizes de plantações arbóreas (Tabela S5). Um estudo com uma espécie de marsupial australiano arborícola e dependente de floresta *Pseudocheirus peregrinus*, encontraram resultados similares (Lancaster et al. 2015), pois matrizes de plantações arbóreas não contribuem significativamente para o fluxo gênico, apesar de poderem ser utilizadas em movimentos diários.

### **Os caminhos do fluxo gênico e suas implicações para conservação e manejo**

No geral, os dois mapas gerados nesse trabalho são muito congruentes em relação às rotas de fluxo gênico entre as localidades (Figura 2). Enquanto o modelo gerado pela teoria de circuitos é mais realista no sentido de que a espécie não sabe *a priori* qual caminho proporciona menor resistência e todos os caminhos são potenciais rotas de dispersão, o modelo de caminho menos custoso é bastante útil no que se refere à escolha de regiões prioritárias para a criação de corredores ecológicos para a conservação. Nesse sentido, os caminhos de menor custo gerados por esse trabalho indicam áreas com potencial para exercerem papel de corredores ecológicos não só para *M. incanus*, mas também para outras espécies dependentes de floresta. Por exemplo, espécies ameaçadas de extinção e que correm o risco de sofrer depressão endogâmica, como o ouriço-preto (*Chaetomys subspinosus*) ou a preguiça de coleira (*Bradypus torquatus*) se beneficiariam de tais corredores. O presente estudo mostra que podem existir diferentes rotas (Figura 2) entre dois pontos (e.g., entre Pedra Azul e Guarapari), nem sempre a rota mais curta é a mais adequada (e.g., entre Santa Teresa e Sooretama), e localidades intermediárias podem servir de rota ao fluxo gênico entre localidade mais distantes (e.g., Pedra Azul e Castelo). Contudo, um problema grave que temos no Brasil para a conservação de espécies como essa é que corredores ecológicos práticos não são previstos na legislação atual como áreas a serem preservadas (Louzada et al. 2013) a não ser como áreas de preservação permanentes (APPs), como margens de rios e encostas íngremes, embora o Espírito Santo represente uma importante porção de área do chamado Corredor Central da Mata Atlântica (IPEMA 2005). Essa é uma área de alto endemismo de espécies de mamíferos (Costa et al. 2000) e outros táxons que engloba todo o estado do Espírito Santo e o sul da Bahia. Ao identificarmos os caminhos de fluxo gênico que já ocorrem com espécies florestais, contribuimos para o mapeamento de áreas prioritárias que potencialmente efetivariam a funcionalidade do Corredor Central da Mata Atlântica.

Concluimos que a configuração do hábitat disponível na paisagem é mais importante do que a quantidade de hábitat presente para espécies dependentes de floresta e com áreas de vida pequenas e baixa vagilidade, como *M. incanus*. Isso diverge das conclusões encontradas em simulações de modelos computacionais (Jackson & Fahrig 2015), onde a configuração do hábitat na paisagem foi responsável por somente uma pequena porção de fatores como fluxo gênico e tamanho populacional e a quantidade de hábitat foi o maior responsável por determinar esses fatores. Não questionamos aqui, contudo, o papel que a proporção de hábitat em uma paisagem exerce sobre a saúde genética de uma espécie. A quantidade de hábitat disponível é de extrema importância (vide Balkenhol et al. 2013), uma vez que permite a exploração de recursos diversos, uma gama maior de interações ecológicas e a acomodação de mais indivíduos por área. Contudo, se a paisagem não estiver configurada de modo a permitir o fluxo gênico, as populações tornam-se isoladas e geneticamente desconectadas. Outra conclusão importante é a de que devemos exercer

cautela ao extrapolar os resultados de efeitos da fragmentação obtidos em determinada região para outras regiões da distribuição de determinada espécie. Como visto, *M. incanus* não é afetada ecologicamente e geneticamente pela fragmentação da mesma maneira em regiões de Mata Atlântica nos estados do Espírito Santo e São Paulo.

## Referências

- Adamack AT, Gruber B. 2014. PopGenReport: simplifying basic population genetic analyses in R. *Methods in Ecology and Evolution* **5**:384–387.
- Balkenhol N, Pardini R, Cornelius C, Fernandes F, Sommer S. 2013. Landscape-level comparison of genetic diversity and differentiation in a small mammal inhabiting different fragmented landscapes of the Brazilian Atlantic Forest. *Conservation Genetics* **14**:355–367.
- Beier P, Spencer W, Baldwin RF, Mcrae BH. 2011. Toward Best Practices for Developing Regional Connectivity Maps. *Conservation Biology* **25**:879–892.
- Bezerra AC, Geise L. 2015. O estado da arte de *Marmosops incanus* (Lund, 1840) (Didelphimorphia, Didelphidae): uma síntese. *Boletim da Sociedade Brasileira de Mastozoologia* **73**:65–86.
- Brito D, Fernandez F a. S. 2002. Patch relative importance to metapopulation viability: the neotropical marsupial *Micoureus demerarae* as a case study. *Animal Conservation* **5**:45–51.
- Brookfield JF. 1996. A simple new method for estimating null allele frequency from heterozygote deficiency. *Molecular ecology* **5**:453–455.
- Bruford MW, Hanotte O, Brookfield JFY, 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
- Cardeñosa D, Hyde J, Caballero S. 2014. Genetic diversity and population structure of the pelagic thresher shark (*Alopias pelagicus*) in the Pacific Ocean: Evidence for two evolutionarily significant units. *PLoS ONE* **9**:1–12.
- Chakraborty R, De Andrade M, Daiger S, Budowle B. 1992. Apparent Heterozygote Deficiencies Observed in DNA Typing and Their Implications in Forensic Applications. *Annals of Human Genetics* **56**:455–457.
- Costa LP, Leite YLR, Fonseca GA, Fonseca MT. 2000. Biogeography of South American forest mammals: Endemism and diversity in the Atlantic Forest. *Biotropica* **32**:872–881.
- Cushman SA, McKelvey KS, Hayden J, Schwartz MK. 2006. Gene flow in complex landscapes: testing multiple hypotheses with causal modeling. *The American Naturalist* **168**:486–499.
- Engels WR. 2009. Exact tests for Hardy-Weinberg proportions. *Genetics* **183**:1431–1441.
- Dean W. 1997. *A ferro e fogo: a história e a devastação da Mata Atlântica brasileira*. São Paulo. Companhia das letras. 484 p.
- Excoffier L, Laval G, and Schneider S. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* **1**:47–50.
- Fahrig L. 2003. Effects of Habitat Fragmentation on Biodiversity. *Annual Review of Ecology and Systematics* **34**:487–515.

- Figueiredo MSL, Fernandez FADS. 2004. Contrasting effects of fire on populations of two small rodent species in fragments of Atlantic Forest in Brazil. *Journal of Tropical Ecology* **20**:225–228.
- Gerlach G, Jueterbock A, Kraemer P, Deppermann J and Harmand P. 2010. Calculations of population differentiation based on G(ST) and D: forget G(ST) but not all of statistics! *Molecular Ecology* **19**: 3845–3852.
- Gruber B, Adamack AT. 2015. landgenreport: A new R function to simplify landscape genetic analysis using resistance surface layers. *Molecular Ecology Resources* **15**:1172–1178.
- Guillot G, Mortier F, Estoup A. 2005. GENELAND: A computer package for landscape genetics. *Molecular Ecology Notes* **5**:712–715.
- Hansen MC, Potapov PV, Moore R, Hancher M, Turubanova SA, Tyukavina A, Thau D, Stehman SV, Goetz SJ, Loveland TR, Kommareddy A, Egorov A, Chini L, Justice CO, and Townshend JRG. 2013. High-Resolution Global Maps of 21st-Century Forest Cover Change. 2013. *Science* **342**:850–53.
- Holderegger R, Gugerli F. 2012. Where do you come from, where do you go? Directional migration rates in landscape genetics. *Molecular Ecology* **21**:5640–5642.
- Holderegger R, Wagner HH. 2006. A brief guide to Landscape Genetics. *Landscape Ecology* **21**:793–796.
- Holderegger R, Wagner HH. 2008. Landscape Genetics. *BioScience* **58**:199.
- IPEMA (Instituto de Pesquisas da Mata Atlântica). 2005. Conservação da Mata Atlântica no Espírito Santo: cobertura florestal e unidades de conservação. Vitória: IPEMA, Conservação Internacional. 142p
- Jackson ND, Fahrig L. 2015. Habitat amount, not habitat configuration, best predicts population genetic structure in fragmented landscapes. *Landscape Ecology* **31**:951–968. Springer Netherlands.
- Kalinowski ST. 2005. HP-RARE 1.0: A computer program for performing rarefaction on measures of allelic richness. *Molecular Ecology Notes* **5**:187–189.
- Kark S, Lens L, Van Dongen S, Schmidt E. 2004. Asymmetry patterns across the distribution range: does the species matter? *Biological Journal of the Linnean Society* **81**:313–324.
- Kearse M, Moir R, Wilson A, Stones-Havas S, Cheung M, Sturrock S, Buxton S, Cooper A, Markowitz S, Duran C, Thierer T, Ashton B, Mentjies P, and Drummond A. 2012. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* **28**:1647-1649.
- Keeley ATH, Beier P, Gagnon JW. 2016. Estimating landscape resistance from habitat suitability: effects of data source and nonlinearities. *Landscape Ecology* **31**:2151–2162.
- Lancaster ML, Cooper SJB, Carthew SM. 2015. Genetic consequences of forest fragmentation by agricultural land in an arboreal marsupial. *Landscape Ecology* **31**:655–667.
- Landguth EL, Cushman SA, Murphy MA, Luikart G. 2010. Relationships between migration rates and landscape resistance assessed using individual-based simulations. *Molecular Ecology Resources* **10**:854–862.
- Louzada J, Van den Berg E, Passamani M, Castro GC, Rocha MF, Mesquita AO, Correa BS. 2013. Corredores lineares de vegetação em paisagens agrícolas do Sul de Minas Gerais: histórico, funções ecológicas e valor de conservação. In: Peres CA, Barlow J, Gardner TA, Vieira ICG, editors. *Conservação da biodiversidade em paisagens antropizadas do Brasil*. Curitiba: Ed. UFPR. 135–159
- Manel S, Schwartz MK, Luikart G, Taberlet P. 2003. Landscape genetics: Combining landscape ecology and population genetics. *Trends in Ecology and Evolution* **18**:189–197.
- Matschiner M, Salzburger W. 2009. TANDEM: integrating automated allele binning into genetics and genomics workflows. *Bioinformatics* **25**:1982-1983.

- McRae B, Shah V, Mohapatra T. 2013. CIRCUITSCAPE User Guide. ONLINE. The University of California, Santa Barbara. Available from <http://www.circuitscape.org>.
- Myers N, Fonseca GAB, Mittermeier RA, Fonseca GAB, Kent J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* **403**:853–8.
- Olifiers N, Vieira M V., Grelle CE V. 2004. Geographic range and body size in Neotropical marsupials. *Global Ecology and Biogeography* **13**:439–444. Available from <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1466-822X.2004.00115.x>.
- Pardini R. 2004. Effects of forest fragmentation on small mammals in an Atlantic Forest landscape. *Biodiversity and Conservation* **13**:2567–2586.
- Pardini R, de Souza SM, Braga-Neto R, Metzger JP. 2005. The role of forest structure, fragment size and corridors in maintaining small mammal abundance and diversity in an Atlantic forest landscape. *Biological Conservation* **124**:253–266.
- Passamani M, da Rosa CA. 2015. Use of space by the marsupials *Gracilinanus microtarsus* (Gardner and Creighton, 1989) and *Marmosops incanus* (Lund, 1840) in an Atlantic Forest of southeastern Brazil. *Journal of Natural History* **49**:1–10.
- Passamani M, Fernandez FAS. 2011a. Movements of small mammals among Atlantic Forest fragments in Espírito Santo, Southeastern Brazil. *Mammalia* **75**:83–86.
- Passamani M, Fernandez FAS. 2011b. Abundance and richness of small mammals in fragmented Atlantic Forest of southeastern Brazil. *Journal of Natural History* **45**:553–565.
- Passamani M, Ribeiro D. 2009. Small mammals in a fragment and adjacent matrix in southeastern Brazil. *Revista Brasileira de Biologia* **69**:305–9.
- Putman AI, Carbone I. 2014. Challenges in analysis and interpretation of microsatellite data for population genetic studies.
- QGIS Development Team, 2016. QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. <http://www.qgis.org/>
- R Development Core Team. 2008. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Rayfield B, Fortin MJ, Fall A. 2011. Connectivity for conservation: A framework to classify network measures. *Ecology* **92**:847–858.
- Ribeiro MC, Metzger JP, Martensen AC, Ponzoni FJ, Hirota MM. 2009. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. *Biological Conservation* **142**:1141–1153.
- Rocha MF, Passamani M, Yankous Gonçalves Fialho M. 2014. Can vegetation corridors provide habitat in fragmented landscapes? A case-study in the Brazilian Atlantic Domain. *Studies on Neotropical Fauna and Environment* **49**:1–5.
- Ruiz-Gonzalez A, Cushman SA, Madeira MJ, Randi E, Gómez-Moliner BJ. 2015. Isolation by distance, resistance and/or clusters? Lessons learned from a forest-dwelling carnivore inhabiting a heterogeneous landscape. *Molecular Ecology* **24**:5110–5129.
- Schuelke M. 2000. An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. *Nature biotechnology* **18**:233–234.
- Segelbacher G, Cushman SA, Epperson BK, Fortin M-JJ, Francois O, Hardy OJ, Holderegger R, Taberlet P, Waits LP, Manel S. 2010. Applications of landscape genetics in conservation biology: Concepts and challenges. *Conservation Genetics* **11**:375–385.

- Sommer S, Schmidt A, Schmidt A, Püttker T, Pardini R. 2009. Development and characterization of microsatellite loci for the marsupial *Marmosops incanus* Lund, 1840 of the Brazilian Atlantic rain forest using a genome screening and restriction ligation approach **Molecular**:1460–1466.
- Sousa LCC de. 2013. Variabilidade genética, estrutura populacional e identidade molecular dos marsupiais *Didelphis albiventris* e *Marmosops incanus* no Brasil. Universidade Federal de Minas Gerais. <http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/handle/1843/BUBD-9ADJE9>
- Storfer A, Murphy MA, Evans JS, Goldberg CS, Robinson S, Spear SF, Dezzani R, Delmelle E, Vierling L, Waits LP. 2007. Putting the “landscape” in landscape genetics. *Heredity* **98**:128–142.
- Vieira M V., Olifiers N, Delciellos AC, Antunes VZ, Bernardo LR, Grelle CEV, Cerqueira R. 2009. Land use vs. fragment size and isolation as determinants of small mammal composition and richness in Atlantic Forest remnants. *Biological Conservation* **142**:1191–1200. Elsevier Ltd.
- Wasserman TN, Cushman SA, Schwartz MK, Wallin DO. 2010. Spatial scaling and multi-model inference in landscape genetics: *Martes americana* in northern Idaho. *Landscape Ecology* **25**:1601–1612.
- Winter DJ. 2012. MMOD: An R library for the calculation of population differentiation statistics. *Molecular Ecology Resources* **12**:1158–1160.
- Zanchetta LS. 2014. Filogeografia comparativa e história demográfica de dois marsupiais da Mata Atlântica Filogeografia comparativa e história demográfica de dois marsupiais da Mata Atlântica. Universidade Federal do Espírito Santo. <http://www.cienciasbiologicas.ufes.br/pos-graduacao/PPGBAN/detalhes-da-tese?id=7670>

## Material suplementar

**Tabela S1:** Lista de espécimes de *M. incanus* utilizados. Espécimes com o número de identificação começando por CTA são exemplares tombados na Coleção de Tecido Animal da UFES (CTA-UFES). Número de identificação começando por outras siglas que não CTA são amostras provenientes de empréstimo de outros pesquisadores ou ainda não tombados na coleção.

<b>Nº de identificação</b>	<b>Localidade</b>	<b>Município</b>	<b>Latitude</b>	<b>Longitude</b>
CTA 130	Fazenda Lacerda, Águas Claras	Águia Branca	-18,97333	-40,77056
CTA 131	Fazenda Lacerda, Águas Claras	Águia Branca	-18,97333	-40,77056
CTA 132	Fazenda Lacerda, Águas Claras	Águia Branca	-18,97333	-40,77056
CTA 133	Fazenda Lacerda, Águas Claras	Águia Branca	-18,97333	-40,77056
CTA 138	Mata dos Galiano, Águas Claras	Águia Branca	-18,91611	-40,82417
CTA 177	Fazenda Lacerda, Águas Claras	Águia Branca	-18,88972	-40,82667
CTA 178	Fazenda Lacerda, Águas Claras	Águia Branca	-18,88972	-40,82667
CTA 179	Fazenda Pedra Redonda	Águia Branca	-18,97333	-40,82056
CTA 180	Fazenda Pedra Redonda	Águia Branca	-18,97333	-40,82056
CTA 181	Fazenda Pedra Redonda	Águia Branca	-18,97333	-40,82056
CTA 182	Fazenda Pedra Redonda	Águia Branca	-18,97333	-40,82056
CTA 183	Fazenda Pedra Redonda	Águia Branca	-18,97333	-40,82056
CTA 184	Fazenda Pedra Redonda	Águia Branca	-18,97333	-40,82056
CTA 185	Mata dos Galiano, Águas Claras	Águia Branca	-18,91611	-40,82417
CTA 186	Mata dos Galiano, Águas Claras	Águia Branca	-18,91611	-40,82417
CTA 187	Mata Norte, Sítio Krok	Águia Branca	-18,97778	-40,74639
CTA 188	Mata Norte, Sítio Krok	Águia Branca	-18,97778	-40,74639
CTA 189	Mata Norte, Sítio Krok	Águia Branca	-18,97778	-40,74639
CTA 190	Mata Norte, Sítio Krok	Águia Branca	-18,97778	-40,74639
CTA 191	Mata Norte, Sítio Krok	Águia Branca	-18,97778	-40,74639
CTA 192	Mata Norte, Sítio Krok	Águia Branca	-18,97778	-40,74639
CTA 193	Mata Norte, Sítio Krok	Águia Branca	-18,97778	-40,74639
CTA 194	Mata Norte, Sítio Krok	Águia Branca	-18,97778	-40,74639
CTA 195	Mata Norte, Sítio Krok	Águia Branca	-18,97778	-40,74639
CTA 196	Mata Norte, Sítio Krok	Águia Branca	-18,97778	-40,74639
CTA 197	Mata da Lagoa, Sítio Krok	Águia Branca	-18,97972	-40,74694
CTA 198	Mata da Lagoa, Sítio Krok	Águia Branca	-18,97972	-40,74694
CTA 199	Mata da Lagoa, Sítio Krok	Águia Branca	-18,97972	-40,74694
CTA 200	Fazenda do Zequinha Manduca, Águas Claras	Águia Branca	-18,87472	-40,81389
CTA 201	Fazenda do Zequinha Manduca, Águas Claras	Águia Branca	-18,87472	-40,81389
CTA 765	Mata dos Galiano, Águas Claras	Águia Branca	-18,91611	-40,82417
CTA 412	Reserva Biológica Duas Bocas, Alto Alegre	Cariacica	-20,28111	-40,52194

**Tabela S1 (cont.):** Lista de espécimes de *M. incanus* utilizados. Espécimes com o número de identificação começando por CTA são exemplares tombados na Coleção de Tecido Animal da UFES (CTA-UFES). Número de identificação começando por outras siglas que não CTA são amostras provenientes de empréstimo de outros pesquisadores ou ainda não tombados na coleção.

<b>Nº de identificação</b>	<b>Localidade</b>	<b>Município</b>	<b>Latitude</b>	<b>Longitude</b>
CTA 413	Reserva Biológica Duas Bocas, Alto Alegre	Cariacica	-20,28111	-40,52194
CTA 414	Reserva Biológica Duas Bocas, Alto Alegre	Cariacica	-20,28111	-40,52194
CTA 415	Reserva Biológica Duas Bocas, Alto Alegre	Cariacica	-20,28111	-40,52194
CTA 416	Reserva Biológica Duas Bocas, Alto Alegre	Cariacica	-20,28111	-40,52194
CTA 417	Reserva Biológica Duas Bocas, Alto Alegre	Cariacica	-20,28111	-40,52194
CTA 418	Reserva Biológica Duas Bocas, Alto Alegre	Cariacica	-20,28111	-40,52194
CTA 419	Reserva Biológica Duas Bocas, Alto Alegre	Cariacica	-20,28111	-40,52194
CTA 420	Reserva Biológica Duas Bocas, Alto Alegre	Cariacica	-20,28111	-40,52194
CTA 421	Reserva Biológica Duas Bocas, Alto Alegre	Cariacica	-20,28111	-40,52194
CTA 422	Reserva Biológica Duas Bocas, Alto Alegre	Cariacica	-20,28111	-40,52194
CTA 423	Reserva Biológica Duas Bocas, Alto Alegre	Cariacica	-20,28111	-40,52194
CTA 424	Reserva Biológica Duas Bocas, Alto Alegre	Cariacica	-20,28111	-40,52194
CTA 425	Reserva Biológica Duas Bocas, Alto Alegre	Cariacica	-20,28111	-40,52194
CTA 859	Reserva Biológica Duas Bocas, Alto Alegre	Cariacica	-20,28111	-40,52194
CTA 3912	Parque Estadual do Forno Grande	Castelo	-20,51667	-41,08389
CTA 3923	Parque Estadual do Forno Grande	Castelo	-20,51667	-41,08389
CTA 3979	Parque Estadual Mata das Flores	Castelo	-20,61833	-41,17831
CTA 3980	Parque Estadual Mata das Flores	Castelo	-20,61833	-41,17831
CTA 3981	Parque Estadual Mata das Flores	Castelo	-20,61833	-41,17831
CTA 3982	Parque Estadual Mata das Flores	Castelo	-20,61833	-41,17831
CTA 3983	Parque Estadual Mata das Flores	Castelo	-20,61833	-41,17831
CTA 3985	Parque Estadual Mata das Flores	Castelo	-20,61833	-41,17831
CTA 3988	Parque Estadual Mata das Flores	Castelo	-20,61833	-41,17831
CTA 3989	Parque Estadual Mata das Flores	Castelo	-20,61833	-41,17831
CTA 3992	Parque Estadual Mata das Flores	Castelo	-20,61833	-41,17831
CTA 4002	Parque Estadual do Forno Grande	Castelo	-20,51886	-41,08344
CTA 4006	Parque Estadual do Forno Grande	Castelo	-20,51886	-41,08344
CTA 4016	Parque Estadual do Forno Grande	Castelo	-20,51886	-41,08344
CTA 4017	Parque Estadual do Forno Grande	Castelo	-20,51886	-41,08344
CTA 4019	Parque Estadual do Forno Grande	Castelo	-20,51886	-41,08344
CTA 4020	Parque Estadual do Forno Grande	Castelo	-20,51886	-41,08344
CTA 3794	Floresta Nacional do Rio Preto	Conceição da Barra	-18,35528	-39,82250
CTA 3795	Floresta Nacional do Rio Preto	Conceição da Barra	-18,35528	-39,82250

**Tabela S1 (cont.):** Lista de espécimes de *M. incanus* utilizados. Espécimes com o número de identificação começando por CTA são exemplares tombados na Coleção de Tecido Animal da UFES (CTA-UFES). Número de identificação começando por outras siglas que não CTA são amostras provenientes de empréstimo de outros pesquisadores ou ainda não tombados na coleção.

<b>Nº de identificação</b>	<b>Localidade</b>	<b>Município</b>	<b>Latitude</b>	<b>Longitude</b>
CTA 3797	Floresta Nacional do Rio Preto	Conceição da Barra	-18,35528	-39,82250
CTA 3808	Floresta Nacional do Rio Preto	Conceição da Barra	-18,35528	-39,84417
CTA 3812	Floresta Nacional do Rio Preto	Conceição da Barra	-18,35528	-39,84417
CTA 3816	Floresta Nacional do Rio Preto	Conceição da Barra	-18,35528	-39,84417
CTA 4048	Floresta Nacional do Rio Preto	Conceição da Barra	-18,35583	-39,84472
CTA 4049	Floresta Nacional do Rio Preto	Conceição da Barra	-18,35583	-39,84472
CTA 4050	Floresta Nacional do Rio Preto	Conceição da Barra	-18,35583	-39,84472
CTA 4051	Floresta Nacional do Rio Preto	Conceição da Barra	-18,35583	-39,84472
CTA 4052	Floresta Nacional do Rio Preto	Conceição da Barra	-18,35583	-39,84472
CTA 4053	Floresta Nacional do Rio Preto	Conceição da Barra	-18,35583	-39,84472
CTA 4055	Floresta Nacional do Rio Preto	Conceição da Barra	-18,35583	-39,84472
CTA 4056	Floresta Nacional do Rio Preto	Conceição da Barra	-18,35583	-39,84472
CTA 4057	Floresta Nacional do Rio Preto	Conceição da Barra	-18,35583	-39,84472
CTA 4068	Floresta Nacional do Rio Preto	Conceição da Barra	-18,35528	-39,82250
CTA 4140	Floresta Nacional do Rio Preto (Trilha C)	Conceição da Barra	-18,35583	-39,84472
CTA 4141	Floresta Nacional do Rio Preto (Trilha A)	Conceição da Barra	-18,35583	-39,84472
CTA 4143	Floresta Nacional do Rio Preto (Trilha G)	Conceição da Barra	-18,35583	-39,84472
CTA 4145	Floresta Nacional do Rio Preto (Trilha J)	Conceição da Barra	-18,35583	-39,84472
CTA 4146	Floresta Nacional do Rio Preto (Trilha J)	Conceição da Barra	-18,35583	-39,84472
CTA 4147	Floresta Nacional do Rio Preto (Trilha J)	Conceição da Barra	-18,35583	-39,84472
CTA 4148	Floresta Nacional do Rio Preto (Trilha A)	Conceição da Barra	-18,35583	-39,84472
CTA 4149	Floresta Nacional do Rio Preto (Trilha J)	Conceição da Barra	-18,35583	-39,84472
CTA 4150	Floresta Nacional do Rio Preto (Trilha J)	Conceição da Barra	-18,35583	-39,84472
CTA 4151	Floresta Nacional do Rio Preto (Trilha J)	Conceição da Barra	-18,35583	-39,84472
CTA 832	Parque Estadual de Pedra Azul	Domingos Martins	-20,40000	-40,96667
CTA 3797	Floresta Nacional do Rio Preto	Conceição da Barra	-18,35528	-39,82250
CTA 3808	Floresta Nacional do Rio Preto	Conceição da Barra	-18,35528	-39,84417
CTA 3812	Floresta Nacional do Rio Preto	Conceição da Barra	-18,35528	-39,84417
CTA 3816	Floresta Nacional do Rio Preto	Conceição da Barra	-18,35528	-39,84417
CTA 4048	Floresta Nacional do Rio Preto	Conceição da Barra	-18,35583	-39,84472
CTA 4049	Floresta Nacional do Rio Preto	Conceição da Barra	-18,35583	-39,84472
CTA 4050	Floresta Nacional do Rio Preto	Conceição da Barra	-18,35583	-39,84472
CTA 4051	Floresta Nacional do Rio Preto	Conceição da Barra	-18,35583	-39,84472

**Tabela S1(cont.):** Lista de espécimes de *M. incanus* utilizados. Espécimes com o número de identificação começando por CTA são exemplares tombados na Coleção de Tecido Animal da UFES (CTA-UFES). Número de identificação começando por outras siglas que não CTA são amostras provenientes de empréstimo de outros pesquisadores ou ainda não tombados na coleção.

<b>Nº de identificação</b>	<b>Localidade</b>	<b>Município</b>	<b>Latitude</b>	<b>Longitude</b>
CTA 832	Parque Estadual de Pedra Azul	Domingos Martins	-20,40000	-40,96667
CTA 833	Parque Estadual de Pedra Azul	Domingos Martins	-20,40000	-40,96667
CTA 834	Parque Estadual de Pedra Azul	Domingos Martins	-20,40000	-40,96667
CTA 835	Parque Estadual de Pedra Azul	Domingos Martins	-20,40000	-40,96667
CTA 836	Parque Estadual de Pedra Azul	Domingos Martins	-20,40000	-40,96667
LGA 951	Parque Estadual de Pedra Azul	Domingos Martins	-20,40000	-40,96667
LGA 968	Parque Estadual de Pedra Azul	Domingos Martins	-20,40000	-40,96667
LGA 969	Parque Estadual de Pedra Azul	Domingos Martins	-20,40000	-40,96667
LGA 970	Parque Estadual de Pedra Azul	Domingos Martins	-20,40000	-40,96667
CTA 2575	Buenos Aires	Guarapari	-20,57861	-40,54444
CTA 2595	Buenos Aires	Guarapari	-20,57861	-40,54444
CTA 2603	Rio da Prata	Guarapari	-20,53083	-40,59889
LGA 1188	Parque Nacional do Caparaó, Posto Santa Marta	Ibitirama	-20,49722	-41,70306
LGA 1226	Parque Nacional do Caparaó, Posto Santa Marta	Ibitirama	-20,49722	-41,70306
LGA 1594	Parque Nacional do Caparaó, Posto Pedra Roxa	Ibitirama	-20,39639	-41,73167
LGA 1597	Parque Nacional do Caparaó, Posto Pedra Roxa	Ibitirama	-20,39639	-41,73167
TAX 5	Reserva Natural Vale	Linhares	-19,15139	-40,07028
CTA 1073	Fazenda Santa Terezinha, 33 km NE Linhares	Linhares	-19,13333	-39,95000
CTA 2764	Rodovia BR-101 (km 101 a 107)	Linhares	-19,01958	-40,01191
CTA 2776	Rodovia BR-101 (km 101 a 107)	Linhares	-19,01958	-40,01191
CTA 3860	Reserva Natural da Vale	Linhares	-19,15139	-40,07028
CTA 3861	Reserva Natural da Vale	Linhares	-19,15139	-40,07028
CTA 910	Fazenda Santa Terezinha, 33 km NE Linhares	Linhares	-19,13333	-39,95000
CTA 911	Fazenda Santa Terezinha, 33 km NE Linhares	Linhares	-19,13333	-39,95000
CTA 123	Córrego Palmital, Mata dos Stur	Pancas	-19,20444	-40,79528
CTA 124	Córrego Palmital, Mata dos Stur	Pancas	-19,20444	-40,79528
CTA 202	Córrego Palmital, Mata dos Stur	Pancas	-19,20444	-40,79528
CTA 203	Córrego Palmital, Mata dos Stur	Pancas	-19,20444	-40,79528
CTA 204	Córrego Palmital, Mata dos Stur	Pancas	-19,20444	-40,79528
CTA 2044	Trilha B, Córrego Panquinhas	Pancas	-19,30117	-49,95608
CTA 205	Córrego São Bento, Fazenda do Dr. Rolly Luís	Pancas	-19,22583	-40,76167
CTA 206	Córrego São Bento, Fazenda do Dr. Rolly Luís	Pancas	-19,22583	-40,76167
CTA 207	Mata da Pedra do Camelo	Pancas	-19,23750	-40,79694

**Tabela S1(cont.):** Lista de espécimes de *M. incanus* utilizados. Espécimes com o número de identificação começando por CTA são exemplares tombados na Coleção de Tecido Animal da UFES (CTA-UFES). Número de identificação começando por outras siglas que não CTA são amostras provenientes de empréstimo de outros pesquisadores ou ainda não tombados na coleção.

<b>Nº de identificação</b>	<b>Localidade</b>	<b>Município</b>	<b>Latitude</b>	<b>Longitude</b>
CTA 208	Mata da Pedra do Camelo	Pancas	-19,23750	-40,79694
CTA 209	Mata da Pedra do Camelo	Pancas	-19,23750	-40,79694
CTA 210	Mata da Pedra do Camelo	Pancas	-19,23750	-40,79694
CTA 211	Mata da Pedra do Camelo	Pancas	-19,23750	-40,79694
CTA 212	Mata da Pedra do Camelo	Pancas	-19,23750	-40,79694
CTA 213	Mata da Pedra do Camelo	Pancas	-19,23750	-40,79694
CTA 3542	Trilha A, Córrego São Luiz I	Pancas	-19,22182	-40,81667
CTA 3543	Trilha C, Córrego São Luiz I	Pancas	-19,20995	-40,81923
CTA 3544	Trilha B, Córrego São Luiz I	Pancas	-19,21522	-40,81724
CTA 3548	Trilha C, Córrego São Luiz I	Pancas	-19,20995	-40,81923
CTA 766	Córrego Palmital, Mata dos Stur	Pancas	-19,20444	-40,79528
LGA 2627	Reserva Biológica Córrego do Veados	Pinheiros	-18,36916	-40,13888
LGA 2723	Reserva Biológica Córrego do Veados	Pinheiros	-18,32444	-40,12611
LGA 3122	Reserva Biológica Córrego do Veados	Pinheiros	-18,30583	-40,16472
LGA 3126	Reserva Biológica Córrego do Veados	Pinheiros	-18,35666	-40,16611
LGA 3131	Reserva Biológica Córrego do Veados	Pinheiros	-18,30583	-40,16472
LGA 3134	Reserva Biológica Córrego do Veados	Pinheiros	-18,36166	-40,16638
LGA 3137	Reserva Biológica Córrego do Veados	Pinheiros	-18,32444	-40,12611
LGA 3149	Reserva Biológica Córrego do Veados	Pinheiros	-18,32444	-40,12611
LGA 3155	Reserva Biológica Córrego do Veados	Pinheiros	-18,30583	-40,16472
LGA 3168	Reserva Biológica Córrego do Veados	Pinheiros	-18,30583	-40,16472
LGA 3169	Reserva Biológica Córrego do Veados	Pinheiros	-18,30583	-40,16472
LGA 3170	Reserva Biológica Córrego do Veados	Pinheiros	-18,36166	-40,14972
LGA 3201	Reserva Biológica Córrego do Veados	Pinheiros	-18,37055	-40,14166
LGA 3213	Reserva Biológica Córrego do Veados	Pinheiros	-18,37055	-40,14166
LGA 3222	Reserva Biológica Córrego do Veados	Pinheiros	-18,37055	-40,14166
LGA 3224	Reserva Biológica Córrego do Veados	Pinheiros	-18,37055	-40,14166
LGA 3231	Reserva Biológica Córrego do Veados	Pinheiros	-18,37055	-40,14166
LGA 3274	Reserva Biológica Córrego do Veados	Pinheiros	-18,37055	-40,14166
LGA 3653	Reserva Biológica Córrego do Veados	Pinheiros	-18,30583	-40,16472
LGA 3692	Reserva Biológica Córrego do Veados	Pinheiros	-18,30583	-40,16472
LGA 3702	Reserva Biológica Córrego do Veados	Pinheiros	-18,37055	-40,14166
LGA 3709	Reserva Biológica Córrego do Veados	Pinheiros	-18,37055	-40,14166

**Tabela S1(cont.):** Lista de espécimes de *M. incanus* utilizados. Espécimes com o número de identificação começando por CTA são exemplares tombados na Coleção de Tecido Animal da UFES (CTA-UFES). Número de identificação começando por outras siglas que não CTA são amostras provenientes de empréstimo de outros pesquisadores ou ainda não tombados na coleção.

<b>Nº de identificação</b>	<b>Localidade</b>	<b>Município</b>	<b>Latitude</b>	<b>Longitude</b>
LGA 3710	Reserva Biológica Córrego do Veado	Pinheiros	-18,37055	-40,14166
LGA 3717	Reserva Biológica Córrego do Veado	Pinheiros	-18,35666	-40,16472
LGA 3718	Reserva Biológica Córrego do Veado	Pinheiros	-18,36916	-40,13888
CTA 4088	Reserva Biológica Córrego do Veado	Pinheiros	-18,36916	-40,13888
CTA 2841	Estação Biológica de Santa Lúcia	Santa Teresa	-19,96500	-40,53944
CTA 2842	Estação Biológica de Santa Lúcia	Santa Teresa	-19,96500	-40,53944
CTA 3530	Estação Biológica de Santa Lúcia	Santa Teresa	-19,96500	-40,53944
CTA 3532	Estação Biológica de Santa Lúcia	Santa Teresa	-19,96500	-40,53944
CTA 3533	Estação Biológica de Santa Lúcia	Santa Teresa	-19,96500	-40,53944
CTA 3535	Estação Biológica de Santa Lúcia	Santa Teresa	-19,96500	-40,53944
CTA 3538	Estação Biológica de Santa Lúcia	Santa Teresa	-19,96500	-40,53944
CTA 3791	Estação Biológica de Santa Lúcia	Santa Teresa	-19,96500	-40,52722
CTA 3834	Estação Biológica de Santa Lúcia	Santa Teresa	-19,96500	-40,53944
CTA 3840	Estação Biológica de Santa Lúcia	Santa Teresa	-19,96500	-40,53944
CTA 3890	Estação Biológica de Santa Lúcia	Santa Teresa	-19,96500	-40,53944
CTA 4043	Estação Biológica de Santa Lúcia	Santa Teresa	-19,96500	-40,53944
CTA 782	Estação Biológica de Santa Lúcia	Santa Teresa	-19,96500	-40,53972
CTA 783	Estação Biológica de Santa Lúcia	Santa Teresa	-19,96500	-40,53972
CTA 784	Estação Biológica de Santa Lúcia	Santa Teresa	-19,96500	-40,53972
CTA 785	Estação Biológica de Santa Lúcia	Santa Teresa	-19,96500	-40,53972
CTA 786	Estação Biológica de Santa Lúcia	Santa Teresa	-19,96944	-40,54000
CTA 787	Estação Biológica de Santa Lúcia	Santa Teresa	-19,96944	-40,54000
CTA 788	Estação Biológica de Santa Lúcia	Santa Teresa	-19,95278	-40,52500
CTA 789	Estação Biológica de Santa Lúcia	Santa Teresa	-19,95278	-40,52500
CTA 790	Estação Biológica de Santa Lúcia	Santa Teresa	-19,95278	-40,52500
CTA 791	Estação Biológica de Santa Lúcia	Santa Teresa	-19,95278	-40,52500
CTA 826	Estação Biológica de Santa Lúcia	Santa Teresa	-19,96500	-40,53972
CTA 828	Estação Biológica de Santa Lúcia	Santa Teresa	-19,96500	-40,53944
CTA 3864	Sapucaia (ou Pinheiros), Alegoria	São José do Calçado	-21,04250	-41,71917
CTA 3865	Mata de Irineu Tatagiba, Alegoria	São José do Calçado	-21,03333	-41,70111
CTA 3868	Sapucaia (ou Pinheiros), Alegoria	São José do Calçado	-21,04250	-41,71917
CTA 3872	Sapucaia (ou Pinheiros), Alegoria	São José do Calçado	-21,04250	-41,71917
CTA 3875	Sapucaia (ou Pinheiros), Alegoria	São José do Calçado	-21,04250	-41,71917

**Tabela S1(cont.):** Lista de espécimes de *M. incanus* utilizados. Espécimes com o número de identificação começando por CTA são exemplares tombados na Coleção de Tecido Animal da UFES (CTA-UFES). Número de identificação começando por outras siglas que não CTA são amostras provenientes de empréstimo de outros pesquisadores ou ainda não tombados na coleção.

<b>Nº de identificação</b>	<b>Localidade</b>	<b>Município</b>	<b>Latitude</b>	<b>Longitude</b>
CTA 3881	Sapucaia (ou Pinheiros), Alegoria	São José do Calçado	-21,04250	-41,71917
CTA 3885	Pirineus, Airituba	São José do Calçado	-20,95806	-41,67083
CTA 3887	Pirineus, Airituba	São José do Calçado	-20,95806	-41,67083
YL 693	Reserva Biológica de Sooretama	Sooretama	-19,05555	-40,14722
YL 695	Reserva Biológica de Sooretama	Sooretama	-19,05555	-40,14722
YL 696	Reserva Biológica de Sooretama	Sooretama	-19,05555	-40,14722
YL 713	Reserva Biológica de Sooretama	Sooretama	-19,05555	-40,14722
CTA 2621	Reserva Biológica de Sooretama	Sooretama	-19,04917	-40,15944
CTA 3580	Reserva Biológica de Sooretama	Sooretama	-19,05555	-40,14722
CTA 3594	Reserva Biológica de Sooretama	Sooretama	-19,05555	-40,14527
CTA 3595	Reserva Biológica de Sooretama	Sooretama	-19,05555	-40,14527
CTA 3598	Reserva Biológica de Sooretama	Sooretama	-19,05555	-40,14722
CTA 663	Ribeira	Viana	-20,37694	-40,45833
CTA 664	Ribeira	Viana	-20,37694	-40,45833
CTA 665	Ribeira	Viana	-20,37694	-40,45833
CTA 666	Ribeira	Viana	-20,37694	-40,45833
CTA 667	Pimenta	Viana	-20,37917	-40,46833
CTA 668	Pimenta	Viana	-20,37917	-40,46833
CTA 669	Pimenta	Viana	-20,37917	-40,46833
CTA 670	Pimenta	Viana	-20,37917	-40,46833
CTA 671	Pimenta	Viana	-20,37917	-40,46833
CTA 672	Pimenta	Viana	-20,37917	-40,46833
CTA 3881	Sapucaia (ou Pinheiros), Alegoria	São José do Calçado	-21,04250	-41,71917
CTA 3885	Pirineus, Airituba	São José do Calçado	-20,95806	-41,67083
CTA 3887	Pirineus, Airituba	São José do Calçado	-20,95806	-41,67083
YL 693	Reserva Biológica de Sooretama	Sooretama	-19,05555	-40,14722
YL 695	Reserva Biológica de Sooretama	Sooretama	-19,05555	-40,14722
YL 696	Reserva Biológica de Sooretama	Sooretama	-19,05555	-40,14722
YL 713	Reserva Biológica de Sooretama	Sooretama	-19,05555	-40,14722
CTA 2621	Reserva Biológica de Sooretama	Sooretama	-19,04917	-40,15944
CTA 3580	Reserva Biológica de Sooretama	Sooretama	-19,05555	-40,14722
CTA 3594	Reserva Biológica de Sooretama	Sooretama	-19,05555	-40,14527
CTA 3595	Reserva Biológica de Sooretama	Sooretama	-19,05555	-40,14527

**Tabela S1(cont.):** Lista de espécimes de *M. incanus* utilizados. Espécimes com o número de identificação começando por CTA são exemplares tombados na Coleção de Tecido Animal da UFES (CTA-UFES). Número de identificação começando por outras siglas que não CTA são amostras provenientes de empréstimo de outros pesquisadores ou ainda não tombados na coleção.

Nº de identificação	Localidade	Município	Latitude	Longitude
CTA 3598	Reserva Biológica de Sooretama	Sooretama	-19,05555	-40,14722
CTA 663	Ribeira	Viana	-20,37694	-40,45833
CTA 664	Ribeira	Viana	-20,37694	-40,45833
CTA 665	Ribeira	Viana	-20,37694	-40,45833
CTA 666	Ribeira	Viana	-20,37694	-40,45833
CTA 667	Pimenta	Viana	-20,37917	-40,46833
CTA 668	Pimenta	Viana	-20,37917	-40,46833
CTA 669	Pimenta	Viana	-20,37917	-40,46833
CTA 670	Pimenta	Viana	-20,37917	-40,46833
CTA 671	Pimenta	Viana	-20,37917	-40,46833
CTA 672	Pimenta	Viana	-20,37917	-40,46833

**Tabela S2:** Valores de significância (p) dos testes de equilíbrio de Hardy-Weinberg para cada combinação de marcador e localidade. Os valores em negrito representam valores significativos (< 0,05), ou seja, que não estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Localidades	Minc 1	Minc 2	Minc 3	Minc 4	Minc 8	Minc 10	Mdo 294	Dm 09
Águia Branca	0,072	<b>0,003</b>	<b>0,000</b>	0,054	0,164	0,234	0,335	0,186
Calçado	0,157	<b>0,002</b>	0,700	0,559	<b>0,032</b>	0,616	0,594	0,090
Caparaó	0,743	0,857	0,571	0,571	0,514	0,257	1,000	0,143
Duas Bocas	0,280	0,059	0,715	0,373	0,410	0,248	0,490	<b>0,014</b>
Castelo	0,605	0,496	0,777	0,558	0,436	0,206	0,666	<b>0,005</b>
Rio Preto	0,320	<b>0,044</b>	0,464	0,472	0,250	<b>0,006</b>	<b>0,046</b>	<b>0,042</b>
Pedra Azul	0,319	0,424	0,078	0,659	0,833	0,644	0,372	0,263
Guarapari	0,467	0,800	0,667	0,600	0,800	0,200	0,667	0,333
Pancas	0,109	0,094	0,297	0,503	0,597	0,440	0,368	0,101
Córrego do Veado	0,091	0,237	0,129	0,292	0,425	<b>0,033</b>	0,058	0,576
Santa Teresa	0,381	<b>0,036</b>	<b>0,042</b>	0,085	<b>0,018</b>	0,627	0,194	0,099
Sooretama	<b>0,041</b>	<b>0,030</b>	<b>0,002</b>	0,216	0,116	0,171	0,111	0,522
Viana	0,631	0,787	0,328	0,421	0,251	0,559	0,173	0,468

**Tabela S3. Cont.:** Valores de riqueza alélica total, quantidade de floresta em hectares, porcentagem de floresta na área tampão, riqueza média de alelos privados com rarefação e riqueza alélica média com rarefação.

<b>Localidade</b>	<b>Riqueza alélica total</b>	<b>Quantidade de floresta (ha)</b>	<b>Porcentagem de floresta (%)</b>	<b>Riqueza média de alelos privados</b>	<b>Riqueza alélica média</b>
Pedra Azul	29,323	3709,582	29,318	0,270	3,85
Duas Bocas	33,188	6384,885	50,462	0,370	4,28
Sooretama	35,469	8938,376	70,643	0,630	4,56
Águia Branca	35,745	408,244	3,226	0,780	4,54
Pancas	36,215	795,367	6,286	0,820	4,64
Santa Teresa	33,209	5655,596	44,698	0,350	4,23
Viana	29,291	1592,636	12,587	0,450	3,82
Guarapari	26,028	4447,085	35,147	0,180	3,75
Castelo	33,292	2488,230	19,665	0,370	4,28
Caparaó	28,686	3195,377	25,254	0,380	4,06
Calçado	26,807	750,139	5,929	0,290	3,51
Rio Preto	30,561	3318,047	26,224	0,640	3,88
Córrego do Veado	26,506	3202,079	25,307	0,640	3,36

**Tabela S4:** Matriz de diferenciação genética par-apor de D de Jost e de distância geográfica euclidiana. Acima da diagonal central são mostrados os valores de distância geográfica em quilômetros e abaixo da diagonal central encontram-se os valores de diferenciação D de Jost para cada par de localidade. O valor em negrito indica a não-significância no teste de bootstrap para divergência genética D de Jost.

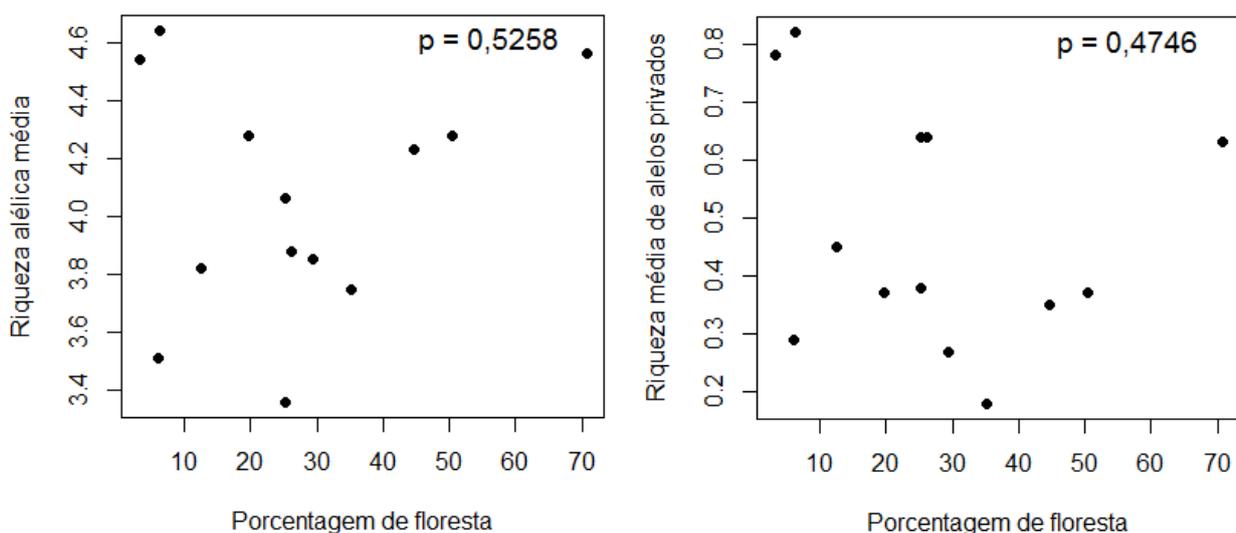
	Águia Branca	Calçado	Caparaó	Duas Bocas	Castelo	Rio Preto	Pedra Azul	Guarapari	Pancas	C. do Veado	Santa Teresa	Sooretama	Viana
Águia Branca	–	250,60	195,07	153,54	183,03	123,17	162,24	182,25	34,32	98,65	120,06	79,14	162,25
Calçado	0,55	–	61,09	153,51	82,57	363,62	105,61	137,27	218,92	342,98	177,56	283,12	156,12
Caparaó	0,53	0,42	–	133,53	68,47	314,33	85,07	129,96	167,72	290,75	140,64	238,95	138,77
Duas Bocas	0,55	0,52	0,35	–	73,39	230,64	50,62	31,46	121,35	218,79	36,55	145,83	12,22
Castelo	0,57	0,48	0,18	0,29	–	285,90	25,14	61,98	152,65	272,26	94,09	204,00	76,49
Rio Preto	0,56	0,51	0,62	0,48	0,59	–	262,65	260,83	149,37	33,73	196,74	80,75	236,67
Pedra Azul	0,55	0,60	0,30	0,38	0,25	0,58	–	45,55	128,97	247,28	67,74	176,79	54,95
Guarapari	0,65	0,51	0,29	0,22	<b>0,09</b>	0,56	0,48	–	149,78	252,22	66,93	177,30	22,02
Pancas	0,22	0,58	0,48	0,49	0,45	0,65	0,54	0,50	–	125,44	86,16	84,44	132,01
C. do Veado	0,62	0,68	0,64	0,62	0,61	0,46	0,68	0,56	0,61	–	184,58	75,78	231,10
Santa Teresa	0,51	0,46	0,28	0,15	0,20	0,59	0,31	0,17	0,53	0,65	–	111,71	48,09
Sooretama	0,25	0,42	0,40	0,41	0,41	0,55	0,46	0,41	0,15	0,52	0,47	–	151,23
Viana	0,64	0,56	0,28	0,26	0,37	0,59	0,41	0,45	0,67	0,67	0,19	0,48	–

**Tabela S5:** Teste parcial de mantel com os diferentes mapas de superfície de resistências gerados pelas transformações exponenciais. Os valores de c representam o fator de curvatura exponencial pelo qual o mapa foi transformado, r é o valor de correlação com a matriz de divergência genética ao se particionar a variância da matriz de distância geográfica euclidiana e p é o valor de significância do teste.

Superfície de resistência (c)	Correlação (r)	p
0,25	0,4696	0,001
0,50	0,4653	0,002
1	0,4548	0,003
2	0,4318	0,003
4	0,3874	0,009
8	0,3441	0,051
16	0,3314	0,053
32	0,3265	0,079

**Tabela S5:** Intervalos de tamanho alélico, heterozigosidade observada (Ho), heterozigosidade esperada (H esp) e a porcentagem da diferença entre Ho e Hesp na amostra total para cada marcador.

Marcador	Intervalos de tamanhos	Ho	H esp	% de diferença
Minc 1	156-228	0,832	0,900	7,56
Minc 2	96-166	0,686	0,907	24,37
Minc 3	169-261	0,852	0,957	10,97
Minc 4	132-164	0,630	0,702	10,26
Minc 8	140-368	0,780	0,930	16,13
Minc 10	195-285	0,804	0,940	14,47
Mdo294	196-238	0,845	0,905	6,63
Dm 9	208-248	0,757	0,908	16,63



**Figura S1:** Relação entre riqueza alélica média e proporção de floresta na paisagem (esquerda) e da relação entre riqueza média de alelos privados com proporção de floresta na paisagem (direita). Os valores de p nos dois gráficos foram os encontrados pelo teste de correlação de Pearson, ambos não-significativos.