

**MARIA CLARA SANTOS RIBEIRO**

**EFEITOS DA ALTITUDE NA DIVERSIDADE GENÉTICA E DELIMITAÇÃO DE ESPÉCIES DAS CUÍCAS ESBELTAS DO GÊNERO *Marmosops* (Didelphidae: Thylamyini) NA FLORESTA ATLÂNTICA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Fabiano Rodrigues de Melo

Coorientador: Michel Barros Faria

**VIÇOSA – MINAS GERAIS  
2022**

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Campus Viçosa

T

R484e  
2022

Ribeiro, Maria Clara Santos, 1997-

Efeitos da altitude na diversidade genética e delimitação de espécies das cuícas esbeltas do gênero *Marmosops* (Didelphidae: Thylamyini) na Floresta Atlântica / Maria Clara Santos Ribeiro. – Viçosa, MG, 2022.

1 dissertação eletrônica (65 f.): il. (algumas color.).

Inclui apêndices.

Orientador: Fabiano Rodrigues de Melo.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Biologia Animal, 2022.

Referências bibliográficas: f. 55-65.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.278>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. *Marmosops incanus* - Genética. 2. *Marmosops paulensis* - Genética. 3. Citocromo b. 4. Influência de altitude. 5. Biodiversidade - Mata Atlântica. I. Melo, Fabiano Rodrigues de, 1973-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Biologia Animal. Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal. III. Título.

CDD 22. ed. 599.276

Bibliotecário(a) responsável: Alice Regina Pinto CRB6 2523

**MARIA CLARA SANTOS RIBEIRO**

**EFEITOS DA ALTITUDE NA DIVERSIDADE GENÉTICA E DELIMITAÇÃO DE ESPÉCIES DAS CUÍCAS ESBELTAS DO GÊNERO *Marmosops* (Didelphidae: Thylamyini) NA FLORESTA ATLÂNTICA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 18 de fevereiro de 2022.

Assentimento:



---

Maria Clara Santos Ribeiro  
Autora



---

Fabiano Rodrigues de Melo  
Orientador

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao meu orientador, Fabiano Rodrigues de Melo, por estes dois anos de incentivo e por acreditar no meu trabalho. O desenvolvimento desta dissertação envolveu atividades prévias de coleta em campo ainda durante a minha Iniciação Científica. Neste sentido, agradeço ao meu coorientador Michel Barros Faria e aos colegas envolvidos. Agradeço, especialmente, às coleções científicas e seus curadores que doaram amostras para compor minhas análises. Sou grata ao Museu de Zoologia Newton Bação de Azevedo da Universidade do Estado de Minas Gerais – Unidade Carangola (MZNB/UEMG – Carangola), Museu de Zoologia João Moojen da Universidade Federal de Viçosa (MZUFV), Instituto de Biodiversidade e Sustentabilidade da Universidade Federal do Rio de Janeiro – Campus Macaé (NUPEM/UFRJ), Museu Nacional da Universidade Federal do Rio de Janeiro (MN/UFRJ) e Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios do Instituto Oswaldo Cruz (LBCE/IOC). Pela solicitude e gentileza, agradeço aos curadores e professores Cibele Bonvicino (LBCE/IOC e MN/UFRJ), Guilherme Garbino (MZUFV), Gisele Lessa (MZUFV), Emanuel Teixeira (MZNB/UEMG – Carangola), Pablo Gonçalves (NUPEM/UFRJ), Renan Nunes (MZNB/UEMG – Carangola) e Roberto Vilela (LBCE/IOC). Não posso deixar de agradecer à Pollyana Alves de Barros pelo carinho em me auxiliar em todas as atividades que envolveram o MZUFV.

Sou muitíssimo grata à professora Cibele Bonvicino pelo investimento e disponibilidade de seu laboratório para o desenvolvimento dos métodos moleculares. Também agradeço pelo acompanhamento e discussões sobre este trabalho. Agradecimento especial também vai ao professor Jânio Moreira pela participação e discussão das análises e dos resultados e leituras no texto.

Uma parte importante do desenvolvimento da minha dissertação foi o apoio e ajuda diária de alguns amigos. Agradeço, especialmente, à Cíntia Povill por estar sempre disponível para conversar sobre meu trabalho e sobre tudo. Obrigada por ser tão amiga e parceira nestes momentos. Agradeço à Maria Júlia Cardoso por sempre me ajudar nos momentos mais sobrecarregados. Sou grata à Marcione Oliveira e Paola da Mata pelos fins de semana de estudo. Agradeço à Lizandra Bigai, Ian Moreira, Caroline Richau, Rayque Lanes, Sara Valle, Anna Donato, Marcelo Assis, Renata Olício e Maria Carolina Viana por todas as trocas de ideias. À minha amiga

Jô, que me hospedou por tantos meses em sua casa no Rio de Janeiro para que eu realizasse minha etapa de bancada. Ao meu namorado Bruno Franklin, pelo apoio e várias leituras do trabalho.

Agradeço ao professor Renato Feio por me acolher no MZUFV antes da pandemia. À professora Gisele Lessa pelo acompanhamento carinhoso e atencioso do desenvolvimento desta dissertação durante estes anos de pandemia. À professora Karla Yotoko pelo ensinamento de Filogenia Molecular e por permitir que eu participasse de suas reuniões de grupo de estudo. Aos meus amigos de Pós-Graduação, Laiena Luz, Uslaine Cunha e Felipe Pacheco por toda a parceria ao longo do curso das disciplinas.

Sou grata ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal e ao Laboratório de Manejo e Conservação de Fauna pelo apoio logístico. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

Agradeço à minha família, especialmente aos meus avós Sebastião (*in memoriam*), Carmozina, Pequena e Fausto (*in memoriam*) por garantirem que, além de toda educação e estudo, eu soubesse ser humana.

*"Tão proveitoso quanto explicar as cores a um cego, seria explicar a alguém que nunca saiu da Europa a total dessemelhança de uma paisagem tropical. Portanto, terá que me desculpar esses arroubos, e arroubos mal expressos."* – Charles Darwin

## RESUMO

RIBEIRO, Maria Clara Santos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2022. **Efeitos da altitude na diversidade genética e delimitação de espécies das cuícas esbeltas do gênero *Marmosops* (Didelphidae: Thylamyini) na Floresta Atlântica.** Orientador: Fabiano Rodrigues de Melo. Coorientador: Michel Barros Faria.

Espécies que ocupam regiões montanhosas têm respondido de forma única às dinâmicas climáticas, especialmente àquelas que surgiram no final do Quaternário. No entanto, não está claro como as condições climáticas do passado influenciaram na divergência genética de táxons montanhosos. A variação genética desses organismos poderia ter sido influenciada também por eventos tectônicos pré-pleistocênicos que formaram cordilheiras. O gene mitocondrial citocromo b foi sequenciado para analisar o papel da altitude na divergência de duas espécies sintópicas de marsupiais do gênero *Marmosops*, *M. incanus* e *M. paulensis*. Ambas apresentam padrões distintos de distribuição em gradientes de altitude da Floresta Atlântica. Grande divergência genética intraespecífica e grupos geograficamente estruturados foram encontrados. A diversificação observada das espécies é consistente com as características topográficas da Floresta Atlântica, e a altitude não parece interferir no bloqueio e limitação do fluxo gênico para *M. incanus*, embora clados relacionados com a alta altitude tenham sido identificados. Divergência alopatrica entre clados de *M. paulensis* foi observada para as regiões montanhosas, formações de montanhas durante o Neogeno coincidem com a formação de alguns filogrupos de *M. incanus* e *M. paulensis*, e o desempenho de refúgios do Pleistoceno não explica o padrão geral de distribuição da diversidade genética para as duas espécies.

**Palavras-chave:** bPTP. Gene mitocondrial. GMYC. *Marmosops incanus*. *Marmosops paulensis*. Variação genética.

## ABSTRACT

RIBEIRO, Maria Clara Santos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2022. **Effects of altitude on genetic diversity and species delimitation of slender opossums of the genus *Marmosops* (Didelphidae: Thylamyini) in the Atlantic Forest.** Adviser: Fabiano Rodrigues de Melo. Co-adviser: Michel Barros Faria.

Species that occupy mountainous regions have a unique response to climate change, especially those that emerged at the end of the Quaternary. However, it is unclear how past climate conditions influenced the genetic divergence of mountain taxa. The genetic variation of these organisms could also have been influenced by pre-Pleistocene tectonic events that formed mountain ranges. The mitochondrial cytochrome b gene was sequenced to analyze the role of altitude in the genetic divergence of two syntopic marsupial species of the genus *Marmosops*, *M. incanus* e *M. paulensis*. Both offer distinct patterns of distribution in altitude gradients in the Atlantic Forest. Large intraspecific genetic divergence and geographically defined groups were found. The observed diversification of the species is consistent with the topographic characteristics of the Atlantic Forest, and altitude does not seem to interfere with gene flow blocking and limitation for *M. incanus*, although some high-altitude clades have been formed. Allopatric divergence between clades of *M. paulensis* was observed for the mountainous regions, mountain formations during the Neogene coincide with the formation of some phylogroups of *M. incanus* and *M. paulensis* and the performance of Pleistocene refugia does not explain the general pattern of genetic diversity distribution for two species.

**Keywords:** bPTP. Mitochondrial gene. Genetic variation. GMYC. *Marmosops incanus*. *Marmosops paulensis*.

Este trabalho foi redigido dentro das normas do periódico *Journal of Heredity* (<https://academic.oup.com/jhered>) a fim de tradução e submissão, conforme permitido pelas normas e modelos vigentes para apresentação de dissertação da Universidade Federal de Viçosa ([https://www.ppg.ufv.br/?page\\_id=159](https://www.ppg.ufv.br/?page_id=159)).

## SUMÁRIO

<b>Efeitos da altitude na diversidade genética e delimitação de espécies das cuícas esbeltas do gênero <i>Marmosops</i> (Didelphidae: Thylamyini) na Floresta Atlântica</b>	<b>10</b>
<b>Abstract</b>	<b>11</b>
<b>Introdução</b>	<b>12</b>
<b>Material e métodos</b>	<b>14</b>
Espécimes	14
Isolamento de DNA, amplificação e sequenciamento	15
Relações filogenéticas e tempo de divergência	16
Análise da estrutura populacional	17
Delimitação de espécies com filogenias de <i>mt-Cytb</i>	18
<b>Resultados</b>	<b>19</b>
<i>Marmosops incanus</i> (Lund, 1840)	19
<i>Marmosops paulensis</i> Tate, 1931	24
Delimitação de espécies	28
<b>Discussão</b>	<b>29</b>
Inferências filogenéticas, variação molecular e delimitação de espécies	29
Estrutura filogeográfica de <i>M. incanus</i>	32
Estrutura filogeográfica de <i>M. paulensis</i>	33
Influência de eventos históricos em <i>Marmosops</i> da Floresta Atlântica	34
<b>Financiamento</b>	<b>38</b>
<b>Material suplementar</b>	<b>38</b>
<b>Agradecimentos</b>	<b>55</b>
<b>Referências</b>	<b>55</b>

**Efeitos da altitude na diversidade genética e delimitação de espécies das  
cuícas esbeltas do gênero *Marmosops* (Didelphidae: Thylamyini) na Floresta  
Atlântica**

Maria Clara Santos Ribeiro<sup>1\*</sup>, Jânio Cordeiro Moreira<sup>2</sup>, Cibele Rodrigues Bonvicino<sup>3</sup>,  
Michel Barros Faria<sup>4</sup>, Fabiano Rodrigues de Melo<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Universidade Federal de Viçosa, 36570-900, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. E-mail: cbiomaria@gmail.com

<sup>2</sup> Laboratório de Ecologia, Evolução e Sistemática de Vertebrados, Instituto Federal Goiano, 75901-970, Rio Verde, Goiás, Brasil. E-mail: janio.moreira@ifgoiano.edu.br

<sup>3</sup> Divisão de Genética, Instituto Nacional de Câncer, 20231-050, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil. E-mail: cibelee.bonvicino@gmail.com

<sup>4</sup> Departamento de Saúde, Curso de Medicina da Univertix, 35367-000, Matipó, Minas Gerais, Brasil. E-mail: michelfaria@yahoo.com.br

<sup>5</sup> Departamento de Engenharia Florestal, Universidade Federal de Viçosa, 36570-900, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. E-mail: frmelo@ufv.br

\* Correspondência: Maria Clara Santos Ribeiro. Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Universidade Federal de Viçosa, 36570-900, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. Tel: +55 (32) 9 8844-0386. E-mail: cbiomaria@gmail.com.

## Abstract

Species that occupy mountainous regions have a unique response to climate change, especially those that emerged at the end of the Quaternary. However, it is unclear how past climate conditions influenced the genetic divergence of mountain taxa. The genetic variation of these organisms could also have been influenced by pre-Pleistocene tectonic events that formed mountain ranges. The mitochondrial cytochrome b gene was sequenced to analyze the role of altitude in the genetic divergence of two syntopic marsupial species of the genus *Marmosops*, *M. incanus* e *M. paulensis*. Both offer distinct patterns of distribution in altitude gradients in the Atlantic Forest. Large intraspecific genetic divergence and geographically defined groups were found. The observed diversification of the species is consistent with the topographic characteristics of the Atlantic Forest, and altitude does not seem to interfere with gene flow blocking and limitation for *M. incanus*, although some high-altitude clades have been formed. Allopatric divergence between clades of *M. paulensis* was observed for the mountainous regions, mountain formations during the Neogene coincide with the formation of some phylogroups of *M. incanus* and *M. paulensis* and the performance of Pleistocene refugia does not explain the general pattern of genetic diversity distribution for two species.

**Keywords:** bPTP, Mitochondrial gene, Genetic variation, GMYC, *Marmosops incanus*, *Marmosops paulensis*.

## **Introdução**

A Floresta Atlântica é um domínio morfoclimático que contém uma das biotas mais diversas e endêmicas do mundo (Myers et al. 2000). A maior parte da sua riqueza de mamíferos está associada à ambientes de altitude elevada (Costa et al. 2000; Dalapicolla et al. 2021) e a concentração de endemitas nas regiões serranas sugere que as variáveis topográficas são determinantes para a diferenciação alopátrica dos organismos.

Muitos eventos de cladogênese ocorreram durante os interglaciais da época pleistocênica (Raymo 1992). Modelos paleoclimáticos e de paleodistribuição indicam que a organização espacial da diversidade genética de diversas espécies resultou das mudanças demográficas ocasionadas pelas flutuações climáticas do Quaternário tardio no domínio atlântico (Carnaval & Moritz 2008; Carnaval et al. 2009; Thomé et al. 2010). Informações moleculares e de paleoclima inferem que as florestas montanas persistiram e se expandiram durante o Último Máximo Glacial (UMG) (Carnaval et al. 2009; Leite et al. 2016), estabelecendo-se como zonas estáveis para espécies adaptadas ao frio.

A estruturação genética de alguns grupos é definida pelas formações serranas do Sudeste (Gonçalves et al. 2007; Gonçalves & Oliveira 2014) e a existência de linhagens exclusivas sugere que a vida em ecossistemas montanos possui padrões evolutivos distintos (Amaro et al. 2012; Amaral et al. 2018; Paz et al. 2019; Thom et al. 2020). Estudos filogeográficos com alguns vertebrados demonstram que a estrutura populacional dos táxons de montanha e dos organismos de terras baixas é diferente (Paz et al. 2019; Thom et al. 2020), logo, a adaptação às oscilações climáticas do Pleistoceno é díspar entre os organismos. Os contrastes climáticos nesses ambientes podem afetar a resposta adaptativa interespecífica, e, em alguns

táxons, promover diferenciação intrapopulacional acelerada (Nosil 2012). Além disso, durante o Neógeno, eventos tectônicos promoveram alterações na variação geográfica de algumas espécies pelo surgimento de cordilheiras e vales (Amaro et al. 2012; Amaro et al. 2019). No entanto, a ausência de filogenias intraespecíficas de táxons montanos dificulta estudos históricos e comparativos das comunidades da Floresta Atlântica.

Os marsupiais da família Didelphidae representam 4,5% dos mamíferos endêmicos da Floresta Atlântica (Costa et al. 2000; Graipel et al. 2017) e a altitude influencia na organização das comunidades desses animais (Bonvicino et al. 1997; Geise et al. 2004; Moreira et al. 2009), mas a origem e evolução desses padrões de endemismo nas zonas altas permanecem pouco elucidadas.

O gênero *Marmosops* Matschie, 1916 compreende um grupo de pequenos marsupiais didelfídeos que estão distribuídos do Panamá ao sul da Bolívia e sudeste do Brasil, sendo, principalmente, restritos às florestas úmidas de planície e de montanha (Emmons 1997; Gardner & Creighton 2008; Díaz-Nieto et al. 2016). *Marmosops incanus* (Lund, 1840) e *M. paulensis* Tate, 1931 são sintópicas na Floresta Atlântica (Bezerra & Geise 2015), contudo, *M. incanus* também está distribuída em formações savânicas do Cerrado (Câmara et al. 2003), enquanto *M. paulensis* é restrita às zonas mais elevadas dos complexos montanhosos do sudeste atlântico (Brito et al. 2004). Um período longo de divergência evolutiva pode ser atribuído para ambas as espécies *M. incanus* e *M. paulensis* (Patton & Costa 2003; Bezerra & Geise 2015), já que a divergência genética observada entre estas variou entre 14% e 20%, sendo maior que a distância evolutiva em espécies de *Marmosops* simpátricas da Amazônia, e também em outros marsupiais sul-americanos (Agrizzi et al. 2012; Bezerra & Geise 2015).

A distribuição de *M. incanus* e *M. paulensis* ao longo de gradientes altitudinais as torna bons modelos para avaliar processos históricos associados à diferenciação genética e entender a origem e a estabilidade da diversidade biótica dos ecossistemas serranos. As hipóteses deste trabalho são que as porções elevadas da Floresta Atlântica influenciaram a variação genética intra e interpopulacional de *M. incanus* e *M. paulensis* em relação às mudanças climáticas do Pleistoceno e ao tectonismo. O objetivo foi investigar a divergência genética e a ocorrência de estruturação nas populações das duas espécies, considerando as montanhas como potenciais barreiras para *M. incanus* e terras baixas e vales como limitantes para *M. paulensis*. Ainda, visou-se inferir quais eventos históricos foram determinantes para a diversificação intraespecífica desses marsupiais na Floresta Atlântica.

## **Material e Métodos**

### **Espécimes**

Amostras de tecido (hepático e muscular) preservado em álcool absoluto foram disponibilizadas pelas coleções do Museu de Zoologia Newton Baidão de Azevedo da Universidade do Estado de Minas Gerais – Unidade Carangola (MZNB/UEMG – Carangola), Museu de Zoologia João Moojen da Universidade Federal de Viçosa (MZUFV), Instituto de Biodiversidade e Sustentabilidade da Universidade Federal do Rio de Janeiro – *Campus Macaé* (NUPEM/UFRJ), Museu Nacional da Universidade Federal do Rio de Janeiro (MN/UFRJ) e Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios do Instituto Oswaldo Cruz (LBCE/IOC). Sequências de estudos anteriores depositadas no GenBank também foram utilizadas (Tabela S1; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>).

Fragmentos com menos de 500 pares de base não foram adicionados ao alinhamento. Um total de 109 indivíduos de *M. incanus* (66 sequências do GenBank e 43 aqui geradas) e 24 de *M. paulensis* (sete do GenBank e 17 aqui geradas) distribuídos entre os estados da Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo foram analisados.

Sequências das espécies *M. bishopi* (KT437863; KT437847), *M. cauae* (KT437860; KT437859), *M. carri* (KT437721), *M. creightoni* (KT437722; KT437740), *M. fuscatus* (KT437763; KT437706), *M. handleyi* (KT437747; KT437745), *M. noctivagus* (KT437865; KT437864), *M. ocellatus* (KT437850; KT437848), *M. pakaraimae* (KC954770; KC954769), *M. parvidens* (KJ129899; KC954759) e *M. pinheiroi* (KC954766; KC954765) foram consideradas para as análises. *Monodelphis emiliae* (KM071607) e *M. domestica* (HQ651773) foram selecionadas como grupo externo.

### **Isolamento de DNA, amplificação e sequenciamento**

O DNA genômico foi isolado seguindo o protocolo de Fenol/Clorofórmio (Sambrook & Russell 2001). O gene mitocondrial citocromo b (*mt-Cytb*) completo (1149 pares de base) foi amplificado pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) com os iniciadores L14725 (Irwin et al. 1991) e CitB Rev (Anderson & Yates 2000). As condições térmicas para as reações seguiram uma pré-desnaturação à 94 °C por 2 min, 35 ciclos compreendendo desnaturação à 94 °C por 30 s, anelamento à 54 °C por 30 s e extensão à 72 °C por 1:30 min, com uma extensão final à 72 °C por 5 min.

Os produtos de PCR foram purificados com o *kit* PureLink™ (Invitrogen) seguindo as instruções dos fabricantes. O sequenciamento seguiu o método de Sanger no sequenciador automático ABI 3130xl Genetic Analyser (*Applied*

*Biosystems*). As reações foram preparadas com *BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems)* e *primers* internos de amplificação (CB-in1 e CB-in2) (Cassens et al. 2000); e executadas em termociclador (*96 well Thermal Cycler, Applied Biosystems*). Os eletroferogramas foram verificados com o programa Chromas Pro 1.41 (McCarthy et al. 1998) e as sequências alinhadas de forma manual e automática utilizando o algoritmo MUSCLE (Edgar 2004) implementado ao *software* MEGA X (Kumar et al. 2018).

### **Relações filogenéticas e tempo de divergência**

A distância genética foi estimada com o algoritmo *p-distance* no MEGA X (Kumar et al. 2018). Filogenias de Máxima Verossimilhança (MV) foram reconstruídas com o IQ-Tree 2.1.2 (Minh et al. 2020) e a confiabilidade estatística dos ramos foi avaliada pelo teste de *bootstrap (bs)* (Russo 1997) com 1.000 réplicas. Estabeleceu-se que os valores confiáveis de suporte seriam  $\geq 75\%$ . O modelo evolutivo (TIM2 + F + I + G4) foi selecionado pelo Critério de Informação Bayesiana (BIC) de acordo com a seleção realizada pelo ModelFinder (Kalyaanamoorthy et al. 2017) no IQ-Tree.

Os modelos evolutivos mais adequados ao conjunto de dados para a análise de Inferência Bayesiana (IB) foram selecionados com o MrModelTest 2.4 (Nylander 2004) (GTR + I + G) pelo Critério de Informação de Akaike (AIC). As filogenias foram reconstruídas no MrBayes 3.2 (Ronquist et al. 2012) pelo método de Cadeia de Markov – Monte Carlo acoplado ao algoritmo de Metropolis (Altekar et al. 2004). Três cadeias quentes e uma fria funcionaram para duas corridas de 50.000.000 de gerações. A amostragem foi feita a cada 5.000 gerações. Tracer 1.7 (Rambaut et al. 2018) foi utilizado para verificação da convergência gráfica das cadeias (tamanho

efetivo da amostragem – ESS > 200). Os grupos estatisticamente confiáveis foram os que apresentavam valores de probabilidade posterior (pp)  $\geq 0,95$ .

A análise de datação molecular foi baseada em pontos de calibração com fósseis no BEAST 2.6.6 (Bouckaert et al. 2019) com Modelo de Yule para especiação e relógio molecular relaxado Log Normal (Drummond et al. 2006). Dois pontos de calibração foram definidos por distribuição Gamma com idades mínimas e máximas (11.608 M.a. e 28.5 M.a.; 6.8 M.a. e 65.8 M.a.) (Zanchetta et al. 2019) e um *offset* de 12.2 para o primeiro ponto (diversificação de Didelphidae) e 6.8 para o segundo (diversificação de Didelphimorphia). Os fósseis que subsidiam a calibração são *Caluromys lanatus* e *Dromiciops gliroides*. Sequências de *Thylamys macrura* (HM583383), *Gracilinanus agilis* (KF313981), *Philander quica*, *Marmosa paraguayana*, *Didelphis marsupialis* (MG491975) e *Cryptonanus agricolai* (MW477899) foram associadas a estes pontos de calibração. A monofilia foi definida com base em filogenias já publicadas (Voss & Jansa 2009). O modelo de evolução foi selecionado com o MrModelTest 2.4 (GTR + I + G). Executou-se 100.000.000 gerações com amostragem a cada 1.000 gerações. As análises foram executadas no servidor CIPRES Science Gateway (<https://www.phylo.org>). A efetividade da análise foi verificada no Tracer 1.7 (Rambaut et al. 2018) e a árvore consenso foi gerada no TreeAnnotator. As árvores foram observadas e editadas no FigTree 1.4.4 (Rambaut 2018).

### **Análise da estrutura populacional**

O *software* DnaSP 6.12.03 (Rozas et al. 2017) foi utilizado para a identificação dos haplótipos e o PopART 1.7 (Leigh & Bryant 2015) para análise de *Median-Joining* (MJ; Bandelt et al. 1999). O teste de Mantel (Smouse et al. 1986) foi executado no Matlab 4.0 (Sigmon 1992) para testar um modelo de isolamento por distância entre

as populações e, para isso, avaliou-se a correlação das matrizes de distância genética e geográfica. O número de sítios polimórficos, as diversidades haplotípicas e nucleotídicas, e os testes de neutralidade  $D$  de Tajima (Tajima 1989) e  $F_s$  de Fu (Fu 1997) foram determinados no Arlequin 3.5 (Excofer & Lischer 2010). Os valores de  $F_{ST}$  par a par foram calculados, também, no Arlequin 3.5 para determinar o grau de diferenciação entre as populações, com base na variação das frequências alélicas (Holsinger & Wier 2009).

### **Delimitação de espécies com filogenias de *mt-Cytb***

As hipóteses de delimitação de espécies foram baseadas em dois métodos distintos para fins de comparação: *Generalized Mixed Yule Coalescent* (GMYC; Fujisawa & Barraclough 2013) e *Bayesian Poisson Tree Processes* (bPTP; Zhang et al. 2013).

O GMYC busca detectar um padrão de ramificação atribuído à processos de coalescência em uma árvore ultramétrica e calcula um número de *clusters*. O modelo opera em uma base coalescente que identifica o(s) ponto(s) em que a filogenia muda de interespecífica (Yule) para processos intraespecíficos (coalescentes). Os pontos de transição são escolhidos pela maior verossimilhança entre os intervalos (Pons et al. 2006). Portanto, o GMYC será potencialmente preciso quando a taxa coalescente de ramificação for maior que a taxa de Yule (Reid & Carsten 2012). A árvore resultante da datação molecular foi utilizada para realizar uma análise GMYC de limiar único em servidor web (<https://species.h-its.org/gmyc/>) que executa a implementação original com o pacote SPLITS (Ezard et al. 2009) no *software* R 3.1.3 (Equipe R Core Team 2015).

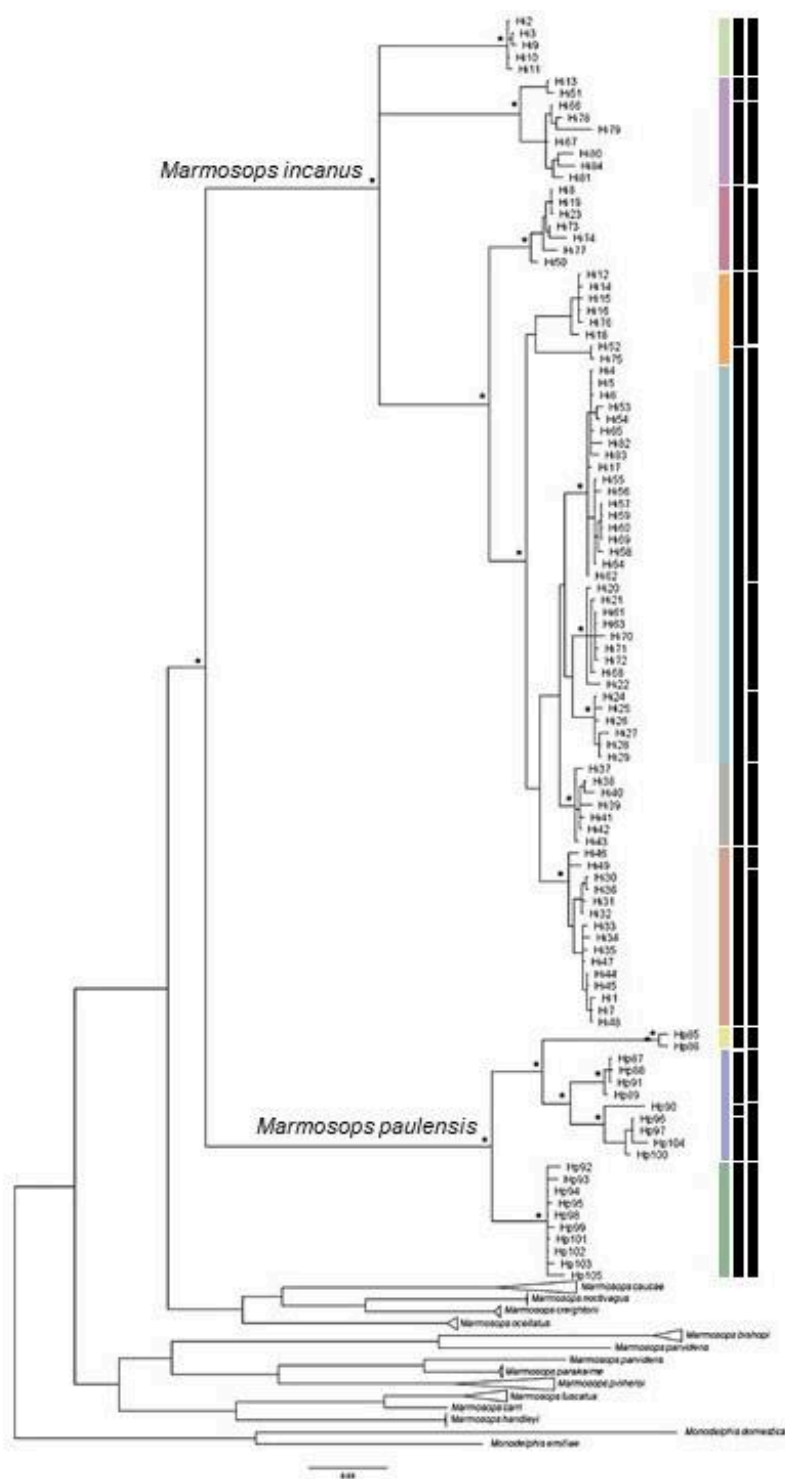
O bPTP verifica o número de substituições para definir ramificações e especiações. Esta análise foi executada em servidor web ([species.h-its.org](https://species.h-its.org)) para

determinar espécies putativas com base na topologia obtida no MrBayes 3.2. A abordagem foi fundamentada com um padrão de 100.000 Cadeia de Markov – Monte Carlo e árvores amostradas a cada 100 gerações. Valores de probabilidade posterior foram acrescentados à cada delimitação.

## **Resultados**

### ***Marmosops incanus* (Lund, 1840)**

Um total de 84 haplótipos foi identificado em um conjunto de 109 sequências. A distância genética média é de 4,8% e os valores mínimo e máximo de variação correspondem à 0,09 e 12,7%, respectivamente (Tabela S2). As análises de MV e IB mostram *Marmosops* como gênero monofilético e recuperam *M. incanus* como monofilética e irmã de *M. paulensis* ( $bs = 100\%$ ;  $pp = 1$ ). As duas hipóteses filogenéticas indicam a existência de sete filogrupos, delimitados com base na divergência genética e coerência espacial: Serra do Mar, Serra do Mar + Costa do Rio de Janeiro, Refúgio da Bahia, Serra do Espinhaço, Serra da Mantiqueira, Sul do rio Doce e Norte do rio Doce (Figura 1; Figura S1).

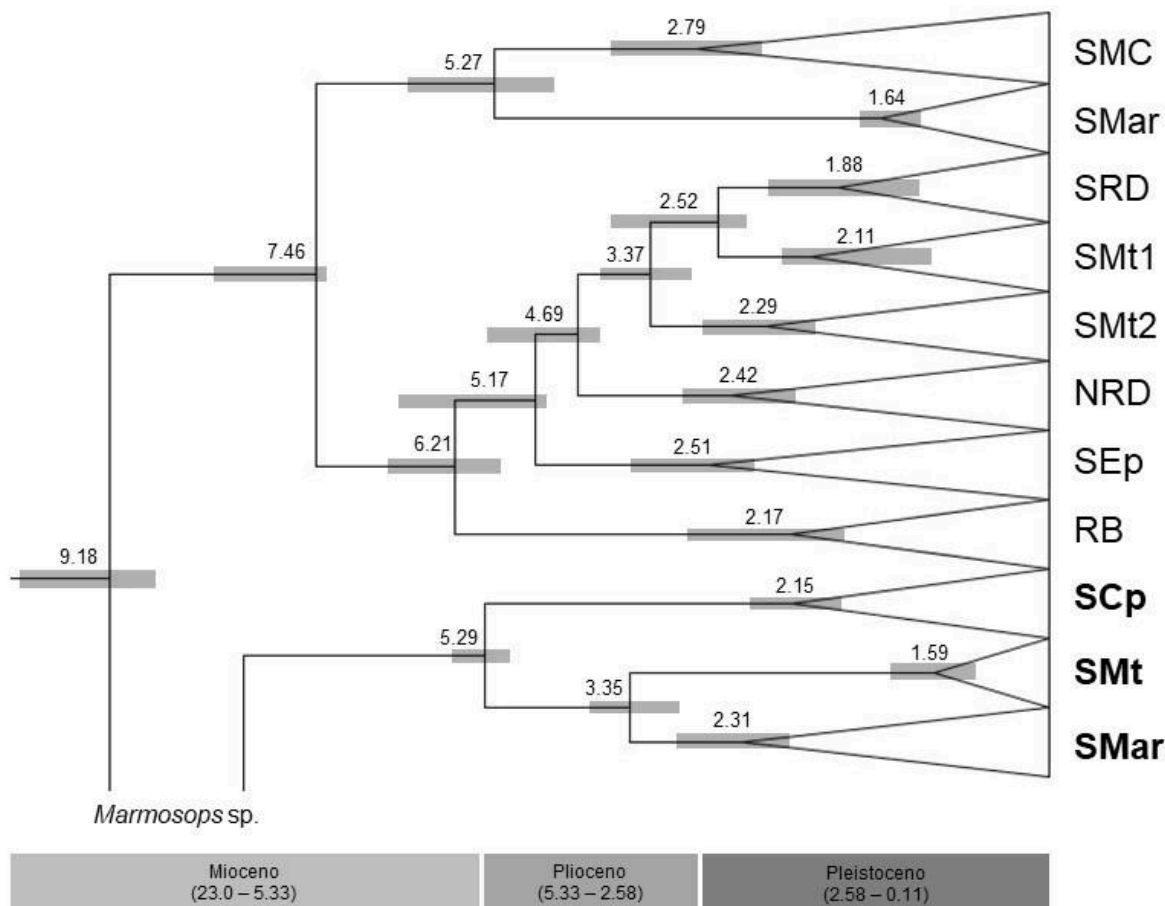


**Figura 1.** Máxima Verossimilhança e Inferência Bayesiana da hipótese filogenética de *Marmosops incanus* e *M. paulensis* com base no gene *mt-Cytb*. Os asteriscos (\*) dispostos nos nós internos representam probabilidade posterior (pp)  $\geq 0,95$  e *bootstrap* (bs)  $\geq 75\%$ . As barras coloridas à esquerda representam os filogrupos. As

duas barras pretas à direita mostram linhagens delimitadas pelos métodos bPTP e GMYC, respectivamente.

O clado Serra da Mantiqueira é dividido em duas linhagens na filogenia datada. O clado Serra do Mar é recuperado como a linhagem mais divergente. A proximidade de alguns espécimes da Serra do Mar provenientes de floresta de altitude com os da região costeira do Rio de Janeiro no filogrupo Serra do Mar + Costa do Rio de Janeiro ( $bs = 100\%$ ;  $pp = 1$ ) indica interação gênica de indivíduos de montanha com os de formações submontanas. O filogrupo Serra da Mantiqueira ( $bs = 95\%$ ;  $pp = 0,65$ ) inclui alguns exemplares em Marliéria, Minas Gerais, e Cariacica, Espírito Santo, provenientes de terras baixas (300 e 520 metros de altitude, respectivamente). Além disso, o grupo mantém relações próximas com os clados Sul do rio Doce ( $bs = 96\%$ ;  $pp = 0,99$ ) e Norte do rio Doce ( $bs = 95\%$ ;  $pp = 0,97$ ). As divergências genéticas médias entre os filogrupos foram calculadas devido à alta variação intraespecífica e estruturação geográfica em subclados. Os valores corroboram os resultados supracitados das filogenias (Tabela 1).

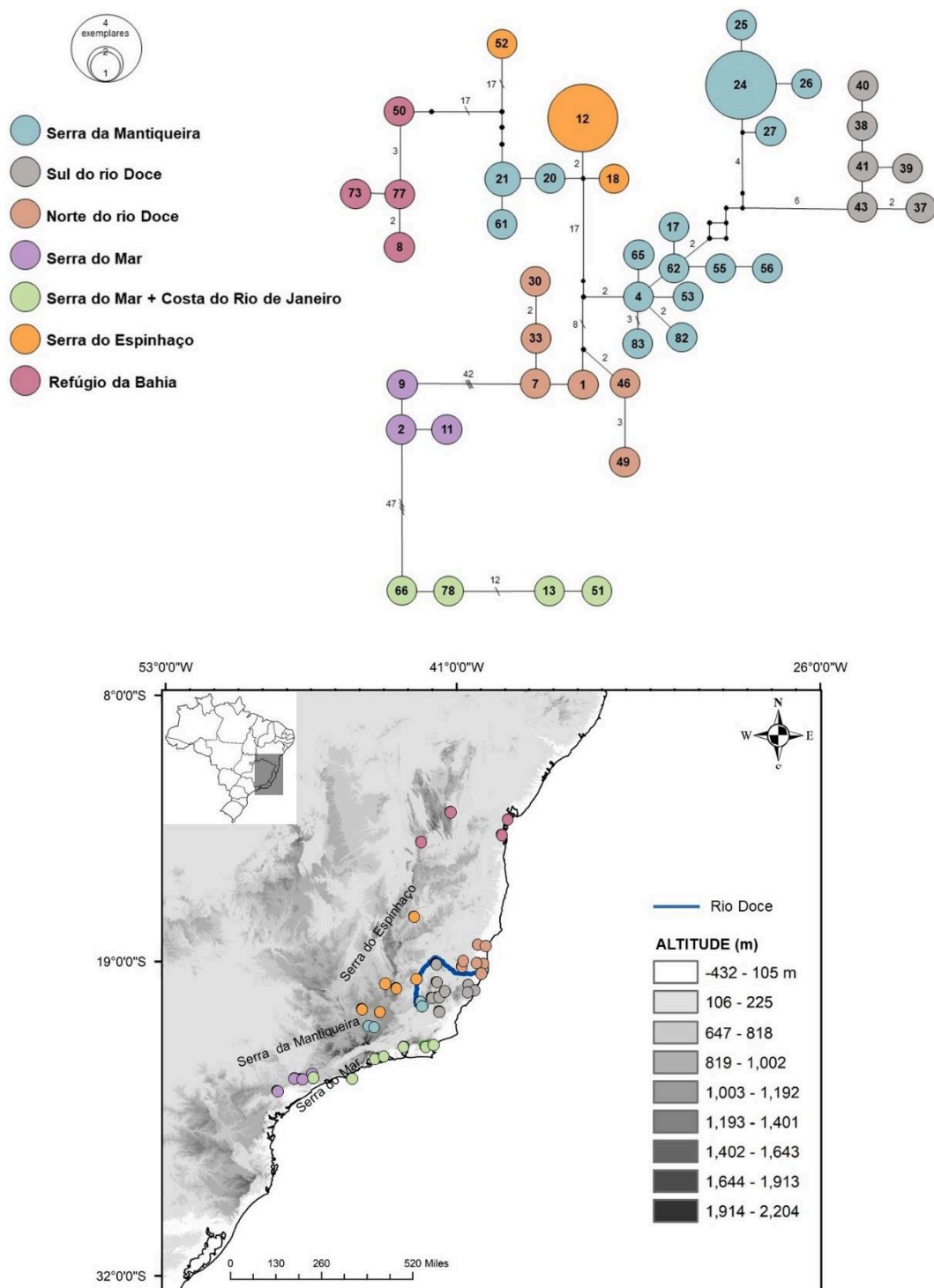
A datação molecular indica que *M. incanus* surgiu no Mioceno e o surgimento dos filogrupos datam do início do Plioceno. Os grupos recentes surgiram durante o Pleistoceno.



**Figura 2.** Relações filogenéticas de *Marmosops incanus* e *M. paulensis* (em negrito) e tempo de divergência com *mt-Cytb*. Os valores perto dos nós indicam datação molecular em milhões de anos. NRD, Norte do rio Doce; RB, Refúgio da Bahia; SCp, Serra do Caparaó; SEp, Serra do Espinhaço; SMC, Serra do Mar + Costa do Rio de Janeiro; SMt, Serra da Mantiqueira; SMar, Serra do Mar; SRD, Sul do rio Doce.

A análise de *Median-Joining* recupera haplótipos atribuídos à sete haplogrupos que correspondem aos clados recuperados nas análises filogenéticas (Serra do Mar, Serra do Mar + Costa do Rio de Janeiro, Refúgio da Bahia, Serra do Espinhaço, Serra da Mantiqueira, Sul do rio Doce e Norte do rio Doce) (Figura 3). O haplogrupo Serra do Mar se separa do Serra do Mar + Costa do Rio de Janeiro por pelo menos 42 passos mutacionais. Ambos se distanciam do restante dos haplogrupos por 47 modificações nucleotídicas. O teste de Mantel revelou um

coeficiente baixo de correlação por isolamento por distância significativo ( $r = 0,19$ ;  $p = 0,001$ ).



**Figura 3.** Rede de haplótipos de *Marmosops incanus* obtida com 109 seqüências do gene *mt-Cytb*. Os números dentro dos círculos indicam os haplótipos listados na Tabela Suplementar 1. Os tamanhos dos círculos são proporcionais ao número de

indivíduos portadores de um determinado haplótipo. As cores representam o grupo geográfico ao qual os indivíduos pertencem. Cada traço denota uma substituição nucleotídica e os pontos pretos são os vetores médios. Os haplogrupos são indicados na rede e representados no mapa.

Os maiores valores de diversidade genética em *M. incanus* são para os haplogrupos Sul do rio Doce ( $Hd = 0,9394$ ;  $\pi = 0,018$ ), Serra do Mar + Costa do Rio de Janeiro ( $Hd = 1$ ;  $\pi = 0,013$ ) e Serra da Mantiqueira ( $Hd = 0,9715$ ;  $\pi = 0,012$ ) (Tabela S3). Os testes de neutralidade não são significativos para todos os haplogrupos de *M. incanus*. Somente os haplogrupos Serra do Mar e Serra da Mantiqueira apresentam índices negativos significativos de  $F_s$  de  $F_u$  ( $p < 0,02$ ) como indícios de expansão populacional recente (Tabela S4). Os valores de  $F_{ST}$  são significativos ( $p < 0,05$ ) e indicam estruturação geográfica e pouco fluxo gênico entre a maioria das populações (Tabela S5). Um  $F_{ST} = 0,413$  é estimado entre o haplogrupo Sul do rio Doce e Serra da Mantiqueira, o que indica maior possibilidade de troca genética entre essas duas populações.  $F_{ST} = 0,587$  e  $0,586$  também são apresentados entre os haplogrupos Sul do rio Doce e Serra do Espinhaço, e Sul do rio Doce e Norte do rio Doce, respectivamente.

### ***Marmosops paulensis* Tate, 1931**

Vinte e um haplótipos foram determinados em um conjunto de 24 sequências. A distância genética varia entre 0,09% e 9,26%, com média de 4,5% (Tabela S2). As árvores de MV e IB recuperam o monofiletismo da espécie ( $bs = 100\%$ ;  $pp = 1$ ) e revelam clados geograficamente definidos e que concordam com os principais complexos topográficos da Floresta Atlântica (Serra do Mar e da Mantiqueira) (Figura 1; Figura S1).

Uma dicotomia principal divide *M. paulensis* e apresenta uma relação irmã ( $bs = 100\%$ ;  $pp = 1$ ) entre um filogrupo com amostras provenientes da Serra do Caparaó (ramificação geográfica da Serra da Mantiqueira) e um clado formado por mais dois filogrupos ( $bs = 97\%$ ;  $pp = 0,99$ ): Serra da Mantiqueira e da Serra do Mar. Assim, a Serra do Caparaó forma um grupo disjunto do restante dos espécimes da Serra da Mantiqueira e ambos diferem com 8,4% de divergência (Tabela 1).

**Tabela 1.** Estimativas de divergência evolutiva (%) com *p-distance* entre as médias dos filogrupos formados com o *mt-Cytb* de *Marmosops incanus* e *M. paulensis*

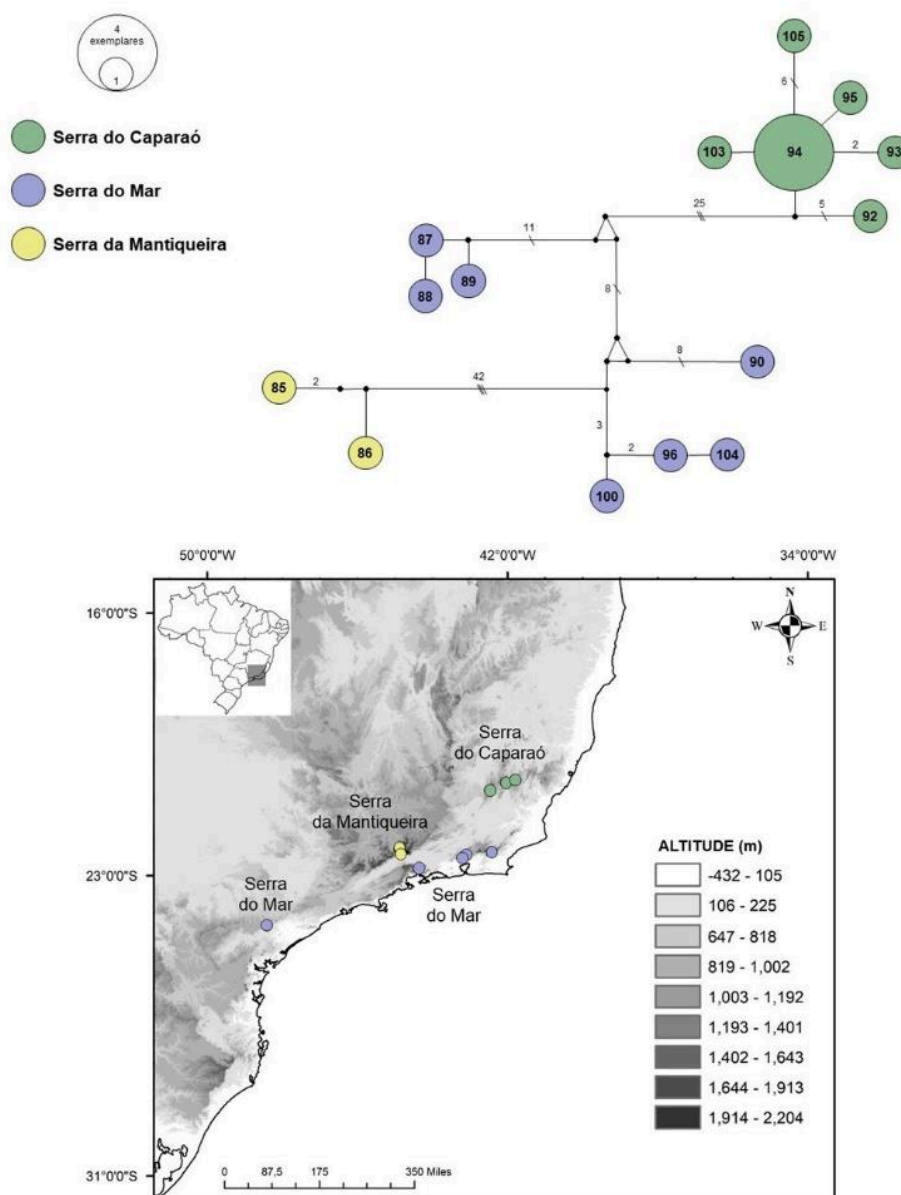
	NRD	SMar	SMt	RB	SEp	SMC	SRD	SMt	SMar	SCp
<b>NRD</b>	-									
<b>SMar</b>	9,02	-								
<b>SMt</b>	3,50	9,61	-							
<i>incanus</i> <b>RB</b>	5,82	9,97	5,24	-						
<b>SEp</b>	3,75	9,29	4,22	5,36	-					
<b>SMC</b>	11,40	10,25	10,90	10,83	11,38	-				
<b>SRD</b>	2,32	9,58	2,69	5,41	3,82	11,60	-			
<b>SMt</b>	16,86	16,62	17,14	17,29	17,53	17,45	16,69	-		
<i>paulensis</i> <b>SMar</b>	17,03	16,11	16,65	17,01	17,47	16,43	16,61	7,18	-	
<b>SCp</b>	17,14	16,07	17,31	16,09	17,68	15,95	16,95	8,40	6,76	-

*mt-Cytb*, mitocondrial citocromo b; NRD, Norte do rio Doce; SMar, Serra do Mar; SMt, Serra da Mantiqueira; RB, Refúgio da Bahia; SEp, Serra do Espinhaço; SMC, Serra do Mar + Costa do Janeiro; SRD, Sul do rio Doce; SCp, Serra do Caparaó.

As estimativas do tempo de radiação indicam que *M. incanus* e *M. paulensis* se separaram no final do Mioceno (aproximadamente 9.18 M.a.) (Figura 2). O clado

Serra do Caparaó foi formado no Pleistoceno. Os subclados se diversificaram durante o Pleistoceno.

A rede de haplótipos indica que *M. incanus* e *M. paulensis* estão separadas por 57 mutações. Os haplogrupos de *M. paulensis* correspondem aos clados identificados nas reconstruções filogenéticas (Serra do Mar, Serra da Mantiqueira e Serra do Caparaó; Figura 4). O haplogrupo Serra do Caparaó está separado por 25 passos mutacionais e três vetores médios. O haplogrupo Serra da Mantiqueira se diferencia por 42 modificações nucleotídicas. O teste de Mantel também indica correlação fraca e significativa ( $r = 0,22$ ;  $p = 0,005$ ) para o modelo de isolamento por distância.



**Figura 4.** Rede de haplótipos de *Marmosops paulensis* obtida com 24 seqüências do gene *mt-Cytb*. Os números dentro dos círculos indicam os haplótipos listados na Tabela Suplementar 1. Os tamanhos dos círculos são proporcionais ao número de indivíduos portadores de um determinado haplótipo. As cores representam o grupo geográfico ao qual os indivíduos pertencem. Cada traço denota uma substituição nucleotídica e os pontos pretos são os vetores médios. Os haplogrupos são indicados na rede e representados no mapa.

Os índices de diversidade haplotípica e nucleotídica são maiores para o haplogrupo Serra do Mar ( $Hd = 1$ ;  $\pi = 0,027$ ) (Tabela S3). Os testes de neutralidade e expansão demográfica são significativos apenas para o haplogrupo Serra do Caparaó (Tabela S4) e indicam crescimento populacional recente. Os valores de  $F_{ST}$  são elevados entre os haplogrupos e indicam forte estruturação geográfica e pouco fluxo gênico. O  $F_{ST}$  varia de 0,655 (Serra do Mar e Serra da Mantiqueira) à 0,947 (Serra do Caparaó e Serra da Mantiqueira) (Tabela S5).

### **Delimitação de espécies**

O GMYC recupera 16 *clusters* (12 para *M. incanus* e quatro para *M. paulensis*; Figura S1) com um intervalo de confiança de 1–29. Essa análise reforça a existência de linhagens independentes recuperadas nas análises filogenéticas e pelo método bPTP. Contudo, a mudança de processos de ramificação interespecífico para intraespecífico não é significativo para delimitar espécies ( $p = 1,281581$ ; LR = 0,5268757 e Tempo Limite = -9,425612).

O bPTP reconhece oito espécies prováveis para *M. incanus* e elas correspondem aos filogrupos determinados nas filogenias (Figura S1; Tabela S6). A probabilidade posterior é mais alta ( $pp = 0,992$ ) para a relação entre os haplótipos de Caetitê, Bahia, pertencentes ao filogrupo Serra do Espinhaço (espécie 3). Outra espécie putativa é delimitada para Serra do Espinhaço, contendo haplótipos provenientes de Minas Gerais, e com  $pp = 0,920$  (espécie 2). O filogrupo Serra do Mar + Costa do Rio de Janeiro também é dividido entre duas espécies independentes. A primeira contém haplótipos do litoral do Rio de Janeiro ( $pp = 0,942$ ; espécie 5) e a segunda é constituída por haplótipos das formações costeiras e florestas montanas do Rio de Janeiro e São Paulo ( $pp = 0,827$ ; espécie 6). A espécie 7 corrobora a proximidade dos filogrupos Serra da Mantiqueira e Sul do rio Doce ao

unir haplótipos destes dois clados como a mesma entidade evolutiva, mas a probabilidade posterior para esta delimitação é baixa (pp = 0,487). Ainda, alguns haplótipos do Sul do rio Doce são recuperados como a mesma espécie que haplótipos do filogrupo Norte do rio Doce (pp = 0,654; espécie 8). As espécies 1 e 4 se referem aos filogrupos Serra do Mar (pp = 0,909) e Refúgio da Bahia (pp = 0,871), respectivamente.

Cinco espécies putativas para *M. paulensis* são indicadas pelo bPTP (Figura S1; Tabela S6). A espécie 1 corresponde ao filogrupo Serra da Mantiqueira (pp = 0,905) e a espécie 2 contém haplótipos pertencentes ao filogrupo Serra do Caparaó (pp = 0,496). As três espécies restantes estão relacionadas ao filogrupo Serra do Mar. A espécie 3 e 4 são constituídas por haplótipos de São Paulo (pp = 0,990) e a espécie 5 contém haplótipos das porções serranas do Rio de Janeiro (Serra dos Órgãos; pp = 0,950).

## **Discussão**

### **Inferências filogenéticas, variação molecular e delimitação de espécies**

A filogenia de *M. incanus* revela estrutura um pouco diferente de estudos anteriores. Mustrangi & Patton (1997) recuperaram clados para o Espírito Santo, Bahia, Serra do Espinhaço, Serra da Mantiqueira, Costa do Rio de Janeiro e Serra do Mar. A reconstrução filogeográfica de Zanchetta e colaboradores (2019) identificou os clados Centro Sul do Espírito Santo, Sul do Espírito Santo, Centro Norte do Espírito Santo, rio Doce, Norte do Espírito Santo, Minas Gerais, Bahia, São Paulo e Rio de Janeiro. Os autores avaliaram os genes *mt-Cytb* e éxon 28 do gene nuclear *vWF*. Contudo, o clado rio Doce (haplótipo do Parque Estadual do Rio Doce) foi aninhado no filogrupo Serra da Mantiqueira no presente estudo.

O último tratamento sistemático dado à *Marmosops* da Floresta Atlântica (Díaz-Nieto et al. 2016) encontrou quatro filogrupos geograficamente coerentes para *M. incanus* (Bahia, Espírito Santo + Minas Gerais, Rio de Janeiro e Rio de Janeiro + São Paulo) e três para *M. paulensis* (Serra da Mantiqueira e Serra do Mar). O filogrupo Serra do Mar de *M. paulensis* foi formado por clados disjuntos de São Paulo e do Rio de Janeiro (correspondendo à porção da Serra dos Órgãos). Estes resultados são corroborados pela variação em *mt-Cytb* encontrada no presente estudo para ambas as espécies.

Díaz-Nieto e colaboradores (2016) sugerem quatro supostas espécies para *M. incanus* e três para *M. paulensis* identificadas pelo modelo GMYC. Os autores reconheceram *M. paulensis* como um complexo de espécies de ocorrência alopátrica em cordilheiras diferentes ("*paulensis* A" na Serra da Mantiqueira, "*paulensis* B" na Serra dos Órgãos e "*paulensis* C" na Serra do Mar). O mesmo resultado foi obtido em análises do éxon 11 do gene nuclear BRCA1 (Díaz-Nieto et al. 2016). Aqui, obteve-se hipóteses de delimitação de espécies semelhantes com os modelos bPTP e GMYC. Concorda-se com espécies prováveis em *M. paulensis* para os clados Serra da Mantiqueira, Serra dos Órgãos e Serra do Mar. Além disso, recupera-se um novo filogrupo e possível linhagem independente para a Serra do Caparaó e este resultado se assemelha ao padrão encontrado para o gênero de roedor *Brucepattersonius* (Abreu et al. 2021).

Os nomes atribuídos à *M. incanus* e *M. paulensis* estariam relacionados às localidades tipos das espécies. A localidade tipo de *M. incanus* de Lagoa Santa, Minas Gerais, e isto indica que o epíteto se aplica ao filogrupo Serra da Mantiqueira e sul do Espírito Santo. Amostras de Minas Gerais e Espírito Santo também foram recuperadas como uma única espécie em delimitações anteriores (Díaz-Nieto et al.

2016). No caso de *M. paulensis*, o holótipo é da Serra dos Órgãos e este nome estaria associado para os haplótipos deste filogrupos. Contudo, a ausência de evidências de um padrão paralelo de variação em genes nucleares e caracteres morfológicos ao observado em sequências de *mt-Cytb* torna inadequado o reconhecimento formal de outras entidades como espécies evolutivamente estabelecidas.

O GMYC recupera 12 *clusters* para *M. incanus* e quatro para *M. paulensis*. O modelo tende a ser menos preciso quando os processos coalescente e de Yule apresentam taxas de ramificação semelhantes em um filograma. Este artefato metodológico ocorre quando o modelo analisa filogrupos de tamanhos populacionais grandes e variância alta (Fujisawa & Barraclough 2013). Neste estudo, GMYC não apresenta valores significativos e se sugere que isto tenha se dado pelas populações grandes e variação genética alta em *mt-Cytb* (maior probabilidade de especiação) para *Marmosops* da Floresta Atlântica. O bPTP determina oito espécies para *M. incanus* e cinco para *M. paulensis*. Uma limitação do método é que a desigualdade entre o número de indivíduos amostrados para cada clado infere que filogrupos podem não ser delimitados adequadamente e, assim, cada indivíduo pode ser identificado como uma espécie separada (Zhang et al. 2013). Este é o caso de alguns clados de *M. incanus* (Serra do Mar, Serra do Mar + Costa do Rio de Janeiro, Serra do Espinhaço e Refúgio da Bahia) e *M. paulensis* (Serra da Mantiqueira e Serra do Mar).

Os modelos GMYC e bPTP indicam que a diversidade de espécies de *Marmosops* da Floresta Atlântica pode ser subestimada pela taxonomia atual. Os cálculos de variância e números de mutações entre as populações apresentados neste estudo corroboram uma divergência que ainda precisa ser investigada. Os

resultados aqui obtidos concordam com o estudo de Díaz-Nieto e colaboradores (2016) na possibilidade de que as espécies putativas delimitadas podem ser válidas e reforçam hipóteses testáveis com evidências adicionais. A análise de variação morfológica e dados de sequências multigênicas podem ser alternativas integradas para validar as delimitações (Ence & Carstens 2011).

### **Estrutura filogeográfica de *M. incanus***

Estruturas geográficas espacialmente coesas são encontradas para *M. incanus* e concordam com resultados anteriores para a espécie (Mustringi & Patton 1997). Nota-se que os filogrupos de *M. incanus* apresentam relações filogeográficas similares às de alguns pequenos mamíferos não-voadores (Costa et al. 2000; Valdez & D'Elía 2013; Zanchetta et al. 2019) e anfíbios anuros (Thomé et al. 2010; Tonini et al. 2013) na Floresta Atlântica, em que os clados das porções norte e central são mais próximos entre si (Serra do Espinhaço, Serra da Mantiqueira, Refúgio da Bahia, Norte do Espírito Santo e Sul do Espírito Santo) e os amostrados na porção sul apresentam maior diferenciação (Serra do Mar e Serra do Mar + Costa do Rio de Janeiro).

Os filogrupos de *M. incanus* ocorrem dentro de limites geográficos consistentes com barreiras fluviais (rio Doce) e cordilheiras (Serra da Mantiqueira, Serra do Mar e Serra do Espinhaço). Os resultados do  $F_{ST}$  par a par reforçam a estruturação observada nas filogenias e redes de haplótipos. Os valores mais altos estão relacionados aos haplogrupos Serra do Mar, Serra do Mar + Costa do Rio de Janeiro e Refúgio da Bahia. Isto pode estar associado ao comportamento de *M. incanus* como especialista florestal com baixa capacidade de dispersão (Jocque et al. 2010). No entanto, o haplogrupo Sul do rio Doce apresenta valores baixos de diferenciação populacional em relação aos haplogrupos Serra da Mantiqueira ( $F_{ST} =$

0,413), Serra do Espinhaço ( $F_{ST} = 0,587$ ) e Norte do rio Doce ( $F_{ST} = 0,586$ ). Estes coeficientes descrevem que a altitude não promove isolamento genético completo para populações de *M. incanus*, possivelmente devido à generalização de hábitat da espécie (Câmara et al. 2003). O mesmo pode ser inferido pela associação entre haplótipos da Serra do Mar com os de planícies litorâneas do Rio de Janeiro. Ainda, o  $F_{ST}$  indica que o rio Doce não é barreira efetiva ao fluxo gênico entre os haplogrupos ao sul e ao norte.

Considera-se a importância de analisar caracteres sob seleção para testar um padrão de divergência ecológica de *M. incanus* por seleção disruptiva com fluxo gênico, em que as populações de terras baixas colonizaram zonas mais altas. Logo, os haplogrupos de florestas montanas e alto-montanas manteriam relações filogenéticas próximas com haplogrupos de formações submontanas (Gonçalves et al. 2007; Gonçalves & Oliveira 2014).

### **Estrutura filogeográfica de *M. paulensis***

As análises para *M. paulensis* concordam com a existência de linhagens montanas vicariantes para a espécie. Clados para as serras da Mantiqueira e do Mar haviam sido apresentados em hipóteses sistemáticas de *Marmosops* (Díaz-Nieto et al. 2016). O presente estudo suporta uma nova linhagem para a Serra do Caparaó e reforça a influência da altitude no isolamento das populações de *M. paulensis*.

O Caparaó é considerado um planalto isolado da Serra da Mantiqueira e é o sistema montanhoso mais alto da Floresta Atlântica (Cordeiro & Neri 2018). Este maciço é considerado uma área de endemismo única para pequenos mamíferos não-voadores (Dalapicolla et al. 2021), um *Hotspot* de divergência populacional e um possível refúgio (Rull 2009; Amaral et al. 2018) com maior tempo de isolamento em relação às serras vizinhas. *Marmosops paulensis* corrobora a diferenciação indicada

e esperada para estas terras altas. A Serra do Caparaó se mostra como um filogruppo diferenciado nas topologias aqui obtidas e um haplogruppo que diverge por um número alto de passos mutacionais das serras da Mantiqueira e do Mar. Os valores de  $F_{ST}$  reafirmam estes padrões. A proximidade genética entre os grupos Serra da Mantiqueira e Serra do Mar pode estar relacionada com a maior proximidade geográfica entre estas porções.

Moritz e colaboradores (2008) descreveram que os tamanhos populacionais sofreram alterações durante os períodos extremos dos Interglaciais quaternários e mudanças nas faixas de elevação poderiam ocorrer. Montanhas mais altas estão relacionadas à maior persistência e níveis altos de endemidade em relação às cadeias mais baixas. No entanto, os índices de neutralidade com  $D$  de Tajima e  $F_s$  de Fu do presente trabalho não apresentam valores significativos de expansão populacional recente para os grupos Serra da Mantiqueira e Serra do Mar e indicam alterações demográficas para Serra do Caparaó. Estas avaliações indicam hipóteses que requerem estudos de mais táxons destes três maciços de montanha para investigação da diversidade.

### **Influência de eventos históricos em *Marmosops* da Floresta Atlântica**

Variados aspectos geográficos da Floresta Atlântica podem delimitar as populações de *M. incanus* e *M. paulensis*. Alguns padrões filogeográficos identificados no domínio sugerem que traços específicos de alguns táxons podem atuar nas respostas às oscilações climáticas passadas e barreiras putativas (López-Uribe et al. 2014; Thomé et al. 2014). Espécies essencialmente florestais estariam mais sujeitas aos efeitos da fragmentação intensa que ocorreu durante as oscilações climáticas do Pleistoceno (Moritz et al. 2000). Duas áreas historicamente estáveis (refúgios da Bahia e do Pernambuco) foram descritas para o norte do domínio

atlântico e zonas de instabilidade climática foram previstas ao sul (Carnaval & Mortiz 2008). Espera-se, então, que os refúgios pleistocênicos tenham mantido populações de tamanho constante ao longo do tempo e que a diversidade genética dessas porções seja alta em relação à porção sul, que estaria susceptível à processos de retração e expansão demográfica (Carnaval & Moritz 2008). Contudo, algumas populações de *M. incanus* e *M. paulensis* ao sul da Floresta Atlântica exibem diversidade genética alta de *mt-Cytb* e evidências de expansão populacional recente.

Aqui, os resultados refutam o modelo de Carnaval & Moritz (2008) e estão de acordo com a Hipótese da Floresta Atlântica (Leite et al. 2016), que postula que populações especialistas de florestas teriam sido favorecidas e se expandiram durante os períodos glaciais, devido à conexão e expansão florestal sobre a plataforma continental emersa na época pleistocênica. Os testes de neutralidade indicam que as populações Serra do Mar (*M. incanus*), Serra da Mantiqueira (*M. incanus*) e Serra do Caparaó (*M. paulensis*) aumentaram durante o UMG, ao invés de sofrerem retração. Assim, a plataforma continental, junto à complexidade topográfica ao sul, teria prolongado um período de resfriamento que favoreceu linhagens adaptadas ao frio (Leite et al. 2016; Zanchetta et al. 2019). Estes resultados estão de acordo com o estudo de *mt-Cytb* e do éxon 28 do gene nuclear *vWF* por Zanchetta e colaboradores (2019) para *M. incanus* e para outras espécies dependentes de floresta (Batalha Filho et al. 2012, 2019; Thomé et al. 2014; Cabanne et al. 2016; Leite et al. 2016; Rocha et al. 2022).

A distribuição da diversidade genética de duas populações de *M. incanus* (Sul e Norte do rio Doce) parece correlacionada com o sistema do rio Doce. Contudo, o valor de  $F_{ST}$  entre essas duas populações ( $F_{ST} = 0,586$ ) não permite inferir que o Rio atue como barreira geográfica eficaz ao fluxo genético entre estes dois haplogrupos

formados. Um estudo com o roedor *Akodon cursor* questionou o papel deste Rio para o bloqueio efetivo do intercuro gênico entre suas populações (Colombi et al. 2010). Zanchetta e colaboradores (2019) indicam que o rio Doce pode ter isolado populações de *M. incanus* no passado. O contato entre as populações ao Sul e ao Norte do rio Doce de *M. incanus* pode estar relacionado à eventos de dispersão nesta região (Patton et al. 2000) e a diferenciação encontrada pode se dever à divisão da Floresta Atlântica em dois domínios bioclimáticos (terras baixas e clima quente ao norte do rio Doce; espécies montanas e clima sazonal ao sul) (Carnaval et al. 2014). A topografia combinada às alterações de vegetação do passado (Saia et al. 2008) e eventos de regressão e transgressão marinha (Suguio & Nogueira 1999; Leite et al. 2016) podem ter sujeitado o desenvolvimento dos padrões de diversidade genética demonstrados para as duas populações. Estudos com anfíbios anuros (Thomé et al. 2010; Tonini et al. 2013) concordam com a influência da heterogeneidade climática e ambiental nas quebras filogeográficas ao sul.

O teste de Mantel não apoia o isolamento por distância entre as populações com *mt-Cytb*. Este resultado sugere capacidade de dispersão e mobilidade altas para algumas populações de *M. incanus* (Serra da Mantiqueira, Serra do Mar + Costa do Rio de Janeiro, Sul do rio Doce e Norte do rio Doce). Isolamento por resistência pode ser inferido para populações que mantém um fluxo gênico limitado por diversificação alopátrica em formações de altitude, principalmente para *M. paulensis*. Outros eventos relacionados à divergência dessas espécies são as atividades tectônicas e isolamento por montanhas. Consegu-se observar que a altitude atua como um fator organizador da estrutura genética de *M. paulensis*. Alguns eventos de diversificação são datados no Neógeno (Costa 2003; Loss & Leite 2011). Movimentos tectônicos responsáveis pelo soerguimento dos complexos da Mantiqueira e do Mar ocorreram

com maior intensidade no Cretáceo e Paleógeno e continuaram no Neógeno e no Quaternário, coincidindo com a estruturação dos clados (Almeida, 1976; Riccomini et al. 1989; Almeida & Carneiro 1998). As alterações tectônicas e climáticas que ocorreram no Sul e Sudeste brasileiro no final do Neógeno fragmentaram a Floresta Atlântica, separaram clados por vicariância e promoveram divergência genética grande entre populações. Isto foi visto para roedores do gênero *Trinomys* (Lara & Patton 2000), anfíbios anuros (Thomé et al. 2010; Tonini et al. 2013) e em estudos de modelagem demográfica e sequenciamento de elementos ultraconservados de aves (Amaral et al. 2018; Thom et al. 2020). Ainda, a recuperação de linhagens exclusivas de formações serranas sugere evolução independente da biota montana (Françoso et al. 2016; Amaral et al. 2018; Pie et al. 2018; Paz et al. 2019; Thom et al. 2020).

*Marmosops incanus* e *M. paulensis* apresentam forte estruturação geográfica e uma divergência genética consistente como resultado de processos históricos. A estrutura filogeográfica de *M. incanus* indica que os efeitos da altitude no isolamento populacional são mínimos. Em *M. paulensis*, os clados exibem estruturação coesa com os principais complexos topográficos da Floresta Atlântica. Os padrões aqui apresentados indicam a importância dos eventos tectônicos na formação da diferenciação entre as linhagens de ambas as espécies. Ainda, chama-se atenção para a variação genética alta encontrada para o marcador *mt-Cytb* nas duas espécies. Trabalhos futuros com foco na variação geográfica de caracteres adaptativos e revisão taxonômica e sistemática são necessários para esclarecer a diversidade em *Marmosops*, principalmente nos blocos de montanha.

## Financiamento

Este trabalho foi apoiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (bolsa de mestrado para M.C.S.R.; código de financiamento: 88887.497718/2020-00).

## Material suplementar

**Tabela S1.** Lista de haplótipos (H) de *Marmosops incanus* (Hi) e *M. paulensis* (Hp) e sequências de *mt-Cytb* analisadas neste estudo com número de acesso ao material obtido no GenBank, *voucher*, identificação do coletor, localidade, coordenadas e altitude. 1 – Díaz-Nieto et al. 2016; 2 – Leite et al. 2016; 3 – Voss et al. 2013; 4 – Este estudo.

**Tabela S2.** Número de sequências individuais ( $n$ ), número de haplótipos ( $h$ ), número de sítios de segregação (S) e estimativas de divergência evolutiva (%) com  $p$ -distance no *mt-Cytb* de *Marmosops incanus* e *Marmosops paulensis*.

**Tabela S3.** Número de sequências individuais ( $n$ ), número de haplótipos ( $h$ ), número de sítios de segregação (S), diversidade de haplótipos ( $Hd$ ) e diversidade de nucleotídeos ( $\pi$ ) em populações de *Marmosops incanus* e *M. paulensis* com *mt-Cytb*.

**Tabela S4.** Testes demográficos para os clados de *Marmosops incanus* e *M. paulensis* com *mt-Cytb*. Os valores  $p$  de significância correspondem à  $p < 0,02$  para  $F's$  e  $p < 0,05$  para D.

**Tabela S5.** Valores de  $F_{ST}$  par a par do *mt-Cytb* para os clados de *Marmosops incanus* e *M. paulensis*.

**Tabela S6.** Lista de espécies putativas, valores de probabilidade posterior (PP) e haplótipos (H) indicados pelo método bPTP dentro dos filogrupos de *Marmosops incanus* (Hi) e *M. paulensis* (Hp) com *mt-Cytb*

**Tabela S1.** Lista de haplótipos (H) de *Marmosops incanus* (Hi) e *M. paulensis* (Hp) e sequências de *mt-Cytb* analisadas neste estudo com número de acesso ao material obtido no GenBank, *voucher*, identificação do coletor, localidade, coordenadas e altitude. 1 – Díaz-Nieto et al. 2016; 2 – Leite et al. 2016; 3 – Voss et al. 2013; 4 – Este estudo

Haplogrupo	Acesso	Voucher	Número do coletor	H	Localidade	Lat	Long	Alt. (m)	Fonte
NRD	KT437805	-	MF 34	Hi1	BRA: ES, Linhares, Reserva Florestal da Companhia Vale do Rio Doce	-19.5000	-40.0000	50	1
SMar	KT437803	MVZ 182061	MAM 71	Hi2	BRA: SP, Ilha de São Sebastião, Fazenda da Toca	-23.8167	-45.3500	150	1
SMar	KT437802	MZUSP 29186	MAM 5	Hi3	BRA: SP, Capão Bonito, Serra de Piracicaba, Fazenda Intervales, Base do Carmo	-24.3333	-48.4167	885	1
SMt	KT437792	-	MAM 204	Hi4	BRA: MG, Caratinga, Fazenda Montes Claros, Estação Biológica de Caratinga	-19.8333	-41.8333	680	1
SMt	KT437790	MVZ 182769	MAM 202	Hi5	BRA: MG, Caratinga, Fazenda Montes Claros, Estação Biológica de Caratinga	-19.8333	-41.8333	680	1
SMt	KT437789	MVZ 182768	MAM 201	Hi6	BRA: MG, Caratinga, Fazenda Montes Claros, Estação Biológica de Caratinga	-19.8333	-41.8333	680	1
NRD	KT437787	MZUSP 29176	MAM 194	Hi7	BRA: ES, Linhares, Reserva Florestal da Companhia Vale do Rio Doce	-19.5000	-40.0000	50	1
RB	KT437783	MVZ 197435	LPC 231	Hi8	BRA: BA, Andaraí, Fazenda Santa Rita	-12.8017	-41.2614	399	1
SMar	KT437713	-	CRS279	Hi9	BRA: SP, Pilar do Sul	-23.8097	-47.6983	714	1

SMar	KT952209	-	AB 371	Hi10	BRA: SP, Tapiraí, Sítio Fuzuê	-23.84	-47.45	1.014	2
SMar	KT952208	-	AB 206	Hi10	BRA: SP, Tapiraí, Sítio Fuzuê	-23.84	-47.45	1.014	2
SMar	KT952207	-	AB 719	Hi11	BRA: SP, Cotia, Reserva Florestal do Morro Grande	-23.65	-46.98	920	2
SEp	KT952206	-	MP 348	Hi12	BRA: MG, Santo Antônio do Amparo	-20.94	-44.92	937	2
SEp	KT952205	-	MP 126	Hi12	BRA: MG, Minurí, Mata Triste	-21.68	-44.60	960	2
SMC	KT952204	LBCE 16103	-	Hi13	BRA: RJ, Ilha Grande, Vila Dois Rios	-23.00	-44.32	215	2
SEp	KT952203	-	MP 551	Hi12	BRA: MG, Tiradentes	-21.11	-44.18	920	2
SEp	KT952202	-	MP 550	Hi14	BRA: MG, Tiradentes	-21.11	-44.18	920	2
SEp	KT952201	-	MP 425	Hi15	BRA: MG, Tiradentes	-21.11	-44.18	920	2
SEp	KT952199	-	LPC 910	Hi12	BRA: MG, Belo Horizonte, Parque das Mangabeiras	-19.92	-43.94	864	2
SEp	KT952198	-	LPC 49	Hi16	BRA: MG, Santa Bárbara, Parque do Caraça	-20.08	-43.50	1.200	2
SMt	KT952197	UFES-CTA953	-	Hi17	BRA: MG, Marliéria, Parque Estadual do Rio Doce	-19.72	-42.65	300	2
SEp	KT952196	-	LPC 81	Hi18	BRA: MG, Turmalina, Estação Ecológica de Acauã	-17.13	-42.77	-	2
SMt	KT952195	UFES-CTA948	-	Hi17	BRA: MG, Marliéria, Parque Estadual do Rio Doce	-19.72	-42.65	300	2

RB	KT952194	-	LPC 201	Hi19	BRA: BA, Andaraí, Fazenda Santa Rita	-12.80	-41.27	324	2
SMt	KT952193	-	LPC 1388	Hi20	BRA: ES, São José do Calçado, Alegoria, Sapucaia	-21.04	-41.73	326	2
SMt	KT952192	-	LPC 1384	Hi21	BRA: ES, São José do Calçado, Alegoria, Sapucaia	-21.04	-41.73	326	2
SMt	KT952191	-	LPC 1362	Hi21	BRA: ES, São José do Calçado, Alegoria, Sapucaia	-21.04	-41.73	326	2
SMt	KT952190	-	LGA 1227	Hi22	BRA: ES, Dolores do Rio Preto, Parque Nacional do Caparaó	-20.47	-41.82	2.080	2
RB	KT952189	UFES-CTA1191	-	Hi23	BRA: BA, Andaraí, Fazenda Santa Rita	-12.80	-41.26	324	2
SMt	KT952188	-	LPC 1421	Hi24	BRA: ES, Castelo, Parque Estadual do Forno Grande	-20.52	-41.09	1.321	2
SMt	KT952187	-	LPC 1432	Hi25	BRA: ES, Castelo, Parque Estadual do Forno Grande	-20.52	-41.09	1.321	2
SMt	KT952186	-	LGA 951	Hi26	BRA: ES, Domingos Martins, Parque Estadual de Pedra Azul	-20.40	-40.97	1.155	2
SMt	KT952185	-	LGA 970	Hi24	BRA: ES, Domingos Martins, Parque Estadual de Pedra Azul	-20.40	-40.97	1.155	2
SMt	KT952184	UFES-CTA835	-	Hi27	BRA: ES, Domingos Martins, Parque Estadual de Pedra Azul	-20.40	-40.97	1.155	2
SMt	KT952183	UFES-CTA833	-	Hi28	BRA: ES, Domingos Martins, Parque Estadual de Pedra Azul	-20.40	-40.97	1.155	2
SMt	KT952182	UFES-CTA832	-	Hi29	BRA: ES, Domingos Martins, Parque Estadual de Pedra Azul	-20.40	-40.97	1.155	2
NRD	KT952181	UFES-CTA124	-	Hi30	BRA: ES, Pancas, Mata dos Stur, Córrego Palmital	-19.20	-40.80	245	2

NRD	KT952180	UFES-CTA208	-	Hi31	BRA: ES, Pancas, Mata dos Stur, Córrego Palmital	-19.20	-40.80	245	2
NRD	KT952179	UFES-CTA203	-	Hi32	BRA: ES, Pancas, Mata dos Stur, Córrego Palmital	-19.20	-40.80	245	2
NRD	KT952178	UFES-CTA192	-	Hi33	BRA: ES, Águia Branca, Sítio Krok, Mata Norte	-18.98	-40.75	185	2
NRD	KT952177	UFES-CTA190	-	Hi34	BRA: ES, Águia Branca, Sítio Krok, Mata Norte	-18.98	-40.75	185	2
NRD	KT952176	UFES-CTA131	-	Hi35	BRA: ES, Águia Branca, Sítio Krok, Mata Norte	-18.98	-40.75	185	2
NRD	KT952175	UFES-CTA130	-	Hi36	BRA: ES, Águia Branca, Sítio Krok, Mata Norte	-18.98	-40.75	185	2
SRD	KT952174	UFES-CTA791	-	Hi37	BRA: ES, Santa Teresa, Estação Biológica de Santa Lúcia	-19.9658	-40.5397	670	2
SRD	KT952173	UFES-CTA782	-	Hi38	BRA: ES, Santa Teresa, Estação Biológica de Santa Lúcia	-19.9658	-40.5397	670	2
SRD	KT952172	-	YL 444	Hi39	BRA: ES, Santa Teresa, Estação Biológica de Santa Lúcia	-19.9658	-40.5397	670	2
SMt	KT952171	UFES-CTA424	-	Hi24	BRA: ES, Cariacica, Reserva Biológica Duas Bocas	-20.28	-40.52	520	2
SRD	KT952170	UFES-CTA423	-	Hi40	BRA: ES, Cariacica, Reserva Biológica Duas Bocas	-20.28	-40.52	520	2
SMt	KT952169	UFES-CTA413	-	Hi29	BRA: ES, Cariacica, Reserva Biológica Duas Bocas	-20.28	-40.52	520	2
SRD	KT952168	-	LPC 1080	Hi41	BRA: ES, Cariacica, Reserva Biológica Duas Bocas	-20.28	-40.52	520	2
SRD	KT952167	UFES-CTA669	-	Hi42	BRA: ES, Viana, Ribeira	-20.37	-40.46	225	2

SRD	KT952166	UFES-CTA666	-	Hi42	BRA: ES, Viana, Ribeira	-20.37	-40.46	225	2
SMt	KT952165	UFES-CTA665	-	Hi24	BRA: ES, Viana, Ribeira	-20.37	-40.46	225	2
SRD	KT952164	-	YL 841	Hi43	BRA: ES, Serra, Área de Proteção Ambiental do Mestre Álvaro	-20.16	-40.31	490	2
NRD	KT952163	-	YL 728	Hi44	BRA: ES, Sooretama, Reserva Biológica de Sooretama	-19.05	-40.15	90	2
NRD	KT952162	-	YL 696	Hi45	BRA: ES, Sooretama, Reserva Biológica de Sooretama	-19.05	-40.15	90	2
NRD	KT952161	-	YL 693	Hi45	BRA: ES, Sooretama, Reserva Biológica de Sooretama	-19.05	-40.15	90	2
SRD	KT952160	-	LGA 3155	Hi46	BRA: ES, Pinheiros, Reserva Biológica Córrego do Veado	-18.31	-40.14	107	2
SRD	KT952159	-	LGA 3201	Hi46	BRA: ES, Pinheiros, Reserva Biológica Córrego do Veado	-18.31	-40.14	107	2
SRD	KT952158	-	LGA 3168	Hi46	BRA: ES, Pinheiros, Reserva Biológica Córrego do Veado	-18.31	-40.14	107	2
NRD	KT952157	-	YL 733	Hi47	BRA: ES, Linhares, Fazenda Santa Terezinha	-19.13	-39.95	40	2
NRD	KT952156	UFES-CTA910	-	Hi48	BRA: ES, Linhares, Fazenda Santa Terezinha	-19.13	-39.95	40	2
SRD	KT952155	-	LPC 1294	Hi49	BRA: ES, Conceição da Barra, Floresta Nacional do Rio Preto	-18.36	-39.82	30	2
SRD	KT952154	-	LPC 1276	Hi46	BRA: ES, Conceição da Barra, Floresta Nacional do Rio Preto	-18.36	-39.82	30	2
SRD	KT952153	-	LPC 1275	Hi46	BRA: ES, Conceição da Barra, Floresta Nacional do Rio Preto	-18.36	-39.82	30	2

RB	KT952152	-	JG 27	Hi50	BRA: BA, Jaguaripe	-13.1147	-38.8930	10	2
SMC	KC954771	-	MAM 186	Hi51	BRA: RJ, Ibucuí	-22.95	-44.03	253	3
SEp	-	LBCE 1530	-	Hi52	BRA: BA, Caetité	-14.0547	-42.4744	830	4
SMt	-	LBCE 5581	-	Hi53	BRA: MG, Capitão Andrade	-19.0702	-41.8635	230	4
SMt	-	LBCE 6390	-	Hi54	BRA: MG, Capitão Andrade	-19.0702	-41.8635	230	4
SMt	-	MZNB 189	MBF 175	Hi55	BRA: MG, Alto Jequitibá, Vargem Grande, RPPN Refúgio dos Jacus, Complexo do Grumarim	-20.4835	-42.0475	1.422	4
SMt	-	MZNB 187	MBF 176	Hi56	BRA: MG, Alto Jequitibá, Vargem Grande, RPPN Refúgio dos Jacus, Complexo do Grumarim	-20.4835	-42.0475	1.422	4
SMt	-	MZNB 241	MBF 164	Hi57	BRA: MG, Alto Jequitibá, Vargem Grande, RPPN Refúgio dos Jacus, Complexo do Grumarim	-20.4835	-42.0475	1.422	4
SMt	-	MZNB 191	MBF 192	Hi58	BRA: MG, Alto Jequitibá, Vargem Grande, RPPN Refúgio dos Sauás, Trilha da Toquinha, Complexo do Grumarim	-20.4835	-42.0399	1.250	4
SMt	-	MZNB 202	MBF 224	Hi59	BRA: MG, Alto Jequitibá, Vargem Grande, RPPN Refúgio dos Sauás, Trilha da Toquinha, Complexo do Grumarim	-20.4835	-42.0399	1.250	4
SMt	-	MZNB 218	MBF 275	Hi59	BRA: MG, Alto Jequitibá, Vargem Grande, RPPN Refúgio dos Sauás, Trilha da Toquinha, Complexo do Grumarim	-20.4835	-42.0399	1.250	4

SMt	-	MZNB 230	MBF 276	Hi60	BRA: MG, Alto Jequitibá, Vargem Grande, RPPN Refúgio dos Sauás, Trilha da Toquinha, Complexo do Grumarim	-20.4835	-42.0399	1.250	4
SMt	-	MZNB 238	MBF 289	Hi59	BRA: MG, Alto Jequitibá, Vargem Grande, RPPN Refúgio dos Sauás, Trilha da Toquinha, Complexo do Grumarim	-20.4835	-42.0399	1.250	4
SMt	-	MZNB 277	MBF 500	Hi61	BRA: MG, Alto Jequitibá, Vargem Grande, RPPN Refúgio dos Sauás, Trilha da Toquinha, Complexo do Grumarim	-20.4835	-42.0399	1.250	4
SMt	-	MZNB 470	MBF 618	Hi62	BRA: MG, Caparaó, APA do Caparaó, Complexo do Grumarim	-20.5130	-42.0602	1.488	4
SMt	-	MZNB 459	MBF 643	Hi63	BRA: MG, Caparaó, APA do Caparaó, Complexo do Grumarim	-20.5130	-42.0602	1.488	4
SMt	-	MZNB 260	MBF 335	Hi59	BRA: MG, Alto Jequitibá, Vargem Grande, RPPN Refúgio dos Sauás, Trilha da Toquinha, Complexo do Grumarim	-20.4835	-42.0399	1.250	4
SMt	-	MZNB 259	MBF 285	Hi62	BRA: MG, Alto Jequitibá, Vargem Grande, RPPN Refúgio dos Sauás, Trilha da Toquinha, Complexo do Grumarim	-20.4835	-42.0399	1.250	4
SMt	-	MZNB 198	MBF 217	Hi64	BRA: MG, Alto Jequitibá, Vargem Grande, RPPN Refúgio dos Jacus, Complexo do Grumarim	-20.4835	-42.0475	1.400	4
SMt	-	MZNB 530	MBF 759	Hi65	BRA: MG, Caparaó, APA do Caparaó, Complexo do Grumarim	-20.5130	-42.0602	1.488	4
SMC	-	LBCE 7449	-	Hi66	BRA: RJ, Teresópolis	-22.5040	-43.1809	880	4
SMC	-	LBCE 11141	-	Hi67	BRA: RJ, Teresópolis	-22.5040	-43.1809	880	4

SMt	-	LBCE 20546	-	Hi68	BRA: ES, Ibatiba	-20.2347	-41.5087	750	4
SMt	-	LBCE 20552	-	Hi68	BRA: ES, Ibatiba	-20.2347	-41.5087	750	4
SMt	-	LBCE 20571	-	Hi68	BRA: ES, Ibatiba	-20.2347	-41.5087	750	4
SMt	-	LBCE 20547	-	Hi68	BRA: ES, Ibatiba	-20.2347	-41.5087	750	4
SMt	-	MZNB 237	MBF 286	Hi69	BRA: MG, Alto Jequitibá, Vargem Grande, RPPN Refúgio dos Jacus, Complexo do Grumarim	-20.4835	-42.0475	1.422	4
SMt	-	MZNB 224	MBF 280	Hi59	BRA: MG, Alto Jequitibá, Vargem Grande, RPPN Refúgio dos Jacus, Complexo do Grumarim	-20.4835	-42.0475	1.422	4
SMt	-	-	MBF 694	Hi70	BRA: MG, Caparaó, APA do Caparaó, Complexo do Grumarim	-20.5130	-42.0602	1.488	4
SMt	-	MZNB 263	MBF 294	Hi71	BRA: MG, Alto Jequitibá, Vargem Grande, RPPN Refúgio dos Sauás, Trilha da Toquinha, Complexo do Grumarim	-20.4835	-42.0399	1.250	4
SMt	-	MZNB 228	MBF 261	Hi59	BRA: MG, Alto Jequitibá, Vargem Grande, RPPN Refúgio dos Sauás, Trilha da Toquinha, Complexo do Grumarim	-20.4835	-42.0399	1.250	4
SMt	-	MZUFV 3547	GL 694	Hi72	BRA: MG, Araponga, Serra do Brigadeiro, Pousada Serra D'Água	-20.6706	-42.5131	1.230	4
RB	-	LBCE 19181	-	Hi73	BRA: BA, Igrapiúna, Fazenda Reunidas Vale do Juliana	-13.7439	-39.1581	115	4
RB	-	LBCE 19234	-	Hi74	BRA: BA, Igrapiúna, Fazenda Reunidas Vale do Juliana	-13.7439	-39.1581	115	4

SEp	-	LBCE 1549	-	Hi75	BRA: BA, Caetité	-14.0547	-42.4744	830	4
SEp	-	LBCE 15484	-	Hi76	BRA: MG, São Vicente de Minas	-21.7022	-44.4408	1.022	4
RB	-	LBCE 18785	-	Hi77	BRA: BA, Igrapiúna, Fazenda Reunidas Vale do Juliana	-13.7439	-39.1581	113	4
SMC	-	LBCE 19505	-	Hi78	BRA: RJ, Petrópolis, Imperador	-22.5097	-43.175	900	4
SMC	-	MN 46900	CRB 1069	Hi79	BRA: RJ, Guapimirim	-22.4880	-42.9122	88	4
SMC	-	NPM 1936	PRG 2901	Hi80	BRA: RJ, Rio das Ostras, Reserva Biológica União	22.44797	-42.0562	52	4
SMC	-	NPM 1786	PRG 2812	Hi81	BRA: RJ, Silva Jardim, Fazenda Flandria	-22.5046	-42.3166	47	4
SMt	-	MZUFV 1611	BRG 235	Hi82	BRA: MG, Araponga, Fazenda Brigadeiro, Parque Estadual Serra do Brigadeiro	-20.7266	-42.475	1.330	4
SMt	-	MZUFV 1606	BRG 230	Hi83	BRA: MG, Araponga, Fazenda Brigadeiro, Parque Estadual Serra do Brigadeiro	-20.7266	-42.475	1.330	4
SMC	-	-	PRG 1318	Hi84	BRA: SP, Cotia, Reserva do Morro Grande	-23.7344	-46.9597	964	4
SMt	KT437880	-	YL19	Hp85	BRA: MG, Itanhadu	-22.3833	-44.8500	1.400	1
SMt	KT437814	-	MP 405	Hp86	BRA: MG, Itamonte	-22.2931	-44.8861	1.160	1
SMar	KT437796	MZUSP 29167	MAM 31	Hp87	BRA: SP, Capão Bonito, Serra de Paranapiacaba, Fazenda Intervales, Base do Carmo	-24.3333	-48.4167	900	1
SMar	KT437795	MVZ 182059	MAM 25	Hp88	BRA: SP, Capão Bonito, Serra de Paranapiacaba, Fazenda Intervales, Base do Carmo	-24.3333	-48.4167	900	1

SMar	KT437761	MVZ 183244	JLP 16217	Hp89	BRA: SP, Capão Bonito, Serra de Paranapiacaba, Fazenda Intervales, Base do Carmo	-24.3333	-48.4167	900	1
SMar	KT437720	-	EEB 1021	Hp90	BRA, SP, Bananal, Estação Ecológica de Bananal	-22.8056	-44.3639	1.200	1
SMar	KC954772	MVZ 183243	JLP 16216	Hp91	BRA: SP, Capão Bonito, Serra de Paranapiacaba, Fazenda Intervales, Base do Carmo	-24.3333	-48.4167	900	3
SCp	-	-	MBF 686	Hp92	BRA: MG, Caparaó, APA do Caparaó, Complexo do Grumarim	-20.5130	-42.0602	1.488	4
SCp	-	MZNB 469	MBF 616	Hp93	BRA: MG, Caparaó, APA do Caparaó, Complexo do Grumarim	-20.5130	-42.0602	1.488	4
SCp	-	MZNB 472	MBF 682	Hp94	BRA: MG, Caparaó, APA do Caparaó, Complexo do Grumarim	-20.5130	-42.0602	1.488	4
SCp	-	MZNB 458	MBF 620	Hp95	BRA: MG, Caparaó, APA do Caparaó, Complexo do Grumarim	-20.5130	-42.0602	1.488	4
SCp	-	MZNB 466	MBF 639	Hp94	BRA: MG, Caparaó, APA do Caparaó, Complexo do Grumarim	-20.5130	-42.0602	1.488	4
SCp	-	MZNB 467	MBF 621	Hp94	BRA: MG, Caparaó, APA do Caparaó, Complexo do Grumarim	-20.5130	-42.0602	1.488	4
SMar	-	LBCE 11140	-	Hp96	BRA: RJ, Teresópolis	-22.5040	-43.1809	900	4
SMar	-	LBCE 7113	-	Hp97	BRA: RJ, Teresópolis	-22.5040	-43.1809	900	4
SCp	-	MZNB 480	MBF 628	Hp98	BRA: MG, Caparaó, APA do Caparaó, Complexo do Grumarim	-20.5130	-42.0602	1.488	4
SCp	-	-	MBF 692	Hp94	BRA: MG, Caparaó, APA do Caparaó, Complexo do Grumarim	-20.5130	-42.0602	1.488	4
SCp	-	MN 31916	CRB 4263	Hp99	BRA: MG, Caparaó, Parque Nacional do Caparaó	-20.4572	-41.8133	2.180	4

SMar	-	-	CRB 4136	Hp100	BRA: RJ, Nova Friburgo, Macaé de Cima	22.37055	-42.4225	1.000	4
SCp	-	MN 31923	CRB 4298	Hp101	BRA: MG, Caparaó, Parque Nacional do Caparaó	-20.4572	-41.8133	2.180	4
SCp	-	MN 31919	CRB 4276	Hp102	BRA: MG, Caparaó, Parque Nacional do Caparaó	-20.4572	-41.8133	2.180	4
SCp	-	MN 31918	CRB 4266	Hp103	BRA: MG, Caparaó, Parque Nacional do Caparaó	-20.4556	-41.8103	2.278	4
SMar	-	LBCE 19489	-	Hp104	BRA: RJ, Petrópolis, Bonfim	-22.4542	-43.1079	850	4
SCp	-	MZUFV 1608	BRG 266	Hp105	BRA: MG, Araponga, Fazenda Brigadeiro, Parque Estadual Serra do Brigadeiro	-20.7266	-42.475	1.330	4

AB/FB, Renata Pardini; BA, Bahia; BRG, Brigadeiro; ES, Espírito Santo; CRB, Cibele Rodrigues Bonvicino; GL, Gisele Lessa; LBCE, Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Reservatórios; LC/LPC, Leonora Pires Costa; LGA, Laboratório de Genética Animal; MBF, Michel Barros Faria; MBML, Museu de biologia Professo Mello Leitão; MG, Minas Gerais; MN, Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro; MP, Marcelo Passamani; MZNB, Museu de Zoologia Newton Baião de Azevedo, Universidade do Estado de Minas Gerais – Unidade Carangola; *mt-Cytb*, mitocondrial citocromo b; MZUFV, Museu de Zoologia João Moojen, Universidade Federal de Viçosa; NRD, Norte do rio Doce; PRG, Pablo Rodrigues Gonçalves; RB, Refúgio da Bahia; RM, Raquel Moura; RJ, Rio de Janeiro; SCp, Serra do Caparaó; SEp, Serra do Espinhaço; SMC, Serra do Mar + Costa do Rio de Janeiro; SMt, Serra da Mantiqueira; SMar, Serra do Mar; SP, São Paulo; SRD, Sul do rio Doce; UFES-CTA, Coleção de Tecidos Animais da Universidade Federal do Espírito Santo; YL, Yuri Leite.

**Tabela S2.** Número de sequências individuais ( $n$ ), número de haplótipos ( $h$ ), número de sítios segregando ( $S$ ) e estimativas de divergência evolutiva (%) com  $p$ -distance no *mt-Cytb* de *Marmosops incanus* e *M. paulensis*

Clado	$n$	$h$	$S$	Média	Mín.	Máx.
<i>incanus-paulensis</i>	133	105	80	8,4	0,09	18,78
<i>incanus</i>	109	84	73	4,8	0,09	12,75
<i>paulensis</i>	24	21	60	4,5	0,09	9,26

*mt-Cytb*, mitocondrial citocromo b; Máx, máximo; Mín, mínimo.

**Tabela S3.** Número de sequências individuais ( $n$ ), número de haplótipos ( $h$ ), número de sítios de segregação ( $S$ ), diversidade de haplótipos ( $Hd$ ) e diversidade de nucleotídeos ( $\pi$ ) em populações de *Marmosops incanus* e *M. paulensis* com *mt-Cytb*

Filogrupo	$n$	$h$	$S$	$Hd$	$\pi$
NRD	14	13	8	0,9890 sd 0,0314	0,003 sd 0,002
SMar	5	5	3	0,9333 sd 0,1217	0,001 sd 0,001
SMt	47	33	47	0,9715 sd 0,0139	0,012 sd 0,006
<i>incanus</i>	RB	7	7	1,0000 sd 0,0764	0,006 sd 0,004
	SEp	11	8	0,8909 sd 0,0918	0,013 sd 0,007
	SMC	9	9	1,0000 sd 0,0524	0,013 sd 0,007
	SRD	12	9	0,9394 sd 0,0577	0,018 sd 0,010
	SMt	2	2	1,0000 sd 0,5000	0,006 sd 0,006
<i>paulensis</i>	SMar	9	9	1,0000 sd 0,0524	0,027 sd 0,015
	SCp	13	10	0,9231 sd 0,0694	0,003 sd 0,002

*mt-Cytb*, mitocondrial citocromo b; NRD, Norte do rio Doce; RB, Refúgio da Bahia; SCp, Serra do Caparaó; SEp, Serra do Espinhaço; SMC, Serra do Mar + Costa do Rio de Janeiro; SMt, Serra da Mantiqueira; SMar, Serra do Mar; SRD, Sul do rio Doce; *sd*, desvio padrão.

**Tabela S4.** Testes demográficos para os clados de *Marmosops incanus* e *M. paulensis* com *mt-Cytb*

Estatística	<i>incanus</i>							<i>paulensis</i>		
	SMar	SMC	RB	SEp	SMt	SRD	NRD	SMt	SMar	SCp
N. transições	3	22	13	29	33	36	6	4	43	11
N. transversões	0	8	2	5	15	4	2	1	8	10
D de Tajima	-0.447	-0.370	-0.970	-0.397	-0.318	0.509	0.067	0	1.106	-2.243
D de Tajima valor <i>p</i>	0.425	0.351	0.205	0.384	0.419	0.737	0.535	1	0.911	<b>0.001</b>
F's de Fu	-3.309	-2.757	-2.987	0.401	-12.316	0.631	-12.356	1.609	-1.198	-4.793
F's de Fu valor <i>p</i>	<b>0.001</b>	0.054	0.033	0.559	<b>0.001</b>	0.605	0	0.498	0.152	<b>0.003</b>

*mt-Cytb*, mitocondrial citocromo b; NRD, Norte do rio Doce; RB, Refúgio da Bahia; SCp, Serra do Caparaó; SEp, Serra do Espinhaço; SMC, Serra do Mar + Costa do Rio de Janeiro; SMt, Serra da Mantiqueira; SMar, Serra do Mar; SRD, Sul do rio Doce. Os valores em negrito são significativos (correspondem à  $p < 0,02$  para F's e  $p < 0,05$  para D).

**Tabela S5.** Valores de  $F_{ST}$  par a par do *mt-Cytb* para os clados de *Marmosops incanus* e *M. paulensis*

SMar	SMC	RB	SEp	SMt	SRD	NRD	SMt	SMar	SCp
------	-----	----	-----	-----	-----	-----	-----	------	-----

	<b>SMar</b>	-							
	<b>SMC</b>	0,903	-						
	<b>RB</b>	0,951	0,895	-					
<i>incanus</i>	<b>SEp</b>	0,895	0,879	0,798	-				
	<b>SMT</b>	0,875	0,879	0,767	0,686	-			
	<b>SRD</b>	0,860	0,855	0,735	0,587	0,413	-		
	<b>NRD</b>	0,964	0,930	0,917	0,790	0,710	0,586	-	
	<b>SMT</b>	0,985	0,919	0,958	0,927	0,923	0,896	0,977	-
<i>paulensis</i>	<b>SMar</b>	0,883	0,865	0,884	0,883	0,902	0,862	0,921	0,655
	<b>SCp</b>	0,978	0,946	0,967	0,952	0,934	0,933	0,977	0,947
									0,795

Sendo: *mt-Cytb*, mitocondrial citocromo b; NRD, Norte do rio Doce; RB, Refúgio da Bahia; SCp, Serra do Caparaó; SEp, Serra do Espinhaço; SMC, Serra do Mar + Costa do Rio de Janeiro; SMT, Serra da Mantiqueira; SMar, Serra do Mar; SRD, Sul do rio Doce.  $p < 0,05$ , nível de significância  $\leq 0,05$ .

**Tabela S6.** Lista de espécies putativas, valores de probabilidade posterior (PP) e haplótipos (H) indicados pelo método bPTP dentro dos filogrupos de *Marmosops incanus* (Hi) e *M. paulensis* (Hp) com *mt-Cytb*

	<b>Espécies putativas</b>	<b>Filogrupo</b>	<b>H</b>	<b>pp</b>
	Espécie 1	SMar	Hi2, Hi3, Hi9, Hi10, Hi11	0,909
	Espécie 2	SEp	Hi12, Hi14, Hi15, Hi16, Hi76, Hi18	0,920
	Espécie 3	SEp	Hi52, Hi75	0,992
<i>incanus</i>	Espécie 4	RB	Hi8, Hi19, Hi23, Hi73, Hi74, Hi77, Hi50	0,871
	Espécie 5	SMC	Hi13, Hi51	0,942

	Espécie 6	SMC	Hi66, Hi78, Hi79, Hi67, Hi80, Hi84, Hi81	0,827
	Espécie 7	SMt, SRD	Hi4, Hi5, Hi6, Hi53, Hi54, Hi65, Hi82, Hi83, Hi17, Hi55, Hi56, Hi57, Hi59, Hi60, Hi69, Hi58, Hi64, Hi62, Hi20, Hi21, Hi61, Hi63, Hi70, Hi71, Hi72, Hi68, Hi22, Hi24, Hi25, Hi26, Hi27, Hi28, Hi29, Hi37, Hi38, Hi40, Hi39, Hi41, Hi42, Hi43	0,487
	Espécie 8	SRD, NRD	Hi46, Hi49, Hi30, Hi36, Hi31, Hi32, Hi33, Hi34, Hi35, Hi47, Hi44, Hi45, Hi1, Hi7, Hi48	0,654
	Espécie 1	SMt	Hp85, Hp86	0,905
	Espécie 2	SCp	Hp92, Hp93, Hp94, Hp95, Hp98, Hp99, Hp101, Hp102, Hp103, Hp105	0,496
<i>paulensis</i>	Espécie 3	SMar	Hp90	0,990
	Espécie 4	SMar	Hp87, Hp88, Hp91, Hp89	0,990
	Espécie 5	SMar	Hp96, Hp97, Hp104, Hp100	0,950

Sendo: *mt-Cytb*, mitocondrial citocromo b; NRD, Norte do rio Doce; RB, Refúgio da Bahia; SCp, Serra do Caparaó; SEp, Serra do Espinhaço; SMC, Serra do Mar + Costa do Rio de Janeiro; SMt, Serra da Mantiqueira; SMar, Serra do Mar; SRD, Sul do rio Doce.

## Agradecimentos

Agradecemos aos curadores das coleções de tecidos que gentilmente doaram alíquotas de amostras para a realização deste trabalho: Cibele Rodrigues Bonvicino (MN/UFRJ e IOC/FIOCRUZ), Guilherme Garbino e Gisele Lessa (MZUFV); Pablo Rodrigues Gonçalves (NUPEM/UFRJ), Renan Nunes Costa e Emanuel Teixeira da Silva (MZNB/UEMG – Carangola), e Roberto Vilela (IOC/FIOCRUZ). Agradecemos à Cíntia Povill (UFRJ, Brasil) por revisar a prévia deste manuscrito.

## Referências

- Abreu EF, Jung DMH, Christoff AU, Valiati VH, Jansa SA, Percequillo AR. 2021. Systematics of *Brucepattersonius* Hershkovitz, 1998 (Rodentia, Sigmodontinae): molecular species delimitation and morphological analyses suggest an overestimation in species diversity. *Systematics and Biodiversity* 0: 1–26.
- Almeida F FM. 1976. The system of continental rifts bordering the Santos Basin, Brazil. *An. Acad. Bras.* 48: 15–26.
- Almeida FFM, Carneiro CDR. 1998. Origem e evolução da Serra do Mar. *Rev. Bras. Geociênc.* 28: 135–150.
- Altekar G, Dwarkadas S, Huelsenbeck JP, Ronquist F. 2004. Parallel Metropolis coupled Markov chain Monte Carlo for Bayesian phylogenetic inference. *Bioinformatics* 20: 407415, 2004.
- Agrizzi J, Loss AC, Farro APC, Duda R, Costa LP, Leite YLR. 2012. Molecular Diagnosis of Atlantic Forest Mammals Using Mitochondrial DNA Sequences: Didelphid Marsupials. *The Open Zool. J.* 5: 2–9.

- Amaral FR, Alvarado-Serrano DF, Maldonado-Coelho M, Pellegrino CM, Miyaki CY, Montesanti JAC, Lima-Ribeiro MS, Hickerson MJ, Thom G. 2018. Climate explains recent population divergence, introgression and persistence in tropical mountains: phylogenomic evidence from Atlantic Forest warbling finches. bioRxiv. 439265.
- Amaro RC, Rodrigues MT, Yonenaga-Yassuda Y, Carnaval AC. 2012. Demographic processes in the montane Atlantic rainforest: molecular and cytogenetic evidence from the endemic frog *Proceratophrys boiei*. Mol. Phylogenet. Evol. 62: 880–888.
- Anderson S, Yates TL. 2000. A new genus and species of Phyllotine rodent from Bolivia. J. Mammal. 81: 18–36.
- Bandelt, H.J., Forster, P., Rohlf, A. 1999. *Median-joining* networks for inferring intraspecific phylogenies. Mol. Biol. Evol. 16: 37–48.
- Batalha-Filho H, Cabanne GS, Miyaki CY. 2012. Phylogeography of an Atlantic forest passerine reveals demographic stability through the last glacial maximum. Mol. Phylogenet. Evol. 65: 892–902
- Batalha-Filho H, Maldonado-Coelho M, Miyaki CY. 2019. Historical climate changes and hybridization shaped the evolution of Atlantic Forest spinetails (Aves: Furnariidae). Heredity 123: 675–693.
- Bezerra AC, Geise L. 2015. O estado da arte de *Marmosops incanus* (Lund, 1840) (Didelphimorphia, Didelphidae): uma síntese. Bol. Soc. Bras. Mastozool. 73: 65–86.
- Bonvicino CR, Langguth A, Lindbergh SM, Paula AC. 1997. An elevational gradient study of small mammals at Caparaó National Park, southeastern Brazil. Mammalia 61: 547–560.

- Bouckaert R, Vaughan TG, Barido-Sottani J, Duchêne S, Fourment M, Gavryushkina A, Heled J, Jones G, Kühnet D, De Maio N, Matschiner M, Mendes FK, Müller NF, Ogilvie HA, du Plessis L, Poppinga A, Rambaut A, Rasmussem D, Siveroni I, Suchard MA, Wu C, Xie D, Zhang C, Stadler T, Drummond AJ. 2019. BEAST 2.5: An advanced software platform for Bayesian evolutionary analysis. *PLoS Comput. Biol.* 15: e1006650.
- Brito D, Oliveira LC, Aurélio M, Mello R. 2004. An overview of mammalian conservation at Poço das Antas Biological Reserve, southeastern Brazil. *J. Nat. Conserv.* 12: 219–228.
- Cabanne GS, Calderón L, Arias NT, Flores P, Pessoa R, D’Horta FM, Miyaki CY. 2016. Effects of Pleistocene climate changes on species ranges and evolutionary processes in the Neotropical Atlantic Forest. *Biol. J. Linn. Soc.* 119: 856–872.
- Câmara EMVC, Oliveira LC, Meyer R.L. 2003. Occurrence of the mouse opossum, *Marmosops incanus* in Cerrado “stricto sensu” area, and new locality records for the Cerrado and Caatinga biomes in Minas Gerais State, Brazil. *Mammalia* 67: 617–619.
- Carnaval AC, Hickerson MJ, Haddad CFB, Rodrigues MT, Moritz C. 2009. Stability predicts genetic diversity in the Brazilian Atlantic Forest Hotspot. *Science* 323: 785–789.
- Carnaval AC, Moritz C. 2008. Historical climate modelling predicts patterns of current biodiversity in the Brazilian Atlantic forest. *J. Biogeogr.* 35: 1187–1201.
- Carnaval AC, Waltari E, Rodrigues MT, Rosauer D, VanDerWal J, Damasceno R, Prates I, Strangas M, Spanos Z, Rivera D, Pie MR, Firkowski CR, Bornschein MR, Ribeiro LF, Moritz C. 2014. Prediction of phylogeographic endemism in an environmentally complex biome. *Proc. Royal Soc. B.* 281: 20141461.

- Cassens I, Vicario S, Waddell VG, Balchowsky H, Van Belle D, Ding W, Fan C, Lal Mohan RS, Simões-Lopesi PC, Bastida R, Meyer A, Stanhope MJ, Milinkovitch MC. 2000. Independent adaptation to riverine habitats allowed survival of ancient cetacean lineages. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 97: 11343–11347.
- Colombi VH, Lopes SR, Fagundes V. 2010. Testing the Rio Doce as a riverine barrier in shaping the Atlantic rainforest population divergence in the rodent *Akodon cursor*. *Genet. Mol. Biol.* 33: 785–789.
- Cordeiro AAC, Neri AV. 2018. Spatial patterns along an elevation gradient in high altitude grasslands, Brazil. *Nord. J. Bot.* 37: 1–10.
- Costa LP, Leite YLR, Fonseca GAB, Fonseca MT. 2000. Biogeography of South America forest mammals: endemism and diversity in the Atlantic Forest. *Biotropica* 32: 872–881.
- Costa LP. 2003. The historical bridge between the Amazon and the Atlantic Forest of Brazil: A study of molecular phylogeography with small mammals. *J. Biogeogr.* 30: 71–86.
- Dalapicolla J, Abreu EF, Prado JR, Chiquito EA, Roth PRO, Brennand PGG, Pavan ACD, Pereira A, Mendes FR, Alvarez MRA, Rios EO, Cassano CR, Miretzki M, Vélez F, Sevá AP, Percequillo AR, Bovendorp RS. 2021. Areas of endemism of small mammals are underprotected in the Atlantic Forest. *J. Mammal.* 102: 1390–1404.
- Díaz-Nieto JF, Jansa SJ, Voss RS. 2016. DNA sequencing reveals unexpected recent diversity and an ancient dichotomy in the American marsupial genus *Marmosops* (Didelphidae, Thylamyini). *Zool. J. Linn. Soc.* 176: 914–940.
- Drummond AJ, Ho SYW, Phillips MJ, Rambaut A. 2006. Relaxed Phylogenetics and Dating with Confidence. *PLoS Biol.* 4: e88.

- Edgar RC. 2014. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic. Acids. Res.* 32: 1792–1797.
- Emmons, L.H. 1997. Neotropical rainforest mammals: a field guide. University of Chicago Press, Chicago.
- Ence DD, Carsten BC. 2011. SpedeSTEM: a rapid and accurate method for species delimitation. *Mol. Ecol. Resour.* 11: 473–480.
- Excoffier L, Lischer HE. 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol. Ecol. Resour.* 10: 564–567.
- Ezard T, Fujisawa T, Barraclough T. 2009. Splits: Species' Limits by Threshold Statistics. R package version 1.0. URL: <http://R-Forge.R-project.org/projects/splits/>.
- Françoso E, Zuntini AR, Carnaval AC, Arias MC. 2016. Comparative phylogeography in the Atlantic forest and Brazilian savannas: pleistocene fluctuations and dispersal shape spatial patterns in two bumblebees. *BMC Evol. Biol.* 16: 1–16.
- Fu YX. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics* 147: 915–925.
- Fujisawa T, Barraclough TG. 2013. Delimiting species using single-locus data and the Generalized Mixed Yule Coalescent approach: a revised method and evaluation on simulated data sets. *Syst. Biol.* 62: 707–724.
- Gardner AL, Creighton GK. 2008. Genus *Marmosops* Matschie 1916. *In*: Gardner AL. (Eds.), *Mammals of South America. Marsupials, xenarthrans, shrews, and bats*. Chicago University Press, Chicago, IL. p. 61–74.

- Geise L, Pereira LG, Bossi DEP, Bergallo H.G. 2004. Pattern of elevational distribution and richness of nonvolant mammals in Itatiaia National Park and surroundings, in southeastern Brazil. *Braz. J. Biol.* 82: 92–101.
- Gonçalves PR, Myers P, Vilela JF, Oliveira JA. 2007. Systematics of species of the genus *Akodon* (Rodentia: Sigmodontinae) in Southeastern Brazil and implications for the biogeography of the campos de altitude. *Misc. publ. - Mus. Zool., Univ. Mich.* 197: 1–24.
- Gonçalves PR, Oliveira JA. 2014. An integrative appraisal of the diversification in the Atlantic forest genus *Delomys* (Rodentia: Cricetidae: Sigmodontinae) with the description of a new species. *Zootaxa* 3760: 1–38.
- Graipel ME, Cherem JJ, Monteiro-Filho EL de A, Carmignotto AP. 2017 Mamíferos da Mata Atlântica. In: Monteiro-Filho, EL de A., Conte, CE (Eds.). *Revisões em Zoologia: Mata Atlântica*. Ed. da UFPR, Curitiba, pp. 391–482.
- Holsinger KE, Weir BS. 2009. Genetics in geographically structured populations: defining, estimating and interpreting  $F_{ST}$ . *Nat. Rev. Genet.* 10: 639–650.
- Irwin DM, Kocher TD, Wilson AC. 1991. Evolution of cytochrome b gene of mammals. *J. Mol. Evol.* 2:128–144.
- Jocque M, Field R, Brendonck L, Meester LD. 2010. Climatic control of dispersal–ecological specialization trade-offs: a metacommunity process at the heart of the latitudinal diversity gradient? *Global Ecol. Biogeogr.* 19: 244–252.
- Kalyaanamoorthy S, Minh BQ, Wong TKF, von Haeseler A, Jermiin LS. 2017. ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nat. Methods.* 14: 587–589.

- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Mol. Biol. Evol.* 35: 1547–1549.
- Lara MC, Patton JL. 2000. Evolutionary diversification of spiny rats (genus *Trinomys*, Rodentia: Echimyidae) in the Atlantic Forest of Brazil. *Zool. J. Linn. Soc.* 130: 661–686.
- Leigh JW, Bryant D. 2015. PopART: Full-feature software for haplotype network construction. *Methods Ecol. Evol.* 6: 1110–1116.
- Leite YLR, Costa LP, Loss AC, Rocha RG, Batalha-Filho H, Bastos AC, Quaresma VS, Fagundes V, Paresque R, Passamani M, Pardini R. 2016. Neotropical forest expansion during the last glacial period challenges refuge hypothesis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 113: 1008–1013.
- López-Uribe MM, Zamudio KR, Cardoso CF, Danforth BN. 2014. Climate, physiological tolerance and sex-biased dispersal shape genetic structure of Neotropical orchid bees. *Mol. Ecol.* 23: 1874–1890.
- Loss AC, Leite YLR. 2011. Evolutionary diversification of *Phyllomys* (Rodentia: Echimyidae) in the Brazilian Atlantic Forest. *J. Mammal.* 92: 1352–1366.
- McCarthy C. 1998. Chromas 1.45. School of Health Science, Griffith University, Southport, Queensland, Australia.
- Minh BQ, Schmidt HA, Chernomor O, Schrempf D, Woodhams MD, von Haeseler A, Lanfear R. 2020. IQ-TREE: New Models and Efficient Methods for Phylogenetic Inference in the Genomic Era. *Mol. Biol. Evol.* 37: 1530–1534.
- Moreira JC, Manduca EG, Gonçalves PR, de Moraes Jr MM, Pereira RF, Lessa G, Dergam JA. 2009. Small mammals from Serra do Brigadeiro State Park, Minas

- Gerais, southeastern Brazil: species composition and elevational distribution. *Arch. Mus. Nac.* 67: 103–118.
- Moritz C, Patton JL, Conroy CJ, Parra JL, White GC, Beissinger SR. 2008. Impact of a Century of Climate Change on Small-Mammal Communities in Yosemite National Park, USA. *Sci.* 363: 1795.
- Moritz C, Patton JL, Schneider CJ, Smith TB. 2000. Diversification of rainforest faunas: an integrated molecular approach. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 31: 533–563.
- Mustrangi MA, Patton JL. 1997. Phylogeography and systematic of the slender mouse opossum *Marmosops* (Marsupialia: Didelphidae). *U.C. Press.* 130: 1–94.
- Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, Fonseca GAB, Kent J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853–858.
- Nosil P. 2012. *Ecological Speciation*. Oxford University Press.
- Nylander JAA. 2004. MrModeltest v2. Program distributed by the author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University.
- Patton JL, Costa LP. 2003. Molecular phylogeography and species limits in rainforest didelphid marsupials of South America. In: Jones ME, Dickman CR, Archer M. (Eds.). *Predators with pouches: the biology of carnivorous marsupials*. Pp. 63–81, CSIRO Publishing, Collingwood.
- Patton JL, Nazareth M, Silva FDA, Malcolm JAYR. 2000. Mammals of the Rio Juruá and the evolutionary and ecological diversification of Amazonia. *Bull. Am. Mus. Nat.* 244: 1–306.
- Paz A, Spanos Z, Brown JL, Lyra M, Haddad C, Rodrigues M, Carnaval A. 2019. Phylogeography of Atlantic Forest glassfrogs (*Vitreorana*): when geography, climate dynamics and rivers matter. *Heredity* 122: 545–557.

- Pie MR, Faircloth BC, Ribeiro LF, Bornschein MR, McCormack JE. 2018. Phylogenomics of montane frogs of the Brazilian Atlantic Forest is consistent with isolation in sky islands followed by climatic stability. *Biol. J. Linn. Soc.* 125: 72–82, 2018.
- Pons J, Barraclough TG, Gomez-Zurita J, Cardoso A, Duran DP, Hazell S, Kamoun S, Sumlin WD, Vogler AP. 2006. Sequence-Based Species Delimitation for the DNA Taxonomy of Undescribed Insects. *Syst. Biol.* 55: 595–609.
- R Core Team. 2015. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Rambaut A, Drummond AJ, Xie D, Baele G, Suchard MA. 2018. Posterior Summarization in Bayesian Phylogenetics Using Tracer 1.7. *Syst. Biol.* 67: 901–904.
- Rambaut A. 2018. FigTree version 1.4.4. <<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>>.
- Raymo ME. 1992. Global climate change: a three million year perspective. *In*: Kukla G, Went E. (Eds.). *Start of a Glacial, Proceedings of the Mallorca NATO ARW, NATO ASI Series I, Vol. 3*, Springer-Verlag, Heidelberg, p. 207–223.
- Reid NM, Carsten BC. 2012. Phylogenetic estimation error can decrease the accuracy of species delimitation: a Bayesian implementation of the general mixed Yule-coalescent model. *BMC Evol. Biol.* 12: 196.
- Riccomini C, Pelligia AUG, Saloni JCL, Kohnke MK, Figueira RM. 1989. Neotectonic activity in the Serra do Mar rift system (southeastern Brazil). *J. S. Am. Earth Sci.* 2: 191–197.
- Rocha RG, Loss AC, Prado JR, Reis RO, Duda R, Costa LP. 2022. Phylogeography of the Neotropical sciurid *Guerlinguetus brasiliensis* (Rodentia: Sciuridae). *Biol. J. Linn. Soc.* XX: 1–13.

- Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P, Ayres DL, Darling A, Höhna S, Larget B, Liu L, Suchard MA, Huelsenbeck JP. 2012. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian Phylogenetic Inference and Model Choice Across a Large Model Space. *Syst. Biol.* 61: 539–542.
- Rozas J, Ferrer-Mata A, Sánchez-DelBarrio JC, Guirao-Rico S, Librado P, Ramos-Onsís SE, Sánchez-Gracia A. 2017. DnaSP v6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Data Sets. *Mol. Biol. Evol.* 34: 3299–3302.
- Rull V. 2009. Microrefugia. *J. Biogeogr.* 36: 481–484.
- Russo CAM. 1997. Efficiencies of different statistical tests in supporting a known vertebrate phylogeny. *Mol. Biol. Evol.* 14: 1078–1080.
- Saia SEMG, Pessenda LCR, Gouveia SEM, Aravena R, Bendassolli JA. 2008. Last glacial maximum (LGM) vegetation changes in the Atlantic Forest, southeastern Brazil. *Quat. Int.* 184: 195–201.
- Sambrook J, Russel DW. 2001. *Molecular Cloning. A Laboratory Manual*. 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Sigmon K. 1992. *MATLAB Primer*. University of Florida, Gainesville.
- Smouse PE, Long JC, Sokal RR. 1986. Multiple regression and correlation extensions of the Mantel test of matrix correspondence. *Syst. Zool.* 35: 627–632.
- Suguio K, Nogueira ACR. 1999. Revisão crítica dos conhecimentos geológicos sobre a formação (ou grupo?) Barreiras do Neógeno e o seu possível significado como testemunho de alguns eventos geológicos mundiais. *Geociênc.* 18: 461–479.
- Tajima F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123: 585–595.

- Thom G, Smith BT, Gehara M, Montesanti J, Lima-Ribeiro MS, Piacentini VQ, Miyaki CY, Amaral FR. 2020. Climatic dynamics and topography control genetic variation in Atlantic Forest montane birds. *Mol. Phylogenet. Evol.* 148: 106812.
- Thomé MTC, Zamudio KR, Giovanelli JGR, Haddad CFB, Baldissera FA, Alexandrino J. 2010. Phylogeography of endemic toads and post-Pliocene persistence of the Brazilian Atlantic Forest. *Mol. Phylogenet. Evol.* 55:1018–1031.
- Thomé MTC, Zamudio KR, Haddad CFB, Alexandrino J. 2014. Barriers, rather than refugia, underlie the origin of diversity in toads endemic to the Brazilian Atlantic Forest. *Mol. Ecol.* 23: 6152–6164.
- Tonini JFR, Costa LP, Carnaval AC. 2013. Phylogeographic structure is strong in the Atlantic Forest; predictive power of correlative paleodistribution models, not always. *J. Zool. Syst. Evol. Res.* 51: 114–121.
- Valdez L, D'Elfa G. 2013. Differentiation in the Atlantic Forest: phylogeography of *Akodon montensis* (Rodentia, Sigmodontinae) and the Carnaval–Moritz model of Pleistocene refugia. *J. Mammal.* 94: 911–922.
- Voss RS, Jansa SA. 2009. Phylogenetic relationships and classification of didelphid marsupials, an extant radiation of New World metatherian mammals. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* 2009: 1–177.
- Zanchetta LS, Rocha RG, Leite YLR. 2019. Comparative phylogeography and demographic history of two marsupials of the Atlantic Forest in eastern Brazil. *J. Zool. Syst. Evol. Res.* 57: 632–641.
- Zhang J, Kapli P, Pavlidis P, Stamatakis A. 2013. A General Species Delimitation Method with Applications to Phylogenetic Placements. *Bioinformatics* 29: 2869–2876.