

AVALIAÇÃO DA ESTRUTURA GENÉTICA DAS POPULAÇÕES DE
MICO-LEÃO-DA-CARA-DOURADA, *LEONTOPITHECUS*
CHRYSOMELAS (KUHL, 1820) (PRIMATES: CALLITRICHIDAE), NO
SUL DA BAHIA, BRASIL.

ANDRÉIA MAGRO MORAES

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY
RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES

JULHO DE 2011

AVALIAÇÃO DA ESTRUTURA GENÉTICA DAS POPULAÇÕES DE
MICO-LEÃO-DA-CARA-DOURADA, *LEONTOPITHECUS*
CHRYSOMELAS (KUHL, 1820) (PRIMATES: CALLITRICHIDAE), NO
SUL DA BAHIA, BRASIL.

ANDRÉIA MAGRO MORAES

Dissertação apresentada ao Centro de
Biociências e Biotecnologia da
Universidade Estadual do Norte
Fluminense, como parte das exigências
para obtenção do título de Mestre em
Ecologia e Recursos Naturais.

Orientador: Prof. Carlos Ramon Ruiz de Miranda

Co-orientadora: Adriana D. Grativol

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY
RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES

JULHO DE 2011

AVALIAÇÃO DA ESTRUTURA GENÉTICA DAS POPULAÇÕES DE
MICO-LEÃO-DA-CARA-DOURADA, *LEONTOPITHECUS*
CHRYSOMELAS (KUHL, 1820) (PRIMATES: CALLITRICHIDAE), NO
SUL DA BAHIA, BRASIL.

ANDRÉIA MAGRO MORAES

Dissertação apresentada ao Centro de
Biotecnologia e Biociências da
Universidade Estadual do Norte
Fluminense, como parte das exigências
para obtenção do título de Mestre em
Ecologia e Recursos Naturais.

Aprovada em 13 de julho de 2011.

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Áureo Banhos do Santos – CCAUFES

Dr^a Kristel De Vleeschouwer – Royal Zoological Society of Antwerp e IESB

Prof. Dr. Gilberto Soares Albuquerque – UENF

Prof^a. Dr^a. Adriana Daudt Grativol (co-orientadora) - UENF

Prof. Dr. Carlos Ramon Ruiz-Miranda (orientador) - UENF

*A Deus, a Nossa Senhora e aos meus pais... Pela
presença em todos os momentos...*

AGRADECIMENTOS

A Deus e Nossa Senhora pelas oportunidades, pela força e pela coragem concedida para a concretização dessa conquista profissional e pessoal;

Aos meus pais Joana e Paulo Fernando e a minha irmã Andreza pelas palavras de apoio, pela fé, pelo amor e por todas as horas de telefone me confortando, muitas das vezes, a respeito de coisas que nem faziam idéia do que eram. Ao meu namorado Alisson e cunhado Rogy, pela presença, carinho e apoio;

À minha co-orientadora e amiga Adriana Daudt Grativol pela confiança que em mim depositou, pela sua firmeza e pelas suas palavras de carinho e atenção dedicadas em momentos tão necessários. Foi minha orientadora, parceira e também um pouco mãe. A você meu eterno carinho e gratidão;

Ao professor e orientador Carlos Ramon Ruiz Miranda pelas oportunidades e principalmente pela confiança. Pelo carinho com que me recebeu na sua equipe, pelas idéias e pelas instruções interessadas não somente no bom desempenho da pesquisa, mas também no meu desenvolvimento como profissional e pessoal;

Aos membros da banca pela colaboração na conclusão deste trabalho: Aureo Banhos dos Santos, Kristel De Vleeschouwer, Gilberto S. Albuquerque, Leandro R. Monteiro. Ao meu revisor Fabiano R. de Melo por suas considerações;

À Universidade Estadual do Norte Fluminense, à coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais e ao Laboratório de Ciências Ambientais no Centro de Biociências e Biotecnologia da UENF pela oportunidade de realização do curso e pela disponibilização de recursos financeiros e físicos;

Aos financiadores do projeto Royal Zoological Society of Antwerp (Centre for Research and Conservation), e Lion Tamarin Brazil Fund (LTBF 2009, 2010) que tornaram possível a realização dessa pesquisa;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsas de estudos;

Aos pesquisadores no campo que coletaram as amostras de pêlos: Leonardo Carvalho de Oliveira, Becky Raboy e Carlos Eduardo Guidorizzi. Obrigada também pelas conversas informais e demais contribuições na conclusão deste trabalho;

À Universidade Federal do Rio de Janeiro, na pessoa do Professor Fabiano Thompson, pelo uso do seqüenciador automático ABI 3500 e aos técnicos de laboratório Milene Miranda e Oswaldo Maia pelo apoio e colaboração nessa etapa;

À Faculdade de Biociências do Rio Grande do Sul – PUCRS nas pessoas dos Professores Eduardo Eizirick e Sandro Bonatto pelo uso do seqüenciador automático MegaBace 1000 e à técnica de laboratório Cladinara Roberts Sarturi pela colaboração e orientação;

Aos parceiros durante toda a pesquisa que contribuíram com as discussões a respeito dos métodos, resultados e no apontamento dos próximos passos: Kristel De Vleeschouwer, Peter Galbusera, Sara Gillemot e Mia Hillyer.

Ao amigo e Professor Fabiano Rodrigues de Melo que me inspirou e me encorajou na busca de meus sonhos. Pela amizade e pela presença;

Aos novos amigos, alguns conhecidos apenas por e-mail, que ajudaram com orientações informais e troca de idéias: Anelise Torres Hahn, Aureo Banhos, Cristiane Trinca e Cibele Biondo;

Aos amigos queridos em Campos que tornaram esse momento possível trocando conhecimentos, cedendo seu tempo, sua amizade, colaboração e apoio nos momentos difíceis: Albany Marchetti, Aline Silva, Caroline Medeiros, Eliliane Corrêa, Juliana Cosendey, Leonardo Demier, Lucas Freitas, Marianna Louro, Marcelita Marques, Natália Lima, Rafaela Ribeiro, Rita Tonini e Ursula Taveira. Vocês foram meus cúmplices no trabalho, na dificuldade e na alegria, enchendo meus dias de risadas;

Aos amigos queridos, tios (as) e primos (as) que ficaram longe, mas sempre se fizeram presentes;

À todos aqueles que fizeram parte desse caminho e contribuíram com meu crescimento pessoal e profissional, meu MUITO OBRIGADA.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABELAS.....	ix
RESUMO.....	x
ABSTRACT	xi
1 – INTRODUÇÃO GERAL	1
1.1 – Considerações Gerais	1
1.2 – Dinâmica das Espécies Ameaçadas em Paisagens Fragmentadas.	2
1.3 – <i>Leontopithecus chrysomelas</i> – Estudo de Caso	5
1.3.1 – Considerações taxonômicas	5
1.3.2 – Área de distribuição, uso da paisagem e <i>status</i> de conservação	7
1.3.3 – Ecologia	12
1.4 – Microssatélites: Uma Ferramenta para Estudo de Populações Fragmentadas....	15
1.5 – Objetivos	17
1.6 – Hipóteses.....	17
2 – ESTRUTURA GENÉTICA DAS POPULAÇÕES SELVAGENS DE MICO-LEÃO-DA-CARA-DOURADA.....	18
2.1 – Introdução	18
2.2 – Materiais e Métodos.....	21
2.2.1 – Área de estudo	21
2.2.2 – Amostragem e extração de DNA.....	22
2.2.3 – Genotipagem	24
2.2.4 – Análise dos dados.....	26
2.3 – Resultados	29
2.3.1 – Diversidade genética	29
2.3.2 – Estrutura genética populacional.....	33

2.3.3 – Parentesco e fluxo genético recente.....	38
2. 4 – Discussão.....	40
2.4.1 – Diversidade genética	40
2.4.2 – Estrutura genética populacional.....	44
2.4.3 – Parentesco e fluxo genético recente.....	47
2.4.4 – Implicações para a conservação	48
3 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52
4 – ANEXOS	61
Anexo I - Amostragem e dados de campo conhecidos para cada grupo social	61
Anexo II - Frequência, Alelos Privados e Lócus Monomórficos.....	65
Anexo III - Ancestrais e indivíduos misturados identificados usando a informação a priore de K=3 no STRUCTURE.....	66
Anexo IV - Ancestrais e indivíduos misturados identificados usando a informação a priore de K=5 no STRUCTURE.....	68

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1: Espécies de <i>Leontopithecus</i> e sua distribuição geográfica original	06
Figura 1.2: <i>Leontopithecus chrysomelas</i>	07
Figura 1.3: Distribuição geográfica de <i>L. chrysomelas</i>	08
Figura 2.1: Área de distribuição do MLCD no sul da Bahia e locais de amostragem.....	23
Figura 2.2: Resultados do STRUCTURE	35
Figura 2.3: Estrutura do MLCD usando USEPOINFO=0	37
Figura 2.4: Estrutura do MLCD usando USEPOINFO=1	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1: Pontos de Amostragem.....	24
Tabela 2.2: Perfis do PCR	25
Tabela 2.3: Diversidade genética dos 7 loci de microssatélite nos grupos geográficos.....	32
Tabela 2.4: Estimativa de K.....	36

MORAES, Andréia Magro (2011). Avaliação da Estrutura Genética das Populações de Mico-Leão-da-Cara-Dourada, *Leontopithecus chrysomelas* (Kuhl, 1820) (Primates: Callitrichidae), no sul da Bahia, Brasil. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais) – Universidade Estadual do Norte Fluminense.

RESUMO

O mico-leão-da-cara-dourada (MLCD), *Leontopithecus chrysomelas*, é uma espécie de primata endêmica da Mata Atlântica, que ocorreu em florestas ombrófilas e semidecíduais no sul da Bahia e norte de Minas Gerais. Apesar de possuir números populacionais e áreas de habitats maiores que os demais micos, ele se encontra 'ameaçado' pela fragmentação florestal e perda de seu habitat natural e pela conversão dos agrossistemas de cacau – cabucas – em outras culturas não compatíveis com sua coexistência. O principal objetivo desse estudo foi inferir a estrutura genética das populações de MLCD. Foram utilizados sete marcadores de microsatélites polimórficos para o gênero *Leontopithecus* e 94 amostras de pêlos de MLCD originários de diferentes habitats no sul da Bahia: Barro Branco, um fragmento isolado de vegetação semidecidual na região oeste; Ilhéus, constituído por grupos sociais que usam as cabucas como área de vida; Maruim localizado no lado leste da Reserva Biológica de Una; e outras quatro áreas de amostragens, constituídas por mosaicos de florestas – matas maduras, vegetações secundárias e cabucas intercaladas. A heterozigose esperada foi de $0,41 \pm 0,04$ e a média de alelos variou de $1,6 \pm 0,5$ em Ararauna a $4,4 \pm 1,3$ em Maruim, revelando uma perda de diversidade genética, assim como ocorrido com o mico-leão-dourado. Corridas no STRUCTURE mostraram que existem três grupos genéticos com uma subestruturação menos evidente em $K=5$. Esse resultado é inusitado, pois até o momento, os conservacionistas acreditavam que a continuidade do mosaico da paisagem no lado leste fornecido pelas cabucas era suficiente para manter o fluxo genético. O conjunto de dados do fragmento Barro Branco também surpreendeu, mostrando que a região oeste pode estar mantendo um importante banco genético para a conservação.

Palavras-chave: Primatas, microsatélites, estrutura genética, perda de diversidade genética, conservação.

MORAES, Andréia Magro (2011). Evaluation of the Population Genetic Structure of the Golden-headed lion tamarin, *Leontopithecus chrysomelas* (Kuhl, 1820) (Primates: Callitrichidae) in Southern Bahia, Brazil. Dissertation (Master's degree in Ecology and Natural Resources) –of Northern Fluminense State University, RJ, Brazil.

ABSTRACT

The Golden-headed lion tamarin (GHLT), *Leontopithecus chrysomelas*, is a primate species endemic to the Atlantic Forest of Brazil. It occurs in Ombrofilous and Semideciduous Forest in Southern Bahia and Northern Minas Gerais. Despite its higher population numbers and larger areas of habitat compared to other lion tamarin species, GHLT are threatened because of forest fragmentation, loss of natural habitats and the conversion of shade-cacao forest into other cultures. The principal goal of this research was to evaluate the genetic structure of GHLT populations. We used seven polymorphic microsatellite markers developed for the genus *Leontopithecus* and 94 hair samples of GHLT from different habitats in Southern Bahia: Barro Branco, an isolated fragment of semideciduous vegetation in West region; Ilheus constituted by social groups that use cacao agroforest; Maruim, located at the eastern side of Una Biological Reserve; and four other sampling sites composed of a mosaic of mature and secondary forests and intermittent cacao agroforest. The expected heterozygosity was 0.41 ± 0.04 and alleles mean ranged between 4.4 ± 1.3 , in Maruim, to 1.6 ± 0.5 , in Ararauna – showing low genetic diversity, comparable to what has been described for the endangered Golden lion tamarin (GLT) species. STRUCTURE runs revealed three genetic groups and a less evident sub-structure where $K=5$. These results are unexpected because until this moment, researchers believed that continuity within their four mosaics as predicted by cacao agroforest was sufficient to maintain the gene flow among the populations. The data set from Barro Branco indicated that the west region may represent an important gene bank of this species for conservation.

Key-words: Primates, microsatellites, genetic structure, loss of genetic diversity, conservation.

1 – INTRODUÇÃO GERAL

1.1 – Considerações Gerais

Um dos grandes desafios da biologia da conservação atualmente é a proposição de ações que preservem a biodiversidade existente, simultaneamente com o atual contexto de desmatamento e de explosão demográfica da população humana (Jacobsen, 2005). O desmatamento tem sido frequente e acentuado em regiões tropicais úmidas, como a Floresta Atlântica, gerando um mosaico de remanescentes florestais intercaladas por matrizes agrícolas que, dependendo das circunstâncias, podem abrigar parte da diversidade. A maioria desses remanescentes encontra-se em pequenos fragmentos com valores iguais ou menores a 50 hectares e o grau de isolamento entre eles varia de poucos metros até vários quilômetros (Ribeiro *et al.*, 2009). Associado a esse processo de isolamento está a redução da idade dos remanescentes naturais nas regiões tropicais – florestas secundárias jovens substituem as vegetações maduras – comprometendo a persistência e os processos ecológicos que envolvem espécies altamente sensíveis a perturbações (Metzger *et al.*, 2009).

Entre os primatas existem vários exemplos de espécies vulneráveis à fragmentação e degradação de habitats. Aquelas de hábitos arborícolas, que vêm raramente ao chão e vivem sob copas de árvores, tem seu *status* de conservação ainda mais agravado nessas paisagens. Os programas de conservação de espécies de primatas em fragmentos reduzidos e isolados devem observar os atributos específicos de cada espécie no uso eficiente de seu habitat, como a capacidade de utilizar os diferentes elementos da paisagem e de se dispersar nos variados tipos de matrizes e distâncias geográficas (Arroyo-Rodríguez & Mandujano, 2009). Levando em consideração sua sensibilidade à fragmentação e os estudos que apontam a redução do habitat como uma das principais ameaças para a conservação de primatas (Grativol *et al.*, 2001; Grativol, 2003; Milton *et al.*, 2009; Menescal *et al.*, 2009; Arroyo-Rodríguez & Mandujano, 2009), espécies dessa ordem podem servir como espécie bandeira para a conservação em áreas florestais fragmentadas.

A extensa perda e fragmentação de habitats em ecossistemas naturais da Mata Atlântica ameaçam um grande número de espécies de primatas, principalmente as endêmicas (Myers, *et al.*, 2000), como o gênero *Leontopithecus* (Kierulff *et al.*, 2008). Segundo a “Lista das Espécies da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção” (Ministério do Meio Ambiente - MMA, 2003), um total de 26 espécies e subespécies de primatas brasileiros encontra-se ameaçados, sendo 15 deles da Mata Atlântica e os outros 11 da Amazônia. Dentro da classe Mammalia, as famílias Pitheciidae, Callitrichidae e Felidae possuem o maior número de espécies ameaçadas de extinção. Na família Callitrichidae, encontra-se o gênero *Leontopithecus*, que reúne as quatro espécies de micos-leões, conhecidas popularmente pela sua coloração e todas enquadradas em alguma categoria de ameaça da “União Internacional para a Conservação da Natureza” (IUCN, em inglês) (MMA, 2003; IUCN, 2011). Dentre elas, destaca-se o mico-leão-da-cara-dourada, MLCD, (*Leontopithecus chrysomelas*, Kuhl, 1820), espécie endêmica da Mata Atlântica com sua área de distribuição original no sul da Bahia e região norte de Minas Gerais (Rylands, 1993; Pinto, 1994; Pinto & Rylands, 1997; Rylands *et al.*, 2008b) e, atualmente, classificada como “ameaçada” (Kierulff *et al.*, 2008).

Apesar do elevado índice de desmatamento e degradação das florestas, a Bahia ainda é uma das regiões mais significativas para a conservação da Mata Atlântica no nordeste brasileiro (Mittermeier *et al.*, 1999), pois possui um alto grau de endemismo e é dotada de um número significativo de plantas e animais raros e endêmicos. A região é prioritária e estratégica para a conservação de espécies de primatas, como *Leontopithecus chrysomelas*, e outros mamíferos endêmicos (Conservation International do Brasil *et al.*, 2000) e encontra-se no circuito florestal proposto para constituição do “Corredor Central de Mata Atlântica” (MMA, 2006).

1.2 – Dinâmica das Espécies Ameaçadas em Paisagens Fragmentadas.

Um dos principais questionamentos da biologia da conservação é como as populações de plantas e animais estão se adaptando à fragmentação e a redução de seus habitats naturais. Para a conservação de espécies ameaçadas é necessário entender como os efeitos da fragmentação, tais como as características do

ambiente, mudanças na demografia populacional e em fatores genéticos, influenciam a viabilidade das espécies (Root, 1998). Numa paisagem fragmentada, as espécies são confrontadas com a redução e modificação de seu hábitat, com o aumento do isolamento e com novas interações ecológicas. Seu isolamento interrompe o padrão de distribuição das espécies e afeta a estrutura genética das populações. Assim também, a redução do habitat influencia a diversidade genética entre e dentro das populações e afeta a taxa de extinção e o tamanho populacional (Gibs, 2001; Ewers & Didham, 2006).

As populações naturais estão sujeitas as características do habitat, tais como sua disponibilidade e tamanho em si, frequência da perturbação, capacidade de suporte, oportunidades de dispersão e autocorrelação espacial. Parâmetros demográficos secundários como ocupação, densidade e probabilidade e sucesso de migração também interferem na dinâmica das populações ameaçadas (Gibs, 2001). Correlacionados a esses fatores, a estrutura da população, numa paisagem onde a dispersão é limitada, altera a resiliência das populações naturais à extinção demográfica ou genética (Shaffer, 1981; Lehmann *et al.*, 2006). Populações pequenas sofrem mais intensamente com os efeitos deletérios cumulativos da deriva genética, enquanto que as populações grandes estão mais sujeitas aos efeitos da seleção natural. A combinação dos atributos genéticos, fatores ambientais e demográficos colocam espécies com pequenas populações dentro de um vórtex de extinção (Gilpin & Soulé, 1986).

Espécies ameaçadas pelo processo de fragmentação têm em geral populações pequenas e isoladas e sofrem mais intensamente os efeitos da deriva genética e da depressão endogâmica e/ou exogâmica. Como consequência, o *fitness* reprodutivo é reduzido, refletindo no tempo médio de extinção da espécie (Falconer, 1989; Perez-Sweeney *et al.*, 2004; Frankham, 2009, 2010). Populações naturais em paisagens fragmentadas correm o risco de perder sua variabilidade genética e, conseqüentemente, seu potencial de evolução e adaptação ecológica ao longo do tempo. Com a redução da variabilidade e o aumento nas taxas de endogamia, as pequenas populações ficam mais vulneráveis à extinção local (DeSalle & Amato, 2004). A probabilidade de extinção vai aumentando à medida que as populações naturais têm seus hábitat fragmentados, reduzidos e isolados e são

expostas aos efeitos da (1) estocasticidade ambiental, (2) estocasticidade demográfica, (3) catástrofes naturais e (4) diversidade genética reduzida (Shaffer, 1981).

A restrição no tamanho e no potencial de dispersão das populações reduz o seu vigor genético e elas podem se tornar endogâmicas. A endogamia altera a frequência genotípica, aumentando a taxa de homocigotos e favorecendo a expressão de alelos deletérios (Charlesworth & Charlesworth, 1987; DeSalle & Amato, 2004; Edmands, 2007; Frankham, 2010). Outras consequências podem ser a perda de alelos raros ou a fixação e a diferenciação genética das populações locais (Kimura, 1995). A relação custo/benefício de se preservar populações pequenas é alta e elas podem não ser de interesse para a conservação. Entretanto, tais populações podem conter alelos privados importantes para o pool genético da espécie. Tal fato foi observado em populações pequenas e isoladas de *Leontopithecus rosalia* por Grativol *et al.* (2001) e Grativol (2003), onde estes autores encontraram alelos e haplótipos restritos a pequenas populações. Essa informação intensifica a necessidade de se conhecer a estrutura genética de todas as populações reduzidas e isoladas, pois elas podem contribuir para o aumento do pool gênico da espécie.

Pesquisas recentes têm buscado responder e contribuir com os questionamentos a respeito da perda de diversidade genética entre calitriquídeos (Grativol *et al.*, 2001; Grativol, 2003; Perez-Sweeney *et al.*, 2005; Andrade, 2006; Galbusera & Gillemot, 2008; Martins & Galetti Jr, 2010). Grativol *et al.* (2001) e Grativol (2003) demonstraram que a perda de variabilidade genética e o declínio das populações de mico-leão-dourado (MLD) estão relacionados com a recente fragmentação antrópica da Mata Atlântica, que tem impedido o fluxo genético de suas populações. Segundo a “Análise de Viabilidade Populacional e de Hábitat” (PHVA, em inglês) é provável que o *status* de conservação de *Leontopithecus chrysomelas* esteja progredindo de forma similar às condições atuais de diversidade e conservação de *Leontopithecus rosalia* (Linnaeus, 1766) e a obtenção de informações genéticas sobre a espécie é um importante passo para desenvolver medidas para a conservação de suas populações viáveis a longo prazo. Ainda não

existem dados genéticos sobre mico-leão-da-cara-dourada, MLCD (Holst *et al.*, 2006).

Para o MLD (*L. rosalia*) foi verificada uma perda de 31% da variabilidade genética, utilizando microssatélites como marcadores (Grativol *et al.*, 2001), e de 67% em análises de DNA mitocondrial (Grativol, 2003). Grativol *et al.* (2001) observou, ainda, uma correlação positiva entre a variabilidade genética intrapopulacional e o tamanho do fragmento, e entre a variabilidade interpopulacional e a distância dos fragmentos. No mesmo estudo, detectou-se que a heterozigose decresceu com a diminuição do tamanho da população, mas não houve diferenças estatísticas, demonstrando que os alelos foram perdidos mais rapidamente que a heterozigosidade.

1.3 – *Leontopithecus chrysomelas* – Estudo de Caso

1.3.1 – Considerações taxonômicas

A taxonomia baseada em caracteres morfológicos (Groves, 2001; Bicca-Marques *et al.*, 2006; Reis *et al.*, 2008), assim como estudos moleculares (Goodman *et al.*, 1998; Canavez *et al.*, 1999; Steiper & Ruvolo, 2002), vem classificando *Leontopithecus* como um gênero da infraordem Platyrrhini que reúne quatro táxons (figura 1.1), todos ameaçados pelo processo de fragmentação da Mata Atlântica e pela redução de seus habitats naturais. São eles: *Leontopithecus rosalia* (Linnaeus, 1766) (mico-leão-dourado, MLD), *Leontopithecus chrysomelas* (Kuhl, 1820) (mico-leão-da-cara-dourada, MLCD), (figura 1.2), *Leontopithecus chrysopygus* (Mikan, 1823) (mico-leão-preto, MLP) e *Leontopithecus caissara* (Lorrini & Persson, 1990) (mico-leão-da-cara-preta, MLCP) (Hershkovitz, 1977; Rylands, 1993; Pinto, 1994; Reis *et al.*, 2008; Rylands *et al.*, 2008a; IUCN, 2011). Dados de genética mitocondrial discernem três clados de micos bem distintos – *L. chrysomelas*, *L. caissara* e *L. chrysopygus/L. rosalia* – estando *L. chrysomelas* na base da árvore cladística. Entretanto, a combinação de dados morfológicos, genéticos e a diferenciação de habitats suportam a existência de quatro espécies, sendo *L. chrysomelas* uma espécie marcadamente distinta do ponto de vista genético (Perez-Sweeney, *et al.*, 2008) e morfológico (Rosenberg & Coimbra-Filho, 1984).

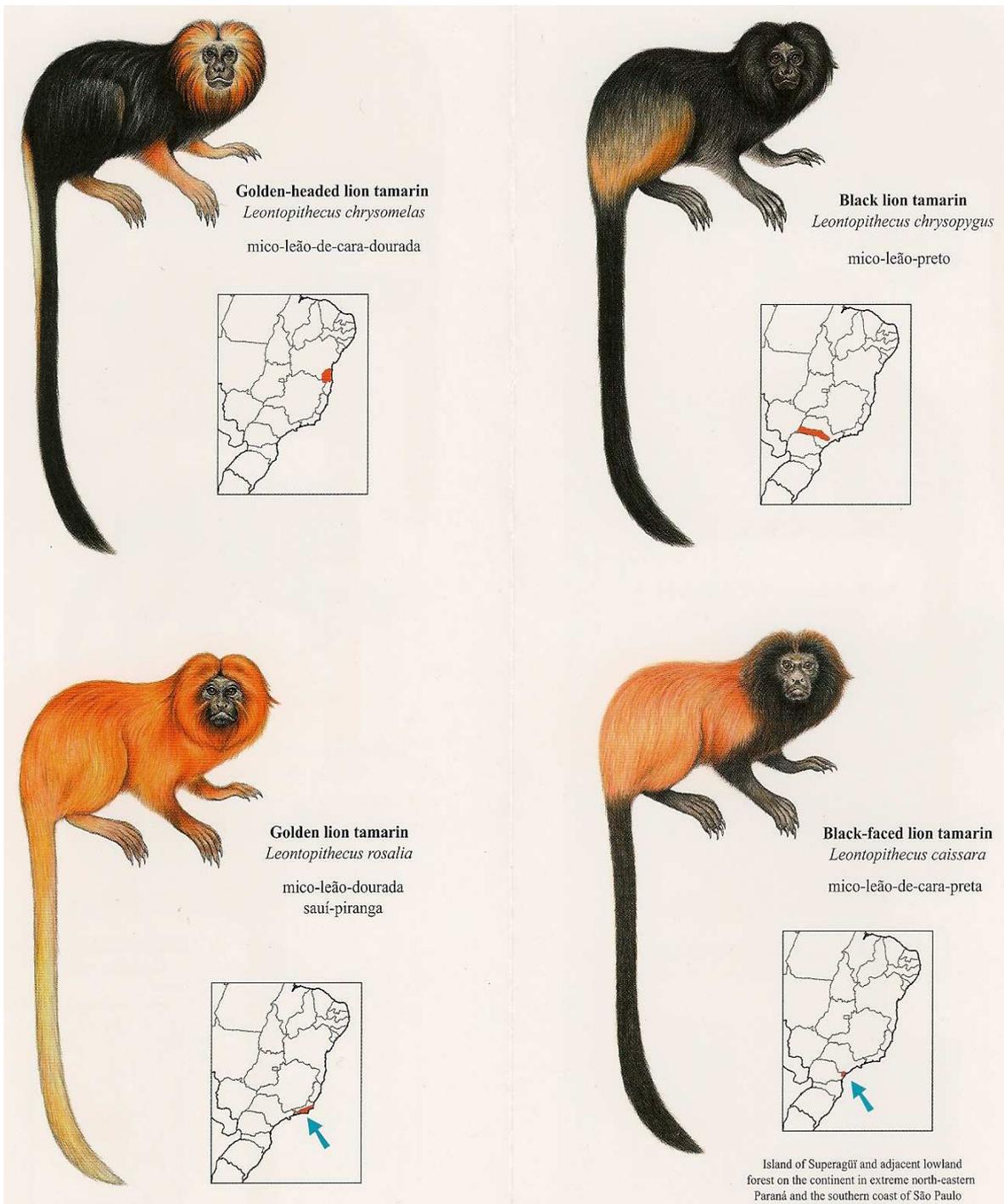


Figura 1.1 – Espécies de *Leontopithecus* e sua distribuição geográfica original (Ilustração de Stephen D. Nash) (Mittermeier *et al.*, 2007)



Figura 1.2 – *Leontopithecus chrysomelas*
(Foto: Andreia Magro Moraes)

1.3.2 – Área de distribuição, uso da paisagem e status de conservação

Leontopithecus chrysomelas se distribuía originalmente no sul da Bahia e norte de Minas Gerais, entre o Rio Contas e Rio Jequitinhonha, sendo sua área de ocorrência estimada em 19.043 km² no estado baiano e de 418 km² no estado mineiro (figura 1.3) (Rylands, 1993; Pinto, 1994; Pinto & Rylands, 1997; Rylands *et al.*, 2008b; Kierulff *et al.*, 2008). Pinto & Rylands (1997) sugerem que seu tamanho populacional está estimado entre 6.000 a 15.000 indivíduos, numa área de distribuição total de 19.462 km² – a maior entre todos os micos-leões. Apesar de sua atual situação de conservação ser considerada melhor que os demais micos, os MLCD são classificados como “em perigo” pela União Mundial para Conservação da Natureza (IUCN, 2011; Kierulff *et al.*, 2008) devido à fragmentação e degradação de seu hábitat original (Pinto, 1994; Pinto & Rylands, 1997; Kierulff *et al.*, 2008). Pesquisas mais recentes de Raboy *et al.* (2010) e Zeigler *et al.* (2010) mostraram que o *status* de conservação da espécie tem se agravado, sugerindo que o tamanho populacional e áreas de ocorrência da espécie têm sido reduzidos desde a última estimativa feita entre 1991-1993 por Pinto & Rylands (1997), especialmente na porção oeste de distribuição da espécie.

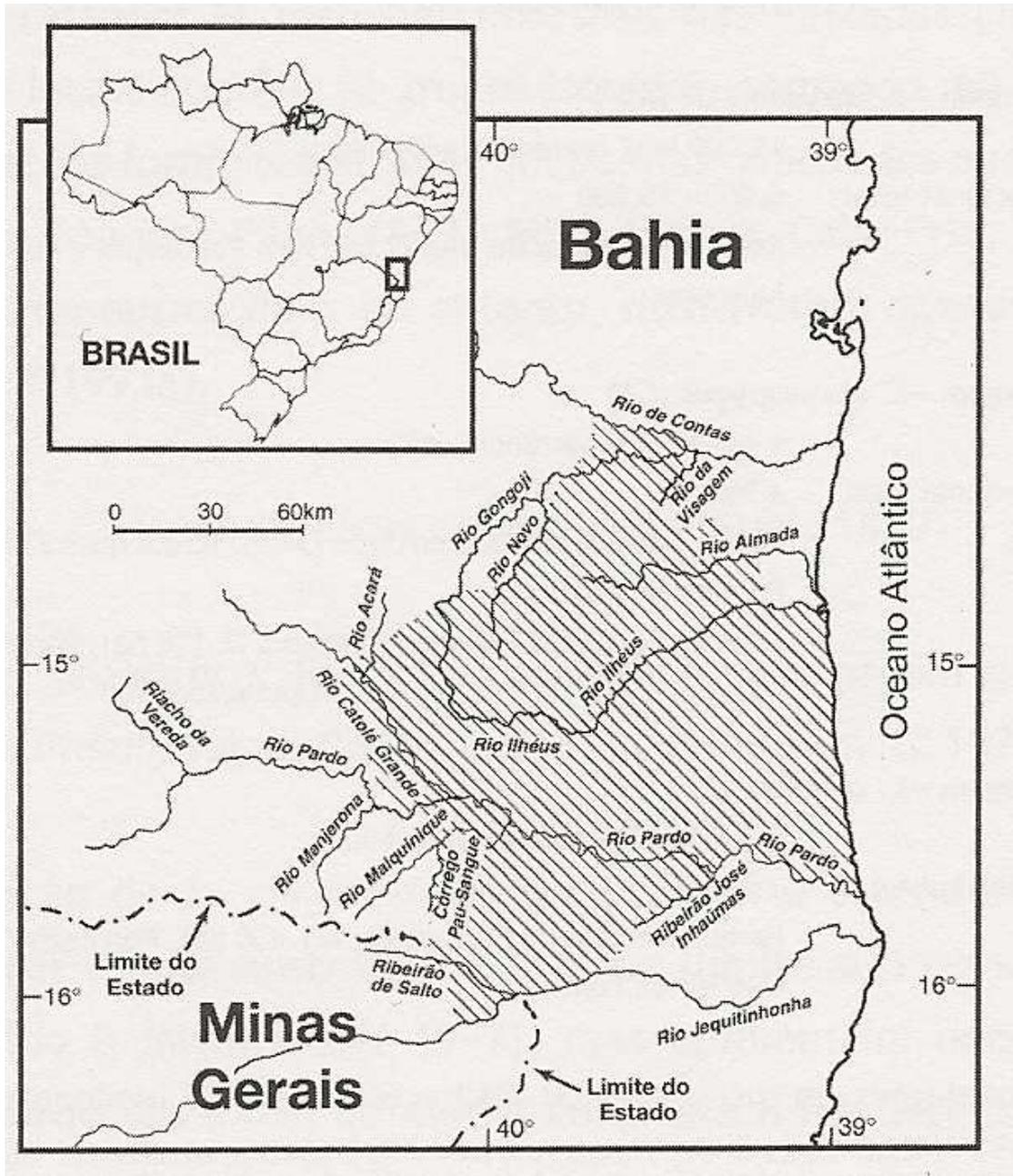


Figura 1.3 – Distribuição geográfica de *L. chrysomelas* (Rylands *et al.*, 2008b).

No que concerne a área natural de ocorrência da espécie, avaliações retrospectivas da paisagem têm revelado uma gradativa redução de habitats viáveis, ocasionado principalmente pelo desflorestamento. De 1987 até 2007 houve uma redução de 145.796ha da cobertura original, passando os remanescentes a terem um tamanho médio de 61 ha. Em 2007, os números de remanescentes capazes de abrigarem populações de micos mantendo 98% de sua diversidade genética foram apenas um (01), considerando as condições adversas de doenças e fogo, e dois (02) desconsiderando esses dois últimos fatores. Excluindo o fator diversidade genética e mantendo os demais, foram identificados quatro (04) remanescentes capazes de manter uma densidade média populacional (Zeigler *et al.*, 2010). No total, em 2007, o número de paisagens com valores iguais ou maiores que 40 ha – menor tamanho de território para espécie descrito por Rylands (1989) – chegou a 778, havendo uma perda de mais de 100 fragmentos desde 1987. Esses números podem ser ainda mais agravantes se for considerado o limite altitudinal da espécie de 500m (Holst *et al.*, 2006; Zeigler *et al.*, 2010).

Os micos-leões-da-cara-dourada habitam as florestas ombrófilas de Mata Atlântica na região leste baiana – como Ilhéus e Una – e vegetações semidecíduais no interior que são definidas pela sazonalidade (Rylands, 1993; Pinto, 1994; Pinto & Rylands, 1997). Na porção leste, os fragmentos são conectados por cabruças – sistemas agroflorestais de cacau onde as árvores nativas são mantidas para seu sombreamento. Por oferecerem parte dos recursos também disponíveis em florestas maduras, as cabruças têm sido citadas como habitats potenciais para preservação das populações naturais de *L. chrysomelas*, exercendo a funcionalidade de hábitat e de corredores de conectividade para a espécie (Raboy & Dietz, 2004b; Holst *et al.*, 2006; Guidorizzi, 2008; Rylands *et al.*, 2008b; Oliveira *et al.*, 2010a, 2010b). Encontram-se também na região leste os maiores remanescentes florestais, apesar de serem, predominantemente, cobertos por vegetações secundárias em diferentes estágios de regeneração. Juntos, florestas nativas e cabruças formam um complexo de mata relativamente contínua, intercalada por áreas de pastagens ou outras culturas agrícolas (Pinto, 1994; Pinto & Rylands, 1997; Raboy & Dietz, 2004b; Rylands *et al.*, 2008a; Raboy *et al.*, 2010; Zeigler *et al.*, 2010).

Segundo o último PHVA (Holst *et. al.*, 2006) um dos principais problemas para conservação do MLCD era o desconhecimento dos meios de utilização dos sistemas de cabruca como território ou corredores interpopulacionais. Buscando solucionar esse questionamento, pesquisa de campo realizada por Oliveira *et. al.* (2010b) demonstrou que algumas populações de micos são capazes de se reproduzir e sobreviver inteiramente em sistemas agroflorestais de cacau, além de usá-las para a dispersão. O conhecimento da estrutura genética das populações em florestas de cabucas contribuirá para a avaliação desses sistemas como corredores de conectividade e sua capacidade para manter o fluxo gênico.

Juntamente com a redução da área florestada, outra ameaça vem sendo a conversão das culturas de cacau na região leste baiana. Com o colapso da economia cacauzeira – queda nos preços e a doença causada pelo fungo da vassoura-de-bruxa que resultou em grandes perdas na produtividade – as cabucas têm sido convertidas em outros sistemas agrícolas ou pastagens, implicando na perda de diversidade e da conectividade (Pinto & Rylands, 1997; Schrot & Harvey, 2007). Apesar do atual contexto de ameaça, a região leste está bastante preservada, detendo fragmentos significativos para a conservação, como aquele contendo a Reserva Biológica de Una (REBIO-Una) (Rylands *et al.*, 2008a).

A REBIO-Una é a maior área de conservação de proteção integral onde ocorre a espécie. Originalmente foi decretada para cobrir 11.400ha, mas recentemente foi ampliada para 18.500ha, dos quais aproximadamente 50% são efetivos (Holst *et. al.*, 2006). Segundo Zeigler *et. al.* (2010), ela é suficientemente grande para comportar uma densidade média de 0,067 micos/ha, se a contínua regeneração de suas florestas for mantida. Apesar de sua importância ecológica, atividades agrícolas recentes no seu entorno têm colocado em risco o potencial da unidade. Se a densidade populacional ou capacidade de suporte da unidade diminuir, a diversidade genética do MLCD pode ficar comprometida e, conseqüentemente, a manutenção da espécie a longo prazo.

Modelagens realizadas fazendo uma previsão do futuro da conservação dos MLCDs sugerem que, para que a espécie sobreviva ao longo de 100 anos, mantendo 98% da heterozigiosidade genética e sob condições adversas como doenças e catástrofes, são necessários 960 micos vivendo em áreas com 9.600 a

18.113ha (Zeigler *et al.*, 2010). Desconsiderando o fator doenças ou adversidades como o fogo, o requerimento de área para se manter o tamanho populacional de 780 animais em 100 anos, passaria para 11.642ha (Zeigler *et al.*, 2010). Esses dados reforçam o potencial da REBIO-Una e a atenção que deve ser dada à sua contínua regeneração e integridade, uma vez que, ela sozinha não é suficiente para a conservação da espécie.

Na região oeste de distribuição da espécie, o *status* de conservação do mico é ainda mais preocupante. Suas florestas naturais vêm sofrendo as consequências da devastação antrópica e da fragmentação numa maior velocidade e escala de tempo que na Floresta Ombrófila. Seus fragmentos são constituídos, na maioria das vezes, por vegetação secundária, são menores e mais prejudicados pelo efeito de borda e pelo avanço da pecuária (Pinto, 1994; Pinto e Rylands, 1997; Guidorizzi, 2008; Rylands *et al.*, 2008b, Raboy *et al.*, 2010), abrigando populações de MLCD pequenas, isoladas e com altas taxas de mortalidade. No fragmento Barro Branco, por exemplo, a população de MLCD foi estimada em 32 micos, sendo avistados até cinco grupos locais, isolados por áreas de pastagens (Guidorizzi, 2008). Zeigler *et al.* (2010) demonstraram que não existem remanescentes capazes de preservar 98% da heterozigosidade do MLCD na região oeste, o que compromete ainda mais a conservação local.

Além do grau de perturbação, as regiões leste e oeste também diferem pelo tipo de vegetação predominante, altitude, clima, umidade e, conseqüentemente, oferta de recursos (Raboy *et al.*, 2010). Associado a esses fatores, estudos comportamentais revelaram diferenças ecológicas importantes entre as populações de MLCD nas duas regiões (Guidorizzi, 2008). Segundo Guidorizzi (2008) e Zeigler *et al.* (2010) é possível que estudos genéticos comprovem a distinção entre as populações de MLCD, sendo importantes instrumentos para o planejamento de ações de conservação em ambas as regiões. Se as populações da REBIO-Una forem diferentes geneticamente das que residem nas florestas semidecíduais, a Unidade de Conservação não estaria preservando efetivamente o pool gênico da espécie (Guidorizzi, 2008).

Embora o conhecimento a respeito da ecologia e biologia de *L. chrysomelas* em vida livre vem aumentando nos últimos anos (Raboy & Dietz, 2004a, 2004b;

Catenacci, 2008; Guidorizzi, 2008; Oliveira *et al.*, 2010a, 2010b; Raboy *et al.*, 2010; Zeigler *et al.*, 2010) não existem até o momento informações genética sobre a estrutura das suas populações naturais e sobre o quanto elas estão se distinguindo geneticamente. A ausência de dados genéticos apresenta uma grande lacuna no conhecimento a respeito da conservação da espécie e de como ela está se adaptando a ambientes tão diversos. A ecologia molecular, através dos marcadores de microssatélites, pode contribuir muito com a elucidação desses questionamentos, sendo uma proposta e recomendação do PHVA (Holst *et al.*, 2006) para efetivação dos planos de conservação da espécie.

1.3.3 – Ecologia

Os MLCDs são primatas de pequeno porte, endêmicos da Floresta Atlântica (Rylands, 1993; Dietz *et al.*, 1996; Holst *et al.*, 2006; Kierulff *et al.*, 2008). Sua dieta é composta principalmente por frutos maduros e insetos, além de pequenas quantidades de pequenos vertebrados encontrados em bromélias, néctares e mais raramente, por gomas (Raboy & Dietz, 2004a; Catenacci, 2008). Apesar das diferentes populações de MLCD consumirem basicamente os mesmos tipos de itens alimentares, as espécies vegetais consumidas em fragmentos semidecíduais diferenciam das ingeridas nas florestas perenes, e existem diferenças entre diferentes fitofisionomias florestais (mata madura, floresta secundária, cabruca); reflexo das diferenças nas composições florísticas locais e das adaptações dos MLCD às condições ecológicas (Guidorizzi, 2008). Estudos recentes têm mostrado que os sistemas agroflorestais de cacau (cabruças) também são habitats viáveis aos MLCD, pois são capazes de disponibilizar recursos alimentares preferenciais, além de sítios para dormir (Pinto e Rylands, 1997; Raboy & Dietz, 2004b; Oliveira *et al.*, 2010a; Oliveira *et al.*, 2010b).

Os micos utilizam certos recursos mais comumente disponíveis em floresta maduras, como ocos para dormir e bromélias que abrigam parte de suas presas, tanto em Florestas Ombrófilas como Semidecíduais, sendo uma característica comum a todas as populações (Raboy & Dietz, 2004b; Guidorizzi, 2008). Raboy & Dietz (2004b) mostraram que os micos preferem florestas maduras ou cabruças para dormir, apesar de serem generalistas durante o dia. O tipo de vegetação e o nível de

perturbação são variáveis significativas para primatas que se alimentam de folhas e frutos (Arroyo-Rodríguez & Mandujano, 2009) e, no caso dos micos, também são importantes por disponibilizar ocos para dormir (Dietz *et al.*, 1997; Raboy & Dietz, 2004b; Guidorizzi, 2008).

Os MLCD são territorialistas e o tamanho médio de seu território varia de 40 (Rylands, 1989) até 197 ha (Oliveira *et al.*, 2010b). Em Florestas Ombrófilas, segundo Raboy & Dietz (2004a), a área de vida média do MLCD é maior que a observada para o mico-leão-dourado e pode alcançar 123 ha, apesar dos grupos usarem mais efetivamente apenas 11% dela. Em populações residentes em fragmentos de vegetação semidecidual, Guidorizzi (2008) encontrou valores mais baixos – uma média de 70 ha – assim como, uma redução na distância percorrida pelos grupos de micos; fatos que podem ser explicados pelo tamanho e conformação do fragmento de estudo. Nas cabruças, o tamanho da área de vida pode ser ainda menor – variação de 22 até 84 ha (Oliveira *et al.* 2010b) que substitui o valor mínimo documentado por Rylands (1989).

Os grupos sociais variam em tamanho e composição, sendo observado uma média de 5 indivíduos – em cabruças, mosaico de florestas e matas maduras – até 12 membros – em mosaicos de florestas (Oliveira *et al.*, 2010b). Padrão similar foi observado em vegetações semidecíduais, onde os grupos apresentaram uma média de 4,7 indivíduos, associada a altas taxas de mortalidade e provavelmente a endogamia (Guidorizzi, 2008). Diferentemente do tamanho dos grupos, Oliveira *et al.* (2010b) demonstraram que a densidade média populacional difere nas cabruças, sendo a maior registrada para espécie até o momento (1,7 ind./ha). Dois dos dez grupos de MLCD da pesquisa supracitada apresentaram 80% de sobreposição de suas áreas de vida, com alta taxa de encontros – grupos sociais de Almada e Bom Fim. O aumento da disponibilidade de recursos alimentares, tais como frutos (jaca), pode estar elevando o potencial reprodutivo e de sobrevivência e, indiretamente, afetando a densidade populacional.

Sobre o sistema de acasalamento, as espécies de calitriquídeos são na maioria das vezes consideradas monogâmicas – uma única fêmea reprodutiva por grupo – ou poliândricas – mais de um macho tem a chance de ser o pai da prole (Baker *et al.*, 1993; Dietz & Baker, 1993; Baker & Dietz, 1996; Baker *et al.*, 2002;

Baker *et al.*, 2008). Pesquisas com o mico-leão-dourado mostraram que a dispersão entre os grupos geralmente é realizada por machos migrantes, que repõem os machos reprodutores pré-existentes no grupo ou raramente, em situações especiais, se unem ao macho residente (Baker & Dietz, 1996). As filhas são subordinadas às suas mães e têm potencial reprodutivo inferior. Os sistemas monogínicos são preferíveis, porém, em habitats saturados com recursos superexplorados, as oportunidades de reprodução fora do grupo natal podem ser reduzidas. Apesar da gravidez de filhas jovens ocorrerem comumente com a presença de machos migrantes sem parentesco, filhas mais velhas têm maior probabilidade de engravidarem estando presente ou não no grupo um macho sem parentesco. Assim, não é claro se as cópulas das filhas são concebidas com machos extragrupais ou em relações incestuosas (Dietz & Baker, 1993; Baker *et al.*, 2008). Machos subordinados, na ausência de oportunidades de reprodução, também podem optar por permanecerem no grupo natal, pois esse comportamento oferece a eles maiores benefícios do que a dispersão (Baker *et al.*, 1993; Baker *et al.*, 2008).

Conhecer a ecologia e genética de uma espécie, diante do contínuo processo de desmatamento e fragmentação da Mata Atlântica, é um importante requisito para o planejamento e para compreensão dos mecanismos que definem a conservação em longo prazo. A saturação e a qualidade do hábitat: (1) limitam as oportunidades e recursos para os MLCD; (2) diminuem o potencial de reprodução fora do grupo natal, podendo estimular a poliginia entre mãe-filha (Dietz & Baker, 1993) e os benefícios de machos subordinados permanecerem no grupo familiar (Baker *et al.*, 1993); (3) comprometem a capacidade de dispersão e o tamanho dos grupos e das áreas de vida (Guidorizzi, 2008); e, (5) reduzem a disponibilidade de recursos alimentares e ocos para dormir (Raboy & Dietz, 2004b). O isolamento e a redução do hábitat associados aos processos populacionais têm comprometido a diversidade genética dos micos, aumentando a probabilidade de endogamia e de deriva genética. Esse processo foi observado nas populações de mico-leão-dourado (Grativol *et al.*, 2001) e pode ser usado como parâmetro para a conservação futura do MLCD (Holst *et al.*, 2006).

1.4 – Microsatélites: Uma Ferramenta para Estudo de Populações Fragmentadas

Desde a década passada o uso de dados genéticos na conservação tem provido estimativas de alta precisão e vários parâmetros para avaliar o *status* de conservação de espécies ameaçadas. Através do conhecimento e da aplicação de conhecimentos sobre a genética é possível realizar o manejo genético das espécies silvestres buscando estabilizar as diferenças entre populações fragmentadas. Esse resgate genético das populações é promovido pelo manejo do fluxo gênico, observando-se os riscos de depressão endogâmica. O principal objetivo do manejo genético é minimizar os efeitos da endogamia e da redução da diversidade genética em populações de espécie ameaçadas de extinção. Nesse contexto, a genética molecular tem sido uma importante ferramenta, provendo meios para se identificar a estrutura genética populacional, o tamanho efetivo das populações, a história demográfica, o fluxo gênico, entre outros parâmetros (Frankham, 2010).

Assim, análises genéticas têm sido largamente utilizadas para prover informações sobre a relação e os processos que estruturam populações silvestres em paisagens fragmentadas (Grativol *et al.*, 2001; Grativol, 2003; Lecis *et al.*, 2006; Andrade, 2006; Bergl & Vigilant, 2007; Knopp & Merilä, 2009; Milton *et al.*, 2009; Haag *et al.*, 2010; Hagerty & Tracy, 2010; Ozerov *et al.*, 2010), fornecendo importantes informações sobre o processo de migração entre essas populações, endogamia e variabilidade genética. Elas permitem quantificar a depressão endogâmica, o tamanho efetivo, o tamanho mínimo viável populacional, o nível de variação genética e o fluxo genético nas populações naturais. Alguns parâmetros para caracterizar a genética populacional de espécies ameaçadas, tal como o coeficiente de endogamia de Wright – estatística F – têm sido importantes instrumentos para as tomadas de decisões a respeito do manejo genético (DeSalle & Amato, 2004; Oliveira *et al.*, 2006). Algumas das técnicas mais usadas para a conservação genética de animais são AFLP – “amplified-fragment-length polymorphism”, sequenciamento de DNA e microsatélites (DeSalle & Amato, 2004).

Uma etapa importante em análises moleculares aplicadas à conservação é a escolha do marcador e sua adequação aos objetivos propostos. Uma das

metodologias moleculares mais utilizadas na genética da conservação são os microssatélites. Eles são sequências repetitivas simples e curtas no DNA genômico. Sua alta variação é resultado da divergência no número dessas repetições e, portanto, no tamanho do alelo observado. Eles são detectados por meio da amplificação por PCR (reação em cadeia de polimerase), utilizando *primers* específicos que se ligam às regiões conservadas de delimitação da sequência repetitiva (Goldstein & Schlatterer, 1999; Solé-Cava, 2001; Perez-Sweeney *et al.*, 2004; Avise, 2004; Oliveira *et al.*, 2006).

Marcadores de microssatélites têm alta taxa de mutações, explicadas pelas “derrapagens” da enzima DNA polimerase durante a replicação ou reparo da fita de DNA ou pela recombinação entre cromossomos homólogos (“crossing-over”), que podem resultar em adições ou deleções nas repetições. Os números de repetições, nível de polimorfismo, assim como o número de marcadores em si, são importantes para determinar a dinâmica do DNA microssatélite e a distância genética. A diversidade genética depende da taxa de mutação e essa, por sua vez, está correlacionada com a diversidade dentro dos microssatélites (Goldstein & Schlatterer, 1999; Oliveira *et al.*, 2006).

Os microssatélites são excelentes marcadores para a identificação da estrutura genética de populações por oferecem altos índices de polimorfismo (Blouin *et al.*, 1996; Goldstein & Schlatterer, 1999) e detectarem níveis mais altos de heterozigose que isoenzimas (Grativol *et al.*, 2001). Sua utilização, especialmente em estudos que envolvem primatas (Grativol *et al.*, 2001; Perez-Sweeney *et al.*, 2005; Goossens *et al.*, 2005; Andrade, 2006; Bergl & Vigilant, 2007; Galbusera & Gillemot, 2008; Menescal *et al.*, 2009; Milton *et al.*, 2009; Martins & Galetti Jr, 2010) vem sendo cada vez mais crescente. Os marcadores são promissores para a biologia da conservação, detectando o nível de depreciação (ou não) sofrido pela diversidade genética existente em um determinado táxon (Grativol *et al.*, 2001; Oliveira *et al.*, 2006). Eles são utilizados, entre outras aplicações, para a determinação do tamanho efetivo e da estrutura genética de uma dada população, para a detecção de gargalos e deriva genética, identificação de populações fontes de espécies ameaçadas e para averiguar a ocorrência de fluxo genético (Perez-Sweeney *et al.*, 2004; Oliveira *et al.*, 2006).

1.5 – Objetivos

- 1) Averiguar a perda de diversidade genética sofrida pelas populações de MLCDs;
- 2) Identificar a estrutura genética das populações silvestres de MLCD no sul da Bahia, diferenciadas pelo grau de perturbação e pela estrutura de seus habitats;
- 3) Avaliar o fluxo genético dos MLCDs em paisagens relativamente contínuas, caracterizadas pela predominância de mosaicos de florestas – mata madura, vegetações secundárias e sistemas agroflorestais intercalados;
- 4) Avaliar o estado de conservação das populações silvestres de MLCD.

1.6 – Hipóteses

- 1) Populações maiores apresentarão maior diversidade genética;
- 2) Haverá relativa estruturação genética nas populações de MLCD, ocasionada pelo processo de fragmentação do hábitat natural;
- 3) As populações de MLCD conectadas por cabruças terão maior diversidade e maior semelhança genética.

2 – ESTRUTURA GENÉTICA DAS POPULAÇÕES SELVAGENS DE MICO-LEÃO-DA-CARA-DOURADA

2.1 – Introdução

A fragmentação de habitats tem sido um dos principais assuntos de estudo da biologia da conservação. É necessário entendermos seus efeitos sobre a demografia populacional e sobre os fatores genéticos de espécies ameaçadas para o planejamento de ações de conservação (Root, 1998; Gibs, 2001). Além da perda de habitat, a fragmentação causa o isolamento dos remanescentes e, conseqüentemente, o declínio das populações e a extinção de espécies (Tilman *et al.*, 1994; Gibs, 2001; Fahrig, 2003; Ewers & Didham, 2006). Algumas espécies, tais como de primatas, são mais vulneráveis aos efeitos da fragmentação que outras. Para se compreender sua dinâmica nessa paisagem é necessário conhecer os atributos ecológicos e biológicos específicos de cada espécie (Arroyo-Rodríguez & Mandujano, 2009).

O grau de perturbação e a estrutura da paisagem interferem na diversidade e abundância dos primatas e eles são limitados, entre outros fatores, pela sua habilidade de dispersão e pela sua capacidade de utilizar os diferentes elementos da paisagem (Arroyo-Rodríguez & Mandujano, 2009). Os micos-leões, por exemplo, são primatas de hábitos arborícolas (Mittermeier *et al.*, 1988) que raramente descem até o chão (Albernaz, 1997). Assim, em paisagens desflorestadas, sua dispersão fica comprometida (Raboy *et al.*, 2010). Grativol *et al.* (2001) mostraram que quatro populações isoladas de *Leontopithecus rosalia* estavam se divergindo geneticamente, provavelmente, devido à limitação de sua dispersão através de uma matriz não florestada. Além disso, Raboy & Dietz (2004a) mostraram que os MLCDs podem ser limitados em ambientes saturados pela superexploração de seus recursos alimentares preferíveis e sítios (ou ocos) para dormir.

Todos os micos-leões do gênero *Leontopithecus* são endêmicos da Mata Atlântica, uma das florestas tropicais mais ameaçadas do planeta (Mittermeier *et al.*, 1999; Myers *et al.*, 2000). Devido à perda e fragmentação de seus habitats todas as

espécies de *Leontopithecus* encontram-se ameaçados de extinção. *L. caissara* encontra-se numa situação mais caótica de conservação, devido a sua pequena área de ocorrência, sendo classificada como “criticamente ameaçada”. Já *L. rosalia*, *L. chrysopygus* e *L. chrysomelas* são considerados “em perigo” pela IUCN (2011).

L. chrysomelas, mico-leão-da-cara-dourada (MLCD), tem sido ameaçado pela perda de seus habitats naturais e pela conversão dos sistemas agroflorestais de cacau (cabucas) em outras culturas agrícolas ou pastagens (Pinto & Rylands, 1997; Holst *et al.*, 2006; Schroth & Harvey, 2007; Kierulff *et al.*, 2008; Raboy *et al.* 2010). Apesar de estar sofrendo os efeitos negativos da fragmentação, assim como as outras espécies de *Leontopithecus*, o MLCD ainda possui o melhor estado de conservação. Entre os micos, ele possui a maior estimativa populacional – 6.000 a 15.000 indivíduos – e a maior área de distribuição geográfica recente – 19.043 km² no sul da Bahia e 418 km² no norte de Minas Gerais (Pinto & Rylands, 1997). Pesquisas recentes (Raboy *et al.*, 2010; Zeigler *et al.*, 2010) mostraram, entretanto, que o *status* de conservação do MLCD tem se agravado, sugerindo que o tamanho populacional e áreas de ocorrência da espécie têm sido reduzidos desde a última estimativa feita entre 1991-1993 por Pinto e Rylands (1997), especialmente na porção oeste de distribuição da espécie na Bahia.

Atualmente não há nenhum remanescente capaz de preservar 98% da heterozigosidade do MLCD na região oeste baiana (Zeigler *et al.*, 2010). Ela se diferencia da porção leste pela presença da vegetação semidecidual e pelo grau de fragmentação. Seus fragmentos são em geral menores e mais isolados, sofrendo os efeitos da pecuária (Pinto, 1994; Pinto e Rylands, 1997; Guidorizzi, 2008; Rylands *et al.*, 2008; Raboy *et al.*, 2010). Já na região leste baiana, os micos-leões-da-cara-dourada habitam formações de floresta madura e secundária, os quais são conectados por agrossistemas de cacau, formando um mosaico de mata relativamente contínua (Pinto, 1994; Pinto & Rylands, 1997; Rolim & Chiarello, 2004; Schroth & Harvey, 2007; Raboy & Dietz, 2004b; Raboy *et al.*, 2010). Esse é outro diferencial do MLCD (na região leste) em relação às outras espécies de micos-leões, cujas populações encontram-se variavelmente isoladas por áreas desflorestadas (Holst *et al.*, 2006). Porém, não se pode deixar de considerar que o eixo Ilhéus - Una é um dos maiores centros urbanos da região sul da Bahia, e que vários perímetros

de ocupação humana e rodovias dividem a paisagem, criando possíveis barreiras físicas à dispersão de indivíduos.

Uma das áreas mais importantes para a preservação do MLCD na Bahia é a Reserva Biológica de Una – REBIO-Una (Holst *et al.*, 2006; Zeigler *et al.*, 2010). Ela é suficientemente grande para comportar médias a altas densidades de MLCD com 98% de variabilidade genética (Zeigler *et al.*, 2010). No seu entorno, como também em toda região leste de distribuição da espécie na Bahia, predominam sistemas agroflorestais de cacau, que tem exercido um importante papel na preservação da espécie, atuando como habitats viáveis (Raboy & Dietz, 2004b; Holst *et al.*, 2006; Oliveira *et al.*, 2010a, 2010b). No entanto, é importante estar atento a contínua proteção e regeneração das matas dessa unidade para que a diversidade seja mantida (Zeigler *et al.*, 2010).

A “Análise de Viabilidade Populacional e de Habitat” (PHVA, em inglês) salienta que o *status* do MLCD possa estar progredindo para as condições caóticas de conservação que já foram vivenciadas pelo mico leão-dourado (Holst *et al.*, 2006). O desconhecimento dos meios de utilização dos sistemas de cabruca pelos MLCD, como território ou corredores interpopulacionais, dificulta ainda mais os planos de conservação. Pesquisa de campo recente (Oliveira *et al.*, 2010b) mostrou que as populações de micos são capazes de se reproduzir e sobreviver inteiramente em sistemas agroflorestais de cacau, além de usá-los para a dispersão. Porém, nem todas as áreas de cabruca estão sendo utilizadas por micos-leões e diferenças estruturais entre diferentes tipos de cabruca podem ser determinantes para a presença ou ausência de micos-leões, para o fluxo genético, para a disponibilidade de recursos e para o manejo. O conhecimento da estrutura genética das diferentes metapopulações de MLCD contribuirá para a avaliação dos (1) sistemas de cabrucas como corredores de conectividade e (2) com a distinção das populações de MLCD na região leste e oeste de distribuição baiana.

Assim, nosso objetivo foi avaliar a estrutura genética das populações silvestres de MLCD que usam diferentes habitats, caracterizados pela estrutura particular da paisagem e pelos diferentes graus de perturbação antrópica. Utilizando a genética da conservação, acessamos a diversidade genética dos MLCD nas

regiões leste e oeste no sul da Bahia e, paralelamente, avaliamos a funcionabilidade das cabucas na manutenção do fluxo gênico.

2.2 – Materiais e Métodos

2.2.1 – Área de estudo

As amostras de pêlo de *Leontopithecus chrysomelas* são provenientes da Reserva Biológica de Una (REBIO-Una) e de áreas particulares ao longo dos limites de distribuição da espécie no sul da Bahia, incluindo a porção oeste de vegetação semidecidual e a leste de vegetação ombrófila. Na região sudeste baiana foram realizadas capturas em nove grupos sociais no lado leste da REBIO-Una, chamado Maruim. A região é a porção mais conservada da reserva e é caracterizada por diferentes fitofisionomias/tipos de vegetação incluindo cabucas, florestas maduras, matas secundárias e áreas alagadas. Também foram realizadas capturas em três grupos sociais de MLCD residentes em cabucas no município de Ilhéus – Almada e Bom Fim que possuem 80% de sobreposição de seus territórios e, Santa Rita, que está a 3 km de distância desses – e em grupos com áreas de uso em mosaicos de florestas (consórcio de cabruca, floresta madura e secundária) situados nos municípios de Camacã, Arataca, Una e Jussari – grupos sociais de São José, Bem-te-vi, Ararauna e Teimoso, respectivamente (figura 2.1, tabela 2.1).

As florestas maduras são definidas pela presença de árvores altas (25-35m) e epífitas. As cabucas possuem estrutura semelhante às florestas maduras, porém em menor densidade, distinguindo-se pelo consórcio das árvores altas com a cultura de cacau e pela estrutura do seu sub-bosque. Vegetações secundárias possuem árvores com menor diâmetro e densidade e sub-bosque mais denso. Já as áreas alagadas são caracterizadas pela presença de água no solo e os mosaicos de florestas pela combinação dos habitats de cabruca, florestas maduras e vegetações secundárias (Raboy & Dietz, 2004b).

Na porção oeste de distribuição da espécie, as coletas ocorreram no fragmento Fazenda Barro Branco de 450 ha, localizados em linha reta a 15 km do perímetro urbano mais próximo (Itororó) e a 100 km da REBIO-Una. A Fazenda Barro Branco se diferencia das demais áreas por ser um remanescente isolado há

aproximadamente 50 anos, ser composto por florestas semidecíduais secundárias em diferentes estágios de regeneração e ser circundado por áreas de pastagens (figura 2.1). Na região sudoeste da Bahia, os remanescentes florestais, como Barro Branco, possuem condições ecológicas bem diferentes das originais do período de evolução do qual a espécie *L. chrysomelas* vivenciou ao longo da costa úmida do sul baiano. Atualmente, essas áreas são menores que as encontradas na porção leste e têm sofrido intensamente com o efeito de borda, devido o corte seletivo (Guidorizzi, 2008).

2.2.2 – Amostragem e extração de DNA

Foram usadas amostras de pêlos de 94 espécimes de MLCD: REBIO-Una – Maruim (43); Fragmento Barro Branco (9); sistemas agroflorestais de cacau em Ilhéus (21); e, mosaicos de florestas – grupo familiar de Bem-te-vi no município de Arataca (2), Ararauna no município de Una (10), Teimoso em Jussari (8) e Fazenda São José em Camacã (1). Nove grupos sociais de Maruim foram amostrados – Entulho, Pita, Jaca, Portão2, Piaçava, Onça, Tapioca, Kita e Incon (tabela 2.1) – sendo observada relativa movimentação e migração de indivíduos entre eles (anexo I). As amostras de Barro Branco foram de dois grupos sociais e sua população foi estimada em 32 micos (Guidorizzi, 2008). Já Ilhéus, teve três grupos amostrados (Almada e Bom Fim com 80% de sobreposição de seus territórios e, Santa Rita); enquanto que as demais áreas de estudo tiveram apenas um grupo social representado (tabela 2.1). Todas as amostras foram doadas e coletadas por pesquisadores em campo durante a realização de projetos de monitoramento.

A captura dos animais aconteceu em intervalos bianuais, usando cevas com bananas e armadilhas Tomahawk. Após contenção física, todos os animais foram anestesiados pela via intramuscular utilizando cetamina (10mg/kg) e monitorados durante a contenção química, através de medidas de frequência cardíaca, respiratória, temperatura retal, e reflexos. Os organismos amostrados receberam um número de tatuagem exclusivo e uma marca com tinta Nyanzol. A partir da raiz dos pêlos coletados foi extraído, no laboratório de Ciências Ambientais da UENF, um volume total de 400µL de DNA de cada espécime utilizando o kit de extração DNeasy da QIAGEN, seguindo as instruções e protocolo adaptado do fabricante

(“Purification of total DNA from nails, hair, or feathers using the DNeasy Blood & Tissue Kit”). O volume total de 400µL foi obtido através de duas eluições de 200µL, dando-se preferência para o uso da primeira delas nas reações de PCR.

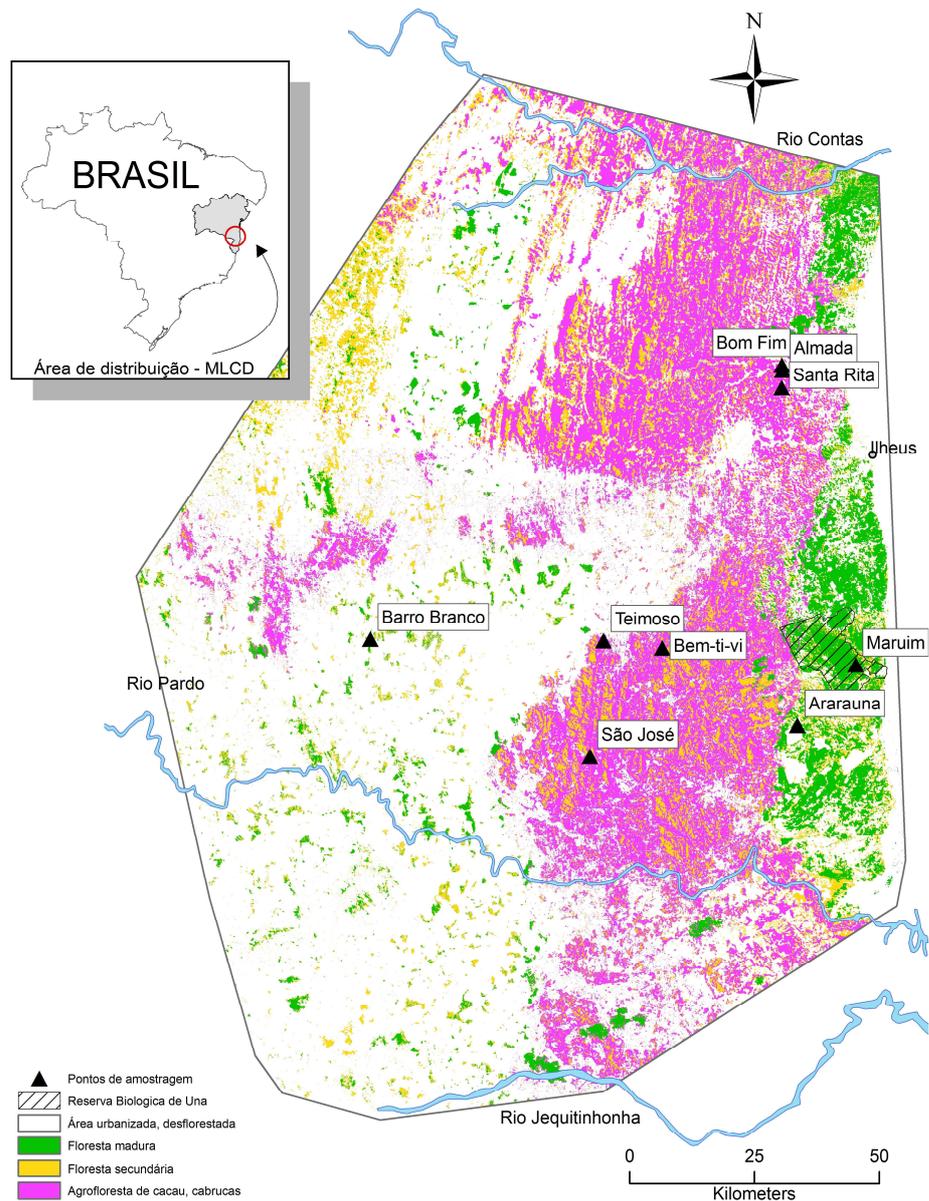


Figura 2.1 – Área de distribuição original do MLCD no sul da Bahia e locais de amostragem. Mapa compilado por Becky Raboy, baseado em dados publicados por Landau *et al.*(2003) para estrutura da paisagem, Raboy *et al.* (2010) para área potencial de distribuição da espécie e Oliveira *et al.* (2010b).

Tabela 2.1 - Pontos de Amostragem

Localização	Coordenada geográfica	Grupo social	N amostral
REBIO- Una, BA (Maruim)	15°11'54"S, 39°03'35"W	Entulho	10
		Pita	7
		Jaca	1
		Portão2	5
		Piaçava	6
		Onça	6
		Tapioca	2
		Kita	4
		Incon	2
Ilhéus, BA	14°40'01"S, 39°11'44"W 14°39'28"S, 39°11'49"W 14°41'56"S, 39°11'50"W	Almada	10
		Bom Fim	2
		Santa Rita	9
Una, BA	15°18'29"S, 39°10'07"W	Ararauna	10
Jussari, BA	15°09'16"S, 39°31'47"W	Teimoso	8
Arataca, BA	15°10'03"S, 39°25'13"W	Bem-te-vi	2
Camacã, BA	15°21'47"S, 39°33'20"W	São José	1
Itororó, BA	15°08'25"S, 39°57'21"W	Barro Branco1	2
		Barro Branco2	7

94

2.2.3 – Genotipagem

Quatro microssatélites polimórficos específicos para o gênero *Leontopithecus* e desenvolvidos para pesquisas com *L. chrysopygus*, foram usados: Leon2, Leon21, Leon27 e Leon30 (Perez-Sweeney *et. al.*, 2005). As “Reações em Cadeia de Polimerase” (PCR) para a amplificação do DNA foram realizadas contendo: 1µL de DNA; 0,5µM de *primer* R (*reverse*) e 0,5µM de *primer* F (*forward*) marcado na extremidade 5’ com a fluorescência FAM ou HEX; e o “HotStar Taq Master Mix Kit” nas concentrações de 1x PCR *Buffer* (contém 1,5mM MgCl₂), 200µM dNTP e 2,5u/µL de HotStart Taq DNA Polimerase. Mudanças nas reações incluíram a adição de 1µL de albumina bovina (BSA, em inglês) para melhorar a condição de otimização do PCR. Logo após, os microssatélites amplificados eram reunidos, purificados por protocolo adaptado no Laboratório de Biologia Molecular e Genômica da Faculdade de Biociências do Rio Grande do Sul – PUCRS, e corridos no

sequenciador automático MegaBace 1000. Os tamanhos dos fragmentos foram identificados através da utilização do software “Genetic Profile” (Amersham Biosciences, versão 2.2) utilizando como padrão o ET550-R.

Três loci polimórficos específicos para *L. chrysomelas* também foram usados: Lchu4, Lchu8 e Lchu9 (Galbusera & Gillemot, 2008). As amplificações, via PCR, continham: 1µL de DNA; 0,25µM de *primer* R (*reverse*) e 0,25µM de *primer* F (*forward*) marcados na extremidade 5' com a fluorescência FAM ou HEX; 1u/µL de Platinum TaqDNA Polymerase; 1X de PCR *Buffer*; 2mM de MgCl₂; 100µM de dNTP; e a adição de 1% de trehalose para eliminação de bandas espúrias. Logo após as reações de PCR, os loci foram reunidos em multiplex e purificados seguindo o protocolo de precipitação aplicado na técnica de TRFLP no Laboratório de Ciências Ambientais da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF. Os fragmentos foram corridos no seqüenciador automático ABI 3500 no Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular da Universidade Federal do Rio de Janeiro, e analisados através do software “GeneMapper” (Applied Biosystem, versão 4.1) utilizando como padrão GS 600Liz.

Os *primers* foram otimizados no Laboratório de Ciências Ambientais da UENF e escolhidos segundo observações dos melhores resultados de amplificação no gel de agarose. As amplificações de DNA foram realizadas através de “Reações em Cadeia de Polimerase” (PCR) simplex, utilizando o termociclador TC412. Todas as reações continham um volume de 10µL e as condições de otimização variaram em todos os loci. Os perfis dos PCRs, informações sobre os marcadores utilizados e temperaturas de otimização, podem ser visto na tabela 2.2.

Tabela 2.2 – Perfis do PCR

PRIMER	GENBANK	REP	TEMP. INICIAL	CICLOS	TEMPERATURA			TEMP. FINAL
					Denaturação	Anelamento	Extensão	
Leon2	AY706915	DI	95°C 15min	35X	94°C 1min	55°C 1min	72°C 1min	72°C 5min
Leon21	AY706922	DI	95°C 15min	35X	94°C 1min	61.8°C 1min	72°C 1min	72°C 5min
Leon27	AY706925	DI	95°C 15min	35X	94°C 1min	58°C 1min	72°C 1min	72°C 5min
Leon30	AY706927	DI	95°C 15min	35X	94°C 1min	58°C 1min	72°C 1min	72°C 5min
Lchu4	DQ979346	TETRA	94°C 2min	35X	94°C 30seg	55°C 45seg	72°C 1min	72°C 10min
Lchu8	EF583690	DI	94°C 2min	35X	94°C 30seg	58°C 45seg	72°C 1min	72°C 10min
Lchu9	EF583691	DI	94°C 2min	35X	94°C 30seg	58°C 45seg	72°C 1min	72°C 10min

2.2.4 – Análise dos dados

Para as análises, o conjunto de dados foi organizado em grupos segundo sua origem geográfica: [Almada/Bom Fim], Santa Rita, Teimoso, Ararauna, Maruim e Barro Branco. As amostras de Ilhéus foram divididas em dois conjuntos de análises. Os dados de microssatélites de Almada e Bom Fim foram reunidos em um único agrupamento – [Almada/Bom Fim], devido o fato das áreas de vida desses grupos familiares possuírem aproximadamente 80% de sobreposição de território, enquanto que, Santa Rita foi colocada em grupo individual, pois é separada por uma estrada e localiza-se a 3 km de [Almada/Bom Fim] (Oliveira *et al.*, 2010b). Além disso, resultados preliminares de microssatélites indicaram uma diferenciação menos pronunciada em Santa Rita e perda de diversidade de alelos; fato que intensificou a necessidade de analisá-la separadamente do conjunto [Almada/Bom Fim]. As demais distinções em grupos de análises levaram em consideração apenas a distância geográfica.

Bem-te-vi e São José foram excluídos das análises devido ao baixo tamanho amostral (dois e um indivíduos, respectivamente). Em pesquisa de campo (Oliveira *et al.* 2010b), o grupo São José também foi excluído devido a identificação de apenas indivíduos machos dispersantes que não pertenciam a nenhum grupo reprodutivo e, portanto, não faziam parte do N efetivo populacional. Já Bem-te-vi teve baixa representatividade amostral nesse estudo, considerando que tem uma média de 7,7 indivíduos e outros grupos com território na sua vizinhança (Oliveira *et al.*, 2010b).

O software GENALEX6 (Peakall & Smouse, 2006) foi usado inicialmente para a avaliação global da diversidade genética. Através dele, foram estimados a frequência e o número de alelos por locus e áreas geográficas, a heterozigose observada e esperada por meio de todos os locos e a ocorrência de alelos privados e locos polimórficos regionais. A riqueza de alelos (AR) – média de alelos independente do tamanho da amostra – foi calculada usando FSTAT 2.9.3 (Goudet, 2001) e o HP Rare (Kalinowski, 2004, 2005) que usa o tamanho amostral mínimo para realização dos cálculos. Diferenças significativas entre a média de heterozigotos e a riqueza alélica populacional foi calculada através do teste de

comparações múltiplas de Tukey-Kramer e o método de Bartlett da ANOVA, usando o programa estatístico GraphPad (Motulsky, 2003).

A genotipagem pode apresentar erros devido a degradação ou baixa concentração do DNA ou a permutações na região dos *primers*. Por isso, o software MICRO-CHECKER 2.2.3 (Van Oosterhout *et al.*, 2004) foi utilizado para averiguar a ocorrência desses possíveis erros causados por alelos nulos, artefatos e/ou dominância de pequenos alelos (Brookfield, 1996; Holm *et al.*, 2001; Van Oosterhout *et al.*, 2004, 2006). Esse programa constrói uma matriz aleatória dos genótipos baseada nos alelos discriminados para todos os loci em cada população, a partir do qual identifica os erros (Van Oosterhout *et al.*, 2004). Desvios significativos no equilíbrio de Hardy-Weinberg foram identificados através do GENALEX6 e os erros de genotipagem foram testados usando o intervalo de confiança de Bonferroni (Bergl & Vigilant, 2007, Knopp & Merilä, 2009, Haag *et al.*, 2010, Ozerov *et al.*, 2010, Hagerty & Tracy, 2010) e o algoritmo de correção de Brookfield1 (Brookfield, 1996, Van Oosterhout *et al.*, 2004, Ozerov *et al.*, 2010). Devido a baixa eficiência de amplificação, Barro Branco não foi aceito pelo MICRO-CHECKER e, por isso, seu conjunto de dados não foi utilizado nas próximas análises de estruturação populacional.

Depois que os alelos nulos encontrados no conjunto de dados de microssatélites foram ajustados, foi investigada a estrutura populacional genética usando o STRUCTURE 2.3 (Pritchard *et al.*, 2000; Falush *et al.*, 2003). Adicionalmente, foi avaliada a estrutura genética no conjunto de dados sem o ajustamento. O STRUCTURE se baseia no conjunto multilocus de genótipos para identificar as populações, dividindo os indivíduos dentro de K grupos. Ele usa Markov Chain Monte Carlo (MCMC) para estimar a probabilidade *a posteriori* logaritimizada de K [$\Pr(X/K)$], que é a probabilidade do conjunto de indivíduos, baseado nos seus genótipos, ser atribuído ao *cluster*, enquanto simultaneamente é estimado a frequência da população. A seleção dos grupos genéticos é feita através da comparação das probabilidades dos diferentes K, através de corridas independentes. Deste modo, assumindo o equilíbrio de Hardy-Weinberg, o STRUCTURE identifica a probabilidade de cada membro ser atribuído a cada grupo ou *cluster* (Q).

O número de agrupamentos genéticos foi estimado usando 10 corridas independentes para cada $K= 1-7$, MCMC igual a 1.000.000 e 500.000 de período *burn-in* no STRUCTURE. Inicialmente, o programa foi corrido para a identificação do número dos agrupamentos sem usar nenhuma informação a priori a respeito da origem das amostras. Foram usados os modelos de *admixture* e *correlated allele frequencies*, assumindo que as frequências das diferentes populações são similares entre si e têm ancestrais relacionados – as populações K assumiram trajetórias independentes de deriva a partir de uma mesma frequência ancestral (Pritchard, *et al.*, 2000; Falush *et al.*, 2003). No entanto, o STRUCTURE pode produzir resultados com diferentes interpretações, sendo recomendado o uso de múltiplos métodos para a estimativa de K (Evanno *et al.*, 2005; Campana *et al.*, 2011; Kalinowski, 2011). Por isso, o número de grupos para o conjunto de dados foi determinado usando: (1) o valor ótimo da probabilidade *a posteriori* dado K [$\text{Pr}(X/K)$] – dado como $\text{LnP}(D)$ no STRUCTURE (Pritchard *et al.*, 2000); (2) o valor modal de ΔK , baseado na segunda ordem de mudanças da probabilidade de distribuição de cada K dividido pelo seu desvio padrão (Evanno *et al.*, 2005); e, (3) o cálculo da nova estatística de ΔF_{st} baseado na segunda ordem de mudanças do F_{st} , através dos valores de K , dividido pelo desvio padrão da média dos sucessivos valores de $F(K)$ (Campanha *et al.*, 2011). Os resultados dessas análises foram gerados usando HARVEST STRUCTURE (http://taylor0.biology.ucla.edu/struct_harvest/) e o pacote CorrSieve (Campana *et al.*, 2011), baseado nos dados gerados pelo STRUCTURE.

Usando o GENALEX6 (Peakall & Smouse, 2006) foram testados desvios no equilíbrio de Hardy-Weinberg e estimado os valores F_{st} de Wright (1978), para se investigar o grau de diferenciação entre os grupos genéticos definidos pelo STRUCTURE. Eles são calculados a partir da frequência de alelos encontrados em um dado grupo em comparação com todas as populações. Os resultados foram gerados usando a interpolação dos dados nulos ou ausentes, o nível de significância de 0,05 e 10.000 permutações. O teste de Mantel (Mantel, 1967), com 1.000 permutações randômicas, também foi realizado para averiguar o isolamento por distância através da matriz de diferenciação populacional [$F_{st}/(1 - F_{st})$] e a matriz de distância geográfica (Rousset, 1997).

Depois de estimado o K, o STRUCTURE foi corrido novamente adicionando a informação da origem populacional às amostras, primeiramente com K=3 e depois K=5, e, assumido USEPOPINFO=1 e MIGRPRIOR=0,05. Essa é a melhor maneira para se inferir sobre a presença de indivíduos migrantes ou “misturados”, dado o valor de q que estima a probabilidade de cada organismo ser membro em cada *cluster*. Os indivíduos são considerados residentes quando $q > 0,8$, ancestrais “misturados” quando $0,2 < q < 0,8$ e migrantes quando seus valores de q são menores que 0,2 para o grupo de origem (Lecis *et al.*, 2006, Bergl & Vigilant, 2007, Haag *et al.*, 2010). Adicionalmente, foi usado o valor de α dado pelo STRUCTURE para complementar as análises (Evanno *et al.*, 2005, Hubisz *et al.*, 2009, Hagerty & Tracy, 2010).

2.3 – Resultados

2.3.1 – Diversidade genética

Um total de 91 amostras de MLCD da região leste e oeste baiana foram analisadas, considerando os grupos geográficos mencionados anteriormente e a exclusão de Bem-te-vi e São José. O número de alelos por locus variou de 4 (Leon 27) a 9 (Leon 30) ($5,9 \pm 1,7$ alelos médios por locus) sendo encontrado 41 alelos no total (anexo II). A riqueza média de alelos através de todos os locus foi baixa ($2,33 \pm 0,29$), enquanto que a heterozigose observada através de todos os locus e conjunto de dados foi alta ($0,44 \pm 0,05$) e não significativamente diferente da heterozigose esperada ($0,41 \pm 0,04$). A riqueza de alelos, a heterozigose observada e esperada através de todos os locus e grupos geográficos são mostrados na tabela 2.3.

Houve duas instâncias onde a heterozigose observada foi significativamente diferente da esperada – Lchu4 em Barro Branco e Lchu9 em Teimoso. Depois da correção de Bonferroni, não foi encontrada mais evidência de desvios no equilíbrio de Hardy-Weinberg dentro do locus do Lchu9, considerando Teimoso. Todas as comparações entre a heterozigose média observada, através dos grupos geográficos, não apresentaram diferenças significativas. Já para heterozigose média esperada, as comparações entre Ararauna e Maruim ($q=4,49$) e entre Ararauna e Barro Branco ($q=4,99$) foram significativamente diferentes ($p < 0,05$, $G_i = 5,36$ e

F=4,22). Comparações aos pares da riqueza média de alelos também apresentaram diferença significativa ($G=5,36$ e $F= 5,54$) entre Santa Rita e Barro Branco ($q=4,55$ e $p<0,05$), Teimoso e Barro Branco ($q=4,96$ e $p<0,05$), Ararauna e [Almada/BomFim] ($q=4,33$ e $p<0,05$), Ararauna e Maruim ($q=4,34$ e $p<0,05$), e entre Ararauna e Barro Branco ($q=6,18$ e $p<0,01$).

Quando todas as amostras são consideradas conjuntamente, todos os loci são polimórficos. Entretanto, quando elas são separadas segundo sua origem geográfica, a ocorrência de loci monomórficos é revelada. Ararauna apresenta 42,9% e Teimoso 28,6% de loci monomórficos. Quando os grupos de Ilhéus são separados em regiões, segundo critérios anteriormente mencionados, Santa Rita também revela a ocorrência de endogamia, apresentado 42,9% de loci monomórficos. Bem-te-vi e São José também apresentaram loci monomórficos, entretanto, por causa de seu baixo número amostral, essa informação não foi considerada, necessitando maiores amostragens para se inferir a respeito da estrutura genética desses locais. Contrapondo, Barro Branco, Almada e Maruim revelaram a ocorrência de 100% de loci polimórficos (tabela 2.3).

Barro Branco apresentou o maior número de alelos privados (6), seguido por Maruim (3). Bem-te-vi, apesar de ter apenas dois indivíduos amostrados, teve um alelo privado, aumentando o número de alelos totais identificados nessa pesquisa para 42. Quando as regiões de Ilhéus são consideradas, [Almada/Bom Fim] e Santa Rita revelam a ocorrência de alelos privados entre si e entre o conjunto total de populações. [Almada/Bom Fim] e Santa Rita possuem um alelo privado cada (anexo II).

Maruim, Barro Branco e [Almada/Bom Fim] possuem a maior diversidade genética, considerando os valores similares entre si para a riqueza e número médio de alelos e heterozigotos observados e esperados. Maruim apresentou o maior valor para número médio de alelos e heterozigotos observados, enquanto que Barro Branco deteve os maiores valores de heterozigotos esperados e riqueza média de alelos. Maruim é a população com maior número de amostras e também a região mais bem preservada sob o ponto de vista da conservação. Contrapondo, Ararauna, seguido de Teimoso, apresentaram os menores valores para ambas as estimativas (tabela 2.3).

A avaliação global dos dados de microssatélites usando o MICRO-CHECKER revelou a ocorrência de alelos nulos nos loci Leon21, Leon27 e Lchu4. Quando as populações geográficas foram corridas separadamente, Ilhéus (Almada, Bom Fim e Santa Rita) ainda apresentou alelos nulos para o locus Leon27 na frequência de 0,167. Teimoso também continuou a demonstrar alelos nulos para o locus Lchu9 na frequência de 0,269. Não houve evidências de alelos nulos para Maruim e Ararauna. Quando Ilhéus foi separada segundo critérios anteriores, apenas [Almada/Bom Fim] continuou a apresentar alelos nulos na frequência 0,195 no locus Leon30.

Bem-te-vi e São José não foram aceitos pelo MICRO-CHECKER devido ao seu pequeno número amostral. Barro Branco também não foi aceito pelo programa, por causa do elevado número de alelos ausentes no conjunto final de dados (tabela 2.3). Considerando os resultados do MICRO-CHECKER, as próximas análises procederam usando os conjuntos de dados de microssatélites de Ilhéus ([Almada/Bom Fim]=12; Santa Rita=9), Teimoso (N=8); Ararauna (N=10) e Maruim (N=43); e os dados de alelos nulos devidamente corrigidos em Ilhéus e Teimoso.

Tabela 2.3 - Diversidade genética dos 7 locos de microsatélites nas áreas de amostragens.

	Ilheus					Teimoso					Ararauna					Maruim					Barro Branco									
	[Almada/Bom Fim]					Santa Rita					N	Na	AR	Ho	He	N	Na	AR	Ho	He	N	Na	AR	Ho	He	N	Na	AR	Ho	He
<i>Leon2</i>	9	4	2,5	0,7	0,6	7	3	2,4	0,9	0,6																				
<i>Leon30</i>	10	3	2,3	0,3	0,6	6	3	2,5	1,0	0,7	7	2	1,9	0,7	0,5	7	1	1,0	0,0	0,0	39	5	2,3	0,7	0,6	4	4	3,0	0,5	0,7
<i>Leon21</i>	10	3	1,9	0,5	0,5	7	1	1,0	0,0	0,0	7	1	1,0	0,0	0,0	7	2	1,7	0,4	0,3	40	3	2,1	0,5	0,6	6	4	2,6	0,3	0,7
<i>Leon27</i>	10	3	2,4	0,5	0,6	7	1	1,0	0,0	0,0	7	2	1,3	0,1	0,1	7	2	1,9	0,4	0,5	39	3	1,8	0,5	0,4	2	3	3,0	1,0	0,6
<i>Lchu4</i>	11	2	1,2	0,1	0,1	9	1	1,0	0,0	0,0	8	1	1,0	0,0	0,0	10	1	1,0	0,0	0,0	41	4	2,3	0,6	0,6	7	4	2,8	0,6	0,7
<i>Lchu8</i>	11	5	2,6	1,0	0,7	9	2	1,9	0,6	0,5	8	3	2,1	0,6	0,5	10	1	1,0	0,0	0,0	40	6	1,9	0,5	0,4	6	4	2,8	0,7	0,7
<i>Lchu9</i>	10	4	2,4	0,8	0,6	8	2	1,8	0,6	0,4	8	3	2,1	0,1	0,5	10	2	1,5	0,3	0,3	40	4	1,9	0,5	0,4	7	2	1,3	0,1	0,1
Média	10,1	3,4	2,2	0,6	0,5	7,6	2,0	1,7	0,4	0,3	7,4	2,0	1,6	0,3	0,3	8,3	1,6	1,3	0,2	0,2	39,3	4,4	2,2	0,6	0,6	5,4	3,4	2,5	0,6	0,6
DP	0,7	1,0	0,5	0,1	0,1	1,1	0,9	0,7	0,2	0,1	0,5	0,8	0,5	0,1	0,1	1,6	0,5	0,4	0,1	0,1	1,6	1,3	0,4	0,1	0,1	1,8	0,8	0,6	0,1	0,1

N= tamanho da amostra; Na= número de alelos observados; AR= riqueza de alelos; Ho= heterozigotos observados e He= heterozigotos esperados

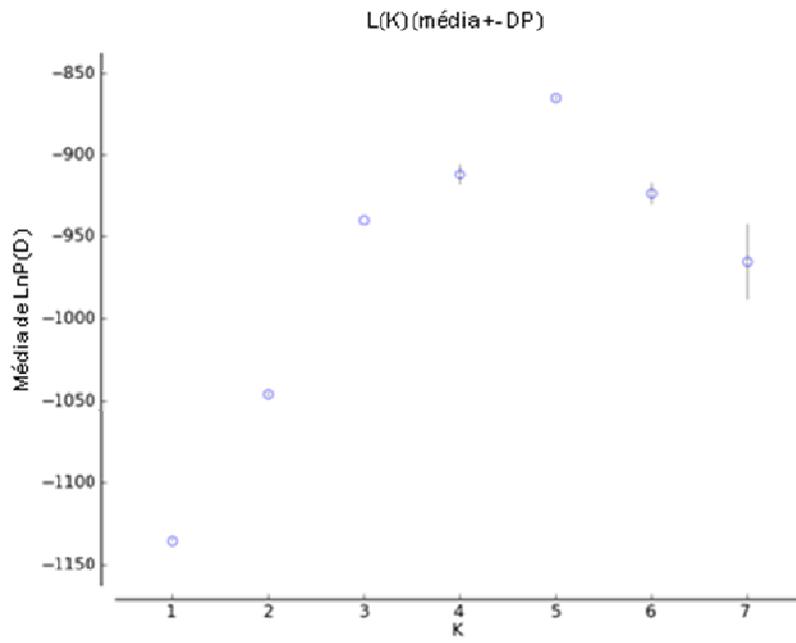
2.3.2 – Estrutura genética populacional

Análises da estrutura genética foram realizadas usando o conjunto de dados de microssatélites de 82 amostras de MLCD da região leste – Maruim, Ararauna, Ilhéus e Teimoso – considerando a correção de Bonferroni. O menor valor da probabilidade *a priori* logaritimizada foi observada em $K=1$, indicando a ocorrência de populações estruturadas. Os maiores valores foram indicados nas análises quando K foi igual a 3 e depois quando $K=5$. A partir de $K=6$, a probabilidade *a posteriori* logaritimizada volta a declinar (tabela 2.4, figura 2.2.1). Quando $K=3$, os grupos de Ilhéus são considerados uma única população, assim como Maruim e Ararauna (figura 2.3.1). Quando $K=5$, os três grupos de Ilhéus são subdivididos em duas populações (Almada/Bom Fim e Santa Rita), assim como Maruim e Ararauna são considerados distintamente (figura 2.3.2). Estimativas de K usando a segunda ordem de mudança da probabilidade de K (ΔK) (Evanno *et al.*, 2005) e um análogo a ele (ΔF_{st}) (Campana *et al.*, 2011) apresentaram os mesmos resultados, tendo ambos em $K=3$ os maiores valores, seguido por $K=5$ (tabela 2.4, figura 2.2.2 e 2.2.3 respectivos). As análises usando o conjunto de dados de microssatélite sem a correção no MICRO-CHECKER também mostraram esses resultados, revelando a ocorrência de 3 grupos genéticos [média de $\text{LnP}(D) = -945,5$ e $\Delta K = 757,6$] e uma diferenciação menos pronunciada em $K=5$ [média de $\text{LnP}(D) = -869$ e $\Delta K = 80,1$]. Deste modo, todos os resultados acima indicam que, provavelmente, as 82 amostras de MLCD estão estruturados geneticamente em 3 grupos, apesar de existir uma tendência de que elas estejam se subestruturando em 5 agrupamentos genéticos.

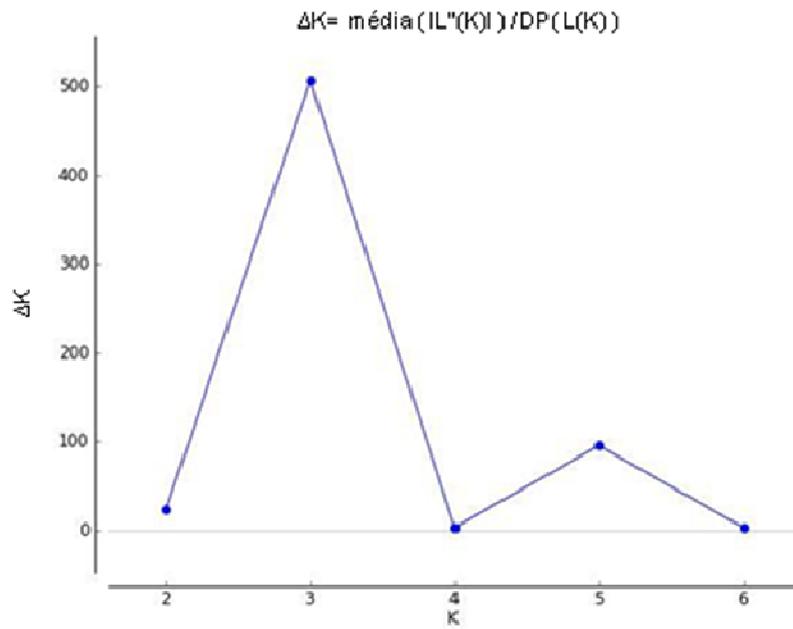
Um segundo conjunto de análises foi realizado para reafirmação dos resultados. Maruim e Ararauna, assim como os grupos de Ilhéus, foram corridos separadamente no STRUCTURE. Os resultados para Maruim e Ararauna indicam a ocorrência de apenas uma população, apresentando probabilidade média de $\text{LnP}(D) = -658,28$ em $K=1$ e $\text{LnP}(D) = -662,23$ quando $K=2$. Entretanto, vale ressaltar a relativa proximidade entre esses valores. Para os grupos de Ilhéus o maior valor de $\text{LnP}(D)$ foi observado quando $K=2$ [média de $\text{LnP}(D) = -223,92$]. No entanto, neste caso, a variância do $\text{LnP}(D)$ foi mais alta (60,69; SD 37,56). A probabilidade quando $K=1$ foi menor que $K=2$ [média de $\text{LnP}(D) = -231,01$], mas ele é mais representativo quando considerarmos sua menor variância (8,82; SD 2,69).

Comparações aos pares da diferenciação genética, considerando $K=5$, foram congruentes com os resultados do STRUCTURE. O nível de diferenciação foi avaliado seguindo Slatkin (1995). A diferenciação entre [Almada/Bom Fim] e Santa Rita foi moderada ($F_{st}= 0,20$; $p<0,05$), assim como entre Ararauna e Maruim ($F_{st}=0,22$; $p<0,05$). As comparações entre [Almada/Bom Fim] e Maruim também mostraram uma moderada diferenciação ($F_{st}=0,12$; $p<0,05$). Essa aparente proximidade entre Maruim e [Almada/Bom Fim] também pode ser percebida nas corridas independentes do STRUCTURE, onde alguns indivíduos podem potencialmente pertencer a qualquer um dos dois grupos (fig. 2.3.1 e 2.3.2), sendo o grupo social de Entulho, em Maruim, o principal responsável por essa similaridade genética (indivíduos 40 a 49 na figura 2.3). Quando as comparações foram realizadas considerando $K=3$, a proximidade genética entre Ilhéus e [Ararauna/Maruim] também permaneceu ($F_{st}=0,18$; $p>0,05$). Teimoso foi a única região a apresentar alta diferenciação em todas as situações. Todas as comparações par a par foram estatisticamente significativas e associado a elas, o teste de Mantel, usando o GENALEX, mostrou uma significativa correlação entre a matriz de distância geográfica e a matriz de distância genética ($R^2= 0,35$; $p=0,01$).

(1)



(2)



(3)

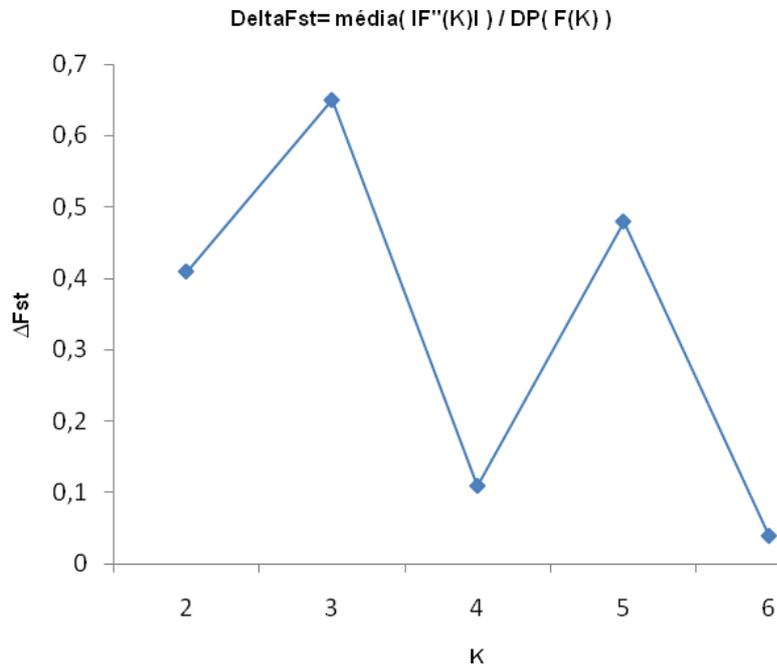


Figura 2.2 – Resultados do STRUCTURE. **(1)** Valor médio de LnP(D) através das corridas independentes de $K = 1 - 7$, associado à sua variância, **(2)** resultados estatísticos de ΔK calculado pela fórmula $\Delta K = |L''(K)| / DP[L(K)]$ e **(3)** ΔF_{st} calculado através da segunda ordem de mudança dos valores de Fst dividido pelo seu desvio padrão.

Tabela 2.4 - Estimativas de K

K	Média de LnP(K)	DP LnP(K)	ΔK	ΔF_{st}
1	-1135	0,249	-	-
2	-1046	0,718	23,62	0,407
3	-939,6	0,155	506,2	0,654
4	-911,8	5,927	3,111	0,108
5	-865,6	1,099	95,01	0,481
6	-923,8	6,047	2,844	0,036
7	-964,8	22,57	-	-

Parâmetros usados seguindo orientações de Pritchard *et al.*, (2000), Evanno *et al.*, (2005) and Campana *et al.* (2011).

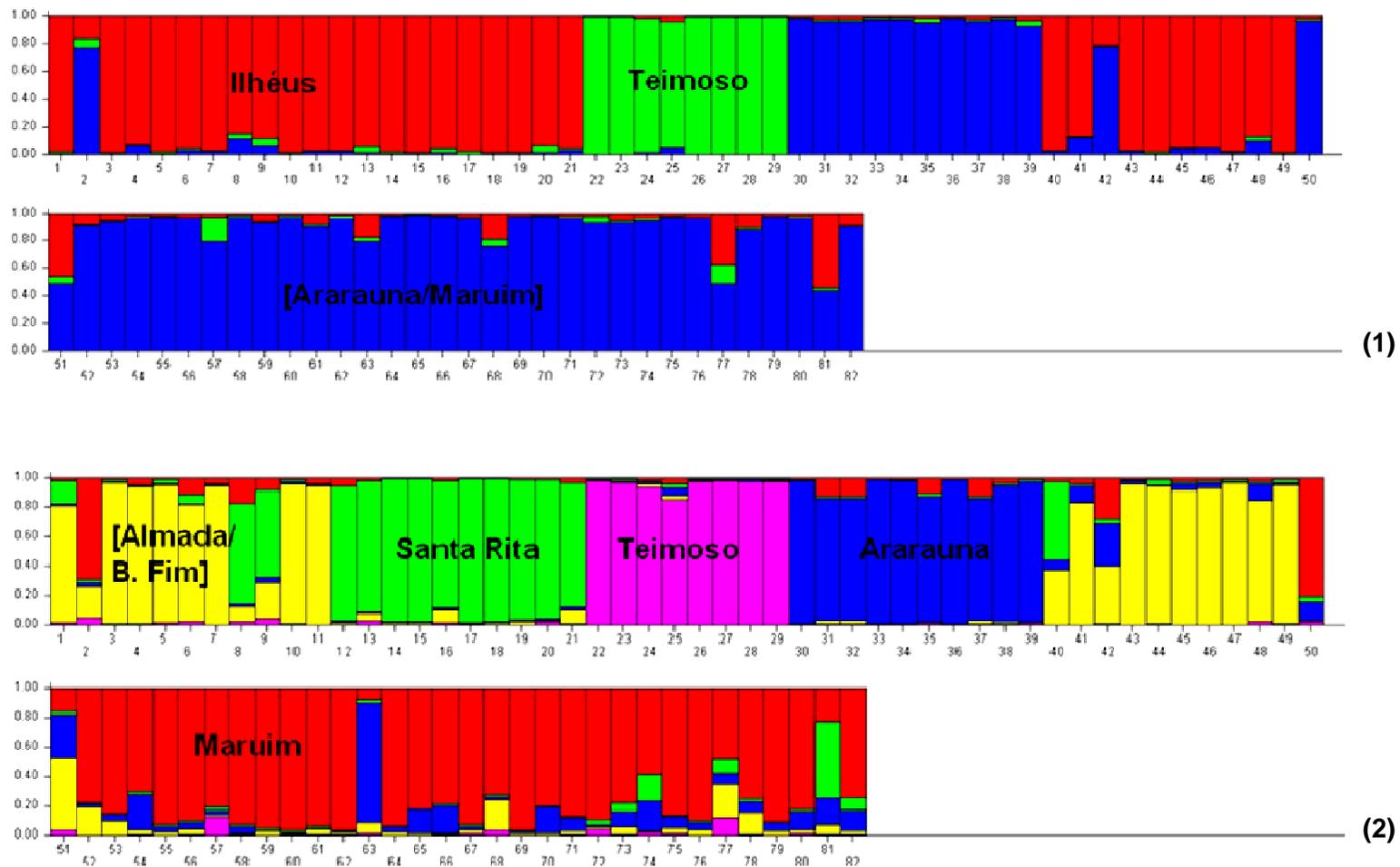


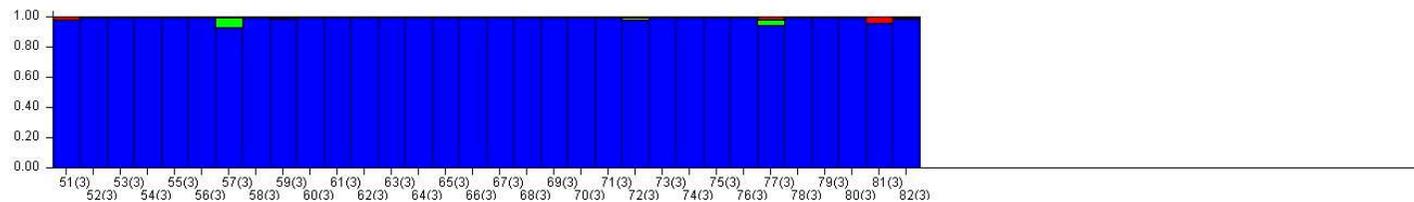
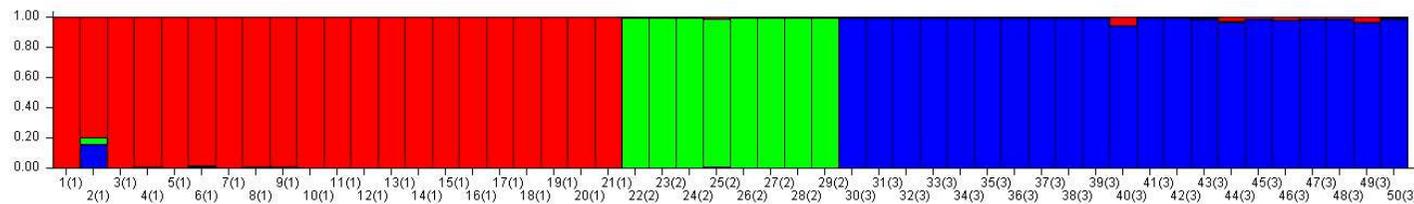
Figura 2.3 – Estrutura do MLCD usando USEPOPINFO=0. No STRUCTURE cada barra vertical representa um indivíduo, enquanto que a divisão dentro de K é representada pelas cores. **(1)** K=3 mostrando Ilhéus em vermelho, Teimoso em verde e [Maruim/Ararauna] em azul. **(2)** K=5 mostrando a separação de Ilhéus nas cores amarelo e verde, Teimoso em rosa e Ararauna em azul separada de Maruim em vermelho.

2.3.3 – Parentesco e fluxo genético recente

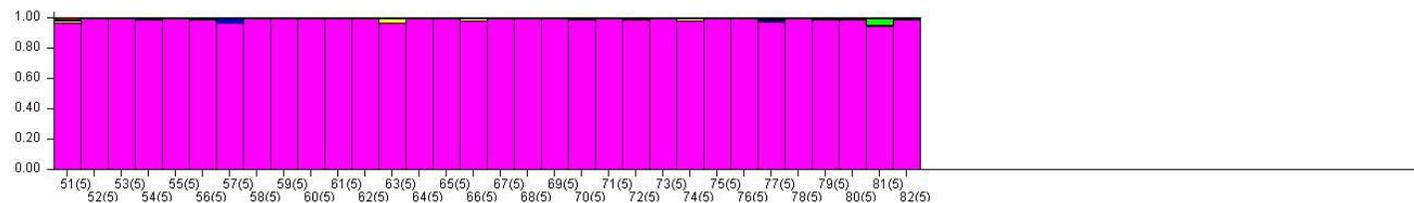
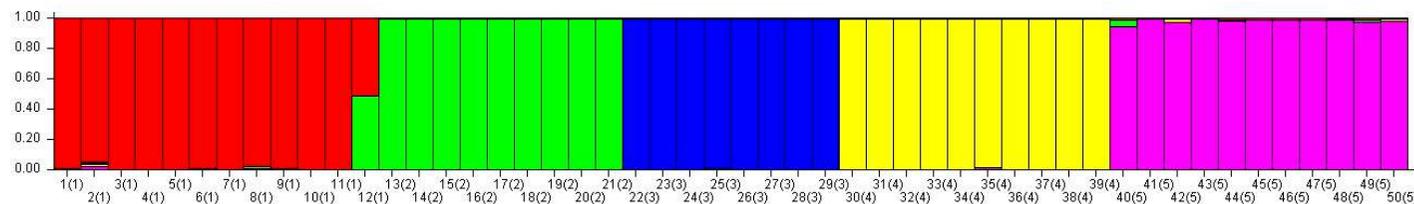
Considerando $K=3$, 97,6% dos indivíduos apresentaram $q > 0,8$ indicando que a maioria dos indivíduos amostrados tem alta probabilidade de ser residente na sua população de origem. Houve dois casos (indivíduo 2 e 57, figura 2.4.1) em que os indivíduos não foram claramente migrante ou residente. O primeiro deles (GHILT74) de Ilhéus apresentou $q= 0,53$ e 6,6% de probabilidade de ter um ancestral recente em [Maruim/Ararauna]. O segundo, indivíduo 57 (GHILT119) de [Maruim/Ararauna], obteve $q=0,74$ e relativo parentesco com Teimoso. Três indivíduos (indivíduos 40, 77 e 81, figura 2.4.1) foram atribuídos ao seu grupo de origem – Maruim – apesar de apresentarem alguma similaridade com Ilhéus e Teimoso (anexo III).

Quando consideramos $K=5$, 95,7% dos indivíduos apresentaram alta probabilidade de serem residentes com $q > 0,9$. O indivíduo 2 (GHILT74), assim como o indivíduo 57 (GHILT119), passaram a ser residentes nos seus grupos de origem, apresentando $q > 0,8$. O indivíduo 77 (GHILT155) permanece residente no seu grupo, agora com $q > 0,9$. Os indivíduos 81 (GHILT 157) e 40 (GHILT116) comportam-se como em $K=3$. Nessa situação, um indivíduo de [Almada/Bom Fim] (individual 12, GHILT 94) passou a apresentar $q=0,35$ e 34,7% de probabilidade de ter uma ancestral recente (maternal ou paternal) na região de Santa Rita (figura 2.4.2). Esse resultado indica algum tipo de migração entre as regiões de Ilhéus (anexo IV).

Adicionalmente, foi estimado o valor médio de parâmetro α (proporção de mistura) como recomendado por Evanno *et al.* (2005). Os valores médios de α para r $K=3$ foi $0,042 \pm 0,0002$ e para $K=5$ igual a $0,041 \pm 0,0002$, mostrando uma baixa mistura entre populações.



(1)



(2)

Figura 2.4 – Estrutura do MLCD usando USEPOPINFO=1. Cada indivíduo é representado pela coluna vertical, onde [Almada and Bom Fim]= 1–12 , Santa Rita= 13–21, Teimoso=22 – 29, Ararauna= 30 – 39, Maruim= 40 – 82. Cada cor representa um *cluster*. (1) K=3 onde vermelho= Ilhéus, verde= Teimoso e azul= [Ararauna/ Maruim] e (2) K=5 onde vermelho= [Almada/Bom Fim], verde= Santa Rita, azul= Teimoso, amarelo= Ararauna e rosa= Maruim.

2. 4 – Discussão

2.4.1 – Diversidade genética

Diferentemente do esperado, os resultados sugerem que o potencial genético do MLCD (He= 0,41 e uma média de 6 alelos por locus) tem se equiparado aos dos demais micos-leões que se encontram numa situação mais agravante de conservação, como *L. rosalia* (n= 57, He= 0,54 e média de 5,25 alelos por locus) (Grativol *et al.*, 2001), *L. caissara* (n= 34, He= 0,48 e média de 2,56 alelos por locus) (Martins & Galetti Jr, 2010) e *L. chrysopygus* (n= 14, He= 0,29 e 2,14 alelos por locus) (Perez-Sweeney *et al.*, 2005). Esse resultado mostra que, apesar dos MLCD possuírem habitats mais preservados e maiores tamanhos populacionais, o fluxo genético entre as áreas não tem sido totalmente eficiente para a manutenção da heterozigidade genética, como já foi proposto por Zeigler *et. al.* (2010).

Apesar do *status* de conservação do MLCD ainda estar melhor que os demais micos-leões (Pinto & Rylands, 1997; Holst *et al.*, 2006), os resultados apresentados indicam uma progressiva perda de diversidade genética. Pelo menos três grupos geográficos já fixaram alelos em dois ou mais loci: Ararauna, Teimoso e Santa Rita. Baseado em estudo no campo (Oliveira *et. al.*, 2010), é possível inferir que Teimoso possui o menor tamanho populacional e Ararauna encontra-se em um habitat relativamente mais degradado, quando comparados com os demais grupos de estudo, o que ajuda a explicar os resultados. Entretanto, em contraparte está Santa Rita que, apesar de estar numa área aparentemente de qualidade inferior aos demais grupos de Ilhéus (em cabruças), possui vizinhança relativamente próxima, estando à aproximadamente 3 km de distância de [Almada/Bom Fim] (Oliveira *et al.* 2010b). Esse resultado sugere que, para os grupos de cabruças, algum fator demográfico pode estar influenciando a dinâmica social local, ou, alguma característica da paisagem pode estar impedindo o fluxo através da matriz.

Pesquisa no campo mostrou que nas cabruças, os MCLDs tiveram 3-6 grupos na vizinhança e elevado percentual de encontros, levando-nos a supor que Ilhéus tem um número relativamente grande de espécimes. Já Ararauna apresentou um tamanho médio de 11,8 indivíduos e não foram relatados grupos vizinhos. Entre todas as áreas de amostragens, Teimoso parece ter o menor N, pois tem um

tamanho médio de 5,2 micos e não foi observado nenhum grupo na sua vizinhança (Oliveira *et al.*, 2010b). Esse pode ser o principal fator para a perda de diversidade em Teimoso, considerando que pequenas populações e isoladas são mais vulneráveis aos efeitos da deriva genética.

Pesquisa com *Leontopithecus rosalia* revelou uma variação de $2,0 \pm 0,4$ a $3,8 \pm 0,3$ alelos por população (Grativol *et al.*, 2001). Já *L. chrysomelas* apresentou uma variação $1,6 \pm 0,5$ (em Ararauna) a $4,4 \pm 1,3$ alelos (em Maruim). Esse dado corrobora com os demais, mostrando a perda de diversidade na presença de uma paisagem fragmentada (Grativol *et al.*, 2001). Ararauna e Teimoso revelaram os menores valores de heterozigotos esperados e riqueza de alelos. O *status* de Ararauna é o pior entre as áreas de amostragens, apresentando elevado índice de endogamia (3 alelos fixados e os demais loci com 2 alelos). Esse padrão pode ser explicado pelo processo de deriva genética ou pelo efeito fundador em pequenas populações. Além disso, dados em campo mostraram que o grupo de Ararauna possui duas fêmeas reprodutivas (Oliveira *et al.*, 2010b). Sistemas sociais monogínicos são mais comuns entre os micos, entretanto, quando os habitats estão saturados devido a superexploração dos recursos, as oportunidades de reprodução fora do grupo natal podem ser reduzidas e filhas mais velhas têm maior probabilidade de engravidarem, estando presente ou não no grupo um macho sem parentesco (Dietz & Baker, 1993; Baker *et al.*, 2008).

Associado a essas observações, corridas no MICRO-CHECKER revelaram a ocorrência de alelos nulos. Eles são um problema comum em análises de microssatélites e podem ser o resultado da má interpretação dos dados (Brookfield 1996, Holm *et al.* 2001, Van Oosterhout *et al.* 2004, Van Oosterhout *et al.* 2006). Entretanto, o excesso de homozigotos identificados no conjunto de dados como alelos nulos pode estar revelando também a ocorrência de endogamia, especialmente em pequenas populações, como no caso de Teimoso.

[Almada/Bom Fim], depois de Maruim, apresentou a maior média de alelos ($3,4 \pm 1,0$) junto com o Barro Branco ($3,4 \pm 0,9$). Dados em campo (Oliveira *et al.*, 2010b) para a cabruca revelam que a densidade na região é alta. A densidade média populacional para os grupos de cabruca desse estudo foi a maior

documentada para a espécie. Além disso, eles apresentaram elevado número de encontros com outros grupos.

Oliveira *et al.* (2010b) demonstraram que micos são capazes de sobreviver e reproduzir inteiramente em cabruças. Os dados genéticos aqui apresentados corroboram com essa observação, mostrando que as cabruças também são capazes de manter populações viáveis geneticamente, considerando que sua diversidade genética equipara-se à Maruim (tabela 2.3). Entretanto, como argumentado anteriormente, apesar das cabruças serem habitats viáveis para a sustentação de populações genéticas, é preciso estar atento ao avaliar sua funcionabilidade para o fluxo genético, fato revelado pelo declínio genético do grupo de Santa Rita, localizado a cerca de 3 km de [Almada/Bom Fim]. Outras barreiras físicas também podem estar gerando esse resultado, tais como rodovias ou áreas de ocupação humana e, sua influência sobre as populações de MLCD devem ser averiguadas. Outro fato que pode estar influenciando a diferença de diversidade genética nas cabruças é que, próximo à área de uso dos grupos sociais de Almada e Bom Fim, existe mata nativa e grupos de MLCD que supostamente estariam utilizando os dois habitats. Tais características na área de [Almada/Bom Fim] podem estar contribuindo com a elevação do seu tamanho populacional, assim como do potencial de dispersão local.

Maruim possui o maior N amostral desse estudo e apresentou um dos melhores valores para heterozigotos observados e esperados, riqueza e número médio de alelos. Esse resultado é congruente com os dados obtidos por Zeigler *et al.* (2010), onde revelam que a REBIO-Una é um importante remanescente para a preservação da espécie, detendo superioridade genética e condições para conservação ao longo do tempo. Esses valores podem se tornar ainda mais expressivos quando conhecermos a diversidade genética dos micos no lado oeste da reserva, em Piedade. Entretanto, como Zeigler *et al.* (2010) também afirmaram, é preciso estar atento à contínua regeneração das florestas na unidade, mantendo sua capacidade de suporte e uma densidade populacional crescente para a preservação de 98% de heterozigose.

Por fim, os resultados de Barro Branco surpreendem as expectativas. As populações da região oeste são menores, mais isoladas e com altas taxas de

mortalidade (Guidorizzi, 2008). Entretanto, os resultados preliminares de genética apontam o alto potencial de suas populações para a conservação. Barro Branco, apesar de isolado, deteve uma significativa diversidade (média: $H_o = 0,58 \pm 0,11$; $H_e = 0,59 \pm 0,08$; $AR = 2,54 \pm 0,61$), não apresentou nenhum alelo fixado e foi o grupo com o maior número de alelos privados (6). O elevado índice de diversidade genética na região oeste pode ser explicado por uma recente e rápida fragmentação do hábitat, tendo transcorrido poucas gerações para que perdas na diversidade genética possam ser evidenciadas. Assim, os resultados indicam o potencial da região oeste para a conservação e a necessidade de mais estudos que elucidem os questionamentos a respeito da sua adaptação ecológica e diferenciação das populações leste. Também Bem-te-vi, apesar de ter apenas dois indivíduos amostrados, apresentou alelo privado (1), revelando a necessidade de mais amostragens na região para se conhecer seu potencial.

Assim, considerando os parâmetros de heterozigose esperada e diversidade de alelos, Maruim, [Almada/Bom Fim] e Barro Branco obtiveram maior variabilidade genética e grau de polimorfismo versus as regiões de Teimoso, Ararauna e Santa Rita. Entretanto, é preciso salientar também que, Teimoso, Ararauna e Santa Rita tiveram apenas um grupo social amostrado, enquanto que nas regiões de maior diversidade foram coletadas amostradas de dois a nove grupos familiares (anexo I). Deste modo, o resultado apresentado pode estar sendo influenciado pelo caráter da amostragem, mas, apesar disso, não podemos ignorar as abordagens feitas anteriormente.

Pesquisa realizada com 29 espécimes de MLCD em cativeiro utilizando 9 loci específicos revelaram estimativas similares ($H_e = 0,59$ e $3,67$ alelos médios por locus) (Galbusera & Gillemot, 2008) as encontradas nesse estudo ($H_e = 0,41$ e $5,9$ alelos por locus) indicando o potencial da população *ex situ* para a conservação. Nas análises em cativeiro foram encontrados 11 alelos para os loci Lchu4, Lchu8 e Lchu9, enquanto que nesse estudo foi encontrado 18 alelos para esses mesmos loci, adicionando pelo menos 7 novos alelos ao banco de dados da espécie. A importância da preservação de exemplares *ex situ* em programas de conservação já foi demonstrada para *L. rosalia* por Grativol (2003), que encontrou um haplótipo exclusivo na população de cativeiro.

2.4.2 – Estrutura genética populacional

Valores estatísticos do STRUCTURE apontam três grupos ou *clusters* como a melhor representação do conjunto de dados. Para se chegar a essa conclusão foi usado o melhor valor de K capaz de representar a maior estruturação dos dados. Quando K=3, os grupos de Ilhéus são reunidos em uma única população, assim como Maruim e Ararauna (figura 2.2.1). Dois dos grupos sociais de Ilhéus tem 80% de seu território sobreposto e o terceiro (Santa Rita) está à aproximadamente 3 km destes, estando separado por cabruças. Já Maruim e Ararauna se distanciam por aproximadamente 20 km de mata (figura 2.1). No entanto, os resultados gerados a partir do STRUCTURE apontam Maruim e Ararauna como uma única população, apesar dos valores de Fst mostrarem uma moderada diferenciação entre Maruim e Ararauna. Associado a essas interpretações, valores estimados de ΔK e ΔF_{st} confirmaram K=3. Entretanto, existem ressalvas e, apesar de serem atualmente 3 grupos, os resultados indicam que existe uma subestruturação menos pronunciada em K=5, onde diferentes fenômenos podem estar influenciado essa estruturação em cada região.

O valor de K indicado pelo STRUCTURE pode ser menor que o número atual da população. Quando a história de fragmentação da população é simples, o resultado do STRUCTURE pode não ser consistente com a realidade, com o programa tendendo a agrupar os indivíduos dentro de poucos clusters (Kalinowski, 2011). Assim, considerando essas evidências, K=5 pode ser inferido como uma tendência de subestruturação do nosso conjunto de dados.

Apesar dos resultados indicarem mais vigorosamente uma estruturação do conjunto de dados em três populações, o segundo maior resultado representado em K=5, não pode ser negligenciado (tabela 2.4, figura 2.3.2). Ele revela uma tendência dos três agrupamentos genéticos estarem se subestruturando, onde 3, 4 ou 5 grupos podem representar os resultados, dependendo do nível de hierarquia considerado. É importante salientar nesse nível de avaliação que as áreas de amostragem são constituídas por grupos sociais únicos, exceto [Almada/Bom Fim] e Maruim. Essa relação de parentesco entre os indivíduos amostrados em cada área pode ser uma explicação para essa subestruturação e está influenciando-a em parte.

O processo de subestruturação é mais evidente dentro do conjunto de dados de Ilhéus, quando observamos a distribuição e freqüência de alelos nos seus grupos sociais, separadamente (anexo II). Já a subestruturação em Maruim e Ararauna é mais sutil, estando todos os seus alelos também presentes no conjunto de dados de Maruim, apesar de seu número total ser menor. Além disso, Ararauna apresentou alelos fixados, tendo 3 dos 7 loci homocigotos, enquanto que Maruim teve todos os seus loci polimórficos. Isso indica que, provavelmente, Ararauna tem membros originados de Maruim e seus indivíduos estão se distinguindo devido o efeito da deriva genética e do isolamento, causado provavelmente por falhas na eficiência da matriz.

A probabilidade de grupos tão próximos nas cabucas estarem se diferenciando é uma importante revelação sob o ponto de vista da conservação, mostrando que se deve dar mais atenção aos processos que regem o fluxo gênico entre os grupos de micos. A deriva genética pode explicar essa tendência de separação em Ilhéus, estando Santa Rita com 3 alelos fixados. Ela pode ser uma consequência da ineficiência das cabucas para o fluxo gênico, ou, da existência de alguma outra barreira física regionalmente, como a presença de uma estrada local que separa as áreas de [Almada/Bom Fim] de Santa Rita e outras falhas na matriz devido a ocupação humana. Essa estrada pode ser o principal fator de isolamento e que melhor explica os resultados. Outra explicação para a diferenciação pode ser que, num hábitat com superexploração dos recursos, os indivíduos de um dado grupo optam por permanecer no grupo natal colaborando e usufruindo dos recursos no território. E, finalmente, essa subestruturação pode estar relacionada com o sistema social dos micos.

As cabucas apresentam altas densidades populacionais e pequenas áreas de vida (Oliveira *et al.*, 2010b). Nessas condições, o mais importante para os micos-leões formarem novos grupos pode ser a área florestada disponível. Eles têm sistemas sociais fechados, onde dispersores não são admitidos com facilidade, sendo necessário surgir uma vaga no grupo para que o macho ou fêmea residente sejam substituídos. As fêmeas são mais resistentes à imigração. Assim, seria mais fácil formar um novo grupo social que ser admitido por um já consolidado (Baker & Dietz, 1996), especialmente num hábitat superpovoado. A conectividade permite a

movimentação dos indivíduos, mas para haver fluxo genético é necessário que haja também acasalamentos. Como as cabruças têm alta densidade populacional de micos (Oliveira *et. al.*, 2010b), dispersores encontrariam dificuldades para serem admitidos num novo grupo social e, numa paisagem saturada, onde não há espaço para a formação de novos grupos, o fluxo gênico estaria comprometido, resultando numa barreira demográfica. Deste modo, para a conservação, seriam necessárias áreas grandes com múltiplas conexões para os micos poderem constituir novos grupos, onde regiões com altas densidades não seriam, necessariamente, prioridades para a conservação, pois não estariam favorecendo o fluxo genético, embora permitam a movimentação dos animais.

Quando [Almada/Bom Fim] foi corrido separadamente de Santa Rita no MICRO-CHECKER, [Almada/Bom Fim], ela continuou a apresentar alelos nulos. O excesso de homozigotos identificados no conjunto de dados pode indicar a ausência de panmixia e ser interpretado como um indicador do efeito de Wahlund, quando subpopulações estruturadas são consideradas uma única população (Van Oosterhout *et al.* 2004). Esse resultado sugere que, até mesmo entre Almada e Bom Fim que têm 80% de sobreposição de seus territórios, pode estar ocorrendo algum tipo de estruturação genética, reforçando as conclusões de que algum fator intrínseco no sistema social dos micos pode estar impedindo o fluxo gênico entre eles.

É importante salientar, entretanto, que apesar do fluxo ser menor que o esperado entre os grupos de cabruças e a diversidade genética de Santa Rita estar sendo influenciada pela deriva genética, o fluxo gênico existe, mesmo que seja pouco. Isso é mostrado pela presença de um indivíduo no grupo de [Almada/Bom Fim], cuja filiação tem alta probabilidade de estar total ou parcialmente em Santa Rita (figura 2.4.2. Finalmente, é necessário esclarecer também que, os resultados e a diferenciação genética apresentada entre todos os pares de comparações podem estar sendo influenciado pela amostragem, considerando que o conjunto de amostras trata-se de grupos familiares.

Resultados de F_{st} e corridas no STRUCTURE, também revelaram que existe alguma similaridade genética entre Ilhéus e [Ararauna/Maruim], mais especificamente entre [Almada/Bom Fim] e o grupo social de Entulho em Maruim.

Em contrapartida, a distância genética de Teimoso foi alta em todas as comparações. Resultados do teste de Mantel mostraram que apenas 35% das diferenciações podem ser explicadas pelo isolamento por distância.

Como o agrupamento Ararauna/Maruim está mais próximo geograficamente de Teimoso, provavelmente, o principal fator que estaria influenciado sua diferenciação seria o tempo de isolamento. Entre [Ararauna/Maruim] e Ilhéus, onde a distância geográfica que os separa é bem maior que na situação anterior, falhas na dispersão seria a causa para a separação. Teimoso foi o que mais se diferenciou, mostrando elevado e significativo valor de F_{st} em todos os pares de comparação. Ele pode estar se assemelhando às populações da região oeste, considerando que se localiza num ponto mais próximo dessa região, onde já existe um gradual de transição da Mata Ombrófila Densa para Semidecidual. Estudos futuros na porção oeste poderão revelar esta informação e auxiliar nas conclusões acerca da conservação da espécie como um todo. Assim, no global, os fatores que podem estar causando a diferenciação, mais que o isolamento por distância, são: efeito fundador, barreiras físicas e demográficas existentes, deriva genética e/ou tipo de amostragem.

Por fim, apesar de não ter sido realizado corrida no STRUCTURE considerando o conjunto de dados de Barro Branco devido seu baixo N amostral, a área em questão apresentou elevado número de alelos privados, mesmo com a baixa eficiência de amplificações. Isso é um indício de que Barro Branco pode estar se diferenciando e que novos estudos devem se ativer esse fato. Se as populações da REBIO-Una forem geneticamente diferentes de Barro Branco, a reserva pode não estar preservando efetivamente o *pool* genético da espécie (Guidorizzi, 2008; Zeigler *et al.*, 2010).

2.4.3 – Parentesco e fluxo genético recente

Os resultados gerados para $K=3$ e $K=5$ mostram que os grupos de Ilhéus e de Maruim possuem indivíduos misturados, revelando uma relativa similaridade genética e o potencial de fluxo gênico entre eles. Outro resultado importante foi identificação de um indivíduo de [Almada/Bom Fim] com parentesco muito próximo

com Santa Rita, mostrando que apesar do fluxo gênico entre as áreas ser pouco, ele pode ocorrer e existe de forma discreta.

Quando informamos a origem das amostras, aumentamos o poder de atribuição do STRUCTURE que tende a classificar o indivíduo no seu *cluster* de origem. Por causa disso, a similaridade genética observada entre o grupo social Entulho, de Maruim, e o conjunto [Almada/Bom Fim] nas corridas do STRUCTURE com USEPOINFO=0 foi perdida em ambas as simulações de K=3 e K=5, quando USEPOINFO=1. Esse modelo permite identificar e aumenta a confiabilidade de determinação de migrantes e membros “misturados”, mas pode também perder informações relevantes, como nesse caso, onde a proximidade genética entre [Almada/Bom Fim] e Entulho deixa de ser revelada.

2.4.4 – Implicações para a conservação

A maioria das alterações genéticas, morfológicas ou comportamentais de uma dada espécie causada pelo processo de fragmentação e perturbação antrópica precisa de certo tempo para se manifestar. Como a fragmentação é um fenômeno recente no tempo evolutivo, muitos dos seus impactos podem ainda não ter sido revelado (Ewers & Didham, 2006). Estudos têm demonstrado que a fragmentação reduz o tamanho e isola populações animais, entre eles os primatas (Grativol *et al.*, 2001; Grativol, 2003; Milton *et al.*, 2009; Menescal *et al.*, 2009). Primatas são sensíveis à fragmentação, pois ela afeta negativamente sua ecologia e biologia. Cada espécie em particular tem uma resposta às perturbações antrópicas que variam em grau de intensidade, dependendo da capacidade do primata em usar os elementos da paisagem, de se dispersar através de diferentes estruturas da matriz e do seu potencial de colonizar e utilizar os recursos de novas áreas de vida dentro do contexto de fragmentação (Arroyo-Rodriguez & Mandujo, 2009).

Os micos-leões são espécies de primatas ameaçadas pelo processo de fragmentação da Mata Atlântica, um dos biomas mais devastados do planeta, sendo considerado um *hotspot* de biodiversidade (Myers *et al.*, 2000). Estudos genéticos têm indicado a perda de diversidade genética pelo gênero *Leontopithecus*, devido a redução e o isolamento de seus habitats naturais (Grativol *et al.*, 2001; Grativol, 2003). Grativol (2003), usando marcadores de DNA mitocondrial, mostrou uma

perda de 67% da variabilidade genética em *L. rosalia*. Valores de heterozigose média apresentada em outros estudos com primatas ameaçados e isolados, utilizando microssatélites, tais como *Allouata palliata* (Gray, 1849) (He= 0,58; Milton *et al.*, 2009), *Callicebus moloch* (Hoffmannsegg, 1807) (He= 0,63; Menescal *et al.*, 2009), e *Pongo pygmaeus* (Linnaeus, 1760) (He= 0,74; Goossens *et al.*, 2005), mostram que os micos são um grupo relativamente ameaçado de primatas, considerando a diversidade de microssatélites revelada em *L. rosalia* (He= 0,54) e em *L. chrysomelas* (He= 0,41).

Além do isolamento, a fragmentação reduz o tamanho dos remanescentes depositórios das populações. Pequenos fragmentos limitam o tamanho populacional e deixam as populações mais vulneráveis a extinção (Ewers & Didham, 2006). Em *L. rosalia* o número médio de alelos e a heterozigose observada decresceu com a diminuição do tamanho populacional (Grativol *et al.*, 2001). Populações supostamente menores de *L. chrysomelas* também revelaram uma menor diversidade que as maiores. Além da redução e isolamento dos habitats, os resultados indicam que fatores intrínsecos da espécie podem estar influenciando a perda e diferenciação genética.

Os resultados dessa pesquisa comungam com predições a respeito da conservação dos MLCDs, as quais alertam que a perda de hábitat e a conversão das cabruças em outros sistemas agrícolas têm agravado o *status* de conservação das populações naturais (Pinto & Rylands, 1997; Raboy & Dietz, 2004; Holst *et al.*, 2006; Oliveira *et al.*, 2010b; Zeigler *et al.*, 2010; Raboy *et al.*, 2010), assim como ocorreu com o mico leão-dourado (Grativol *et al.*, 2001; Grativol, 2003). Outros fatores podem também estar influenciando esses resultados, tais como o “tipo” de cabruca, áreas de urbanização, rodovias, outros cultivos agrícolas e pastagens. O PHVA (Holst *et al.*, 2006) já havia salientado que o MLCD provavelmente estaria caminhando para o *status* de conservação do MLD. Os valores aqui mostrados revelam esse potencial e chamam a atenção para a necessidade de intensificar as medidas de conservação para a espécie. Diferentemente do que era suposto, sob o ponto de vista genético o *status* de conservação do MLCD não é tão superior ao MLD mostrando que é preciso estar atento, pois apesar de, inicialmente, as

cabruças estarem funcionando como hábitat viáveis e corredores de conectividade, sua funcionalidade para o fluxo gênico parece não ser tão eficaz como se suponha.

Grativol *et. al.* (2001) encontraram alta diferenciação e poucos migrantes entre as populações de MLD, devido ao isolamento recente. Além disso, sugerem que a diferença nas frequências alélicas entre as populações é muito alta para ser explicada unicamente pelo processo de deriva genética e isolamento de habitats. Os resultados para *L. chrysomelas* também revelam uma diferenciação entre as populações mesmo numa paisagem relativamente conectada e contínua. A observação feita por Grativol *et al* (2001) junto com os resultados aqui apresentados mostram que, além do processo de fragmentação dos habitats, características intrínsecas na ecologia dos micos-leões podem estar intensificando os efeitos negativos da fragmentação sobre sua conservação. Os micos têm sistemas sociais fechados (Baker & Dietz, 1996) e essa condição os coloca numa posição vulnerável diante das atividades antrópicas recentes, sendo, portanto, um grupo de primata relativamente ameaçado pelo processo de redução e isolamento populacional.

Os resultados associados, baseados no STRUCTURE e valores de F_{st} , mostraram que as populações de MLCD estão passando pelo processo de estruturação. Apesar da espécie ainda se encontrar numa melhor situação de conservação que as demais espécies do gênero com uma estruturação em $K=3$, a subestruturação em 5 subpopulações mostra que o MLCD está partindo de uma condição panmíxica e progredindo para um cenário de alta estruturação. Isso é inusitado, pois até o momento os conservacionistas acreditavam que a continuidade do mosaico da paisagem no lado leste, possibilitado pelas cabruças, era suficiente para manter o fluxo genético. Nesse contexto, a eficiência dos sistemas agroflorestais de cacau intercalada com as matas primárias e vegetações secundárias no sul da Bahia, atuando como corredores de conectividade e fluxo genético, passa a ser contestada.

Assim, as análises com 7 microsatélites indicam que as populações de MLCD estão perdendo diversidade genética. Essa redução pode afetar o potencial de sobrevivência da espécie a longo prazo. Assim, medidas de conservação devem ser tomadas para manutenção do fluxo genético tanto na região oeste, altamente devastada, como na região leste de distribuição da espécie na Bahia. Estudo

fazendo progressão do *status* de conservação do MLCD salienta a perda e redução de habitats viáveis às populações de micos, especialmente na porção oeste (Zeigler *et al.*, 2010). Dados genéticos mostraram que essa região tem significativa diversidade genética e que suas populações podem estar se diferenciando da porção leste. Como Guidorizzi (2008) e Zeigler *et al* (2010) já haviam proposto, a negligência da conservação dessas populações podem trazer negativas implicações futuras para o banco genético de conservação da espécie. Próximas ações devem buscar elucidar os questionamentos que ainda permanecem sobre a estruturação e diversidade dessas populações, além de inferir sobre a manutenção do fluxo genético entre elas e possíveis translocações, evitando assim maiores perdas de diversidade genética

Quando o potencial genético das populações de cativeiro for averiguado, essas também poderão ser utilizadas para a reconstituição da diversidade, planos de manejo e conservação. Resultados preliminares com espécimes *ex situ* (Galbusera & Gillemot, 2008) revelam seu potencial genético. Medidas para a manutenção do fluxo genético entre as populações *in situ* na região leste de conservação também devem ser realizadas. Suas populações também estão perdendo diversidade, apesar da presença de cabucas conectando suas áreas de vida. As similaridades genéticas observadas interpopulacionalmente podem nortear essas decisões a respeito do manejo e reintroduções. Finalmente, é preciso estar atento também para o estado de conservação da população de MLCD da REBIO-Una, pois, apesar dela deter uma das maiores diversidades e heterozigosidades, a manutenção da população viável ao longo do tempo pode ser comprometida pelo processo de devastação no entorno dessa Unidade de Conservação.

3 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albernaz, A.L.K.M. (1997). Home range size and habitat use in the black lion tamarin (*Leontopithecus chrysopygus*). *International Journal of Primatology*, 18(6): 877-887.
- Andrade, C.C.F. (2006). *Estudo da estrutura genética das populações de saguis (Callithrix spp.) introduzidos na área de proteção ambiental da bacia do Rio São João/Mico-leão-dourado, no estado do Rio de Janeiro*. Dissertação (Ecologia e Recursos Naturais), Campos do Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, 44p.
- Arroyo-Rodrigues & Mandujano (2009). Conceptualization and measurement of habitat fragmentation from the Primates' perspective. *International Journal of Primatology*, 30: 497-514.
- Avise, J.C. (2004). *Molecular Markers, natural history and evolution*. 2ª ed. Sinauer Sunderland, 684p.
- Baker, A.J, Bales K, Dietz J.M. (2002). Mating system and group dynamics in lion tamarins. In: Kleiman D.G., Rylands A.B. (eds). *Lion tamarins: biology and conservation*. Washington DC: Smithsonian Institution Press, p188–212.
- Baker, A.J. & Dietz, J.M. (1996) Immigration in wild groups of golden lion tamarins (*Leontopithecus rosalia*). *American Journal of Primatology*, 38: 47-56.
- Baker, A.J., Bales, K. & Dietz J.M. (2008). Sistemas de acasalamento e dinâmicas de grupo em micos-leões. In: Kleiman, D.G. & Rylands, A.B. (eds) *Micos-leões: Biologia e conservação*. Brasília: MMA, p251 – 284.
- Baker, A.J., Dietz, J.M. & Kleiman, D.G. (1993). Behavioral evidence for monopolization of paternity in multi-male groups of golden lion tamarins. *Animal Behavior*, 46: 1091-1103
- Berg, R.A. & Vigilant, L. (2007) Genetic analysis reveals population structure and recent migration within the highly fragmented range of the Cross River gorilla (*Gorilla gorilla diehli*). *Molecular Ecólogo*, 16: 501-516.
- Bicca-Marques, J.C., Silva, V.M. & Gomes, D.F. (2006). Ordem Primates. In: Reis, N.R.; Peracchi, A.L.; Pedro, W.A. & Lima, I.P. (eds). *Mamíferos do Brasil*. Londrina: Universidade Estadual de Londrina, Universidade Regional de Blumenau, Secretarias do Estado do Paraná, Centro Universitário Filadélfia & Schering-Plough, p 101-148.

- Blouin, M.S., Parsons, M., Lacaille V. & Lotz S. (1996). Use of microsatellite loci to classify individuals by relatedness. *Molecular Ecology*, 5: 393-401.
- Brookfield, J.F.Y. (1996). A simple new method for estimating null allele frequency from heterozygote deficiency. *Molecular Ecology*, 5: 453-455.
- Campana, M.G., Hunt, H.V., Jones, H. White, J. (2011). CorrSieve: software for summarizing and evaluating Structure output. *Molecular Ecology Resources*, 11: 349-352.
- Canavez, F.C., Moreira, M.A.M., Simon, F., Parham P. & Seuánez, H.N. (1999). Phylogenetic relationships of the callitrichinae (Platyrrhini, Primates) based on β_2 -microglobulin DNA sequences. *American Journal of Primatology*, 48: 225 – 236.
- Catenacci, L.S. (2008). *Ecologia alimentar do mico-leão-da-cara-dourada Leontopithecus chrysomelas (Kuhl, 1820) (Primates: Callitrichidae) em áreas degradadas da Mata Atlântica do sul da Bahia*. Dissertação (Mestrado em Zoologia), Ilhéus – BA, Universidade Estadual de Santa Cruz – UESC, 149p.
- Charlesworth D. & Charlesworth B. (1987). Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual. Review of Ecology and Systematic*, 18: 237-268.
- Conservation International do Brasil, Fundação SOS Mata Atlântica, Fundação Biodiversitas, Instituto de Pesquisas Ecológicas, Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, SEMAD/ Instituto Estadual de Florestas – MG (2000). Avaliação e ações prioritárias para a conservação da biodiversidade da Mata Atlântica e Campos Sulinos. Brasília: MMA/SBF. 40p.
- Corander, J. Waldmann P. & Sillanpaa, M.J. (2003) Bayesian analysis of genetic differentiation between populations. *Genetics*, 163: 367-374.
- DeSalle R. & Amato G. (2004). The expansion of conservation Genetics. *Nature Reviews Genetics*, 5: 702-712.
- Dietz, J.M. & Baker, A.J. (1993). Polygyny and female reproductive success in golden lion tamarins (*Leontopithecus rosalia*). *Animal Behavior*, 46: 1067-1078.
- Dietz, J.M., Peres, C.A. & Pinder, L. (1997). Foraging ecology and use of space in wild golden Lion tamarins (*Leontopithecus rosalia*). *American Journal of Primatology*, 41: 289-305.
- Dietz, J.M., Souza, S.N. & Billerbeck, R. (1996). Population dynamics of golden-headed lion tamarins *Leontopithecus chrysomelas* in Una Reserve, Brazil. *Dodo, Journal of the Wildlife Preservation Trusts* 32: 115-122.

- Edmands, S. (2007). Between a rock and a hard place: evaluating the relative risks of inbreeding and outbreeding for conservation and management. *Molecular Ecology* 16: 463-475.
- Evanno, G. Regnaut, S. & Goudet J. (2005). Detecting the number of cluster of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14: 2611-2620.
- Ewers, R.M. & Didham, R.K. (2006). Confounding factors in the detection of species responses to habitat fragmentation. *Biological . Reviews*, 81:117–142
- Fahrig, L. (2003). Effects of Habitat Fragmentation on Biodiversity. *Annual. Review. of Ecology, . Evolution and Systematics*, 34: 487–515.
- Falconer, D.S. (1989). Introduction to quantitative genetics. Longman, New York.
- Falush, D., Stephens, M., and Pritchard, J. K. (2003). Inference of population structure: Extensions to linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics*, 164:1567–1587.
- Frankham R. (2009). Where are in conservation genetics and where do we need to go? *Conservation Genetic*, 11: 661-663.
- Frankham, R. (2010). Challenges and opportunities of genetic approaches to biological conservation. *Biological Conservation* 143: 1919-1927.
- Galbusera, P.H.A. & Gillemot, S. (2008). Polymorphic microsatellite markers for the endangered golden-headed lion tamarin, *Leontopithecus chrysomelas* (Callitrichidae). *Conservation Genetic*, 9: 731-733.
- Galindo-Leal, C.G. & Câmara, I.G. (2005). Status do hotspot Mata Atlântica: uma síntese. In: Galindo-Leal, C. G. & Câmara, I. G (eds). *Mata Atlântica: Biodiversidade, Ameaças e Perspectivas*. Belo Horizonte, MG: Fundação SOS Mata Atlântica, Conservação Internacional & Centro de Ciências Aplicadas à Biodiversidade. p. 3-11
- Gibs, J.P. (2001). Demography versus habitat fragmentation as determinant of genetic variation in wild populations. *Biological Conservation*, 100: 15-20.
- Gillespie, J.H. (2004) *A population genetics: a concise guide*. 2 ed. Baltimore, Maryland : The Johns Hopkins University Press. 232p.
- Gilpin, M.E. & Soulé, M.E. (1986). Minimum viable populations: processes of extinction. In: Soulé M.E. (ed). *Conservation Biology: The Science of Scarcity and Diversity*. Sinauer, Sunderland, MA: Sinauer Associates Soulé ME, p.19-34.

- Goldstein, D.B. & Schlatterer, C. (1999). *Microsatellites: Evolution and applications*. 1 ed. New York, USA: Oxford University. 368p.
- Goodman, M., Porter, C.A., Czelusniak, J., Page, S.L., Schneider, H., Shoshani, J., Gunnell, G. & Groves, C.P. (1998). Toward a phylogenetic classification of primates based on DNA evidence complemented by fossil evidence. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 9: 585-598.
- Goossens, B., Chikhi, L., Jalil, M.F., Ancrenaz, M., Lackman-Ancrenaz, I., Mohamed, M., Andau, P. & Bruford, M.W. (2005). Patterns of genetic and migration in increasingly fragmented and declining orangutan (*Pongo pygmaeus*) populations from Sabah, Malaysia. *Molecular Ecology*, 14(2): 441-456.
- Goudet J. (2001). FSTAT (version 2.9.3), a program to estimate and test gene diversities and fixation indices: www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm em 02 de 2011.
- Grativol, A.D. (2003). *DNA antigo e genética da conservação do mico-leão dourado (Leontopithecus rosalia): estrutura genética em duas escalas de tempo e sua relação com a fragmentação da Mata Atlântica*. Tese (Doutorado em Biociências e Biotecnologia), Campos do Goytacazes-RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro-UENF, 64p.
- Grativol, A.D., Ballou, J.D. & Fleischer, R.C. (2001). Microsatellite variation within and among recently fragmented populations of the golden tamarin (*Leontopithecus rosalia*). *Conservation Genetics*, 2: 1-9.
- Groves, C.P. (2001). *Primate Taxonomy*. 1 ed. Washington: Smithsonian Institution Press. p350.
- Guidorizzi, C. (2008). *Ecologia e comportamento do mico-leão-da-cara-dourada, Leontopithecus chrysomelas (Kuhl, 1820) (Primates, Callitrichidae), em um fragmento de floresta semidecidual em Iitororó, Bahia, Brasil*. Dissertação (Mestrado em Zoologia), Ilhéus – BA, Universidade Estadual de Santa Cruz – UESC, 113p.
- Haag, T., Santos, A.S., Sana, D.A., Morato, R.G., Cullen Jr, L., Crawshaw Jr, P.G., De Angelo, C., Di Bititte, M.S., Salzano, F.M. & Eizirik, E.(2010) The effect of habitat fragmentation on the genetic structure of a top predator: loss of diversity and high differentiation among remnant populations of Atlantic Forest jaguars (*Panthera onca*). *Molecular Ecology*, 19: 4906-4921.
- Hagerty, E.B. & Tracy, R.C. (2010) Defining population structure for the Mojave desert tortoise. *Conservation Genetic*, 11: 1795-1807.
- Hershkovitz, P. (1977) *Living New World Monkeys, Part 1 (Platyrrhini), with an Introduction to Primates*. Chicago University Press, Cambridge.

- Holm, L.E., Loeschcke & Christian, B. (2001). Elucidation of the molecular basis of a null allele in a rainbow trout microsatellite. *Marine Biotechnology*, 3: 555-560.
- Holst B, Medici E.P., Marini-Filho O.J., Kleiman D, Leus K, Pissinatti A, Vivekananda G, Ballou J.D., Traylor-Holzer K, Raboy B, Passos F, Vleeschouwer K, Montenegro M.M. (eds) (2006) *Lion tamarin population and habitat viability assessment workshop 2005, final report*. IUCN/SSC Conservation Breeding Specialist Group, Apple Valley, 208p.
- Hubisz, M., Falush, D., Stephens, M., and Pritchard, J. (2009). Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Molecular Ecology Resources*, 9: 1322-1332.
- IUCN 2011. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2011.1: www.iucnredlist.org em 20/05/2011.
- Jacobsen, T.R. (2005). Povoando o meio ambiente: crescimento humano, densidade e migrações na Mata Atlântica. *In: Galindo-Leal, C.G. & Câmara, I.G (eds). Mata Atlântica: Biodiversidade, Ameaças e Perspectivas*. Belo Horizonte, MG: Fundação SOS Mata Atlântica, Conservação Internacional & Centro de Ciências Aplicadas à Biodiversidade. p. 424-433 .
- Kalinowski, S.T. (2004). Counting alleles with rarefaction: private alleles and hierarchical sampling designs. *Conservation Genetics*, 5: 539–543.
- Kalinowski, S.T. (2005). HP-Rare: a computer program for performing rarefaction on measures of allelic diversity. *Molecular Ecology Notes*, 5: 187–189.
- Kalinowski, S.T. (2011). The computer program STRUCTURE does not reality identify the main genetic clusters within species: simulations and implications for human population structure. *Heredity*, 106: 625-632.
- Kierulff, M.C.M., Rylands, A.B., Mendes. S.L. & de Oliveira, M.M. (2008) *Leontopithecus chrysomelas*. *In: IUCN 2011. IUCN Red List of Threatened Species*. Versão 2011.1: www.iucnredlist.org em 21/05/2011.
- Kimura M. (1995). Solution of a process of random genetic drift with a continuous model. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 41: 144-150.
- Knopp, T. & Merilä, J. (2009). Microsatellite variation and population structure of the moor frog (*Rana arvalis*) in Scandinavia. *Molecular Ecology*, 18: 2996-3005.
- Landau EC, Hirsch A, Musinsky J (2003) Cobertura Vegetal e Uso do Solo do Sul da Bahia-Brasil. *In: Prado PI, Landau EC, Moura RT, Pinto LPS, Fonesca GAB, Alger K (eds). Corredor de Biodiversidade da Mata Atlântica do Sul da Bahia*. Ilhéus, Brasil: IESB/DI/CABS/UFMF/UNICAMP, Publicação em CD-ROM,

- Lecis, R. Peirpaoli, M., Biro, Z.S., Szemethy, L., Ragni, B., Vercillo & Randi, E. (2006). Bayesian analyses of admixture in wild and domestic cats (*Felis silvestris*) using linked microsatellite loci. *Molecular Ecology*, 15: 119-131.
- Lehman, L. & Perrin P. & Rousset, F. (2006). Population demographic and the evolution of helping behaviors. *Evolution*, 60: 1137 – 1151.
- Mantel, N. (1967). The detection of disease clustering and generalized regression approach. *Cancer Research*, 27: 209 – 220
- Martins, M.M. & Galleti Jr, P.M. (2011). Informative microsatellites for genetic population studies of black-faced lion tamarins (*Leontopithecus caissara*). *Genetic and Molecular Biology*, 34: 173-175.
- Menescal, L.A., Gonçalves, E.C., Silva, A., Ferrari, S. F. & Schneider, M.P. (2009). Genetic Diversity of Red-Bellied Titis (*Callicebus moloch*) from Eastern Amazonia Based on Microsatellite Markers. *Biochemical Genetics*, 47: 235–240
- Metzger, J.P., Martensen, A.C., Dixo, M.; Bernacci, C.L., Ribeiro, M.C., Teixeira, A.M.G. & Pardini, R. (2009). Time-lag in biological responses to landscape changes in a highly dynamic Atlantic forest region. *Biological Conservation*, 142: 1166–1177
- Milton, K., Lozier, J.D. & Lacey, E. A. (2009). Genetic structure an isolated population of mantled howler monkeys (*Allouatta palliata*) on Barro Colorado Island, Panama. *Conservation Genetic*, 10: 347-358.
- Mittermeier, R.A., Coimbra-Filho, A.F., Kierulff, Rylands, A.B., Mendes, S.L., Pissinatti, A. & Almeida, L.M. (2007) *Monkeys of the Atlantic Forest of Eastern Brazil Pocket Identification Guide*. Conservation International Tropical Pocket Guide Series. Vol.3. Conservation International. Arlington, VA.
- Mittermeier, R.A., Fonseca G.A.B., Rylands, A.B., & Mittermeier, C.G. (1999). Atlantic Forest. In: Mittermeier, R.A.; Myers, N.; Robles Gil, P.; & Mittermeier, C.G. (eds.). *Hotspots: The earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions*. Mexico City: Cemex, p. 136-147.
- Mittermeier, R.A., Rylands, A.B., Coimbra-Filho, A.F. (1988). Systematics: species and subspecies—An update. In: Mittermeier, R.A., Rylands, A.B., Coimbra-Filho, A.F., Fonseca, G.A.B. (eds.) *Ecology and Behavior of Neotropical Primates*. Vol. 2. World Wildlife Fund, Washington: DC. p. 13– 75.
- MMA (Ministério do Meio Ambiente) (2003). Lista Nacional das Espécies da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção: <http://www.mma.gov.br>
- MMA (Ministério do Meio Ambiente) (2006). Corredor Central da Mata Atlântica: uma nova escala de conservação da biodiversidade. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, Conservação Internacional e Fundação SOS Matam Atlântica. 46p.

- Motulsky, H.J. (2003). Prism 4 statistical analyses for laboratory and clinical researches. GraphPad Software Inc., San Diego, Califórnia, EUA: www.graphpad.com
- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, G., Fonseca G.A.B. & Kent, J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403: 853–858.
- Oliveira, E.J., Pádua, J.G., Zucchi, M.I., Vencovsky R. & Vieira, M.L.C. (2006). Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. *Genetics and Molecular Biology*, 29 (2): 294-307.
- Oliveira, L.C., Hankerson, S.J. & Dietz, B.E. (2010a). Key tree species for the golden-headed Lion tamarin and implications for shade-cocoa management in southern Bahia, Brazil. *Animal Conservation*, 2: 1-11.
- Oliveira, L.C., Neves, L.G., Raboy, B.E. & Dietz, J.M (2010b). Abundance of Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) affects group characteristics and use of space by golden-headed lion tamarins (*Leontopithecus chrysomelas*) in Cabruca Agroforest. *Environment Management*, 48: 248-262.
- Ozerov, M.Y., Veselov, A.J., Lumme, J. & Primmer, R.C. (2010) Genetic structure of freshwater Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) populations from the lakes Onega and Ladoga of northwest Russia and implications for conservation. *Conservation Genetic*, 11: 1711-1724.
- Peakall R. & Smouse, P.E. (2006) GENALEX6: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6:288-295.
- Perez-Sweeney, B.M., Rodrigues, F.P. & Melnick (2004). Metodologias utilizadas em genética da conservação. Cullen Jr., L.; Rudran, R. & Valladares-Padua. *Métodos de Estudo em Biologia da Conservação & Manejo da Vida Silvestre*. Curitiba: UFPR. p. 343 – 380 .
- Perez-Sweeney, B.M., Valladares-Padua, C., Burrell, A.S., Fiore, A. Di, Satkoski, J., Groot, P.J.V.C., Boag, P.T. & Melnick, D.J. (2005). Dinucleotide microsatellite designed goes a critically endangered primate, the black lion tamarin. *Molecular Ecology*, 5: 198-201.
- Perez-Sweeney, B.M., Valladares-Padua, C., Martins, C. S. & Morales J.C. & Melnick, D.J. (2008). Examination of the taxonomy and diversification of *Leontopithecus* using the mitochondrial control region. *Internatinonal Journal of Primatology*, 29:245–263
- Pinto, L.P.S. & Rylands A.B. (1997). Geographic distribution of the golden-headed lion tamarin, *Leontopithecus chrysomelas*: implications for its management and conservation. *Folia Primatologica*, 68: 3-5.

- Pinto, L.P.S. (1994). *Distribuição Geográfica, População e Estado de Conservação do Mico-Leão-da-Cara-Dourada, Leontopithecus Chrysomelas*. Dissertação (Mestrado em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre), Belo Horizonte – MG, Universidade Federal de Minas Gerais, 120p.
- Pritchard, J. K., Stephens, M., and Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155: 945–959.
- Raboy, B & Dietz, J (2004b). The use of degraded and shade cocoa forest by endangered golden-headed lion tamarins *Leontopithecus chrysomelas*. *Oryx*, 38(1): 75-83.
- Raboy, B & Dietz, J. (2004a). Diet, foraging and use of space in wild golden-headed lions tamarins. *American Journal Primatology*, 63: 1-15.
- Raboy, B.E., Neves, L.G., Zeigler S., Saraiva, N.A., Cardoso, N., Santos, G.R. dos, Ballou, J.D. & Leimgruber, P. (2010). Strength of habitat and landscape metrics in predicting golden-headed Lion tamarin presence or absence in Forest patches in southern Bahia, Brazil. *Biotropica* 42(3): 388-397.
- Reis, N.R., Peracchi, A.L. & Andrade, F.R. (2008). *Primatas Brasileiros*. 1ª ed. Londrina: Technical Books. 359p
- Ribeiro, C.M.; Metzger, J.P.; Martensen, C.A.; Ponzoni, F.J. & Hirota, M.M. (2009). The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. *Biological Conservation*, 142: 1141–1153.
- Rolim, S. G., and A. G. Chiarello (2004). Slow death of Atlantic forest trees in cocoa agroforestry in southeastern Brazil. *Biodiversity and Conservation*, 13: 2679-2694.
- Root, K. V. 1998. Evaluating the effects of habitat quality, connectivity, and catastrophes on a threatened species. *Ecological Applications*, 8:854–865.
- Rosenberger, A.L. & Coimbra-Filho, A.F. (1984). Morphology, Taxonomic status and affinities of the lion tamarins, *Leontopithecus* (Callitrichinae, Cebidae). *Folia Primatologica*, 42:149-179.
- Rousset, F. (1997). Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance. *Genetics*, 145: 1219 – 1228.
- Rylands, A.B. (1993). *Marmosets and tamarins: Systematics, Behavior and Ecology*. USA: Oxford University Press. 416p.
- Rylands, A.B., Kierulf, M.C.M. & Pinto, L.P.S. (2008b). Distribuição e status dos micos-leões. In: Kleiman, D.G. & Rylands, A.B. (eds) *Mico-leões: Biologia e conservação*. Brasília: MMA. p. 69 – 104.

- Rylands, A.B., Mallinson, J.J.C., Kleiman, D.G., Coimbra-Filho, A.F., Mittermeier, R.A., Câmara, I.G., Valladares-Padua, C.B. & Bampi, M.I. (2008a). História da pesquisa e conservação do mico-leão. *In: Kleiman, D.G. & Rylands, A.B. (eds) Mico-leões: Biologia e conservação*. Brasília: MMA. p. 23 – 68.
- Rylands, AB (1989). Sympatric Brazilian callitrichids: the black tufted-ear marmoset, *Callithrix kuhli*, and the golden-headed lion tamarin, *Leontopithecus chrysomelas*. *Journal of Human Evolution* 18:679–695.
- Schroth, G. & Harvey, C.A. (2007). Biodiversity conservation in cocoa production landscapes: an overview. *Biodiversity Conservation* 16: 2237-2244.
- Shaffer, M.L. (1981). Minimum population sizes for species conservation. *Bio Science* 31, 131–134.
- Slatkin, M.A. (1995). Measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*, 139: 457- 462.
- Sole-Cava, A. (2001). Biodiversidade molecular e genética da conservação. *In: Matioli, S.R. (ed.), Biologia Molecular e Evolução*. 1ª.ed. Ribeirão Preto, SP: Holos, Editora Ltda-ME. p. 172-192.
- Steiper, M.E. & Ruvolo, M. (2002). New world monkey phylogeny based on X-linked G6PD DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 27: 121-130
- Tilman, D. May, R.M., Lehman, C.L. & Nowak, M.A. (1994). Habitat destruction and the extinction debt. *Nature* 371, 65–66.
- Van Oosterhout C., Hutchinson W.F., Wills, D.P.M. & Shipley, P. (2004) Micro-Checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4: 535-538.
- Van Oosterhout, C., Weetman, D. & Hutchinson, W.F. (2006) Estimation and adjustment null alleles in nonequilibrium populations. *Molecular Ecology Notes*, 6: 255-256.
- Wright, S. (1978). *Evolution and the genetics of populations. Vol. 4. Variability within and among natural populations*. Chicago: University of Chicago Press. 590p.
- Zeigler, S.L., Fagan, W. F., DeFries, R. & Raboy, B.E. (2010). Identifying important forest patches for the long-term persistence of the endangered golden-headed lion tamarin (*Leontopithecus chrysomelas*). *Tropical Conservation Science*, 3(1): 63-77.

4 – ANEXOS

Anexo I - Amostragem e dados de campo conhecidos para cada grupo social

Área de Amostragem	ID no Laboratório	ID no Campo	Grupo Social	Sexo ou Idade	Migração Conhecida
Ilheus	CGHLT73	A01	Almada	M	-
	CGHLT74	A02	Almada	F	-
	CGHLT75	A03	Almada	F	-
	CGHLT76	A04	Almada	-	-
	CGHLT77	A05	Almada	-	-
	CGHLT78	A06	Almada	-	-
	CGHLT79	A07	Almada	-	-
	CGHLT80	A08	Almada	-	-
	CGHLT81	A09	Almada	-	-
	CGHLT82	A10	Almada	-	-
	CGHLT93	BF02	Bom Fim	-	-
	CGHLT94	BF03	Bom Fim	-	-
	CGHLT106	ST1	Santa Rita	-	-
	CGHLT107	ST2	Santa Rita	-	-
	CGHLT108	ST3	Santa Rita	-	-
	CGHLT109	ST4	Santa Rita	-	-
	CGHLT110	ST5	Santa Rita	-	-
	CGHLT112	ST7	Santa Rita	Juvenil	-
	CGHLT113	ST8	Santa Rita	-	-
	CGHLT114	ST9	Santa Rita	Filhote	-
CGHLT115	ST10	Santa Rita	Filhote	-	

Teimoso	CGHLT85	T01	Teimoso	M	-	
	CGHLT86	T02	Teimoso	M	-	
	CGHLT87	T03	Teimoso	M	-	
	CGHLT88	T04	Teimoso	-	-	
	CGHLT89	T05	Teimoso	F	-	
	CGHLT90	T07	Teimoso	-	-	
	CGHLT91	T08	Teimoso	-	-	
	CGHLT92	T10	Teimoso	-	-	
	Ararauna	CGHLT96	ARA1	Ararauna	-	-
		CGHLT97	ARA2	Ararauna	-	-
CGHLT98		ARA3	Ararauna	-	-	
CGHLT99		ARA4	Ararauna	-	-	
CGHLT100		ARA5	Ararauna	-	-	
CGHLT101		ARA6	Ararauna	-	-	
CGHLT102		ARA7	Ararauna	-	-	
CGHLT103		ARA8	Ararauna	-	-	
CGHLT104		ARA9	Ararauna	-	-	
CGHLT105		ARA10	Ararauna	-	-	
CGHLT83		BT01	Bem-ti-vi	-	-	
CGHLT84		BT02	Bem-ti-vi	-	-	
CGHLT95		SJ1	São José	-	-	
Maruim	MGHLT116	GHTL76	Entulho	M	Moveu-se mais tarde para Pita	
	MGHLT117	GHTL77	Entulho	F	-	
	MGHLT122	GHTL67	Entulho	M	-	
	MGHLT123	GHTL70	Entulho	F	-	
	MGHLT136	GHTL87	Entulho	F	-	
	MGHLT140	GHTL102	Entulho	F	-	
	MGHLT146	GHTL110	Entulho	M	Migrou mais tarde para Pita	
	MGHLT147	GHTL111	Entulho	M	-	

MGHLT148	GHTL112	Entulho	F	-
MGHLT149	GHTL113	Entulho	M	-
MGHLT118	GHTL73	Pita	F	Obs. também em Piaçava e Tapioca
MGHLT125	GHTL83	Pita	M	-
MGHLT126	GHTL84	Pita	M	-
MGHLT129	GHTL98	Pita	M	-
MGHLT132	GHTL51	Pita	F	Indivíduo oriundo de Onça
MGHLT141	GHTL100	Pita	F	-
MGHLT142	GHTL93	Pita	F	-
MGHLT119	GHTL103	Jaca	M	-
MGHLT120	GHTLT 27	Portão2	F	-
MGHLT127	GHTL94	Portão2	M	-
MGHLT128	GHTL96	Portão2	M	Moveu-se mais tarde para Tapioca
MGHLT130	GHTL105	Portão3	F	-
MGHLT139	GHLT 106	Portão4	M	-
MGHLT121	GHTL36	Piaçava	F	-
MGHLT124	GHTL79	Piaçava	M	-
MGHLT138	GHTL107	Piaçava	M	-
MGHLT143	GHTL92	Piaçava	F	-
MGHLT153	GHTL123	Piaçava	M	-
MGHLT154	GHTL124	Piaçava	M	-
MGHLT131	GHTL44	Onça	M	-
MGHLT133	GHTL81	Onça	F	Migrou mais tarde para Tapioca
MGHLT134	GHTL82	Onça	F	-
MGHLT137	GHTL88	Onça	M	Migrou mais tarde para Tapioca
MGHLT144	GHTL89	Onça	M	-
MGHLT151	GHTL116	Onça	F	-
MGHLT145	GHTL109	Tapioca	F	Anteriormente em Onça
MGHLT152	GHTL119	Tapioca	M	-

	MGHLT135	GHTL85	Kita	M	Anteriormente em Pita
	MGHLT150	GHTL115	Kita	M	Anteriormente em Pita
	MGHLT155	GHLT130	Kita	M	-
	MGHLT156	GHTL132	Kita	F	-
	MGHLT157	GHTL169	Incon	F	-
	MGHLT158	GHTL170	Incon	M	-
Barro Branco	BGHLT22	GHLT05	Grupo1	-	-
	BGHLT9	GHLT06	Grupo1	-	-
	BGHLT10	GHLT01	Grupo2	-	-
	BGHTL11	GHLT03	Grupo2	-	-
	BGHTL20	GHLT02	Grupo2	-	-
	BGHLT21	GHLT08	Grupo2	-	-
	BGHLT8	GHLT04	Grupo2	-	-
	BGHLT23	GHLT09	Grupo2	-	-
	BGHLT24	GHLT07	Grupo2	-	-

Dados de campo fornecidos por Becky Raboy, Leonardo de Oliveira e Carlos Eduardo Guidorizzi.

Anexo II - Frequência, Alelos Privados e Locus Monomórficos.

Locus	Alelos	Populações Geográficas								
		ILHEUS		TEI (8)	BTV (2)	SJ (1)	UNA (10)	MAR (43)	BB (9)	
		[A,BF] (12)	SR (9)							
Leon2	200	-	-	-	-	-	-	-	0,014	-
	202	-	-	-	-	-	0,071	0,236	0,417	
	204	0,167	0,500	0,214	0,500	0,500	0,929	0,278	0,500	
	206	0,278	0,357	-	-	-	-	0,111	0,083	
	208	0,056	0,143	0,786	0,500	-	-	0,139	-	
	212	0,500	-	-	-	0,500	-	0,222	-	
Leon30	240	-	-	-	-	-	-	-	-	0,250
	242	-	-	0,500	-	-	-	-	-	0,375
	246	-	-	-	-	-	-	-	-	0,250
	250	0,450	-	-	-	0,500	-	0,436	-	
	252	-	-	-	-	-	-	0,026	-	
	254	0,400	0,333	0,500	1,000	0,500	1,000	0,449	0,125	
	256	-	-	-	-	-	-	0,013	-	
	258	0,150	0,250	-	-	-	-	0,077	-	
	260	-	0,417	-	-	-	-	-	-	
Leon21	278	-	-	-	-	-	-	-	-	0,083
	280	0,700	1,000	1,000	0,750	-	0,214	0,588	0,500	
	282	-	-	-	-	-	-	-	-	0,167
	284	0,050	-	-	0,250	1,000	0,786	0,300	0,250	
	286	0,250	-	-	-	-	-	0,113	-	
	Leon27	192	-	-	-	-	-	-	-	-
194		0,500	-	-	0,750	-	0,500	0,731	0,500	
196		0,300	1,000	0,929	0,250	1,000	0,500	0,218	-	
198		0,200	-	0,071	-	-	-	0,051	0,250	
Lchu4	373	-	-	-	-	-	-	-	-	0,143
	377	0,955	1,000	-	-	-	-	0,366	-	
	381	0,045	-	1,000	1,000	0,500	1,000	0,463	0,357	
	385	-	-	-	-	0,500	-	0,024	0,214	
	389	-	-	-	-	-	-	0,146	0,286	
Lchu8	207	-	-	-	-	-	-	0,013	0,333	
	209	0,455	0,500	-	-	-	1,000	0,750	0,333	
	211	0,045	-	-	0,500	-	-	0,050	-	
	213	0,045	-	0,188	-	0,500	-	-	-	
	215	0,318	0,500	0,688	-	-	-	0,025	0,083	
	217	0,136	-	0,125	0,250	0,500	-	0,150	0,250	
	219	-	-	-	0,250	-	-	0,013	-	
Lchu9	399	-	-	-	0,250	-	-	-	-	
	401	0,500	0,688	0,063	0,500	0,500	0,850	0,725	0,929	
	403	-	-	0,563	-	-	-	0,100	0,071	
	405	0,100	-	0,375	-	0,500	0,150	0,150	-	
	407	0,050	0,313	-	0,250	-	-	0,025	-	
	409	0,350	-	-	-	-	-	-	-	
Alelos Médios (SD)		3,4 (1,0)	1,9 (0,9)	2,0 (0,8)	2,0 (0,8)	1,7 (0,5)	1,6 (0,5)	4,4 (1,3)	3,4 (0,9)	

Grupos geográficos: [A,BF]=Almada e Bom Fim, SR=Santa Rita (Ilheus); TEI=Teimoso (Jussari);

BTV=Bem-ti-vi (Arataca); SJ=São José (Camacã); Una=Ararauna; MAR=Maruim; BB=Barro Branco.

Números destacados: azul= alelos privados e vermelho= alelos fixados

Anexo III - Ancestrais e indivíduos misturados identificados usando a informação a priori de K=3 no STRUCTURE

Sequência da corrida	Indivíduo	População de Origem	Probabilidade na população assumida	Probabilidade de ser outras populações
. 1	GHLT73	Ilheus	0.987	Pop 2: 0.000 0.000 0.004 Pop 3: 0.000 0.001 0.008
. 2	GHLT74	Ilheus	0.526	 Pop 2: 0.000 0.009 0.151 Pop 3: 0.066 0.154 0.095
. 3	GHLT75	Ilheus	0.989	Pop 2: 0.000 0.000 0.003 Pop 3: 0.000 0.001 0.007
. 4	GHLT76	Ilheus	0.973	Pop 2: 0.000 0.000 0.004 Pop 3: 0.001 0.007 0.015
. 5	GHLT77	Ilheus	0.985	Pop 2: 0.000 0.000 0.006 Pop 3: 0.000 0.001 0.008
. 6	GHLT78	Ilheus	0.942	Pop 2: 0.000 0.000 0.002 Pop 3: 0.000 0.002 0.055
. 7	GHLT79	Ilheus	0.984	Pop 2: 0.000 0.000 0.001 Pop 3: 0.000 0.003 0.013
. 8	GHLT80	Ilheus	0.972	Pop 2: 0.000 0.000 0.012 Pop 3: 0.000 0.003 0.013
. 9	GHLT81	Ilheus	0.962	Pop 2: 0.000 0.001 0.017 Pop 3: 0.000 0.005 0.015
. 10	GHLT82	Ilheus	0.989	Pop 2: 0.000 0.000 0.003 Pop 3: 0.000 0.001 0.007
. 11	GHLT93	Ilheus	0.984	Pop 2: 0.000 0.000 0.001 Pop 3: 0.000 0.003 0.013
. 12	GHLT94	Ilheus	0.983	Pop 2: 0.000 0.000 0.002 Pop 3: 0.000 0.002 0.013
. 13	GHLT106	Ilheus	0.974	Pop 2: 0.000 0.000 0.019 Pop 3: 0.000 0.001 0.006
. 14	GHLT107	Ilheus	0.991	Pop 2: 0.000 0.000 0.005 Pop 3: 0.000 0.000 0.004
. 15	GHLT108	Ilheus	0.992	Pop 2: 0.000 0.000 0.004 Pop 3: 0.000 0.000 0.004
. 16	GHLT109	Ilheus	0.987	Pop 2: 0.000 0.000 0.006 Pop 3: 0.000 0.000 0.006
. 17	GHLT110	Ilheus	0.995	Pop 2: 0.000 0.000 0.003 Pop 3: 0.000 0.000 0.002
. 18	GHLT112	Ilheus	0.992	Pop 2: 0.000 0.000 0.004 Pop 3: 0.000 0.000 0.004
. 19	GHLT113	Ilheus	0.989	Pop 2: 0.000 0.000 0.002 Pop 3: 0.000 0.001 0.007
. 20	GHLT114	Ilheus	0.977	Pop 2: 0.000 0.000 0.016 Pop 3: 0.000 0.001 0.006
. 21	GHLT115	Ilheus	0.983	Pop 2: 0.000 0.000 0.002 Pop 3: 0.000 0.003 0.011
. 22	GHLT85	Teimoso	0.998	Pop 1: 0.000 0.000 0.001 Pop 3: 0.000 0.000 0.001
. 23	GHLT86	Teimoso	0.997	Pop 1: 0.000 0.000 0.002 Pop 3: 0.000 0.000 0.002
. 24	GHLT87	Teimoso	0.981	Pop 1: 0.000 0.000 0.011 Pop 3: 0.000 0.000 0.008
. 25	GHLT88	Teimoso	0.932	Pop 1: 0.000 0.002 0.029 Pop 3: 0.000 0.002 0.036
. 26	GHLT89	Teimoso	0.998	Pop 1: 0.000 0.000 0.001 Pop 3: 0.000 0.000 0.001
. 27	GHLT90	Teimoso	0.998	Pop 1: 0.000 0.000 0.001 Pop 3: 0.000 0.000 0.001
. 28	GHLT91	Teimoso	0.997	Pop 1: 0.000 0.000 0.002 Pop 3: 0.000 0.000 0.002
. 29	GHLT92	Teimoso	0.997	Pop 1: 0.000 0.000 0.001 Pop 3: 0.000 0.000 0.002
. 30	GHLT96	[Ara/Maruim]	0.996	Pop 1: 0.000 0.000 0.002 Pop 2: 0.000 0.000 0.002
. 31	GHLT97	[Ara/Maruim]	0.988	Pop 1: 0.000 0.000 0.006 Pop 2: 0.000 0.000 0.006
. 32	GHLT98	[Ara/Maruim]	0.988	Pop 1: 0.000 0.000 0.006 Pop 2: 0.000 0.000 0.006
. 33	GHLT99	[Ara/Maruim]	0.994	Pop 1: 0.000 0.000 0.003 Pop 2: 0.000 0.000 0.003
. 34	GHLT100	[Ara/Maruim]	0.991	Pop 1: 0.000 0.000 0.003 Pop 2: 0.000 0.000 0.006
. 35	GHLT101	[Ara/Maruim]	0.986	Pop 1: 0.000 0.000 0.005 Pop 2: 0.000 0.000 0.008
. 36	GHLT102	[Ara/Maruim]	0.994	Pop 1: 0.000 0.000 0.003 Pop 2: 0.000 0.000 0.003
. 37	GHLT103	[Ara/Maruim]	0.988	Pop 1: 0.000 0.000 0.006 Pop 2: 0.000 0.000 0.006
. 38	GHLT104	[Ara/Maruim]	0.993	Pop 1: 0.000 0.000 0.003 Pop 2: 0.000 0.000 0.005
. 39	GHLT105	[Ara/Maruim]	0.983	Pop 1: 0.000 0.000 0.007 Pop 2: 0.000 0.000 0.010
. 40	GHLT116	[Ara/Maruim]	0.898	Pop 1: 0.028 0.032 0.040 Pop 2: 0.000 0.000 0.003
. 41	GHLT117	[Ara/Maruim]	0.988	Pop 1: 0.000 0.001 0.010 Pop 2: 0.000 0.000 0.001
. 42	GHLT122	[Ara/Maruim]	0.978	Pop 1: 0.000 0.006 0.014 Pop 2: 0.000 0.000 0.003
. 43	GHLT123	[Ara/Maruim]	0.974	Pop 1: 0.000 0.005 0.018 Pop 2: 0.000 0.000 0.003
. 44	GHLT136	[Ara/Maruim]	0.926	Pop 1: 0.008 0.021 0.036 Pop 2: 0.000 0.000 0.009
. 45	GHLT140	[Ara/Maruim]	0.962	Pop 1: 0.000 0.010 0.023 Pop 2: 0.000 0.000 0.004
. 46	GHLT146	[Ara/Maruim]	0.958	Pop 1: 0.002 0.013 0.025 Pop 2: 0.000 0.000 0.002
. 47	GHLT147	[Ara/Maruim]	0.961	Pop 1: 0.003 0.008 0.025 Pop 2: 0.000 0.000 0.003

. 48	GHLT148	[Ara/Maruim]	0.962	Pop 1: 0.000 0.007 0.018 Pop 2: 0.000 0.000 0.012
. 49	GHLT149	[Ara/Maruim]	0.917	Pop 1: 0.012 0.024 0.038 Pop 2: 0.000 0.000 0.010
. 50	GHLT118	[Ara/Maruim]	0.974	Pop 1: 0.000 0.001 0.009 Pop 2: 0.000 0.002 0.015
. 51	GHLT125	[Ara/Maruim]	0.943	Pop 1: 0.000 0.016 0.026 Pop 2: 0.000 0.003 0.012
. 52	GHLT126	[Ara/Maruim]	0.980	Pop 1: 0.000 0.004 0.013 Pop 2: 0.000 0.000 0.002
. 53	GHLT129	[Ara/Maruim]	0.979	Pop 1: 0.000 0.004 0.014 Pop 2: 0.000 0.000 0.003
. 54	GHLT132	[Ara/Maruim]	0.990	Pop 1: 0.000 0.000 0.006 Pop 2: 0.000 0.000 0.004
. 55	GHLT141	[Ara/Maruim]	0.991	Pop 1: 0.000 0.001 0.007 Pop 2: 0.000 0.000 0.001
. 56	GHLT142	[Ara/Maruim]	0.986	Pop 1: 0.000 0.002 0.009 Pop 2: 0.000 0.000 0.002
. 57	GHLT119	[Ara/Maruim]	0.744	 Pop 1: 0.000 0.001 0.019 Pop 2: 0.000 0.024 0.213
. 58	GHLT120	[Ara/Maruim]	0.988	Pop 1: 0.000 0.000 0.005 Pop 2: 0.000 0.000 0.008
. 59	GHLT127	[Ara/Maruim]	0.976	Pop 1: 0.000 0.006 0.016 Pop 2: 0.000 0.000 0.002
. 60	GHLT128	[Ara/Maruim]	0.988	Pop 1: 0.000 0.000 0.006 Pop 2: 0.000 0.000 0.006
. 61	GHLT130	[Ara/Maruim]	0.977	Pop 1: 0.000 0.004 0.012 Pop 2: 0.000 0.000 0.007
. 62	GHLT139	[Ara/Maruim]	0.984	Pop 1: 0.000 0.000 0.005 Pop 2: 0.000 0.000 0.011
. 63	GHLT121	[Ara/Maruim]	0.978	Pop 1: 0.000 0.001 0.010 Pop 2: 0.000 0.000 0.010
. 64	GHLT124	[Ara/Maruim]	0.993	Pop 1: 0.000 0.000 0.004 Pop 2: 0.000 0.000 0.002
. 65	GHLT138	[Ara/Maruim]	0.997	Pop 1: 0.000 0.000 0.002 Pop 2: 0.000 0.000 0.002
. 66	GHLT143	[Ara/Maruim]	0.994	Pop 1: 0.000 0.000 0.004 Pop 2: 0.000 0.000 0.002
. 67	GHLT153	[Ara/Maruim]	0.977	Pop 1: 0.000 0.002 0.010 Pop 2: 0.000 0.000 0.011
. 68	GHLT154	[Ara/Maruim]	0.983	Pop 1: 0.000 0.000 0.006 Pop 2: 0.000 0.000 0.011
. 69	GHLT131	[Ara/Maruim]	0.993	Pop 1: 0.000 0.000 0.006 Pop 2: 0.000 0.000 0.001
. 70	GHLT133	[Ara/Maruim]	0.996	Pop 1: 0.000 0.000 0.003 Pop 2: 0.000 0.000 0.001
. 71	GHLT134	[Ara/Maruim]	0.987	Pop 1: 0.000 0.000 0.006 Pop 2: 0.000 0.001 0.006
. 72	GHLT137	[Ara/Maruim]	0.948	Pop 1: 0.000 0.001 0.012 Pop 2: 0.000 0.006 0.032
. 73	GHLT144	[Ara/Maruim]	0.983	Pop 1: 0.000 0.002 0.010 Pop 2: 0.000 0.000 0.005
. 74	GHLT151	[Ara/Maruim]	0.980	Pop 1: 0.000 0.001 0.012 Pop 2: 0.000 0.000 0.007
. 75	GHLT135	[Ara/Maruim]	0.989	Pop 1: 0.000 0.000 0.005 Pop 2: 0.000 0.000 0.005
. 76	GHLT150	[Ara/Maruim]	0.990	Pop 1: 0.000 0.001 0.008 Pop 2: 0.000 0.000 0.001
. 77	GHLT155	[Ara/Maruim]	0.823	Pop 1: 0.000 0.008 0.053 Pop 2: 0.000 0.011 0.105
. 78	GHLT156	[Ara/Maruim]	0.986	Pop 1: 0.000 0.001 0.008 Pop 2: 0.000 0.000 0.005
. 79	GHLT145	[Ara/Maruim]	0.992	Pop 1: 0.000 0.001 0.006 Pop 2: 0.000 0.000 0.001
. 80	GHLT152	[Ara/Maruim]	0.988	Pop 1: 0.000 0.000 0.004 Pop 2: 0.000 0.000 0.008
. 81	GHLT157	[Ara/Maruim]	0.891	Pop 1: 0.002 0.046 0.055 Pop 2: 0.000 0.000 0.005
. 82	GHLT158	[Ara/Maruim]	0.971	Pop 1: 0.000 0.002 0.023 Pop 2: 0.000 0.000 0.004

Pop1= Ilheus; Pop2= Teimoso; Pop3= [Ararauna/Maruim]

Anexo IV - Ancestrais e indivíduos misturados identificados usando a informação a priori de K=5 no STRUCTURE

Sequência da corrida	Indivíduo	População de Origem	Probabilidade na População Assumida	Probabilidade de ser de outras populações
. 1	GHLT73	[A/BF]	0.976	Pop 2: 0.000 0.004 0.008 Pop 3: 0.000 0.000 0.003 Pop 4: 0.000 0.000 0.004 Pop 5: 0.000 0.001 0.004
. 2	GHLT74	[A/BF]	0.863	Pop 2: 0.000 0.000 0.002 Pop 3: 0.000 0.002 0.041 Pop 4: 0.000 0.012 0.027 Pop 5: 0.009 0.023 0.022
. 3	GHLT75	[A/BF]	0.981	Pop 2: 0.000 0.003 0.008 Pop 3: 0.000 0.000 0.002 Pop 4: 0.000 0.000 0.002 Pop 5: 0.000 0.001 0.004
. 4	GHLT76	[A/BF]	0.987	Pop 2: 0.000 0.000 0.002 Pop 3: 0.000 0.000 0.002 Pop 4: 0.000 0.000 0.002 Pop 5: 0.000 0.002 0.005
. 5	GHLT77	[A/BF]	0.976	Pop 2: 0.000 0.004 0.009 Pop 3: 0.000 0.000 0.003 Pop 4: 0.000 0.000 0.002 Pop 5: 0.000 0.001 0.004
. 6	GHLT78	[A/BF]	0.968	Pop 2: 0.000 0.000 0.007 Pop 3: 0.000 0.000 0.002 Pop 4: 0.000 0.000 0.003 Pop 5: 0.000 0.001 0.018
. 7	GHLT79	[A/BF]	0.994	Pop 2: 0.000 0.000 0.001 Pop 3: 0.000 0.000 0.000 Pop 4: 0.000 0.000 0.001 Pop 5: 0.000 0.001 0.004
. 8	GHLT80	[A/BF]	0.926	Pop 2: 0.002 0.004 0.029 Pop 3: 0.000 0.000 0.013 Pop 4: 0.000 0.000 0.010 Pop 5: 0.002 0.004 0.009
. 9	GHLT81	[A/BF]	0.964	Pop 2: 0.001 0.005 0.009 Pop 3: 0.000 0.000 0.007 Pop 4: 0.000 0.000 0.005 Pop 5: 0.000 0.002 0.006
. 10	GHLT82	[A/BF]	0.981	Pop 2: 0.000 0.003 0.008 Pop 3: 0.000 0.000 0.002 Pop 4: 0.000 0.000 0.002 Pop 5: 0.000 0.001 0.004
. 11	GHLT93	[A/BF]	0.994	Pop 2: 0.000 0.000 0.001 Pop 3: 0.000 0.000 0.000 Pop 4: 0.000 0.000 0.001 Pop 5: 0.000 0.001 0.004
. 12	GHLT94	[A/BF]	0.351	 Pop 2: 0.347 0.220 0.073 Pop 3: 0.000 0.000 0.001 Pop 4: 0.000 0.000 0.001 Pop 5: 0.001 0.002 0.004
. 13	GHLT106	S. Rita	0.986	Pop 1: 0.000 0.000 0.003 Pop 3: 0.000 0.000 0.006 Pop 4: 0.000 0.000 0.001 Pop 5: 0.000 0.000 0.003
. 14	GHLT107	S. Rita	0.994	Pop 1: 0.000 0.000 0.002 Pop 3: 0.000 0.000 0.001 Pop 4: 0.000 0.000 0.001 Pop 5: 0.000 0.000 0.001
. 15	GHLT108	S. Rita	0.993	Pop 1: 0.000 0.000 0.002 Pop 3: 0.000 0.000 0.001 Pop 4: 0.000 0.000 0.002 Pop 5: 0.000 0.000 0.001
. 16	GHLT109	S. Rita	0.985	Pop 1: 0.000 0.002 0.005 Pop 3: 0.000 0.000 0.003 Pop 4: 0.000 0.000 0.002 Pop 5: 0.000 0.000 0.003
. 17	GHLT110	S. Rita	0.997	Pop 1: 0.000 0.000 0.001 Pop 3: 0.000 0.000 0.001 Pop 4: 0.000 0.000 0.000 Pop 5: 0.000 0.000 0.001
. 18	GHLT112	S. Rita	0.993	Pop 1: 0.000 0.000 0.002 Pop 3: 0.000 0.000 0.001 Pop 4: 0.000 0.000 0.002 Pop 5: 0.000 0.000 0.001
. 19	GHLT113	S. Rita	0.989	Pop 1: 0.000 0.000 0.003 Pop 3: 0.000 0.000 0.001 Pop 4: 0.000 0.000 0.005 Pop 5: 0.000 0.000 0.002
. 20	GHLT114	S. Rita	0.987	Pop 1: 0.000 0.000 0.002 Pop 3: 0.000 0.000 0.006 Pop 4: 0.000 0.000 0.002 Pop 5: 0.000 0.000 0.002
. 21	GHLT115	S. Rita	0.980	Pop 1: 0.000 0.002 0.005 Pop 3: 0.000 0.000 0.001 Pop 4: 0.000 0.000 0.005 Pop 5: 0.000 0.001 0.005
. 22	GHLT85	Teimoso	0.998	Pop 1: 0.000 0.000 0.000 Pop 2: 0.000 0.000 0.001 Pop 4: 0.000 0.000 0.001 Pop 5: 0.000 0.000 0.001
. 23	GHLT86	Teimoso	0.995	Pop 1: 0.000 0.000 0.001 Pop 2: 0.000 0.000 0.002 Pop 4: 0.000 0.000 0.002 Pop 5: 0.000 0.000 0.001

. 24	GHLT87	Teimoso	0.982	Pop 1: 0.000 0.000 0.010 Pop 2: 0.000 0.000 0.001 Pop 4: 0.000 0.000 0.001 Pop 5: 0.000 0.000 0.005
. 25	GHLT88	Teimoso	0.938	Pop 1: 0.000 0.001 0.010 Pop 2: 0.000 0.000 0.015 Pop 4: 0.000 0.000 0.021 Pop 5: 0.000 0.001 0.014
. 26	GHLT89	Teimoso	0.998	Pop 1: 0.000 0.000 0.000 Pop 2: 0.000 0.000 0.001 Pop 4: 0.000 0.000 0.001 Pop 5: 0.000 0.000 0.001
. 27	GHLT90	Teimoso	0.998	Pop 1: 0.000 0.000 0.000 Pop 2: 0.000 0.000 0.001 Pop 4: 0.000 0.000 0.001 Pop 5: 0.000 0.000 0.001
. 28	GHLT91	Teimoso	0.995	Pop 1: 0.000 0.000 0.001 Pop 2: 0.000 0.000 0.002 Pop 4: 0.000 0.000 0.002 Pop 5: 0.000 0.000 0.001
. 29	GHLT92	Teimoso	0.997	Pop 1: 0.000 0.000 0.001 Pop 2: 0.000 0.000 0.001 Pop 4: 0.000 0.000 0.000 Pop 5: 0.000 0.000 0.001
. 30	GHLT96	Ararauna	0.996	Pop 1: 0.000 0.000 0.001 Pop 2: 0.000 0.000 0.000 Pop 3: 0.000 0.000 0.001 Pop 5: 0.000 0.000 0.002
. 31	GHLT97	Ararauna	0.987	Pop 1: 0.000 0.000 0.002 Pop 2: 0.000 0.000 0.003 Pop 3: 0.000 0.000 0.002 Pop 5: 0.000 0.001 0.004
. 32	GHLT98	Ararauna	0.987	Pop 1: 0.000 0.000 0.002 Pop 2: 0.000 0.000 0.003 Pop 3: 0.000 0.000 0.002 Pop 5: 0.000 0.001 0.004
. 33	GHLT99	Ararauna	0.997	Pop 1: 0.000 0.000 0.001 Pop 2: 0.000 0.000 0.001 Pop 3: 0.000 0.000 0.001 Pop 5: 0.000 0.000 0.001
. 34	GHLT100	Ararauna	0.996	Pop 1: 0.000 0.000 0.001 Pop 2: 0.000 0.000 0.001 Pop 3: 0.000 0.000 0.001 Pop 5: 0.000 0.000 0.002
. 35	GHLT101	Ararauna	0.927	Pop 1: 0.000 0.000 0.005 Pop 2: 0.000 0.000 0.005 Pop 3: 0.000 0.000 0.004 Pop 5: 0.000 0.012 0.047
. 36	GHLT102	Ararauna	0.997	Pop 1: 0.000 0.000 0.001 Pop 2: 0.000 0.000 0.001 Pop 3: 0.000 0.000 0.001 Pop 5: 0.000 0.000 0.001
. 37	GHLT103	Ararauna	0.987	Pop 1: 0.000 0.000 0.002 Pop 2: 0.000 0.000 0.003 Pop 3: 0.000 0.000 0.002 Pop 5: 0.000 0.001 0.004
. 38	GHLT104	Ararauna	0.989	Pop 1: 0.000 0.000 0.002 Pop 2: 0.000 0.000 0.001 Pop 3: 0.000 0.000 0.003 Pop 5: 0.000 0.001 0.004
. 39	GHLT105	Ararauna	0.989	Pop 1: 0.000 0.000 0.001 Pop 2: 0.000 0.000 0.004 Pop 3: 0.000 0.000 0.003 Pop 5: 0.000 0.000 0.002
. 40	GHLT116	Maruim	0.886	Pop 1: 0.004 0.006 0.010 Pop 2: 0.016 0.036 0.031 Pop 3: 0.000 0.000 0.002 Pop 4: 0.000 0.000 0.008
. 41	GHLT117	Maruim	0.981	Pop 1: 0.000 0.001 0.005 Pop 2: 0.000 0.000 0.003 Pop 3: 0.000 0.000 0.001 Pop 4: 0.000 0.000 0.009
. 42	GHLT122	Maruim	0.931	Pop 1: 0.000 0.002 0.006 Pop 2: 0.000 0.002 0.006 Pop 3: 0.000 0.000 0.002 Pop 4: 0.000 0.028 0.022
. 43	GHLT123	Maruim	0.977	Pop 1: 0.001 0.003 0.009 Pop 2: 0.000 0.000 0.005 Pop 3: 0.000 0.000 0.001 Pop 4: 0.000 0.000 0.003
. 44	GHLT136	Maruim	0.950	Pop 1: 0.002 0.005 0.011 Pop 2: 0.000 0.009 0.016 Pop 3: 0.000 0.000 0.003 Pop 4: 0.000 0.000 0.002
. 45	GHLT140	Maruim	0.968	Pop 1: 0.001 0.007 0.014 Pop 2: 0.000 0.000 0.003 Pop 3: 0.000 0.000 0.002 Pop 4: 0.000 0.000 0.005
. 46	GHLT146	Maruim	0.962	Pop 1: 0.004 0.006 0.012 Pop 2: 0.000 0.000 0.007 Pop 3: 0.000 0.000 0.001 Pop 4: 0.000 0.000 0.007
. 47	GHLT147	Maruim	0.973	Pop 1: 0.003 0.005 0.011 Pop 2: 0.000 0.000 0.006 Pop 3: 0.000 0.000 0.001 Pop 4: 0.000 0.000 0.001
. 48	GHLT148	Maruim	0.961	Pop 1: 0.000 0.002 0.007 Pop 2: 0.000 0.004 0.009 Pop 3: 0.000 0.000 0.006 Pop 4: 0.000 0.001 0.010
. 49	GHLT149	Maruim	0.937	Pop 1: 0.004 0.007 0.012 Pop 2: 0.000 0.014 0.019 Pop 3: 0.000 0.000 0.004 Pop 4: 0.000 0.000 0.003
. 50	GHLT118	Maruim	0.949	Pop 1: 0.000 0.000 0.003 Pop 2: 0.000 0.000 0.007 Pop 3: 0.000 0.001 0.008 Pop 4: 0.000 0.015 0.016
. 51	GHLT125	Maruim	0.913	Pop 1: 0.002 0.011 0.015 Pop 2: 0.000 0.002 0.006 Pop 3: 0.000 0.001 0.007 Pop 4: 0.000 0.023 0.021

. 52	GHLT126	Maruim	0.980	Pop 1: 0.000 0.005 0.010 Pop 2: 0.000 0.000 0.001 Pop 3: 0.000 0.000 0.001 Pop 4: 0.000 0.000 0.003
. 53	GHLT129	Maruim	0.981	Pop 1: 0.000 0.003 0.008 Pop 2: 0.000 0.000 0.002 Pop 3: 0.000 0.000 0.001 Pop 4: 0.000 0.000 0.004
. 54	GHLT132	Maruim	0.973	Pop 1: 0.000 0.000 0.003 Pop 2: 0.000 0.000 0.003 Pop 3: 0.000 0.000 0.002 Pop 4: 0.000 0.007 0.010
. 55	GHLT141	Maruim	0.985	Pop 1: 0.000 0.001 0.005 Pop 2: 0.000 0.000 0.001 Pop 3: 0.000 0.000 0.001 Pop 4: 0.000 0.000 0.006
. 56	GHLT142	Maruim	0.976	Pop 1: 0.000 0.003 0.007 Pop 2: 0.000 0.000 0.001 Pop 3: 0.000 0.000 0.001 Pop 4: 0.000 0.003 0.008
. 57	GHLT119	Maruim	0.892	Pop 1: 0.000 0.001 0.007 Pop 2: 0.000 0.000 0.005 Pop 3: 0.000 0.012 0.079 Pop 4: 0.000 0.000 0.004
. 58	GHLT120	Maruim	0.985	Pop 1: 0.000 0.000 0.003 Pop 2: 0.000 0.000 0.002 Pop 3: 0.000 0.000 0.003 Pop 4: 0.000 0.000 0.007
. 59	GHLT127	Maruim	0.984	Pop 1: 0.000 0.003 0.007 Pop 2: 0.000 0.000 0.003 Pop 3: 0.000 0.000 0.001 Pop 4: 0.000 0.000 0.001
. 60	GHLT128	Maruim	0.990	Pop 1: 0.000 0.000 0.003 Pop 2: 0.000 0.000 0.003 Pop 3: 0.000 0.000 0.003 Pop 4: 0.000 0.000 0.002
. 61	GHLT130	Maruim	0.983	Pop 1: 0.000 0.003 0.007 Pop 2: 0.000 0.000 0.002 Pop 3: 0.000 0.000 0.003 Pop 4: 0.000 0.000 0.001
. 62	GHLT139	Maruim	0.989	Pop 1: 0.000 0.001 0.004 Pop 2: 0.000 0.000 0.001 Pop 3: 0.000 0.000 0.005 Pop 4: 0.000 0.000 0.001
. 63	GHLT121	Maruim	0.933	Pop 1: 0.000 0.001 0.005 Pop 2: 0.000 0.000 0.006 Pop 3: 0.000 0.000 0.005 Pop 4: 0.020 0.014 0.016
. 64	GHLT124	Maruim	0.982	Pop 1: 0.000 0.001 0.005 Pop 2: 0.000 0.000 0.000 Pop 3: 0.000 0.000 0.001 Pop 4: 0.000 0.002 0.009
. 65	GHLT138	Maruim	0.979	Pop 1: 0.000 0.000 0.002 Pop 2: 0.000 0.000 0.000 Pop 3: 0.000 0.000 0.001 Pop 4: 0.000 0.001 0.016
. 66	GHLT143	Maruim	0.945	Pop 1: 0.000 0.000 0.002 Pop 2: 0.000 0.000 0.002 Pop 3: 0.000 0.000 0.001 Pop 4: 0.000 0.028 0.022
. 67	GHLT153	Maruim	0.977	Pop 1: 0.000 0.002 0.006 Pop 2: 0.000 0.000 0.002 Pop 3: 0.000 0.000 0.005 Pop 4: 0.000 0.001 0.005
. 68	GHLT154	Maruim	0.988	Pop 1: 0.000 0.001 0.004 Pop 2: 0.000 0.000 0.001 Pop 3: 0.000 0.000 0.004 Pop 4: 0.000 0.000 0.002
. 69	GHLT131	Maruim	0.992	Pop 1: 0.000 0.001 0.005 Pop 2: 0.000 0.000 0.001 Pop 3: 0.000 0.000 0.000 Pop 4: 0.000 0.000 0.001
. 70	GHLT133	Maruim	0.963	Pop 1: 0.000 0.000 0.002 Pop 2: 0.000 0.000 0.001 Pop 3: 0.000 0.000 0.001 Pop 4: 0.000 0.016 0.017
. 71	GHLT134	Maruim	0.979	Pop 1: 0.000 0.000 0.004 Pop 2: 0.000 0.000 0.003 Pop 3: 0.000 0.000 0.003 Pop 4: 0.000 0.004 0.007
. 72	GHLT137	Maruim	0.966	Pop 1: 0.000 0.000 0.004 Pop 2: 0.000 0.001 0.009 Pop 3: 0.000 0.003 0.016 Pop 4: 0.000 0.000 0.002
. 73	GHLT144	Maruim	0.981	Pop 1: 0.000 0.001 0.004 Pop 2: 0.000 0.001 0.007 Pop 3: 0.000 0.000 0.002 Pop 4: 0.000 0.000 0.004
. 74	GHLT151	Maruim	0.946	Pop 1: 0.000 0.000 0.003 Pop 2: 0.000 0.001 0.016 Pop 3: 0.000 0.000 0.004 Pop 4: 0.000 0.012 0.017
. 75	GHLT135	Maruim	0.980	Pop 1: 0.000 0.001 0.004 Pop 2: 0.000 0.000 0.001 Pop 3: 0.000 0.000 0.003 Pop 4: 0.000 0.002 0.009
. 76	GHLT150	Maruim	0.980	Pop 1: 0.000 0.001 0.005 Pop 2: 0.000 0.000 0.002 Pop 3: 0.000 0.000 0.001 Pop 4: 0.000 0.002 0.008
. 77	GHLT155	Maruim	0.911	Pop 1: 0.000 0.003 0.011 Pop 2: 0.000 0.001 0.020 Pop 3: 0.000 0.005 0.044 Pop 4: 0.000 0.000 0.005
. 78	GHLT156	Maruim	0.980	Pop 1: 0.000 0.002 0.005 Pop 2: 0.000 0.000 0.002 Pop 3: 0.000 0.000 0.002 Pop 4: 0.000 0.002 0.006
. 79	GHLT145	Maruim	0.974	Pop 1: 0.000 0.001 0.005 Pop 2: 0.000 0.000 0.001 Pop 3: 0.000 0.000 0.001 Pop 4: 0.000 0.007 0.011

. 80	GHLT152	Maruim	0.971	Pop 1: 0.000 0.000 0.002 Pop 2: 0.000 0.000 0.002 Pop 3: 0.000 0.000 0.004 Pop 4: 0.000 0.007 0.013
. 81	GHLT157	Maruim	0.857	Pop 1: 0.000 0.002 0.006 Pop 2: 0.000 0.055 0.055 Pop 3: 0.000 0.000 0.003 Pop 4: 0.000 0.007 0.013
. 82	GHLT158	Maruim	0.967	Pop 1: 0.000 0.001 0.004 Pop 2: 0.000 0.000 0.012 Pop 3: 0.000 0.000 0.002 Pop 4: 0.000 0.005 0.010

Pop1= [Almada/Bom Fim]; Pop2= Santa Rita; Pop3= Teimoso; Pop4= Ararauna; e Pop5=Maruim

