

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo
desta dissertação será
disponibilizado somente
a partir de 05/03/2020.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José do Rio Preto

Ricardo Quiterio Sartori

Análise da estrutura genética populacional em *Myrmecophaga
tridactyla* (tamanduá-bandeira), utilizando marcadores
moleculares microssatélites

São José do Rio Preto
2018

Ricardo Quiterio Sartori

Análise da estrutura genética populacional em *Myrmecophaga tridactyla* (tamanduá-bandeira), utilizando marcadores moleculares microssatélites

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Genética, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES e FAPESP –
Proc. 2016/13023-7

Orientador: Prof^a. Dr^a. Lilian Castiglioni
Co-orientador: Prof^a. Dr^a. Adriana C. Morales

São José do Rio Preto
2018

Sartori, Ricardo Quiterio.

Análise da estrutura genética populacional em *Myrmecophaga tridactyla* (tamanduá-bandeira), utilizando marcadores moleculares microssatélites / Ricardo Quiterio Sartori. -- São José do Rio Preto, 2018

82 f.

Orientador: Lilian Castiglioni

Coorientador: Adriana C. Morales

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Genética animal. 2. Tamanduá-bandeira. 3. DNA. 4. Microsatélite. 5. Animais – População. 6. Ecologia. I. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. II. Título.

CDU – 591.15

Ricardo Quiterio Sartori

Análise da estrutura genética populacional em *Myrmecophaga tridactyla* (tamanduá-bandeira), utilizando marcadores moleculares microssatélites

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Genética, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES e FAPESP – Proc. 2016/13023-7

Comissão Examinadora

Prof^a. Dr^a. Lilian Castiglioni
UNESP – São José do Rio Preto
Orientador

Profa. Dra. Lilian Madi-Ravazzi
UNESP – São José do Rio Preto

Prof. Dr. Luis Gustavo da Conceição Galego
UFTM – Uberaba

São José do Rio Preto
05 de março de 2018

“A onça, o tamanduá, o tucano, não conhecem as fronteiras geográficas arbitrariamente desenhadas pelo homem. A Biodiversidade é uma só”.

Carlos Minc

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e aos meus pais pelo presente da vida. Agradeço muito à minha avó, por tudo, ao meu querido irmão, às minhas irmãs, tias, tios, primos e primas, pelo carinho e incentivo. Agradeço à minha mulher pelo companheirismo, paciência e amor e também a toda sua família pelo apoio e respeito.

Agradeço à Professora Dra. Lilian Castiglioni, pela oportunidade, orientação, dedicação, ensinamentos e paciência. A orientadora que eu tive o prazer de encontrar e que todos gostariam de ter. Agradeço profundamente a oportunidade e a confiança que depositou em mim para a realização deste trabalho. Muito obrigado por tudo.

À Professora Dra. Adriana Coletto Morales, pela co-orientação, por aceitar participar do projeto, pela colaboração e por ceder as amostras de Santa Bárbara para análise, as quais foram essenciais para a realização do trabalho.

À Professora Dra. Cinara Brandão, pela oportunidade, pelos conselhos e pela confiança ao abrir as portas do Laboratório de Imunogenética na FAMERP e ao Professor Dr. Luiz Carlos de Mattos, pelos grandes ensinamentos e por todas as conversas profissionais e pessoais.

Agradeço ao Professor Dr. Diego José Santana pelo conhecimento compartilhado e troca de idéias, à Professora Dra. Lilian Madi-Ravazzi, pela oportunidade de realização do Estágio Docência na disciplina de Evolução e pelas sugestões propostas e também ao Professor Dr. Luis Gustavo Galego pelas importantes contribuições, as quais foram essenciais para a melhoria do presente trabalho.

A todos os Professores que fizeram parte da minha formação, desde o ensino primário até a Pós-graduação, os quais foram fundamentais para o meu crescimento pessoal e profissional.

Agradeço a todos do Hospital Veterinário da UNIRP, em especial à equipe do SACCAS, pela parceria e pelas amostras disponibilizadas e a todos do Zoológico Municipal de São José do Rio Preto, em especial ao médico veterinário Bernhard Von Schimonsky, pela disponibilidade, por permitir e realizar a coleta de amostras dos animais.

Agradeço muito a todos os meus amigos e colegas do Laboratório de Imunogenética da FAMERP, sem exceções, pela companhia nos dias e noites desta jornada. Todos auxiliaram de alguma maneira, mas gostaria de agradecer em especial, aos meus amigos Alessandro, Marcos e Warlen, pela amizade e pela força.

Agradeço também à Emília, à Bruna e à Samara, pela amizade, troca de conhecimento e pelas ajudas com os softwares.

Um agradecimento especial aos meus amigos, principalmente aos velhos amigos, que sempre estiveram ao meu lado. A amizade duplica as alegrias e divide as tristezas.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biociências do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto por tudo.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro concedido para realização do projeto, os quais foram fundamentais para a realização deste trabalho.

Todos contribuíram de alguma forma para que eu chegasse até aqui.

RESUMO

O tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) tem sido uma das principais vítimas da fragmentação de habitat, portanto é fundamental a realização de estudos para a conservação da espécie. Desta maneira, estudos genéticos populacionais permitem avaliar os impactos da fragmentação de habitat nas populações selvagens. O objetivo do trabalho foi analisar a variabilidade genética e a estrutura populacional do tamanduá-bandeira, utilizando marcadores moleculares microsatélites específicos. Foram analisados 34 indivíduos e seis locos. As genotipagens foram realizadas por eletroforese em gel e por eletroforese capilar automatizada. Os resultados indicaram alta diversidade genética, diferenciação moderada entre as populações, estruturação populacional, baixas taxas de migração e o isolamento por distância das populações. As análises bayesianas de estrutura identificaram três agrupamentos e estrutura bem definida em uma das populações. A análise bayesiana de estrutura espacial também mostrou estrutura populacional, três agrupamentos e revelou que os indivíduos ou populações têm baixa probabilidade posterior de pertencer às populações ou áreas mais distantes. Os resultados da AMOVA mostraram que a maior parte da variância está dentro das populações ou subpopulações, revelando a importância e a prioridade na conservação destas. Sugerimos que os resultados encontrados indicam que as populações de tamanduá-bandeira estão evoluindo em um modelo de "Isolamento por Distância em Populações em Desequilíbrio", que prediz que a falta de migração aumenta as diferenças entre as subpopulações; isolando-as, mas mantendo a variabilidade genética nas subpopulações isoladas, influenciadas pela deriva genética. Assim, as análises genéticas e os modelos estatísticos utilizados permitiram obter informações sobre a variabilidade genética e a estrutura populacional da espécie na região noroeste e sudoeste do estado de São Paulo, indicando a influência da fragmentação de habitat no fluxo gênico, além de demonstrar a necessidade do manejo ou possíveis translocações das populações a fim de evitar extinções locais e a conseqüente perda da diversidade genética destas. Portanto, o presente estudo revelou a importância da conservação das populações do estado de São Paulo para manutenção da diversidade genética da espécie e forneceu dados que podem contribuir para a conservação local do tamanduá-bandeira.

Palavras-chave: DNA microsatélite, estrutura populacional, genética da conservação, *Myrmecophaga tridactyla*, tamanduá-bandeira.

ABSTRACT

The giant anteater (Myrmecophaga tridactyla) has been one of the main victims of habitat fragmentation, so it is fundamental to carry out studies for the conservation of the species. This way, population genetic studies allow analyzing the impacts of habitat fragmentation on wild populations. The aim of this work was to analyze the genetic variability and the population structure of the giant anteater, using specific microsatellite molecular markers. Thirty-four individuals and six loci were analyzed. The DNA fragment analysis and genotyping were performed by gel electrophoresis and by automated capillary electrophoresis. The results indicated high genetic diversity, moderate population differentiation, population structure, low migrations rates and indicate isolation by distance in the populations. Bayesian structure analyzes identified three clusters and well-defined structure in one of the populations. Bayesian spatial structure analysis also showed population structure, three clusters and revealed that individuals or populations have low posterior probability to belong to more distant populations or areas. AMOVA results showed that most of the variance is within populations or subpopulations, revealing the importance and priority in the conservation of these subpopulations. We suggest that the results indicate that the giant anteater populations are evolving in a model of "Isolation by Distance in Non-Equilibrium Populations", which predicts that lack of migration increases the differences between subpopulations; isolating them, but maintaining genetic variability in isolated subpopulation, influenced by genetic drift. Thus, the genetic analyzes and the statistical models used in this work allowed to obtain information about the genetic variability and population structure of the species in the northwest and southwest region of São Paulo state, indicating the influence of habitat fragmentation in the gene flow and demonstrating the need for management or possible population translocations in order to avoid local extinctions and the consequent loss of its genetic diversity. Therefore, the present study revealed the importance of the conservation of São Paulo state populations to the maintenance of genetic diversity of the species and provided data that may contribute to the local conservation of the giant anteater.

Key words: conservation genetics, giant anteater, microsatellite DNA, Myrmecophaga tridactyla, population structure.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa ilustrando a distribuição atual da espécie (na área amarela) e os locais onde é considerado extinto (áreas vermelhas). Fonte: IUCN (2017).....	15
Figura 2. Área aproximada da Estação Ecológica do Noroeste Paulista e entorno (cidades: São José do Rio Preto e Mirassol) Fonte: MAPS (2017).....	23
Figura 3. Área aproximada da Estação Ecológica de Santa Bárbara. Fonte: MAPS (2017).....	23
Figura 4. Área total de estudo. Quadrados vermelhos indicam os locais de captura/coleta dos indivíduos ao longo do interior do estado de São Paulo. Fonte: MAPS (2017).....	25
Figura 5. Contenção mecânica do animal, com a ajuda do cambão, para posterior contenção química.....	29
Figura 6. Contenção química (sedação leve), para coleta de amostras de sangue.....	29
Figura 7. Após sedação leve, foram coletadas as amostras de sangue, via veia jugular.....	29
Figura 8. Fotodocumentação de um dos fragmentos microssatélites analisado, de 274pb - MtriUSP07 (GARCIA et al., 2005).....	32
Figura 9a-b. Análise no software GeneMapper®.....	35

Figura 10a-b. Gráficos gerados no programa STRUCTURE HARVESTER após a análise no STRUCTURE, a partir da genotipagem manual (a) e da genotipagem automatizada (b).....	42
Figura 11a-b. Tabelas referentes aos valores calculados pelo programa STRUCTURE HARVESTER, a partir da genotipagem manual (a) e automatizada (b).....	43
Figura 12a-b. Resultado após o processamento automático dos dados, no servidor CLUMPAK (KOPELMAN, 2015), pela genotipagem manual (a) e pela genotipagem automatizada (b).....	44
Figura 13. Esquema comparando uma imagem de satélite da área e um dos mapas gerados pelo programa GENELAND.....	46
Figura 14a-b. Resultado da genotipagem manual (a) e automatizada (b). Identificação de três agrupamentos pelo programa computacional GENELAND, em concordância com os dados preliminares do STRUCTURE.....	47
Figura 15a-b. Mapas gerados pelo programa GENELAND, a partir da matriz de genotipagem manual (a) e automatizada (b).....	48
Figura 16a-b-c. Mapas de atribuição individual gerados no GENELAND, a partir da genotipagem manual.....	49
Figura 17a-b-c. Mapas de atribuição individual gerados no GENELAND, a partir da genotipagem automatizada.....	50
Figura 18a-b. Análise da estrutura espacial, apenas das populações das Estações Ecológicas a partir da genotipagem manual (a) e automatizada (b). Diferentes cores indicam agrupamentos distintos.....	51

Figura 19a-b. Mapas de probabilidade posterior referentes à análise das populações das Estações Ecológicas pela genotipagem manual.....	52
Figura 20a-b. Mapas de probabilidade posterior referentes à análise das populações das Estações Ecológicas pela genotipagem automatizada. Resultados foram corroborados pela análise capilar.....	52
Figura 21a-b. Gráficos gerados pelo programa ARLEQUIN 3.5 (utilizando as funções do R-LEQUIN), a partir da genotipagem manual (a) e automatizada (b), em relação ao número de alelos.....	54
Figura 22a-b. Gráficos gerados pelo programa ARLEQUIN 3.5 (utilizando as funções do R-LEQUIN), a partir da genotipagem manual (a) e automatizada (b), em relação aos níveis de heterozigosidade.....	55
Figura 23a-b. Gráficos do coeficiente de diferenciação F_{st} gerados pelo programa ARLEQUIN 3.5 (utilizando as funções do R-LEQUIN), a partir de genotipagem manual (a) e automatizada (b).....	57
Figura 24a-b. Dendogramas UPGMA gerados a partir da genotipagem manual (a) e automatizada (b), utilizando a distância de Nei.....	58
Figura 25. Esquema ilustrativo da estrutura de populações / metapopulações em desequilíbrio. Fonte: Universidade de Idaho [online], 2010. Baseado em: HARRISON, TAYLOR (1997).....	66
Figura 26. Simulação do declínio da heterozigosidade em animais de vida longa. Adaptado de HAILER et al. (2006).....	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Lista contendo informações básicas dos 34 tamanduás-bandeira.....	26
Tabela 2. Oligonucleotídeos microssatélites específicos desenvolvidos para a espécie <i>M. tridactyla</i> (GARCIA et al., 2005).....	30
Tabela 3. Estatísticas $F(\theta)$ médias e Testes de significância (genotipagem manual).....	60
Tabela 4. Estatísticas $F(\theta)$ médias e Testes de significância (genotipagem automatizada).....	60
Tabela 5. Análise de Variância Molecular (AMOVA) a partir da genotipagem manual.....	61
Tabela 6. Análise de Variância Molecular (AMOVA) a partir da genotipagem capilar automatizada.....	61

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 OBJETIVOS.....	19
2.1 Objetivo geral.....	19
2.2 Objetivos específicos.....	19
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	20
3.1 Áreas de estudo.....	20
3.2 Obtenção das amostras.....	24
3.2.1 SACCAS - Hospital Veterinário “Dr. Halim Atique”.....	27
3.2.2 Zoológico Municipal de São José do Rio Preto.....	28
3.2.3 Estação Ecológica de Santa Bárbara.....	28
3.3 Extração de DNA.....	30
3.4 Marcadores moleculares.....	30
3.5 Genotipagem manual e condições de amplificação.....	31
3.6 Genotipagem automatizada e condições de amplificação.....	33
3.7 Análises estatísticas.....	36
3.8 Recursos computacionais e modelos estatísticos.....	39
4 RESULTADOS.....	41
4.1 Eficiência dos marcadores microssatélites.....	41
4.2 Análise de estrutura populacional.....	41
4.3 Diversidade genética e Equilíbrio de Hardy-Weinberg.....	53
4.4 Coeficientes e estatísticas F	56
4.5 Distância genética.....	58
4.6 Número de migrantes.....	59
4.7 Análise de Variância Molecular – AMOVA.....	59
5 DISCUSSÃO.....	62
5.1 Tamanduás-bandeira: diferentes genes, diferentes respostas.....	62
5.2 Hipóteses evolutivas.....	64
5.3 Fatores biológicos e diversidade genética.....	67
5.4 Estratégias de conservação para a espécie.....	70
6 CONCLUSÕES.....	74
7 REFERÊNCIAS.....	75

1. INTRODUÇÃO

O Brasil abriga a maior diversidade biológica entre os 17 países “megadiversos” do mundo, ou seja, países que concentram a maioria das espécies da Terra e é, portanto, detentor de uma das maiores riquezas naturais do planeta. Proporcionalmente à enorme biodiversidade, são os impactos ambientais causados pelo desenvolvimento econômico, visíveis, principalmente, no Sudeste Brasileiro, onde inúmeras espécies estão sob ameaça de extinção (CUBAS, 2006; BOLZANI, 2016).

Dos impactos ambientais mais drásticos, podemos destacar o processo de desmatamento em áreas florestais e a fragmentação de habitats por interferência antrópica, os quais provocam diversos distúrbios ecológicos e afetam a diversidade biológica de uma região (CONDE; VERA; ROCHA, 2006; SANTOS; PACHECO; PASSAMANI, 2016).

Esses impactos ambientais aumentam a perda da biodiversidade e o declínio geral no tamanho das populações de espécies selvagens, além do declínio na extensão, condição e conectividade de muitos habitats, com a aceleração dos níveis de risco de extinção (BUTCHART et al., 2010; BRASIL, 2016).

A destruição parcial das áreas florestais leva à formação de fragmentos isolados que, por sua vez, funcionam como “ilhas” de mata, cercadas por habitats não florestados. As conseqüências do processo de fragmentação florestal têm sido intensamente estudadas, principalmente pela biologia da conservação, como forma de tentar prever as características mais adequadas para a formação de reservas florestais e conservação da fauna (FRANKHAM, 1995; PERICO; CEMIN; LIMA, 2005; WILSON et al., 2016).

Neste cenário, uma das principais vítimas da fragmentação de habitat e interferência antrópica é o tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*; Linnaeus, 1758), objeto do presente estudo. Como conseqüência, é um dos animais mais ameaçados da fauna brasileira, incluído na categoria “*Vulnerable*” (VU), ou seja, vulnerável tanto em nível global quanto nacional (IUCN, 2017).

O tamanduá-bandeira apresenta distribuição original do sul de Belize e da Guatemala até o norte da Argentina e do Uruguai. Entretanto está provavelmente extinto na Guatemala e em Belize, no Uruguai e em Santa Catarina (figura 1). A espécie está listada também como extinta localmente nos estados do Rio de Janeiro e Espírito Santo e criticamente ameaçada no Paraná e Rio Grande do Sul (MIRANDA; BERTASSONI; ABBA, 2014).

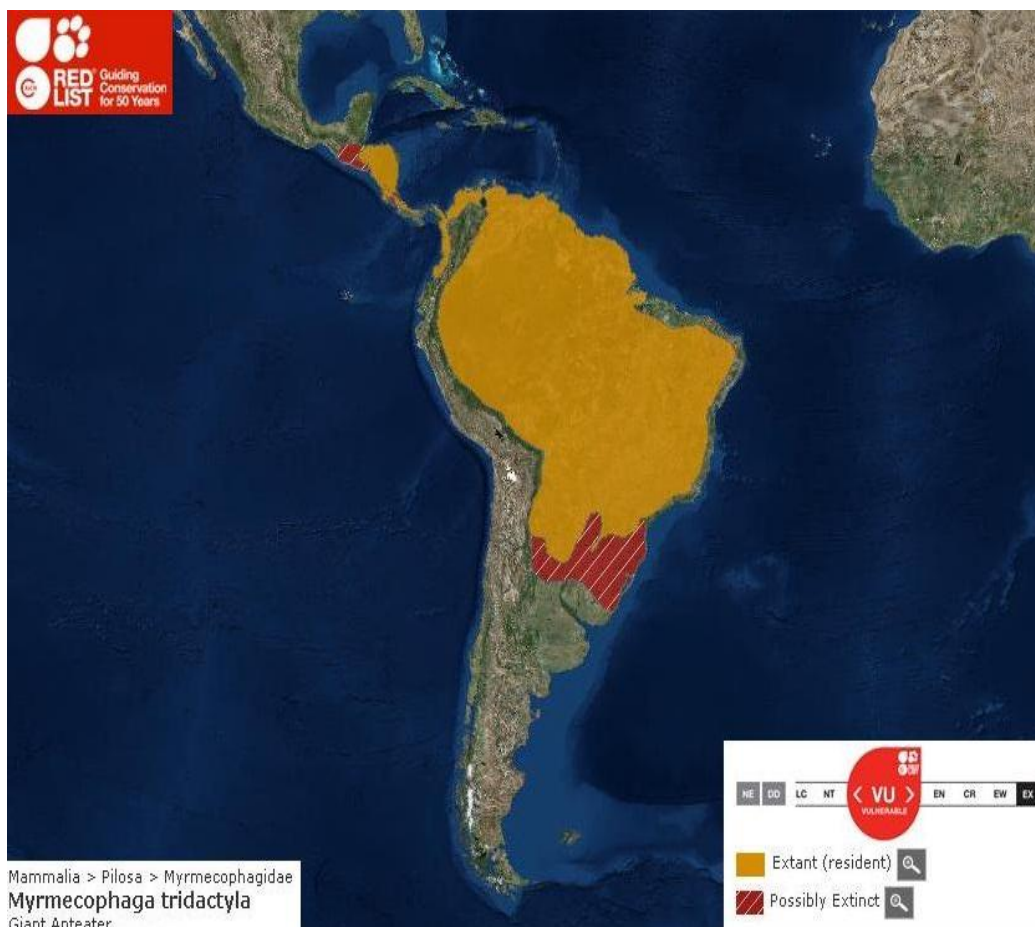


Figura 1. Mapa ilustrando a distribuição atual da espécie (na área amarela) e os locais onde é considerado extinto (áreas vermelhas). Fonte: IUCN (2017).

No Brasil e particularmente no estado de São Paulo, a rápida transformação da paisagem natural em plantações de soja, cana-de-açúcar e a urbanização debilitaram as regiões de savanas em mais de 85% desde a década de 90, fragmentando habitats e exercendo forte pressão seletiva sobre as populações remanescentes de tamanduá-bandeira (GARCIA et al., 2005).

Algumas características biológicas do animal podem ser indicativas de baixas taxas de crescimento populacional. Entre elas, podemos destacar: baixa taxa metabólica, baixa capacidade termorregulatória, pequeno potencial reprodutivo, cuidado parental prolongado, longo período de gestação e hábitos solitários (DINIZ; BRITO, 2013).

A espécie também apresenta características que evidenciam sua alta vulnerabilidade frente aos impactos ambientais. Devido aos seus longos pêlos facilmente inflamáveis e à baixa mobilidade, os tamanduás-bandeira são atingidos com frequência por grandes incêndios florestais, que podem causar a morte desses indivíduos. Em agosto de 1994, um incêndio de grandes proporções queimou 97% do Parque Nacional das Emas, Estado de Goiás, Brasil, inclusive todas as áreas de cerrado aberto. Estudos locais estimaram que em média 332 tamanduás-bandeira morreram pela ação direta do fogo (CHEREM et al., 2007; COLLEVATTI et al., 2007; DURIGAN; SIQUEIRA; FRANCO, 2007).

Por ser um animal de baixa mobilidade e possuir visão fraca, além das mortes ocasionadas pelos incêndios e pela queima da cana-de-açúcar, a espécie é uma das principais vítimas de atropelamentos em rodovias. A mortalidade causada por atropelamentos pode ameaçar profundamente a persistência da população de tamanduá-bandeira em permanecer nas áreas extremamente fragmentadas (DINIZ; BRITO, 2013; DINIZ; BRITO, 2015).

Devido às ameaças e características da espécie, a tendência é que as populações restantes de tamanduá-bandeira progressivamente tornem-se mais isoladas. Sabe-se que as reduções de tamanho e alcance das populações aumentam sua vulnerabilidade à extinção estocástica, levando em vários casos à extinção local (CLOZATO et al., 2017).

Atualmente, é amplamente aceito que a variabilidade e a estrutura genética das populações desempenham um papel importante na persistência e adaptação das populações aos ambientes em mudança. A estruturação de populações e a perda de diversidade genética adaptativa colocam populações selvagens em maior risco de extinção e a Genética da Conservação é uma das ferramentas que podem auxiliar na avaliação destes riscos (FRANKHAM et al., 2002; FRANKHAM, 2005, FRANKHAM, 2015; CLOZATO et al., 2017).

Sabe-se que estes processos de alteração ambiental diminuem a variabilidade genética e aumentam a divergência interpopulacional devido ao aumento da deriva, das taxas de endogamia e da redução do fluxo gênico. A diversidade genética, os níveis de endogamia e as medidas diretas e indiretas de fluxo gênico fornecem as melhores estimativas sobre o quanto a fragmentação atua estruturando a composição genotípica das populações (EWERS; DIDHAM, 2006).

Estes parâmetros genéticos populacionais podem ser utilizados na quantificação do grau de fragmentação e na caracterização da estrutura genética espacial de uma população sendo considerados de extrema importância para caracterização de populações naturais por retratarem o quanto as alterações ambientais influenciam a diminuição da variabilidade genética populacional (FRANKHAM, 2005).

Estudos de variabilidade genética nas populações e indivíduos remanescentes de uma espécie podem ser fundamentais para a compreensão da dinâmica populacional, das taxas de migração, da estrutura genética, das similaridades entre isolados populacionais e dos efeitos da fragmentação de habitat, sendo importantes ferramentas para subsidiar programas de conservação de espécie (COLLEVATTI et al., 2007; BARROS et al., 2011; COSTA et al., 2016).

Portanto, a compreensão de como fatores geográficos e ambientais caracterizam a variação genética e a estrutura da população, evidencia os processos e padrões de fluxo de genes, detecção de descontinuidades genéticas e a correlação destas descontinuidades com características da paisagem. Assim, as características ecológicas do habitat e o perfil genético das populações são ferramentas que permitem a análise da correlação entre a fragmentação do habitat e a viabilidade de populações, para traçar planos de conservação para espécies ameaçadas (MANEL, 2003). Adicionalmente, é necessário considerar as dinâmicas populacionais locais, influenciadas pela ocupação de redes de habitats altamente fragmentadas (CANALE et al., 2012; WEISS; LEESE, 2016).

Em relação aos estudos genéticos, os marcadores moleculares são amplamente empregados para estimar parâmetros genéticos, como o fluxo gênico e o grau de diferenciação dentro e entre as populações. Assim, o foco da Genética da

Conservação é a análise da estruturação genética recente nas populações e para isso requer marcadores que apresentem altas taxas de evolução.

Dentre os marcadores moleculares utilizados para estudos de variabilidade genética em populações, destacam-se os microssatélites (WAN, 2004).

Os marcadores microssatélites têm se mostrado uma ferramenta extremamente vantajosa e são particularmente adequados em estudos de Genética da Conservação. São herdados de maneira mendeliana co-dominante e podem revelar heterozigotos e homozigotos em cada indivíduo. Suas aplicações se estendem por diferentes áreas, como: estudos filogenéticos, forenses, genética de populações, genética da paisagem e manejo. Estão dispersos ao longo do genoma nuclear de organismos eucarióticos e seus polimorfismos são o resultado de variações no número de repetições em *tandem* em uma curta seqüência de DNA (TELLES, 2010; SIGRIST, 2011; WAN, 2004; COSTA et al., 2016).

Muitos estudos conservacionistas utilizam marcadores nucleares e mitocondriais para inferir dados sobre o perfil genético das populações ameaçadas (SARRE; GEORGES, 2009). É amplamente aceito que os microssatélites e o DNA mitocondrial possuem altas taxas de mutação, porém, deve-se atentar ao fato de que as taxas de mutação de DNA mitocondrial e microssatélites podem variar consideravelmente, dependendo da espécie em estudo (WAN, 2004; ALLIO et al., 2017). Todavia, em mamíferos, os genes mitocondriais geralmente evoluem mais lentamente que microssatélites. Portanto, os microssatélites são marcadores moleculares adequados para investigar os impactos recentes em populações de tamanduás-bandeira, devido à alta taxa de mutação (WAN, 2004).

Em suma, em razão da intensa fragmentação de habitat com indiscriminado aumento das fronteiras agrícolas e expansão urbana, é indispensável a realização de estudos genéticos locais sobre o perfil de populações de animais silvestres utilizando-se marcadores moleculares adequados, principalmente em espécies vulneráveis e ameaçadas de extinção. Assim, o presente trabalho objetivou analisar os impactos da fragmentação do habitat na diversidade genética e na estrutura populacional de *M. tridactyla* (tamanduá-bandeira), nas regiões noroeste e sudoeste do estado de São Paulo, utilizando marcadores moleculares microssatélites específicos.

6. CONCLUSÕES

- A fragmentação de habitat influencia as dinâmicas populacionais de *M. tridactyla*, subdividindo as populações em três grupos na região estudada.

-A estrutura genética populacional das populações de *M. tridactyla* na Estação Ecológica de Santa Bárbara encontra-se bem definida em relação às populações do Noroeste Paulista.

- As populações apresentaram baixo fluxo gênico e efeitos do isolamento por distância, apesar da manutenção da diversidade genética.

- Devido à alta diversidade genética encontrada nas populações, podemos inferir que a região noroeste paulista e a Estação Ecológica de Santa Bárbara servem como reduto genético para *M. tridactyla*.

- As subpopulações isoladas em pequenos fragmentos, apresentam uma maior variância genética, revelando a importância da conservação destas subpopulações e a prioridade na criação de planos de manejo.

7. REFERÊNCIAS

ALLIO, R.; DONEGA, S.; GALTIER, N.; NABHOLZ, B. Large Variation in the Ratio of Mitochondrial to Nuclear Mutation Rate across Animals: Implications for Genetic Diversity and the Use of Mitochondrial DNA as a Molecular Marker, **Molecular Biology and Evolution**, v. 34, n. 11, p. 2762–2772, 2017.

APPLIED User guide. DNA Fragment Analysis by Capillary Electrophoresis, 4474504, Rev. A, Life Technologies Corporation, 2012.

ARIF, I. A.; KHAN, H. A.; SHOBRAK, M.; AL HOMAIDAN, A. A.; AL SADOON, M.; AL FARHAN, A. H.; BAHKALI, A. H. Interpretation of electrophoretograms of seven microsatellite loci to determine the genetic diversity of the Arabian Oryx. **Genetics and Molecular Research**, v. 9, p. 259-265, 2010.

BARROS, E. A.; RIBEIRO, M. N.; ALMEIDA, M. J. O.; ARAUJO, A. M. Population Structure and Genetic Variability of the Marota goat breed, **Archivos de Zootecnia**, v. 60, n. 231, 2011.

BARTON, N. H.; SLATKIN, M. A Quasi-Equilibrium Theory of the Distribution of Rare Alleles in a Subdivided Population. **Heredity**, v. 56, p. 409-415, 1986.

BERTASSONI, A. Ecologia espacial e populacional de tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) em Estação Ecológica de domínio Cerrado, São Paulo, Brasil, 2017, 127 folhas. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista.

BOLZANI, V. S. Biodiversidade, bioprospecção e inovação no Brasil. **Ciência e Cultura** [online] vol.68, n.1, p. 04-05, 2016.

BRASIL, 5º relatório nacional para a Convenção Sobre Diversidade Biológica / Ministério do Meio Ambiente. Secretaria de Biodiversidade e Florestas; Coordenador Carlos Alberto de Mattos Scaramuzza, 2016.

BUTCHART, S. H. M.; WALPOLE, M.; COLLEN, B., et al. Global Biodiversity: Indicators of Recent Declines, **Science**, v. 328, p. 1164, 2010.

CANALE, G. R.; PERES, C. A.; GUIDORIZZI, C. E.; GATTO, C. A. F.; KIERULFF, M. C. M. Pervasive Defaunation of Forest Remnants in a Tropical Biodiversity Hotspot. **Plos One**, v. 7, n.8, 2012.

CAVALCANTI, R.B.; JOLY, C.A. Biodiversity and conservation priorities in the cerrado region. Pp. 351-367 in Oliveira, P.S. & Marquis, R.J. (eds.). The cerrados of Brazil ecology and natural history of a neotropical savanna. Columbia University Press, New York, 2002.

CHENG, A., MASSAWE, F. ISMAIL I, MOHAMAD OSMAN4 , HASHIM H. High resolution agarose-based system for single-tube genotyping of fgr and Waxy genes in rice: MAGE to displace PAGE? **Plant Omics Journal**, v. 8, n.4, p.348-352, 2015.

CHEREM, J. J.; KAMMERS, M.; GHIZONI JR, I. R.; MARTINS, A. Mamíferos de médio e grande porte atropelados em rodovias do Estado de Santa Catarina, sul do Brasil, **Biotemas**, v.20, p. 81-96, 2007.

CLOZATO, C. L.; MIRANDA, F. R.; LARA-RUIZ, P.; COLLEVATTI, R. G.; SANTOS, F. R. Population structure and genetic diversity of the giant anteater (*Myrmecophaga tridactyla*: Myrmecophagidae, Pilosa) in Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, v.40: 1, 2017.

COLLEVATTI, R. G.; LEITE, K. C. E.; MIRANDA, G. H. B.; RODRIGUES, F. H. G. Evidence of high inbreeding in a population of the endangered giant anteater, *Myrmecophaga tridactyla* (Myrmecophagidae), from Emas National Park, Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, v. 30, n. 1, p. 112-120, 2007.

CONDE, C. F.; VERA Y.; ROCHA, C. F. D. Habitat disturbance and small mammal richness and diversity in an Atlantic rainforest area in southeastern Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 66, p. 983-990, 2006.

CORNUET, J. M.; PIRY, S.; LUIKART, G.; ESTOUP, A.; SOLIGNAC, M. New Methods Employing Multilocus Genotypes to Select or Exclude Populations as Origins of Individuals, **Genetics**, v. 153, n. 4, p. 1989-2000, 1999.

COSTA, M. S.; ARAUJO, A. M.; CAMPELO, J. E. G.; MACHADO, T. M. M.; PIRES, L. C.; EGITO, A. A.; MARIANTE, A. S. Survey and morphological characterization of Brazilian local goat breed Gurgueia in its origin. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 17, n. 2, p. 127-138, 2016.

CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R., CATÃO-DIAS, J. L. Tratado de animais selvagens – Medicina Veterinária. São Paulo, Roca, p. 1354, 2006.

DAVID, L. S.; SCOTT, L. S.; STEPHEN, C. R. An alternate universal forward primer for improved automated DNA sequencing of M13. **BioTechniques**, v. 15, n. 4, p. 580-582, 1993.

DEAN, W. Aferroefogo: a história e a devastação da mata atlântica brasileira. Trad. Cid Knipel Moreira. São Paulo: Companhia das Letras, 1996.

DINERSTEIN, E.; MCCRACKEN, G. F. Endangered Greater One-horned Rhinoceros Carry High Levels of Genetic Variation, **Conservation Biology**, v. 4, n. 4, p. 417-422, 1990.

DINIZ, M. F.; BRITO, D. Threats to giant anteater, *Myrmecophaga tridactyla* (Pilosa: Myrmecophagidae), viability in a protected Cerrado remnant encroached by urban expansion in central Brazil. **Zoologia**, v. 30, p. 151–156, 2013.

DINIZ, M. F.; BRITO, D. Protected areas effectiveness in maintaining viable giant anteater (*Myrmecophaga tridactyla*) populations in an agricultural frontier. **Revista Natureza e Conservação**, v. 13, n 2, p. 145-151, 2015.

DURIGAN, G.; SIQUEIRA, M. F.; FRANCO, G. A. D. C.; RATTER, J. M. Seleção de fragmentos prioritários para a conservação do cerrado no Estado de São Paulo. **Revista do Instituto Florestal**, v. 18, n. 1, p. 23-37, 2006

DURIGAN, G.; SIQUEIRA, M. F.; FRANCO, G. A. D. C. Threats to the Cerrado remnants of the state of São Paulo, Brazil. **Scientia Agricola**, Piracicaba, Brazil, v.64, n.4, p.355-363, 2007.

EARL, D. A.; VONHOLDT, B. M. Structure Harvester: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. **Conservation Genetics Resources**, v. 4, p.359-361, 2012.

EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study, **Molecular Ecology**, v. 14, p. 2611–2620, 2005.

EWERS, R. M.; DIDHAM, R. K. Confounding factors in the detection of species responses to habitat fragmentation. **Biological Reviews**, Oxford, v. 81, p. 117-142, 2006.

EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P. E.; QUATTRO, J. M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial-DNA restriction data. **Genetics**, v. 131, p. 479-491, 1992.

EXCOFFIER, L.; LISCHER, H. E. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular Ecology Resources**, v. 10, n. 3, p. 564-567, 2010.

FRANKHAM, R. Conservation genetics. **Annual Review of Genetics**, v. 29, p. 305-327, 1995.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D.; BRISCOE, D. A. Introduction to Conservation Genetics. Cambridge University Press, Cambridge, 2002.

FRANKHAM, R. Genetics and extinction. **Biological Conservation**, v. 126, p. 131-140, 2005

FRANKHAM, R. Genetic rescue of small inbred populations: meta-analysis reveals large and consistent benefits of gene flow, **Molecular Ecology**, v. 24, n. 11, p. 2610-2618, 2015.

FREI, M.; CSENCICS, D.; BRODBECK, S.; SCHWEIZER, E.; BUHLER, C.; GUGERLI, F.; BOLLIGER, J. Combining landscape genetics, radio-tracking and long-term monitoring to derive management implications for Natterjack toads (*Epidalea calamita*) in agricultural landscapes, **Journal for Nature Conservation**, v. 32, p. 22–34, 2016.

GARCIA, J. E.; VILAS BOAS, L. A.; LEMOS, M. V. F.; MACEDO LEMOS, E. G.; CONTEL, E. P. B. Identification of microsatellite DNA markers for the giant anteater *Myrmecophaga tridactyla*. **Journal of Heredity**, v. 96, p. 600-602, 2005.

GARNIER-GÉRÉ, P., CHIKHI, L. Population Subdivision, Hardy–Weinberg Equilibrium and the Wahlund Effect, **Essential for Life Sciences**, 2013.

GOOGLE MAPS. Imagens de satélite, 2017. Disponível em: <www.googlemaps.com> Acesso em: 20 de outubro de 2017.

GOULART, I.C.G.R.; MEROTTO JUNIOR, A.; NUNES, A.L.; BERED, F. Optimization of the Use of Micro-satellite Molecular Markers in Weed Science Studies, **Revista Planta Daninha**, v. 29, p. 1175-1181, 2011.

GREENBAUM, G.; TEMPLETON, A. R.; ZARMI, Y.; BAR-DAVID, S. Allelic Richness following Population Founding Events—A Stochastic Modeling Framework Incorporating Gene Flow and Genetic Drift, **Plos One**, v. 10, n. 3, 2014.

GUILLOT, G.; MORTIER, F.; ESTOUP, A. GENELAND: A computer package for landscape genetics. **Molecular Ecology Notes**, v. 5, p. 712-715, 2005.

GUPTA, V., et al. Gel versus capillary electrophoresis genotyping for categorizing treatment outcomes in two antimalarial trials in Uganda. **Malaria Journal**, v. 9, n. 1, p. 19, 2010.

HAILER, F.; HELANDER, B.; FOLKESTAD A. O.; GANUSEVICH, S. A.; GARSTAD, S.; HAUFF, P.; KOREN, C.; NYGÅRD, T.; VOLKE, V.; VILÀ, C.; ELLEGREN, H. Bottlenecked but long-lived: high genetic diversity retained in white-tailed eagles upon recovery from population decline, **Biology Letters**, v. 22, n. 2, p. 316-319, 2006.

HALDANE, J. B. S. An exact test for randomness of mating, **Journal of Genetics**, v. 52, n. 1, p. 631-635, 1954.

HARRISON, S.; TAYLOR, A. D. Empirical evidence for metapopulation dynamics, in *Metapopulation Dynamics: Ecology, Genetics and Evolution* (Hanski, I. and Gilpin, M.E., eds), Academic Press, 1997.

IF – INSTITUTO FLORESTAL. Plano de Manejo da Estação Ecológica de Santa Bárbara, Governo do Estado de São Paulo, São Paulo, 2011.

IF – INSTITUTO FLORESTAL. Proposta de criação da floresta estadual do Noroeste Paulista, Governo do Estado de São Paulo, São Paulo, 2014.

IUCN. Red List of Threatened Species. Version 2017-2. Disponível em: <www.iucnredlist.org>. Acesso em: 15 de agosto de 2017.

KOPELMAN, N. M.; MAYZEL, J.; JAKOBSSON, M.; ROSENBERG, N. A.; MAYROSE, I. CLUMPAK: a program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K, **Molecular Ecology Resources**, v. 15, n. 5, p. 1179-1191, 2015.

- KORBIE, D. J.; MATTICK, J. S. TouchDown PCR for increased specificity and sensitivity in PCR amplification, **Nature Protocols**, n. 3, p. 1452-1456, 2008.
- KUSUKAWA, N.; WHITE, H. W. Agarose-Based System for Separation of Short Tandem Repeat Loci, **BioTechniques**, v. 22, p. 976-980, 1997.
- LACY, R. C. Importance of Genetic Variation to the Viability of Mammalian Populations, **Journal of Mammalogy**, v. 78, n. 2, p. 320-335, 1997.
- LATCH, E. K.; DHARMARAJAN, G.; GLAUBITZ, J. C.; RODHESJR, O. E. Relative performance of Bayesian clustering software for inferring population substructure and individual assignment at low levels of population differentiation, **Conservation Genetics**, v. 7, n. 2, p 295–302, 2006.
- LONZA, R. Manual product instructions, MetaPhor Agarose, Lonza Rockland Inc., 2007.
- MANEL, S.; BERTHIER, M. P.; LUIKART, G. Detecting Wildlife Poaching: Identifying the Origin of Individuals with Bayesian Assignment Tests and Multilocus Genotypes, **Conservation Biology**, v. 16, n. 3, p. 650-659, 2002.
- MANEL, S.; SCHWARTZ, M. K.; LUIKART, G.; TABERLET, P. Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics, **Trends in Ecology and Evolution**, v.18 n.4, 2003.
- MANK, J.; AVISE, J. Individual organisms as units of analysis: Bayesian-clustering alternatives in population genetics, **Genetical research**, v. 84, n. 43, 2004.
- MILLER, M. P. Tools for population genetic analyses –TFPGA –1.3: A Windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. **Computer software distributed by author**, 1997.
- MIRANDA et al. Manual clínico para el manejo del oso hormiguero gigante (*Myrmecophaga tridactyla*). Manual Técnico, 2006.
- MIRANDA, F.; BERTASSONI, A.; ABBA, A.M. *Myrmecophaga tridactyla*. The IUCN Red List of Threatened Species, 2014.
- ASIF, M.; RAHMAN, M.; JAVED I.; MIRZA, J. I.; ZAFAR Y. High resolution metaphor agarose gel electrophoresis for genotyping with microsatellite markers, **Pakistan Journal of Agricultural Sciences**, v. 45, n.1, p. 75-79, 2008.
- MYERS, N.; MITTERMEIER, R.A.; MITERMEIER, C.G.; FONSECA, G.A.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v.403, p.853-858, 2000.
- NEI, M. Genetic Distance between populations, **The American Naturalist**, v. 106, n. 949, p. 283-292, 1972.
- NOWAK, R. M. Walker's Mammals of the World. v. 1. 6. ed. Baltimore and London: The Johns Hopkins University Press, 1999.

OETTING, W. S. et al. Linkage analysis with multiplexed short tandem repeat polymorphisms using infrared fluorescence and M13 tailed primers, **Genomics**, v. 30, n. 3, p. 450-458, 1995.

ORDOVAS, J. M. Separation of small-size DNA fragments using agarose gel electrophoresis, **Methods in Molecular Biology**, v. 110, p. 35-42, 1998.

PEREIRA, J. H. Análise de impactos ambientais gerados pela implantação de loteamentos fechados de alto padrão, 2015, 131 folhas. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista.

PERICO, E.; CEMIN, G.; LIMA, D. F. B. Efeitos da fragmentação de habitats sobre comunidades animais: utilização de sistemas de informação geográfica e de métricas de paisagem para seleção de áreas adequadas a testes. In: XII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, Goiânia, Brasil. Anais, INPE, p. 2339-2346, 2005.

POMETTI, C. L.; BESSEGA, C. F.; SAIDMAN, B. O.; VILARDI, J. C. Analysis of genetic population structure in *Acacia caven* (Leguminosae, Mimosoideae), comparing one exploratory and two Bayesian-model-based methods, **Genetics and Molecular Biology**, vol. 37, n.1, 2014.

PORRAS-HURTADO, L.; RUIZ, Y.; SANTOS, C.; PHILLIPS, C.; CARRACEDO, Á.; LAREU, M. V. An overview of STRUCTURE: applications, parameter settings, and supporting software. **Frontiers in Genetics**, v. 4, n.98, 2013.

PRITCHARD J. K., STEPHENS M., DONNELLY P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v. 155, p. 945–959, 2000.

PROVETE, D. B.; GAREY, M. V.; SILVA, F. R.; ROSSA-FERES, D .C. Anuranfauna from northwestern region of the State of São Paulo: species list and taxonomic key for adults. **Biota Neotropica**, v. 11, n.2, 2011.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2013.

RAYMOND, M.; ROUSSET, F. GENEPOP (Version 1.2): Population-Genetics Software for Exact Tests and Ecumenicism. **Journal of Heredity**, v. 86, p. 248-249, 1995.

RIBEIRO, R. C. Genética populacional de *Myrmecophaga tridactyla* (Pilosa, Myrmecophagidae) no estado de São Paulo utilizando o gene mitocondrial CytB, 2016, 50 folhas. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista.

RIDLEY, M. Evolução, Rivo Fischer 3. ed., Porto Alegre, Artmed, 2006.

RODRIGUES, R. R.; JOLY, C. A.; BRITO, M. C. W.; PAESE, A.; METZGER, J. P.; CASATTI, L.; NALON, M.A.; MENEZES, N.; IVANAUSKAS, N. M.; BOLZANI, V.;

BONONI, V. L. R. Diretrizes para conservação e restauração da biodiversidade no Estado de São Paulo. Governo do Estado de São Paulo, São Paulo, 2008.

SANTOS, K. K.; PACHECO, G. S. M.; PASSAMANI, M. Medium-sized and large mammals from Quedas do Rio Bonito Ecological Park, Minas Gerais, **Journal Check List**, v. 12, n. 5, 2016.

SÃO PAULO (Estado). (Secretaria do Meio Ambiente). Cerrado: bases para conservação e uso sustentável das áreas de Cerrado do estado de São Paulo. Série PROBIO/SP. São Paulo: Secretaria de Estado do Meio Ambiente, 1997.

SÃO PAULO (Estado). (Secretaria do Meio Ambiente). Áreas de domínio do cerrado no Estado de São Paulo. São Paulo: Secretaria Estadual do Meio Ambiente, p. 84, 1998.

SARRE, S.D.; GEORGES, A. Genetics in conservation and wildlife management: A revolution since Caughley. **Wildlife Research**, v. 36, p. 70-80, 2009.

SCHUELKE, M. An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. **Nature Biotechnology**, v. 18, n. 2, p. 233-234, 2000.

SETHURAMAN, A. On inferring and interpreting genetic population structure - applications to conservation, and the estimation of pairwise genetic relatedness. Graduate Theses and Dissertations (Bioinformatics and Computational Biology, PhD). Iowa State University, p. 177, 2013.

SIGRIST, M.S.; Pinheiro J.B.; Filho J.A.; Zucchi M.I. Genetic diversity of turmeric germplasm (*Curcuma longa*; Zingiberaceae) identified by microsatellite markers. **Genetics and Molecular Research**, v. 10, p. 419-428, 2011.

SLATKIN, M. Isolation by Distance in Equilibrium and Non-Equilibrium Populations, **Evolution**, v. 47, n. 1, p. 264-279, 1993.

SWART, M. K. J.; FERGUSON, J. W. H.; TOIT, R.; FLAMAND J. R. B. Substantial Genetic Variation in Southern African Black Rhinoceros (*Diceros bicornis*), **Journal of Heredity**, v. 85, n. 4, p. 261–266, 1994.

TAYLOR, A. C.; SHERWIN, W. B. ; WAYNE, R. K. Genetic variation of microsatellite loci in a bottlenecked species: the northern hairy-nosed wombat *Lasiornhinus krefftii*, **Molecular Ecology**, v. 3, n. 4, p. 277-290, 1994.

TELLES, M.P.C.; RESENDE, L.V.; BRONDANI, R. P. V; COLLEVATTI, R. G.; COSTA, M. C.; SILVA JÚNIOR, N. J. Isolation and characterization of microsatellite markers in the armored catfish *Hypostomus gymnorhynchus* (Loricariidae). **Genetics and Molecular Research**, v. 9, p.1770-1774, 2010.

TEMPLETON, A. R.; ROBERTSON, R. J.; BRISSON, J.; STRASBURG, J. Disrupting evolutionary processes: The effect of habitat fragmentation on collared lizards in the Missouri Ozarks, **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America - PNAS**, v. 98, n. 10, p. 5426-5432, 2001.

TORRES-FLOREZ, J. P.; HUCKE-GAETE, R.; ROSENBAUM, H.; FIGUEROA, C. C. High genetic diversity in a small population: the case of Chilean blue whales, **Ecology and Evolution**, v. 4, n. 8, p. 1398-1412, 2014.

TURCHETTO-ZOLET, A. C.; SEGATTO, A. L. A.; TURCHETTO, C.; PALMA-SILVA, A. C.; FREITAS, L. B. Guia Prático para estudos Filogeográficos. Ribeirão Preto, SBG, 105 p., 2013.

WAN, Q. H.; WU, H.; FUJIHARA, T.; FANG, S. G. Which genetic marker for which conservation genetics issue?, **Electrophoresis**, v. 25, p. 2165–2176, 2004.

WEISS, M.; LEESE, F. Widely distributed and regionally isolated! Drivers of genetic structure in *Gammarus fossarum* in a human-impacted landscape, **BMC Evolutionary Biology**, v. 16, n. 153, 2016.

WHITLOCK, M. C. G'ST and D do not replace FST, **Molecular Ecology**, v. 20, n. 6, p. 1083-1091, 2011.

WILSON, M. C.; CHEN, X.; CORLETT, R. T.; DIDHAM, R. K.; DING, P.; HOLT, R. D.; HOLYOAK, M.; HU, G.; HUGHES, A. C.; JIANG, L.; LAURANCE, W. F.; LIU, J.; PIMM, S. T.; ROBINSON, S. K.; RUSSO, S. E. Habitat fragmentation and biodiversity conservation: key findings and future challenges, **Landscape Ecology**, v. 31, p. 219. 2016.

WRIGHT, S. Isolation by distance, **Genetics**, v. 28, n. 2, p. 114-138, 1943.

WRIGHT, S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to system of mating, **Evolution**, v. 19, p. 395-420, 1965.

ZAVALA-PÁRAMO, A. S.; OYAMA, K.; MENDOZA, E.; ZAVALA-PÁRAMO, M. G.; JOHN POLLINGER, J.; THOMAS B. SMITH, T. B. Genetic variability in captive individuals of the endangered species *Tapirus bairdii* in Mexico, **Mexican Journal of Biodiversity**, v. 88, n. 2, p. 480–484, 2017.