



**FILOGEOGRAFIA E SISTEMÁTICA MOLECULAR
DE RÉPTEIS DE ALGUNS ARQUIPÉLAGOS
AFRICANOS DO ATLÂNTICO ORIENTAL**

José Manuel Abreu de Jesus

2005

**FILOGEOGRAFIA E SISTEMÁTICA MOLECULAR DE RÉPTEIS DE ALGUNS
ARQUIPÉLAGOS AFRICANOS DO ATLÂNTICO ORIENTAL**

por

José Manuel Abreu de Jesus

Tese submetida de acordo com o regulamento em vigor na
Universidade da Madeira para obtenção do grau de

Doutor em Ciências Biológicas, especialidade de Sistemática e
Ecologia

Universidade da Madeira

2005

iii

**FILOGEOGRAFIA E SISTEMÁTICA MOLECULAR DE ALGUNS RÉPTEIS DE
ALGUNS ARQUIPÉLAGOS AFRICANOS DO ATLÂNTICO ORIENTAL**

JOSÉ MANUEL ABREU DE JESUS

Supervisor Científico:

Professor Associado Agregado António Brehm
Departamento de Biologia, Universidade da Madeira

Co-supervisor Científico:

Doutor James Harris
Investigador do CIBIO, Universidade do Porto

Universidade da Madeira

A meu pais que partiram
José Manuel e Maria Teresa

Um obrigado pela vida que me deram

ÍNDICE

Agradecimentos.....	xiii
Abreviaturas.....	xiv
Resumo.....	xv
Abstract.....	xix
Prefácio.....	xxi
1. Da dificuldade da caracterização do ecossistema insular num contexto biogeográfico.....	1
1.1. A colonização das ilhas oceânicas.....	2
1.2. Sobre a variabilidade das populações em meio insular.....	8
1.3. Dados moleculares <i>versus</i> dados morfológicos e enzimáticos.....	13
1.4. Especiação e radiação adaptativa.....	15
1.5. Dispersão e fluxo genético.....	26
1.6. Ilhas e a conservação das espécies.....	28
2. Sistemática molecular: os marcadores utilizados.....	33
2.1. O DNA mitocondrial.....	34
2.1.1. “Numts” ou o DNA mitocondrial nuclear.....	41
2.1.2. Os pontos fracos da molécula do DNA mitocondrial na análise filogenética.....	42
2.1.3. Citocromo b.....	43
2.1.4. 12S rRNA e 16S rRNA.....	46
2.1.5. D-loop.....	49
2.2. Marcadores nucleares.....	50
2.2.1. <i>C-mos</i>	51
2.2.2. Enolase.....	52
2.3. Variação das taxas de mutação.....	53
2.4. Aplicação dos marcadores genéticos na biogeografia histórica.....	54
2.5. Sistemática Filogenética.....	62
2.6. Aplicação dos marcadores moleculares na conservação da Natureza.....	65
2.7. O modelo das Ilhas Canárias.....	66
3. Os <i>Taxa</i> envolvidos no presente trabalho.....	71
3.1. Os répteis terrestres dos arquipélagos.....	71
3.1.1. Arquipélago da Madeira.....	72
3.1.2. Arquipélago das Selvagens.....	73
3.1.3. Arquipélago de Cabo Verde.....	74
3.1.4. São Tomé e Príncipe e Annobon.....	75
3.2. Breve caracterização e história filogenética dos <i>taxa</i>	76
3.2.1. Família Gekkonidae.....	76
3.2.1.1. Género <i>Tarentola</i> GRAY 1825.....	78

3.2.1.1.1. <i>Tarentola darwini</i> JOGER 1984	84
3.2.1.1.2. <i>Tarentola caboverdiana</i> SCHLEICH 1984	85
3.2.1.1.3. <i>Tarentola rudis</i> BOULENGER 1906	86
3.2.1.1.4. <i>Tarentola gigas</i> (BOCAGE 1896)	86
3.2.1.2. Género <i>Hemidactylus</i> OKEN 1817	87
3.2.1.2.1. <i>Hemidactylus brooki</i> GRAY 1845	88
3.2.1.2.2. <i>Hemidactylus bouvieri</i> (BOCOURT 1870).....	88
3.2.1.2.3. <i>Hemidactylus greeffii</i> BOCAGE 1886.....	89
3.2.1.2.4. <i>Hemidactylus mabouia</i> (MOREAU DE JONNÉS 1818).....	89
3.2.1.2.5. <i>Hemidactylus newtonii</i> (FERREIRA 1897).....	91
3.2.2. Família Scincidae	91
3.2.2.1. Género <i>Mabuya</i> FITZINGER 1826.....	93
3.2.2.1.1. <i>Mabuya salensis</i> ANGEL 1935	102
3.2.2.1.2. <i>Mabuya vaillantii</i> BOULENGER 1887	102
3.2.2.1.3. <i>Mabuya delalandii</i> (DUMERIL & BIBRON 1839).....	102
3.2.2.1.4. <i>Mabuya fogoensis</i> O'SHAUGHNESSY 1874.....	103
3.2.2.1.5. <i>Mabuya stangeri</i> (GRAY 1845).....	103
3.2.2.1.6. <i>Mabuya spinalis</i> BOULENGER 1906	104
3.2.2.1.7. <i>Mabuya maculilabris</i> (GRAY 1845).....	104
3.2.2.1.8. <i>Mabuya affinis</i> (GRAY 1838).....	105
3.2.2.1.9. <i>Mabuya ozorui</i> BOCAGE 1893.....	106
3.2.3. Família Lacertidae.....	106
3.2.3.1. Género <i>Lacerta</i> LINNAEUS 1758.....	108
3.2.3.1.1. <i>Lacerta dugesii</i> MILNE-EDWARDS 1829.....	109
4. Os objectivos do trabalho	113
5. Metodologia de Trabalho	115
5.1. Breve caracterização dos sistemas insulares amostrados.....	115
5.1.1. Arquipélagos da Madeira, Desertas e Selvagens	118
5.1.1.1. Localização e dimensões	118
5.1.1.2. Geologia e Clima.....	119
5.1.1.3. Aspectos da fauna e da flora.....	121
5.1.2. Arquipélago de Cabo Verde	122
5.1.2.1. Localização e dimensões	122
5.1.2.2. Geologia e orografia.....	124
5.1.2.3. Clima	125
5.1.2.4. Fauna e flora	125
5.1.3. Ilhas do Golfo da Guiné: São Tomé, Príncipe e Annobon.....	126
5.1.3.1. Localização e dimensões	126
5.1.3.2. Geologia e orografia.....	126
5.1.3.3. Clima	128

5.1.3.4. Fauna e flora	129
5.2. Colheita das amostras.....	130
5.3. Extracção, amplificação e sequenciação do DNA das regiões em estudo	131
5.4. Análise filogenética.....	132
5.4.1. Alinhamento múltiplo de sequências.....	132
5.4.2. Sobre os caracteres.....	134
5.4.3. O que se entende por homoplasia ?.....	135
5.4.4. Homologia.....	136
5.4.5. Árvores filogenéticas	136
5.4.6. Topologias de genes <i>versus</i> topologias de espécies.....	140
5.4.7. Noção de grupo monofilético, parafilético e polifilético.....	140
5.4.8. Principais métodos utilizados na análise filogenética para a construção de árvores filogenéticas.....	141
5.4.8.1. Máxima parsimonia (“Maximum parsimony”) (MP)	146
5.4.8.2. Probabilidade máxima/Máxima verossemelhança (“Maximum Likelihood”) (ML)	146
5.4.8.3. “Neighbour joining” (NJ)	148
5.4.8.4. “Nested Clade Analysis” (NCA).....	149
5.4.8.5. Análise Baiesiana (“Bayesian analysis”)	151
5.4.9. “Mismatch distribution”.....	152
5.4.10. O relógio molecular (“Molecular Clock”).....	153
6. Resultados obtidos.....	157
6.1. Artigo I - BREHM, A.; JESUS, J.; SPÍNOLA H.; ALVES, C.; VICENTE, L. & HARRIS, D. J. (2003). Phylogeography of the madeiran endemic lizard <i>Lacerta dugesii</i> inferred from mtDNA sequences. <i>Molecular Phylogenetics and Evolution</i> 26: 222-230.....	159
6.2. Artigo II- BREHM, A.; KHADEM, M.; JESUS, J.; ANDRADE, P. & VICENTE, L. (2001). Lack of congruence between morphometric evolution and genetic differentiation suggests a recent dispersal and local habitat adaptation of the madeiran lizard <i>Lacerta dugesii</i> . <i>Genetics Selection and Evolution</i> 33: 671-685.	169
6.3. Artigo III- BREHM, A.; HARRIS, D. J.; ALVES, C.; JESUS, J.; THOMARAT, F. & VICENTE, L. (2002). Structure and evolution of the mitochondrial DNA complete control region in the lizard <i>Lacerta dugesii</i> (Lacertidae, Sauria). <i>Journal of Molecular Evolution</i> 55: 1-8.	185
6.4. Artigo IV- KHADEM, M.; JESUS, J. & BREHM, A. (1997). Peptidase-3 polymorphism in populations of the madeiran lizard <i>Lacerta dugesii</i> , from Porto Santo Island. <i>Boletim do Museu Municipal do Funchal</i> 49 (276): 99-105.....	193
6.5. Artigo V- BREHM, A.; JESUS, J. ; PINHEIRO, M. & HARRIS, D. J. (2001). Relationships of scincid lizards (<i>Mabuya</i> spp; Reptilia: Scincidae) from the Cape Verde islands based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. <i>Molecular Phylogenetics and Evolution</i> 19: 311-316.	201
6.6. Artigo VI- JESUS, J.; BREHM, A. & HARRIS, D. J. (2002). Relationships of <i>Tarentola</i> (Reptilia: Gekkonidae) from the Cape Verde islands estimated from DNA sequence data. <i>Amphibia-Reptilia</i> 23: 47-54.	207
6.7. Artigo VII- JESUS, J.; BREHM, A.; PINHEIRO, M. & HARRIS, D. J. (2001). Relationships of <i>Hemidactylus</i> (Reptilia: Gekkonidae) from the Cape Verde islands: What mitochondrial DNA data indicate. <i>Journal of Herpetology</i> 35 (4): 672-675.....	215
6.8. Artigo VIII- JESUS, J.; HARRIS, D. J. & BREHM, A. (2005). Phylogeography of <i>Mabuya maculilabris</i> (Reptilia) from São Tomé Island (Gulf of Guinea) inferred from mtDNA sequences. <i>Molecular Phylogenetics and Evolution</i> (Submitted).....	219

6.9. Artigo IX- JESUS, J.; BREHM, A. & HARRIS, D. J. (2005). Relationships of scincid lizards (<i>Mabuya</i> spp.) from the islands of the Gulf of Guinea based on mtDNA sequence data. <i>Amphibia- Reptilia</i> (in press).	237
6.10. Artigo X- JESUS, J.; BREHM, A. & HARRIS, D. J. (2005). Phylogenetic relationships of <i>Hemidactylus</i> geckos from the Gulf of Guinea islands: patterns of natural colonizations and anthropogenic introductions estimated from mitochondrial and nuclear DNA sequences. <i>Molecular Phylogenetics and Evolution</i> 34: 480-485.	245
6.11. Artigo XI- JESUS, J.; BREHM, A. & HARRIS, D. J. (2003). The herpetofauna of Annobon island, Gulf of Guinea, West Africa. <i>Herpetological Bulletin</i> n° 86: 20-22.	251
6.12. Artigo XII- JESUS, J.; FREITAS, A.; BREHM, A. & HARRIS, D. J. (2002). An introduced population of <i>Hemidactylus mabouia</i> (MOREAU DE JONNÉS, 1818) on Madeira island. <i>Herpetozoa</i> 15 (3/4): 179-180.	255
6.13. Artigo XIII- JESUS, J.; BREHM, A. & HARRIS, D. J. (2005). Is <i>c-mos</i> phylogenetically informative at lower taxonomic levels in reptiles ? An assessment of variation within <i>Lacerta</i> (<i>Teira</i>) <i>dugesii</i> MILNE-EDWARDS, 1829 (Squamata: Sauria: Lacertidae). <i>Herpetozoa</i> 18 (1/2) (in press).	257
7. Discussão	261
7.1. A autenticação das sequências de DNA mitocondrial	261
7.2. Relações entre grupos genéticos. Padrões de colonização dos <i>taxa</i> estudados	262
7.3. Congruência entre os dados morfológicos e moleculares	275
7.4. As “novas” e “velhas” referências de espécies.....	278
7.5. <i>C-mos</i> nos estudos filogenéticos.....	284
7.6. A região controle e zonas adjacentes	286
8. Referências bibliográficas	291
9. Webpages.....	323
Anexo I. Caracterização dos <i>taxa</i> considerados nesta dissertação	
Anexo II. Caracterização dos <i>taxa</i> encontrados nas expedições	

AGRADECIMENTOS

O autor deseja apresentar os seus mais sinceros agradecimentos a António Brehm, James Harris e Miguel Sequeira pelo apoio e assistência na preparação deste manuscrito. Expressa também a sua gratidão a todos quantos, incógnitos, o ajudaram na recolha de espécimes nos locais onde foram efectuaram colheitas de campo. Agradece igualmente todos os membros do Departamento de Biologia da sua Universidade pelo apoio prestado nas várias fases de execução deste trabalho. Agradece ainda à Fundação para a Ciência e Tecnologia pelo apoio prestado nos primeiros anos de trabalho de campo através de uma bolsa de que foi beneficiário. Por fim agradece à sua família a paciência e apoio que lhe foram dando ao longo deste longo e sinuoso trajecto da sua vida.

Abreviaturas

AFLP – “Amplified fragment length polymorphism”
bp – Par de bases (“base pair”)
CI- Índice de consistência (“Consistency index”)
COI – unidade 1 da citocromo oxidase
cpDNA – DNA ou ADN cloroplastidial
CR- Região controle (“Control region”) do DNA mitocondrial (subdividida em CRI e CRII)
DNA- (em português, ADN). Ácido desoxiribonucleico
GTR- “General Time Reversible”
Indel- “Insertion/deletion”
JC – Jukes-Cantor
Kb – Kilobase. 1000 pares de bases
MCMC- “Markov Chain Monte Carlo”
ME- “Minimum evolution”
ML- Probabilidade máxima, máxima verosimilhança (“Maximum likelihood”)
MP- Parsimonia máxima, Máxima parsimonia, (“Maximum parsimony”)
mtDNA- DNA mitocondrial
my – Milhões de anos
NCA – “Nested Clade Analysis”
ND1 – unidade 1 da NADH desidrogenase
ND2 – unidade 2 da NADH desidrogenase
ND4 – unidade 4 da NADH desidrogenase
nDNA – DNA ou ADN nuclear
NJ- “Neighbor-Joining”
Numts - “nuclear – copies of mitochondrial sequences”
OTU – Unidade taxonómica operacional (“Operational Taxonomic Unit”)
PCR- “Polymerase chain reaction”
RAPD- “Random amplified polymorphic DNA”
RCI- “Rescaled Consistency index”
RFLP – “Restriction fragment length polymorphism”
RI- Índice de retenção (“Retention index”)
RNA (em português ARN). Ácido ribonucleico
rRNA- RNA ou ARN ribossómico
S – Riqueza específica (número de espécies)
Scnp- Cópia única de DNA nuclear
SNP – “Single nucleotide polymorphism”
SSR – “Simple sequence repeats”
SVL. (do inglês: Snout-Vent Length). Distância entre a ponta do focinho e a cloaca.
tRNA- RNA de transferência ou ARN de transferência
Ts – Transição
Tv – Transversão
Z- constante da relação área *versus* número de espécies.

As abreviaturas das unidades de medição estão de acordo com o Sistema Internacional.

RESUMO

Os répteis, nomeadamente os lagartos, lagartixas e osgas, constituem um dos grupos de vertebrados com maior sucesso de colonização das ilhas oceânicas. Juntamente com as aves, devem constituir o grupo que naturalmente melhor se disseminou pelas ilhas oceânicas. Os mamíferos e anfíbios que aí possam existir são na sua maioria de introdução antropogénica. Como são bons colonizadores constituem bons modelos para o estudo de fenómenos e padrões de colonização das ilhas sobretudo tendo em conta que possuem ainda baixa dispersão dentro de cada ilha.

Neste trabalho utilizamos marcadores do DNA mitocondrial (12S rRNA, 16S rRNA, citocromo b), marcadores do DNA nuclear (*c-mos* e *enolase*) assim como marcadores enzimáticos, para estudar os padrões de colonização, as relações entre espécies, a detecção de espécies introduzidas, a importância dos dados moleculares em relação a outro tipo de dados, nos répteis terrestres dos Arquipélagos da Madeira, Selvagens e Cabo Verde, e ilhas do Golfo da Guiné (São Tomé, Príncipe e Annobon).

As sequências de DNA quer mitocondrial quer nuclear permitiram revelar a existência de uma estrutura geográfica em *Mabuya* spp. de São Tomé (de natureza intraespecífica) e de Cabo Verde (interespecífica) bem como em *Lacerta dugesii* (intraespecífica) do Arquipélago da Madeira. Esta estrutura é mais evidente em *Lacerta dugesii*, que apresenta haplótipos típicos e exclusivos de cada um dos quatro grupos principais de ilhas (Madeira, Porto Santo, Desertas e Selvagens), sem que se tivessem observado haplótipos comuns a mais do que um grupo de ilhas. Os dados moleculares obtidos permitem ainda inferir os casos de expansões demográficas recentes como no caso das populações de *Lacerta dugesii* da Madeira e Porto Santo ou pelo contrário indicativas de subdivisão geográfica da população como no Arquipélago das Selvagens. Nesta espécie apenas terá ocorrido um evento de colonização, e os nossos dados não corroboram a possibilidade de introdução nas Ilhas Selvagens mediada pelo homem.

Mabuya spp. de Cabo Verde também forma um grupo monofilético, subentendendo a exemplo de *L. dugesii* um evento de colonização mas bem mais antigo, dando origem a eventos de radiação evolutiva, tendo-se formado novas espécies que por sua vez terão sido actores na colonização entre ilhas.

Usando como modelo os Arquipélagos das Canárias e Cabo Verde, o número de eventos de colonização é menor nos escincídeos do que nos geconídeos. As ilhas do Golfo

da Guiné parecem introduzir uma exceção à regra. Assim *Mabuya* spp. do Golfo da Guiné (São Tomé, Príncipe e Annobon) serão resultantes de 4 eventos de colonização, sendo dois responsáveis pelo aparecimento de *M. maculilabris* (uma forma no Príncipe e outra em São Tomé), *M. ozorii* (Annobon) e *M. affinis* (Príncipe). A exemplo de *Lacerta dugesii*, *Mabuya maculilabris* apresenta uma forte estruturação geográfica.

Fazendo recurso a sequências já publicadas no GenBank, podemos propor um novo arranjo taxonómico no género *Mabuya*, não se devendo considerar quatro grupos (*sensu* Mausfeld), mas sim cinco, em que se adiciona um novo grupo que contempla as espécies do Norte de África e Turquia.

As osgas em Cabo Verde, a exemplo das Canárias, apresentam grande variabilidade e terão sido resultado de maior número de eventos de colonização do que os Escincídeos. A nossa análise revela que existem em Cabo Verde maior número de grupos geneticamente distintos do género *Tarentola*, do que havia sido registado anteriormente. Os *Hemidactylus* também devem ter sido resultantes de mais do que um evento de colonização: um para *Hemidactylus bowvieri* e um para *Hemidactylus brooki* da Ilha do Sal. *Hemidactylus brooki* existente nas restantes ilhas bem como *Hemidactylus mabouia* são muito provavelmente de introdução antropogénica.

No Golfo da Guiné o número de eventos de colonização não é maior nas osgas do que nos Escincídeos, constituindo assim uma exceção à regra, sendo os *Hemidactylus* resultantes de pelo menos dois eventos de colonização (quatro em *Mabuya*).

Utilizando *Lacerta dugesii* como modelo, não encontramos qualquer congruência entre dados enzimáticos, morfológicos e moleculares.

Com a aplicação de técnicas moleculares foi possível identificar espécies introduzidas como *Hemidactylus mabouia* na Madeira, Cabo Verde, São Tomé e Príncipe e Annobon bem como *Ramphotyphlops braminus* em Annobon. Estas espécies caracterizam-se por serem geneticamente homogéneas.

Foi ainda possível verificar o estatuto taxonómico das várias espécies. Em *Lacerta dugesii* as três subespécies não deverão ser omitidas. Em *Mabuya* de Cabo Verde dever-se-ão manter as espécies consideradas e as relações estabelecidas. Em *Tarentola* spp. uma nova subespécie de *Tarentola gigas* deverá ser considerada e alvo de novas investigações. Os restantes grupos obtidos, geneticamente distintos, são em maior número do que havia sido registado, e deverão ser alvo dum estudo exaustivo.

Confirmou-se a presença dum *Mabuia* em Annobon, muito provavelmente *Mabuia oзорii*, espécie esquecida ou omitida em muitas listas de espécies como na “EMBL Reptile database”. Duas formas de *M. maculilabris* em São Tomé e Príncipe, deixam transparecer a possibilidade da existência dum complexo de espécies. A análise de dados moleculares permitiu também referir que *M. maculilabris* não parece ter sido introduzida pelo homem nestas ilhas.

Do ponto de vista conservacionista é fundamental monitorizar as espécies introduzidas pois podem levar à extinção de espécies indígenas, e monitorizar a manutenção dos vários grupos geneticamente distintos encontrados, muitos deles com distribuições restritas.

Por fim, ao testar o *c-mos* na filogenia de *Lacerta dugesii*, podemos dizer que este gene nuclear pode também ser utilizado sob determinadas condições, ao nível intraespecífico.

A região controle do DNA mitocondrial revelou-se também adequada na estimativa das relações filogenéticas. Verificou-se que esta estrutura é em *Lacerta dugesii*, bem menos variável que o gene do citocromo b (também mitocondrial). Mostra ainda uma variação entre populações e apresenta aspectos curiosos relacionados com a sua estrutura no contexto do que é conhecido actualmente dentro dos vertebrados.

ABSTRACT

Partial sequences of mitochondrial DNA genes (12S rRNA, 16S rRNA and Cytochrome b) and nuclear DNA (*c-mos* and enolase), as well as enzymatic markers were used to infer colonization patterns and genetic relationships of reptiles from families lacertidae, scincidae and gekkonidae of Madeira, Cape Verde Archipelagos and Gulf of Guinea islands. These markers also allowed us to uncover species introductions in these islands.

The data allows us to detect a intra-specific geographical structure on *Mabuya maculilabris* from São Tomé and a inter-specific geographical structure of the genus *Mabuya* in Cape Verde Archipelago. It is also possible to detect a well defined intra-specific geographical structure in *Lacerta dugesii* from the Archipelago of Madeira that presents fixed haplotypes for each of the four groups of islands. *Lacerta dugesii* has probably been the result of one single colonization event in the Archipelago of Madeira. Our results reject the hypothesis of the anthropological introduction of the species in the Selvagens Islands.

Mabuya spp. from Cape Verde islands were also the result of one colonization event followed by a radiation through the islands. Our results from Cape Verde, and data from reptiles endemic to the Canary Islands, suggest that the number of colonization events of skinks is lower than that observed in geckos. Our results from the Gulf of Guinea seems to be an exception to this rule. *Mabuya* spp. is the result of four different colonization events, one for *Mabuya ozorii* of Annobon, one for *Mabuya affinis* of Príncipe and two for the two forms of *Mabuya maculilabris* (one from Príncipe and one from São Tomé). Probably the two forms of São Tomé and Príncipe are different species or belong to a species complex. The geckos from the Gulf of Guinea islands are the result of fewer events of colonization, probably two for *Hemidactylus* spp.

Considering the genus *Mabuya* we consider five groups of species, one more than the previously published data, that is the North Africa + Turkey group which implies the need to divide the forms of Africa.

Using *Lacerta dugesii* as a model we didn't find congruence between enzymatic, morphological and molecular data.

The molecular markers allow us to detect introduced species as *Hemidactylus mabouia* in Madeira, Cape Verde and islands of Gulf of Guinea islands, as well as *Ramphotyphlops braminus* in Annobon.

It was also possible to review the taxonomic *status* of some species. We consider the existence of three subspecies of *Lacerta dugesii*. In *Mabuya* from Cape Verde Islands, the previous established relationships are also validated. In *Tarentola* more genetic distinct groups than those previously established were obtained, and probably we discovered a new subspecies of *Tarentola gigas*.

We confirmed the presence of a *Mabuya* in Annobon (probably *M. ozorii*, omitted species on EMBL Reptile database). Two distinct forms of *Mabuya maculilabris* were found, one in Príncipe and one in São Tomé. The molecular data seems to reject the anthropological introduction of *M. maculilabris*.

The *c-mos* can be a good phylogenetic marker at the infraspecific level. The same happened for the control region which is. At least in *Lacerta dugesii*, less variable than cytochrome b.

Prefácio

A presente monografia tenta abordar três aspectos importantes, um relacionado com a compilação da informação existente sobre as comunidades insulares e seus constituintes, o segundo relacionado com as relações filogenéticas e o entendimento da colonização de ilhas africanas do Atlântico Nor-Oriental por parte de alguns répteis e terceiro, uma tentativa de clarificação de alguns aspectos da sistemática de algumas das espécies estudadas.

O primeiro capítulo está relacionado com a caracterização do fenómeno insularidade em biologia. Provavelmente mais longo do que o previsto, pretende constituir uma sinopse da problemática da insularidade das comunidades biológicas, tema que aliás tem sido central em todo o meu percurso académico.

Esta dissertação não tem o formato habitual de outras dissertações. O facto é que ao longo dos vários anos, o trabalho acumulado em relação à análise das comunidades de répteis das ilhas atlânticas, produziu uma série de artigos quase todos trespassados por um fio condutor, o estudo dos mecanismos evolutivos das comunidades de répteis em sistemas insulares diferentes. Interessa-me sobretudo a comparação dos mecanismos evolutivos em cada um destes sistemas para saber se afinal as histórias se repetem independentemente do tempo e local onde ela se desenrola.

É por isso que decidi incluir os trabalhos em que participei num capítulo separado e tentei expor num capítulo final os principais elementos que penso sejam comuns a estes trabalhos. Este capítulo final não invalida as conclusões separadas de cada um dos trabalhos mas antes tenta dar-lhes uma visão de conjunto que é afinal a visão do meu trabalho ao longo de todos estes anos.

Quero igualmente advertir desde já o leitor para o que alguns poderão chamar de estrangeirismos. Neste trabalho tentei traduzir tanto quanto possível os principais termos usados por todos nós para português. Alguns, porventura bastantes, são usados no original entre aspas. A sua tradução soaria a falso e desvirtuaria o seu significado.

Queria ainda referir que escolhi os répteis como material biológico por várias razões e que podem ser sumariamente descritas do seguinte modo:

- a) são na sua maioria conspícuos, facilmente detectáveis e capturáveis,
- b) são na sua maioria tolerantes à aproximação humana,

- c) possuem na sua maioria densidades populacionais apreciáveis,
- d) possuem dimensões corporais que facilitam o seu manuseamento,
- e) encontram-se em várias ilhas e ilhéus com diferentes idades, áreas, isolamento e habitats,
- f) a amostragem pode ser efectuada a biópsias à cauda sem que o animal seja sacrificado ou sofra danos significativos,
- g) a α -taxonomia é relativamente linear,
- h) por preferência pessoal.

Capítulo 1

1. DA DIFICULDADE DA CARACTERIZAÇÃO DO ECOSISTEMA INSULAR NUM CONTEXTO BIOGEOGRÁFICO

Desde há muito tempo que as ilhas fascinam os cientistas. Schoener (1988a) refere um termo curioso que é sintomático deste interesse – “Islomania”. Os estudos dos ecossistemas insulares revolucionaram várias áreas do conhecimento como a Evolução e a Ecologia. Todos reconhecem a importância das ilhas na elaboração da teoria da evolução de Charles Darwin e de Alfred Wallace (Báez, 1988; Emerson *et al.*, 1999; Francisco-Ortega *et al.*, 1996; Looijen, 1998; Roughgarden, 1995; Vitousek *et al.*, 1995). É reconhecida a importância do estudo das ilhas na evolução da biologia das populações, na teoria da especiação, na teoria da biogeografia insular e conseqüentemente da teoria do equilíbrio dinâmico de MacArthur & Wilson (1967) (Báez, 1982 b; Brown & Lomolino, 2000; Calsbeek & Smith, 2003; Cox & Moore, 1993; Grant, 1998a; MacArthur & Wilson, 1967; Roughgarden, 1995; Vitousek *et al.*, 1995), no desenvolvimento da teoria sobre as estratégias demográficas e adaptativas (Vicente *et al.*, 1987; Vicente, 1989), etc. Ilustrando a importância das ilhas, MacArthur & Wilson (1967) afirmaram um dia que “*islands should be an excellent theatre in which to study evolution*”. Após MacArthur & Wilson (1967) a problemática da insularidade assumiu uma nova dimensão na área da biologia. A importância dos estudos insulares tem contribuído quer para o desenho de reservas naturais quer depois, na gestão de parques florestais (Pianka, 1988; Schoener, 1988a).

Devido às características específicas das ilhas, elas constituem excelentes objectos ou modelos para o estudo da biodiversidade (Adseren, 1995). A pobreza em espécies permite estudar a relação da diversidade biológica nos processos e no funcionamento do ecossistema. (Bowden, 1995; Ewell & Högberg, 1995).

Para Almaça (2001), as ilhas são importantes quer do ponto de vista biogeográfico quer do ponto de vista conservacionista. Primeiro, porque é grande o número de formas em perigo de extinção ou já extintas; segundo, as populações insulares diferem geneticamente das populações continentais, levando frequentemente a processos de especiação, resultando em elevados níveis de endemidade. São também importantes pela analogia que se faz, do ponto de vista da conservação, entre o modelo ilha e populações isoladas no continente.

O isolamento e a pobreza faz com que as faunas das ilhas oceânicas ofereçam excelentes oportunidades para caracterizar o desenvolvimento evolutivo em sistemas isolados e para caracterizar os processos evolutivos na ausência ou falta de fluxo genético (Calsbeek & Smith 2003; Francisco-Ortega *et al.*, 1996). Esta ideia poderá contudo não ser aceite em certas situações. Assim, por exemplo algumas ilhas das Caraíbas sofrem inundações, furacões e outros fenómenos naturais, levando ao desaparecimento de quase toda a fauna reptiliana. A esta extinção em massa segue-se, regra geral, uma colonização contínua a partir de ilhas vizinhas, e principalmente através das correntes oceânicas, ocorrendo um forte fluxo genético e uma homogeneização das populações, o que constitui por assim dizer um constrangimento forte a mudanças evolutivas (Calsbeek & Smith, 2003).

As invasões naturais e mediadas pelo homem oferecem excelentes oportunidades para caracterizar o desenvolvimento histórico das comunidades e os processos de biologia populacional associados, provavelmente pelos acontecimentos acontecerem com maior rapidez (Lovette *et al.*, 1999b, Sakai *et al.*, 2001).

Ao compararmos biotas de ilhas com diferentes tamanhos, diferentes latitudes, diferentes topografias e diferentes distâncias ao continente (fonte de aprovisionamento de espécies), podemos aprender muito sobre a interação destes factores no controle da diversidade orgânica (Cox & Moore, 1993).

Estas peculiaridades determinam a constituição de comunidades insulares diferentes das existentes nos continentes. Geralmente as faunas e floras insulares costumam ser desarmónicas, caracterizadas pela ausência de determinados grupos (Báez, 1993; Cox & Moore, 1993; Eliasson, 1995; Itow, 2003) apresentando características próprias, como por exemplo o elevado número de endemismos e características morfológicas aberrantes como o nanismo ou o gigantismo.

1.1. A colonização de ilhas oceânicas

Do ponto de vista de um organismo, uma ilha é naturalmente uma área cujas zonas circundantes limitam a sua dispersão e condicionam a sua sobrevivência. É um espaço cujas comunidades estão sujeitas a constrangimentos subsequentes ao seu isolamento e que se repercutem nas características morfológicas, comportamentais, fisiológicas e genéticas dos indivíduos que as constituem (Adersen, 1995). Este conceito aplica-se igualmente a lagos, picos de montanha ou até árvores isoladas. É o que acontece no Deserto do Kalahari em relação a *Mabuya striata*, em que as acácias muito dispersas funcionam como ilhas (Cooper Jr.

& Whiting, 2000). Segundo Perraud (1992), ilha é uma área ou universo ecológico confinado e exíguo onde o fluxo genético ou a colonização a partir do continente são reduzidos, e onde se vive em risco de extinção permanente. Lucotte (1978) fala de isolados quando as populações duma espécie estão separadas por barreiras que podem ser de ordem geográfica, ecológica ou etológica os quais podem diferenciar-se geneticamente se mantiverem separados durante muito tempo.

As dificuldades de acesso às ilhas oceânicas estão profundamente ligadas a outro fenómeno que de certa forma é uma consequência da colonização: trata-se dos processos que mantêm ou perturbam a própria distribuição das espécies (Vargas, 1992a). Alguns exemplos podem ser descritos como estando implicados na manutenção dessa distribuição: a dispersão ecológica, processos ecogeográficos, recolonização, barreiras geográficas e configuração de províncias ecológicas. Os principais processos que mudam a distribuição são geralmente associados à difusão (expansão gradual da área de distribuição), dispersão a longa distância (ex: dispersão para as ilhas oceânicas), mudanças paleogeográficas, mudanças ecogeográficas (mudança de habitate, de recursos) e adaptação (Vargas, 1992a) bem como relações interespecíficas como a competição e predação (Antúnez & Mendoza, 1992).

Vargas (1992a) também diferencia um grupo de processos que originam a distribuição, ou seja, aqueles processos de natureza abiótica que dão origem a novos *taxa*. Estes processos possuem um carácter histórico são sempre vistos numa escala evolutiva e neles se incluem a vicariância como resposta a mudanças ecogeológicas, a dispersão e o isolamento periférico de populações e sua posterior especiação, e as mudanças paleoecogeográficas.

Para muitos organismos, como os terrestres não voadores (caso dos répteis), os oceanos constituem barreiras intransponíveis (Cox & Moore, 1993; Gorman, 1979; Grant, 1998a), tendo por isso extrema importância na composição das comunidades insulares. A forma como os indivíduos chegam às ilhas irá pois depender principalmente da distância a percorrer, dos ventos, das correntes e das capacidades de dispersão dos organismos envolvidos (Case, 1975).

A organização dos povoamentos insulares de ilhas oceânicas resulta geralmente de uma acentuada influência da dispersão passiva enquanto que as ilhas da plataforma continental tendem a ser mais influenciadas pela deslocação activa. *Podarcis melisselensis* e *Podarcis taurica* (Reptilia: Sauria: Lacertidae) colonizaram por via terrestre (dispersão activa) as ilhas do Adriático antes da subida do nível médio da água do mar durante a Glaciação de

Wurm (Clover, 1979; Gorman *et al.*, 1975). Terá também sido assim que *Podarcis pityusensis* e *P. lilfordi* terão chegado às Ilhas Baleares (Alcover & Mayol, 1982; Cirer, 1981; Pérez-Mellado & Salvador, 1988), o mesmo acontecendo com *P. filfolensis* nas ilhas maltesas (Guillaume & Bons, 1983).

Os répteis parecem resistir mais às adversidades do mar do que os restantes vertebrados terrestres não voadores. Isto pode ser explicado pelo facto da sua taxa metabólica poder baixar significativamente (Pough, 1980). A baixa necessidade de recursos energéticos aliada à capacidade de resistência à secura torna-os nos vertebrados mais capazes de colonizar ilhas mais distantes logo a seguir às aves (Carranza *et al.*, 2000). Apesar das limitações impostas pelo meio marinho, estes vertebrados terrestres constituem muitas vezes, com excepção das aves, os únicos a atingir ilhas distantes quer por flutuação, quer em jangadas flutuantes. Gorman (1979) considera os lagartos como os vertebrados terrestres não voadores mais tolerantes e com maior distância máxima percorrida no mar (1100 milhas). Um caso extremo poderá ser o do antepassado de *Tarentola americana* que com grande probabilidade deve ter realizado uma dispersão transoceânica entre a África e as Caraíbas, correspondendo a pelo menos 6000 km (Carranza *et al.*, 2000). Os lagartos podem chegar às ilhas em jangadas flutuantes, ou flutuando (Carranza *et al.*, 2000) o que será menos frequente quanto maior a distância ao continente. A chegada das osgas do género *Tarentola* aos Arquipélagos Macaronésicos e às Índias Ocidentais deverá ter ocorrido por jangadas flutuantes (Carranza *et al.*, 2000). Báez (1982 b) afirma que a única explicação possível para compreender a dispersão dos répteis para as Canárias, ou seja a forma de dispersão mais provável e talvez única, terá sido através de jangadas flutuantes. Outro exemplo, em *Ameiva* spp. (Sauria: Teiidae) das Índias Ocidentais, a colonização deverá ter acontecido através de jangadas flutuantes, como é sugerido por Hower & Hedges (2003) num estudo filogenético e biogeográfico utilizando sequências do 12S rRNA e do 16S rRNA. Assim, a colonização trans-marinha tem sido mais ou menos frequentes nos répteis (ver por exemplo Carranza & Arnold, 2003; Carranza *et al.*, 2000; Nagy *et al.*, 2003) e parecem afectar mais uns grupos do que outros. É mais comum nos escincídeos e osgas e menos frequente nos lacertídeos, agamídeos e teídeos o que indica que a dispersão pelos oceanos não é aleatória, dependendo da presença de praias, da tolerância à salinidade, da resistência à dissecação e à capacidade para se manter em posição nas jangadas flutuantes (Carranza & Arnold, 2003).

As osgas em particular parecem ser excelentes “dispersantes marinhos”, provavelmente devido ao facto de poderem manter-se muito tempo com poucos recursos alimentares, incluindo água. A existência de dedos com “almofadas adesivas” aumenta a capacidade de transporte em jangadas flutuantes (Carranza *et al.*, 2000). No caso da *Tarentola americana* também devem ter ajudado as correntes marinhas predominantes (Carranza *et al.*, 2000). Greer (1976) afirma que as espécies do género *Mabuya* spp. têm facilidades em atravessar massas de água, encontrando-se por isso representadas em numerosas ilhas por formas endémicas. As deslocações em jangadas flutuantes são frequentemente mencionadas como a principal forma de deslocação dos vertebrados para as ilhas oceânicas (Báez & Sanchez-Pinto, 1993; Cox & Moore, 1993). Geralmente estas jangadas são constituídas por emaranhados de vegetação e terra, por vezes um só tronco, que se desprende das encostas dos rios e que podem atingir dimensões na ordem dos 30-100m (Furon, 1969). Estes emaranhados poderão percorrer grandes distâncias, como aconteceu em Cuba, onde uma jangada flutuante com cerca de 10-15 acres e 6-12 metros de altura foi encontrada a cerca de 100 milhas da costa (Cox & Moore, 1993).

Como referimos a colonização das ilhas macaronésicas por répteis deve ter sido feita por “jangadas flutuantes”. De acordo com Báez & Sanchez-Pinto (1983), os actuais “cursos secos” de África eram caudalosos no passado, onde as jangadas podem ter sido lugar comum.

Segundo Austin & Zug (1999), os sáurios são bons colonizadores das ilhas. No entanto a falta de endemidade e a uniformidade morfológica pode indicar introduções recentes, muitas certamente mediadas pelo homem. Espécies como *Hemidactylus frenatus* foram introduzidas em muitas ilhas do Pacífico, principalmente durante a II Guerra Mundial (Case *et al.*, 1994; Hunsaker, 1966). Wiley (2000) e McCoid (1993) referem a introdução involuntária de répteis, como *Mabuya multifasciata*, *Perochirus ateles*, *Boiga irregularis*, *Anolis carolinensis*, na Ilha de Guam nas Ilhas Marianas. Nesta ilha a introdução involuntária, durante a Segunda Guerra Mundial pelos barcos de carga militares, da cobra *Boiga irregularis*, foi nefasta e desastrosa levando quase à extinção de toda a avifauna (McCoid, 1993; Pimm, 1987). Como curiosidade, algumas espécies de anfíbios (ex: *Bufo marinus*) e répteis (ex: *Anolis carolinensis*) foram introduzidos intencionalmente nesta ilha com vista à luta contra os insectos (McCoid, 1993). Muitas das espécies de répteis e anfíbios candidatos a serem introduzidos involuntariamente são aqueles de pequeno tamanho e que toleram a presença humana (Wiley, 2000).

A colonização de ilhas a partir de outras que se encontram no caminho de migração com o continente, o qual é em última instância a origem dessas espécies, toma geralmente a designação de “stepping stone effect”. O modelo “stepping-stone” surgiu como um modelo estocástico da genética populacional. Foi introduzido por Kimura & Weiss (1964) e recentemente revisto por Duty (2000) para investigar a interligação entre processos evolutivos de deriva genética, migração, mutação e selecção sobretudo em populações espacialmente estruturadas.

MacArthur & Wilson (1967) utilizam o mesmo modelo numa perspectiva mais ecológica e biogeográfica para explicar a dispersão das espécies para as ilhas distantes utilizando ilhas intermédias. O modelo de “stepping-stone” de colonização das ilhas aplica-se mais quando as espécies têm baixa capacidade de dispersão. Assim, as espécies dispersam desde o continente para a ilha mais próxima e desta para outra mais próxima da primeira ilha, isto num sentido único, estando cada ilha sujeita a um evento de colonização como acontece com *Gallotia* spp. das Ilhas Canárias. Em espécies com maior capacidade de dispersão o modelo não é totalmente aplicável, pois estas espécies podem chegar às ilhas quer directamente ou saltar de uma ilha para outra sem passar pela intermédia. Nestas espécies estão envolvidos geralmente vários eventos de colonização por ilha (Juan *et al.*, 2000; MacArthur & Wilson, 1967).

Para além deste modelo de “stepping stone”, várias outras formas de dispersão podem ainda ser consideradas como as invasões não sincronizadas a partir de uma única fonte, invasões independentes de diferentes fontes e expansões únicas (ver Seutin *et al.*, 1994a).

As ilhas em arquipélago terão maior taxa de imigração do que uma ilha isolada devido a possíveis trocas entre elas (Lomolino *et al.*, 1989; Pianka, 1988) o que culminará num maior número de espécies por ilha, ou melhor, por unidade de área.

São poucos os indivíduos que chegam às ilhas. No entanto, muitos destes indivíduos multiplicam-se rapidamente. Em teoria, a imigração ocorre quando um propágulo, tido aqui como o número mínimo de indivíduos duma espécie necessário para o sucesso reprodutivo e o aumento populacional sob condições óptimas, chega à ilha (Simberloff, 1969).

O número de indivíduos que chegam às ilhas é também irregular ao longo do tempo e vai uma vez mais depender da distância ao continente, das dimensões da ilha (“target effect” ou efeito alvo), das capacidades de dispersão dos organismos (Beeby, 1993; Blondel, 1986; MacArthur & Wilson, 1963, 1967) e da geometria da costa continental (Taylor, 1987).

De acordo com o modelo de Taylor (1987), são as ilhas situadas em frente de costas litorais lineares que têm maiores taxas de colonização, quando comparadas com as situadas à frente de pontas de penínsulas. Por outro lado, os dispersantes passivos tendem a não mostrar muita variação na taxa de colonização com a distância à costa. Os dispersantes activos podem apresentar respostas dramáticas com a distância à costa quando os seus limites de dispersão se aproximam dessa distância.

Muitos estudos foram realizados sobre a relação da riqueza específica com a área dos quais se destacam os de MacArthur & Wilson (1963, 1967); Connor & McCoy (1979); Simberloff (1976), Kilburn (1966). Portanto, tipicamente, grandes ilhas têm mais espécies do que pequenas ilhas (Losos & Schluter 2000). Uma relação entre área e número de espécies que é um pilar da teoria do equilíbrio dinâmico insular (Coleman *et al.*, 1982; Lomolino, 2000; Schoener, 1976; Solé *et al.*, 2002; Williamson, 1988). A curva da relação entre estes dois parâmetros assume várias formas (Connor & McCoy, 1979), e tradicionalmente é traduzida pela fórmula, $S = c A^z$, onde S corresponde ao número de espécies, A é a área e c,z são constantes (Connor *et al.*, 2000, Lomolino, 2000; Looijen, 1998; Losos, 1998; Williamson *et al.*, 2001, 2002).

Outros factores como a diversidade de habitats, das condições ecológicas e do tempo decorrido após a colonização deverão influenciar o número de espécies além da área *per se* (Haïla, 1983; Holt *et al.*, 1999; Kruess & Tschardtke 2000; Triantis *et al.*, 2003; Whitcomb *et al.*, 1981).

Mylonas & Valakos (1990) encontraram correlações significativas entre a área e o número de espécies de répteis em vários arquipélagos mediterrânicos.

Geralmente o número de espécies aumenta com a área, mais rapidamente nas ilhas distantes do que nas próximas. Nas grandes ilhas este número diminui mais rapidamente com a distância do que nas pequenas (MacArthur & Wilson, 1963, 1967). O modelo de MacArthur & Wilson (1967) considera a taxa de renovação de espécies maior nas ilhas cuja distância ao continente é menor e nas de área mais reduzida. Ainda, a taxa de colonização, definida como a diferença entre a taxa de imigração e a taxa de extinção, mostra uma relação inversa com o número de espécies (Bondel, 1986).

Brown & Kodric-Brown (1977) propuseram que a taxa de extinção poderia também depender da distância à fonte de aprovisionamento de espécies. Assim, populações das ilhas mais perto da fonte teriam maiores probabilidades de não se extinguirem devido à chegada de novos colonizadores da sua espécie o que ao fim e ao cabo acaba por ser um novo conceito

de ilhas. A taxa de renovação de espécies passa a ser função da distância, atingindo um máximo e depois decrescendo.

Nas ilhas, os efeitos catastróficos de fenómenos naturais como o vulcanismo ou furacões são factores decisivos na dinâmica das espécies (Cox & Moore, 1993; Kamijo & Hashiba, 2003). Os efeitos negativos resultantes destas catástrofes podem ser ampliados com a presença de predadores, aumentando as probabilidades de extinção (Schoener *et al.*, 2001a). As espécies mais comuns de lagartos têm no entanto tendência a recuperar, como foi observado por Schoener *et al.* (2001b) em *Anolis* spp. em 66 ilhas das Bahamas. Antes do furacão, era a área o melhor predictor da riqueza específica; imediatamente após o furacão era a altitude da ilha; e após um ano a área passava a ser o melhor predictor. Dezanove meses após o furacão, 88% das ilhas haviam sido de novo ocupadas. A recolonização ocorreu via colonização a partir doutros locais e a partir de ovos que haviam resistido à tempestade (Schoener *et al.*, 2001b).

As ilhas suportam geralmente menor número de espécies do que os habitats continentais com a mesma área e os mesmos recursos (Blondel, 1985, 1986; Case, 1975; Dueser & Brown, 1980; Lack, 1969; MacArthur & Wilson, 1963, 1967; MacArthur *et al.*, 1972; Mateo, 1997a; Schoener, 1988a,b; Zug, 1993). A diminuição do número de espécies competidoras e de predadores, parece assim resultar numa linearização dos ecossistemas insulares (Vicente *et al.*, 1987). A função acaba afinal por ser pouco importante na estruturação e no número de espécies em pequenas ilhas (Schoener & Schoener, 1978).

Apesar do baixo número de espécies é costume observar-se um aumento da densidade de cada espécie (Andrews 1979; Blondel, 1979, 1986; Brown, 1971; Brown & Gibson 1983; Burns, 1981; Case, 1975; Crowell, 1983; Diamond, 1970; Fellers & Drost, 1991; Krebs, 1994; MacArthur *et al.*, 1972; Outober, 1981; Polis & Hurd, 1995; Rodda *et al.*, 2001; Soulé, 1966; Williams, 1983; Yeaton & Cody, 1974; Zug, 1993). Este fenómeno foi designado de compensação da densidade (Case, 1975; Diamond, 1970; MacArthur *et al.* 1972).

1.2. Sobre a variabilidade das populações em meio insular

A biodiversidade é manifestada a dois níveis fundamentais: a diversidade específica e a diversidade genética. O problema está na interligação entre estes dois níveis (Vellend, 2003). Johnson (1973) verificou uma correlação negativa entre a diversidade de espécies e a diversidade genética em *Drosophila* spp. de quatro ilhas Havaianas. A previsão foi baseada no facto de quanto mais estável o ambiente maior o número de espécies e menor a diversidade

genética porque a estabilidade promove a especialização. Gotelli & Colwell (2001) não obtiveram qualquer relação entre os dois níveis e Soulé & Yang (1973) obtiveram uma relação positiva entre a heterozigotia alélica em *Uta stansburiana* e o número de espécies de iguanídeos entre as ilhas do Golfo da Califórnia. Segundo estes autores, existiria uma relação entre a competição interespecífica que favorecia uma selecção balanceadora e a heterozigotia. Nas salamandras *Desmognathus fuscus* da América do Norte, Karlin *et al.* (1984) encontraram uma relação negativa entre a heterozigotia e o número de congéneres. Segundo os autores, as interações interespecíficas diminuem a largura do nicho devido à selecção direccionada, diminuindo a diversidade genética. Estes estudos tentam analisar os resultados numa base de causa-efeito entre o número de espécies e a diversidade genética assumindo que a selecção é igual em todos os *loci*.

Recentemente, Vellend (2003) propôs que a diversidade específica e a diversidade genética devem estar positivamente correlacionados entre ilhas ou manchas de habitat, como resultado de processos que influenciam os dois níveis de diversidade em vias paralelas. Esta hipótese é baseada na teoria da biogeografia insular de MacArthur & Wilson (1967) e no modelo insular de genética populacional de Wright (1940). Embora os detalhes matemáticos desta teoria sejam diferentes, a lógica subjacente é semelhante. De acordo com a primeira, a diversidade específica é regulada pelo balanço entre extinção e imigração. O modelo de Wright sugere que a diversidade genética depende do fluxo genético e da deriva genética. Pequenas populações em pequenas ilhas estão sujeitas a extinções mais elevadas e à deriva genética. Em ilhas isoladas, poucos imigrantes chegam, e o fluxo genético é baixo. Vellend (2003) prevê então que a diversidade deverá ser maior nas grandes ilhas próximas da fonte de aprovisionamento.

De acordo com Slatkin (1987), na maioria das espécies existe uma grande variação geográfica quer na morfologia quer nas frequências alélicas. Esta variação resulta dum balanço entre forças locais antagónicas que promovem a diferenciação e homogeneidade genética entre populações. As mutações, a deriva genética e a selecção natural favorecendo as adaptações às condições locais promoverão a diferenciação das populações locais, enquanto que o movimento de gâmetas, indivíduos e até populações, ou seja, o fluxo genético, tendem a homogenizar a variabilidade genética.

Grandes perdas de variabilidade genética poderão ocorrer durante a expansão da espécie, principalmente para zonas virgens a longa distância como poderá ser o caso das ilhas. Um pequeno número de indivíduos dispersados a longa distância, e o seu crescimento lento,

podem acarretar grandes reduções de variabilidade genética (Hewitt, 1999; Nichols & Hewitt, 1994). Como as populações iniciais são geralmente pequenas, o endocruzamento é alto e o descréscimo de heterozigotia acontece a um ritmo de $1/2N_e$ por geração; se este endocruzamento não for acompanhado por uma perda de fertilidade, então a população há-de crescer com uma reduzida variabilidade (Almaça, 2001). Assim, um factor que afecta muito a variabilidade genética intrapopulacional é o tamanho da população. Reduções na variabilidade têm sido atribuídas ao tamanho populacional reduzido e ao efeito fundador (Grant, 1998b; MacCulloch *et al.* 1997).

Geralmente, as populações insulares descendem dum pequeno número de fundadores e de populações limítrofes continentais, e por isso é de esperar uma menor e diferente variabilidade genética em relação às populações continentais (Berry, 1986, 1989; Broders *et al.* 1999; Carlquist, 1966; Cheylan, 1988; Gorman *et al.*, 1975; Hoelzel *et al.*, 2002; Lande, 1992; MacCulloch *et al.* 1997).

MacCulloch *et al.* (1997) encontraram uma redução da variabilidade (heterozigotia, número de alelos e percentagem de *loci* polimórficos) em populações disjuntas (situação semelhante nas ilhas) em relação a populações contíguas de *Lacerta portschinskii* (Sauria: Lacertidae), utilizando 37 *loci* aloenzimáticos. Já anteriormente MacCulloch *et al.* (1995) haviam registado em vários lacertídeos do Cáucaso, onde se inclui *Lacerta portschinskii*, uma menor variabilidade nas espécies com distribuição disjunta, situação similar ao que ocorre nas populações insulares de lacertídeos. Num outro exemplo, Gorman *et al.* (1978) encontraram menor variabilidade em populações introduzidas de *Anolis* (Sauria: Iguanidae).

Há no entanto, alguns estudos contraditórios e que não revelam esta tendência. Assim, baseado em polimorfismos enzimáticos de *Podarcis muralis* e *Lacerta oxycephala* das ilhas do Lago Skadar, Crnobrnja-Isailovic *et al.* (1995) não obtiveram perdas de variabilidade, talvez devido ao fraco isolamento das populações.

De acordo com Clover (1979), Gorman *et al.* (1975), Soulé (1972) e Soulé & Yang (1973), nas ilhas maiores e próximas do continente encontra-se maior variabilidade nas populações de lagartos e nas ilhas mais pequenas e remotas a variabilidade é menor. Há assim uma correlação positiva entre a variabilidade e a área da ilha (Soulé, 1972)

A variabilidade nas ilhas não é então consequência de fenómenos aleatórios, porque se assim fosse não se obteriam níveis intermédios de variabilidade em ilhas de tamanho intermédio (Soulé, 1972). A maior variabilidade encontrada nas ilhas maiores, leva-nos também a pensar numa relação entre variabilidade genética e variabilidade ambiental (Powell

& Taylor, 1979), e por conseguinte numa acção selectiva. Clover (1979) propõe que é a forte selecção direcciona a principal responsável pela redução da variabilidade genética nas pequenas ilhas e portanto a taxa evolutiva será mais rápida quanto menor for a ilha.

Gorman *et al.* (1975) consideraram três explicações para a redução da variabilidade genética nas ilhas muito pequenas: 1- a quebra da variabilidade e o seu impacto serão maiores se no passado a população sofreu um "efeito de gargalo" (ex: ilhas que estiveram no passado ligadas ao continente); 2- a extinção da população original do ilhéu, seguida pela colonização por água de um ou alguns indivíduos; 3- forte selecção direcciona nos pequenos ilhéus devido às novas condições ecológicas. As diferenças das condições ecológicas resultam muitas vezes em tendências evolutivas previsíveis (no comportamento, cor, tamanho, escamas, etc.).

Quando se fala da variabilidade de populações insulares, há que considerar a natureza do organismo em causa no que respeita ao tamanho, organização espacial (colonial ou territorial) e poder de colonização (Cheylan, 1988). Estes factores terão muita importância, por exemplo, no fluxo genético uma vez que o baixo poder de colonização restringe o fluxo genético. Uma espécie com características territoriais não atingirá grandes densidades e assim a variabilidade será menor.

Os resultados de Lande (1992) revelaram a importância das mutações e migrações na manutenção da variabilidade genética de pequenas populações. Uma pequena taxa de migração é suficiente para manter um nível relativamente alto de variabilidade genética nas pequenas populações.

As forças que determinam a redução da variabilidade genética intra-populacional aumentam a variabilidade entre populações (Lewontin, 1975). Estudos recentes em répteis e insectos demonstraram que mesmo em pequenos isolados, como pequenas ilhas oceânicas, podemos encontrar uma variabilidade morfológica e genética apreciáveis (ex: Gubitz *et al.*, 2000; Pestano & Brown, 1999). Em muitos casos as ilhas são vulcânicas e por isso o vulcanismo tem sido invocado para explicar a variabilidade e estruturação populacional encontrada, determinando o isolamento e efeito de gargalo de muitas populações (ver exemplos de Carson *et al.* 1990; Pestano & Brown, 1999) ou o contacto secundário entre populações (Giannasi, 1997; Thorpe, *et al.*, 1996).

Os dados da biologia molecular e a medida da variabilidade genética

Até há pouco tempo, falar em redução da variabilidade nas populações insulares significava dizer que os caracteres morfológicos e enzimáticos eram menos variáveis do que nas populações continentais.

A sequenciação directa do DNA fornece informação detalhada da variabilidade intraespecífica e interespecífica (Harrison, 1991). Nalguns casos em que as aloenzimas revelaram uniformidade, as técnicas moleculares revelaram variabilidade (ver por ex: Routman, 1993; Scribner *et al.*, 1994) o que mostra um melhor poder de resolução destas últimas, permitindo por exemplo a detecção de espécies gémeas ou crípticas, como no caso dos Escincídeos do Pacífico do género *Emoia* (Bruna *et al.*, 1995) e no caso de morcegos (Juste *et al.*, 2004).

A grande variedade de técnicas moleculares reveladores da enorme variabilidade ao nível do DNA levou a um “boom” de estudos moleculares, com o objectivo de determinar a variabilidade molecular intra e inter específica, a dispersão de animais, etc..

Tal é o caso do estudo das populações de *Urosaurus ornatus*, efectuado com base na variabilidade do DNA mitocondrial (Haenel, 1997). Moritz & Brown (1987) fizeram o mesmo com outros lagartos. O uso de marcadores moleculares para estudos sobre a variabilidade populacional em tartarugas foi feito por Norman *et al.* (1994) através da análise de sequências parciais do DNA mitocondrial e da utilização de RFLPs.

O DNA “fingerprinting” tem sido aplicado ao estudo da variabilidade genética e das relações entre populações de vários organismos como as baleias (Patenaude *et al.*, 1994) e répteis iguanídeos da espécie *Sceloporus gramicus* (Sites Jr. & Davis, 1989).

As técnicas moleculares têm sido importantes para a determinação da variabilidade em espécies em vias de extinção ou com necessidade de preservação (Geyer *et al.*, 1993; Gibbs *et al.*, 1994; Laurent 1993; Martín *et al.*, 1997; Moritz, 1994).

A dispersão de organismos tem sido estudada com o auxílio de técnicas moleculares como aconteceu em Carranza *et al.* (2000) onde também foi abordada a filogenia das espécies do género *Tarentola* (Sauria: Gekkonidae) com base nas sequências parciais de genes mitocondriais. Austin & Zug (1999) utilizaram a mesma tecnologia para estudar a dispersão do escincídeo *Emoia tongana*. Segundo estes autores, a elevada divergência genética entre populações era indicativo da dispersão e isolamento.

Routman (1993) verificou que a variação do DNA mitocondrial obtida com RFLPs, era superior à variação aloenzimática em salamandras *Cryptobranchus alleganiensis*. A explicação

estaria na existência no passado dum fenómeno de efeito gargalo, seguido duma rápida evolução do DNA mitocondrial e duma lenta evolução aloenzimática.

RAPD's ("Random amplified polymorphic DNA") foram utilizados em estudos de conservação de espécies, como por exemplo de duas espécies de cobras do Canadá, *Elaphe obsoleta obsoleta* e *Sistrurus catenatus catenatus* (Gibbs *et al.*, 1994). Em lagartos foram utilizados por exemplo, para estimar a relação entre lacertídeos partenogénéticos e as suas presumíveis espécies parentais (Grechko *et al.*, 1993) e para esclarecer a sistemática de iguanídeos do género *Ctenosaura* (Kohler *et al.*, 2000).

Mais recentemente, outras técnicas moleculares têm sido utilizadas para quantificar a variabilidade genética das populações, nomeadamente os AFLP's ("Amplified Fragment Length Polymorphism") (Ritland & Ritland, 2000) utilizados por exemplo em populações da salamandra alpina, *Salamandra atra* (Amphibia: Salamandridae) (Riberon *et al.*, 2004), bem como a sequenciação directa de DNA (Brown, 1994; Lowe *et al.* 2004).

Os SNP's ("Single nucleotide polymorphisms") são marcadores moleculares comuns no genoma, na ordem dos vários milhões (estimativa de 1 por cada 1000 bp) e são dialélicos. Embora recente, a utilização destes marcadores em vertebrados para a determinação de padrões filogeográficos e variação genética é uma realidade há já alguns anos (O'Brien *et al.*, 1999; Shi *et al.* 2001).

1.3. Dados moleculares versus dados morfológicos e enzimáticos

"Which type of character is best? There is no hard and fast answer to this question." (Freeman & Herron, 2004).

Tem havido um debate aceso, ao longo dos tempos sobre a importância relativa destes conjuntos de dados na sistemática, na evolução e filogenia dos organismos (Moritz & Hillis, 1990).

Os pontos negativos dos caracteres morfométricos poderão estar relacionados com fenómenos como a homologia e o estado dos caracteres (contínuos *versus* discretos) (Cancino & Meléndez, 2000).

Já no passado a aplicação de polimorfismos enzimáticos revelou-se mais eficaz, por exemplo, na detecção de espécies crípticas, como aconteceu com *Sphenomorphus jobiensis* (Sauria: Scincidae) da Nova Guiné (Donnellan & Aplin, 1989).

Nalguns estudos, os dados moleculares corroboram os dados morfológicos como acontece em Harris *et al.* (1998b) sobre filogenia de Lacertídeos, e em Sites Jr. *et al.* (1996) em

Iguanídeos. Em *Meroles* spp. (Reptilia: Lacertidae) Harris *et al.* (1998a) também obtiveram concordância entre dados moleculares e morfológicos, mas diferentes dos resultados obtidos com electroforese de proteínas. Noutro caso, no estudo de Lamb & Bauer (2001) em osgas da Namíbia do género *Rhoptropus*, assistiu-se à situação de congruência entre dados moleculares, morfológicos e enzimáticos, o que segundo os autores dá forte suporte à filogenia molecular obtida e trás estabilidade taxonómica ao grupo.

Outro caso de congruência entre dados morfológicos e aloenzimáticos é o estudo de Busack (1988) sobre a evolução dos répteis do género *Blannus* de Marrocos e Espanha.

Muitos estudos revelam congruência entre a morfologia e os dados genéticos. Assim Caccone *et al.* (1999b) encontraram baixa variabilidade genética que era correspondida por baixa variabilidade morfológica. Keogh (1998) obteve concordância entre a morfologia e as árvores obtidas a partir de sequências de citocromo *b* e 16S de cobras elapídeos dos géneros *Bungarus* spp. e *Laticauda* spp.

Contudo, a aplicação de técnicas moleculares ao estudo das filogenias e relações entre espécies suplantou a aplicação de técnicas morfológicas. São inúmeros os exemplos (Avisé *et al.* 1992; Fu, 1998; Harris *et al.*, 2004a ; Lamb & Lydeard, 1994; Turbeville *et al.*, 1994; Zhang & Ryder, 1994). As técnicas moleculares conseguiram detectar discontinuidades e variabilidade onde outras se mostraram ineficazes. Esta constatação levou a que se utilize estas técnicas para os estudos de comparação de variabilidade entre ilhas e entre ilhas e continentes ou para estudar as relações e origens das populações insulares.

Ao nível da determinação das relações entre grupos de indivíduos ou populações, tem-se assistido a uma avalanche no aparecimento de técnicas de biologia molecular. Estas poderão em muitos casos não substituir na totalidade as técnicas aloenzimáticas e morfológicas, mas de certeza que constituem valiosos complementos.

Há no entanto muitos casos em que existe uma evidente incongruência entre os dados originários de técnicas diferentes. Hodges & Zamudio (2004) verificaram que existiam falta de congruência entre a os dados da biologia molecular e da morfologia em *Phrynosoma* spp. (Reptilia: Sauria). Bennetts *et al.* (1999) verificaram a mesma situação de discordância entre dados moleculares e morfológicos em *Noturus* spp..

Benton (1998), no seu estudo sobre filogenias de mamíferos verificou que em certos casos os dados moleculares eram melhores do que os morfológicos, mas noutros casos acontecia o contrário.

Noutros estudos os dados biométricos não eram congruentes com os dados moleculares. Hedges *et al.* (1991), não encontraram concordância entre os resultados obtidos pela sequenciação do 12 S e do citocromo *b* com a morfologia de algumas espécies da Família Xantusiidae (Reptilia: Sauria).

Num estudo do complexo *Anolis grabami*, Jackman *et al.* (2002) obtiveram níveis de variabilidade no DNA elevados em termos geográficos para uma espécie morfologicamente uniforme como *Anolis valencienni*, daí que tenha sugerido a existência de espécies crípticas. No mesmo estudo, a partilha dos mesmos ecomorfos por alguns grupos, não correspondia à filogenia o que subentendia uma incongruência entre a morfologia e os dados moleculares.

Em camaleões do género *Bradypodion* da África do Sul, Tolley *et al.* (2004), não obtiveram concordância entre dados morfológicos e dados moleculares (genes 16S e ND2), referindo que os dados morfológicos não reflectiam as “verdadeiras” relações filogenéticas. Muitas das espécies reconhecidas pela morfologia eram polifiléticas principalmente naquelas que ocorrem nos isolados florestais, no nordeste da África do Sul.

1.4. Especiação e Radiação adaptativa

“...We naturalists thought that evolution was indeed a gradual process, as Darwin had always insisted...” (Mayr, 2004)

“Wallace also made the first careful analysis by a darwinist “varieties” below the species level, in particular distinguishing geographic races from reproductively isolated species” (Mallet, 2004)

A radiação adaptativa e a especiação são dois fenómenos extremamente importantes e frequentes nas ilhas, principalmente as oceânicas. A especiação surge como um aspecto fundamental na teoria evolutiva e talvez um dos mais especulativos (Coyne, 1992).

Especiação é um processo central em evolução. Está muitas vezes correlacionada com a separação do pool genético em unidades facilmente identificáveis obtidas a partir de deriva genética devido a fenómenos de vicariância ou eventos fundadores ou por selecção sexual ou natural disruptiva. Este processo poderá ocorrer em alopatria ou simpatria (ver Templeton, 1981 e Tregenza & Butlin, 1999, sobre discussões sobre o assunto).

Especiação implica a noção de espécie. Muitos conceitos existem e por isso muito debate em torno deste conceito também existe (Hey, 1997). A descoberta que a espécie existe mas que alguns organismos não ocorrem em espécies, revela a dificuldade central na teoria

sistemática que assume a existência das espécies (Hey, 1997). Não cabe aqui promover qualquer discussão sobre o conceito de espécie, um dos que ao longo dos anos sempre suscitou acesos debates (Baum, 1992; Coyne, 1994; Cracraft, 1989; Darwin, 1859; De Queiroz & Donoghue, 1990; Dobzhansky, 1935; Donoghue, 1985; Freemon & Herron, 2004; Hennig, 1966; Hey, 1997; Kelt & Brown, 2000; Kornet, 1993; Mallet, 1995, 2001b, 2004; Mayr, 1942, 1964; Nixon & Wheeler, 1990; Patterson, 1985; Pinna, 1999; Riddle & Hafner, 1999; Ridley, 1993; Rosen, 1978; Simpson, 1961; Templeton, 1989; Van Valen, 1976; Wiens & Servedio, 2000; Wiley, 1978).

Os conceitos de espécies baseados na filogenética foram revistos algumas vezes, entre as quais por Pinna (1999). Segundo o autor, muitos dos conceitos “ditos” filogenéticos baseiam-se em factores estranhos às hipóteses filogenéticas. Têm um limitado conteúdo empírico e oferecem bases fracas sobre as quais se devem tomar decisões acerca de problemas reais relacionados com as espécies. Qualquer noção de espécie deverá basear-se em análises explícitas de caracteres em vez de propriedades abstractas das linhagens, previsões narrativas ou especulações acerca das relações.

Apesar da controvérsia sobre o conceito de espécie, esta categoria taxonómica é considerada por muita gente como a única real e susceptível de ser testada e definida objectivamente (Mallet, 2001b).

Mallet (1995) propôs um critério de agrupamento genotípico, segundo o qual, a espécie era reconhecida pelas discontinuidades genéticas e morfológicas entre populações em vez de ser reconhecida por meio da filogenia, coesão ou isolamento reprodutor.

Com o avanço da biologia molecular tem-se assistido a uma inflação do número de espécies, em que muitas subespécies foram elevadas a espécies, sem que se tivesse em conta os critérios adoptados no passado (critérios morfológicos, reprodutores, etc.) (Isaac *et al.*, 2004).

Segundo Wiens & Penkrot (2002), a análise de filogenias baseadas em haplótipos e sequências de DNA são utilizadas cada vez mais com maior frequência para testar a taxonomia tradicional ao nível específico. Contudo, poucos trabalhos têm comparado os limites específicos baseados na morfologia e no DNA, e os métodos utilizados com um ou com o outro tipo de dados são raramente explicados. Os autores referem que o DNA pode ter mais vantagens do que se pensava na delimitação de espécies. A utilização de diferentes conjuntos de dados e de diferentes aproximações podem dar resultados discordantes. Daí que a metodologia para a delimitação de espécies é um ponto crítico na sistemática.

Apesar dos vários conceitos, a definição de espécie continua a ser um dos aspectos mais controversos da biologia evolutiva. Segundo Sites & Crandall (1997), qualquer estudo que propõe uma nova espécie deve fornecer uma hipótese testável do estatuto específico. Geralmente as designações de espécies eram baseadas na morfologia, ecologia e geografia. Mais recentemente, as distâncias genéticas têm sido utilizadas para identificar espécies (Arnason & Gullberg, 1993; Arnason *et al.*, 2000; Mallet, 1995), no entanto não existe um teste de distância genética universal. Mesmo assim aparecem duas questões difíceis subjacentes à própria medida: a) qual a região genética que deve ser examinada e, b) qual o nível de divergência que determina diferentes espécies (Yoder *et al.*, 2000). Os dois critérios mais utilizados são o critério filogenético e o critério biológico. No primeiro, a população deverá ser considerada uma espécie quando apresenta uma série de caracteres que a definam (Davis & Nixon, 1992; Nixon & Wheeler, 1990). A este critério está associada a análise de agregação das populações que se baseia na ocorrência de caracteres fixos e únicos na genealogia da população. Envolve portanto a pesquisa de diferenças fixas na população (Davis & Nixon, 1992).

O critério filogenético tem os seus críticos (Davis, 1997). Alega-se por exemplo que em duas pequenas populações que se tornam isoladas (como acontece nas ilhas) pode acontecer a fixação das linhagens genéticas e passarem a ser vistas como espécies distintas sem que qualquer outra evolução importante do ponto de vista biológico tenha ocorrido. Evidentemente que o contrário também é verdadeiro, veja-se o caso do homem e símios, espécies distintas, mas que partilham os mesmos polimorfismos genéticos para a maioria dos genes (Mallet, 2001b)

Uma alternativa ao conceito filogenético de espécies foi proposto por Avise & Wollenberg (1997) e designada por “multilocus coalescent speciation theory”, em que as espécies são identificadas pela não intersecção das vias genealógicas. A integridade da espécie é verificada e reconhecida nos casos onde todas as genealogias mostram um padrão de monofilia recíproca.

O “antigo” critério biológico é difícil de testar pois envolve isolamento reprodutor, difícil de analisar em condições de laboratório e impossível em formas alopátricas e em formas com reprodução assexuada. Este isolamento surge geralmente após o estabelecimento de separações geográficas quer por dispersão quer por vicariância (Freeman & Herron, 2004).

Categorias taxonómicas infraespecíficas são ainda mais difíceis de definir como unidades geográficas fenotipicamente distintas (Mallet, 2001a) ou agregados de populações

fenotipicamente semelhantes de uma espécie que habitam uma subdivisão geográfica da área da espécie e diferem taxonomicamente das outras populações da espécie (Mayr, 1969).

A falta dum critério que definisse a subespécie levou muita gente a considerá-la como uma categoria irreal. Com o conceito filogenético de espécie, muitas formas locais são consideradas por vezes como espécies distintas e não subespécies (Mallet, 2001a).

Actualmente, além do conceito morfológico alguns autores tentam estabelecer limites em termos percentuais segundo os quais se pode, por assim dizer, categorizar um *taxon* relativamente à sua posição taxonómica. Na maior parte dos casos estes limites são arbitrários ou mesmo empíricos mas ainda assim não deixam de ser usados. Assim, por exemplo González *et al.* (1996) estabeleceram como distância genética média entre espécies, 0.245 ± 0.025 para o citocromo b (gene mitocondrial), e 0.195 ± 0.010 para o 12 S rRNA (também mitocondrial) obtidas com “Kimura’s (1980) two parameter”. Os valores médios entre populações intraespecíficas (subespécies) variava entre os 3.06 e 5.57%. Os níveis de divergência parecem diferir consoante o autor. Assim Reeder (1995) utilizando conjuntamente sequências mitocondriais dos genes 12S rRNA e 16S rRNA, obteve percentagens de divergência entre géneros de lagartos da família Phrynosomatidae de 4,5 a 12,5%. Dentro do mesmo género, as distâncias variaram entre 1,4% (*Urosaurus microscutatus* e *Urosaurus nigricaudus*) e 12,1% (*Sceloporus jarrovi* e *Sceloporus variabilis*). Este último valor é curioso pois é semelhante ao maior valor entre géneros diferentes. Segundo Harris (2002) a distância média do citocromo b para congénéricos nos répteis é maior do que o previsto (13,6% em vez de 12%). Por isso, *Podarcis hispanica* é um complexo de espécies pois a divergência entre linhagens da espécie é cerca de 10 a 15 % no citocromo b e por isso foi considerado parafilético (Harris & Sá-Sousa, 2002).

Em relação aos processos de especiação, começaremos por referir as palavras de Mallet (1995) que são significativas e elucidativas da discussão que existe em torno do processo:

“One hundred and thirty-six years since “On the Origin of Species...”, biologists might be expected to have an accepted theory of speciation. Instead, there is, if anything, more disagreement about speciation than ever before. Even more surprisingly, 60 years after the “biological species concept”, in which species were considered to be reproductive communities isolated from other such communities, we still do not accept a common definition of species. The emerging solution to the species problem is an update, genetic version of Darwin’s own definition.”

Cockburn (1991) referia já que vários modos de especiação existem, mas não é possível calcular a importância relativa de cada um. Segundo o autor a espécie poderá divergir em alopatria, formar-se em parapatria ou aparecer rapidamente em simpatria.

A visão tradicional da noção de que a especiação é essencialmente alopátrica (Dobzhanskyi, 1935; Mayr, 1942, 1964, 1969) está um pouco caindo em desuso (Mallet, 2001c).

Tem existido uma discussão quanto aos mecanismos e processos existentes na formação de espécies. Muitos consideravam a especiação como um processo gradual e outros como um processo que podia ser saltacional (Mayr, 2004). O moderno paradigma darwiniano, conhecido por “Síntese Evolutiva”, terá sido um passo para a conciliação entre estes dois pontos de vista e terá sido impulsionada por vários cientistas entre os quais Theodosius Dobzhansky e Ernst Mayr (Mayr, 2004)

Na década de 40 parecia que a síntese evolutiva estava resolvida. A constatação de que o material genético eram os ácidos nucleicos e não as proteínas e a descoberta da dupla hélice, novo impulso e novo impacto aconteceu sobre o paradigma darwiniano (Mayr, 2004).

“...It would seem justified to assert that, so far, no revision of the Darwinian paradigm has become necessary as a consequence of spectacular discoveries of molecular biology...” (Mayr, 2004).

Mayr (1970) considera três formas para a formação de novas espécies: a transformação de espécies, a fusão e a multiplicação de espécies ou verdadeira especiação. A transformação de espécies confunde-se com a evolução genética. Neste caso, o isolamento reprodutor não pode ser testado pois as populações são alocrónicas (Mayr, 1942). A fusão de espécies envolve a quebra dos mecanismos de isolamento reprodutor, resultando na diminuição do número de espécies sendo contudo um fenómeno raro (Almaça, 1981; Wiley, 1981). Porém, o fenómeno da especiação é essencialmente dinâmico.

“...However, numerous other modes of speciation have also been discovered that are unorthodox in that they differ from allopatric speciation in various ways. Among these other models are sympatric speciation, speciation by hybridization, by polyploidy and other chromosome rearrangements, by lateral gene transfer, and by symbiogenesis. Some of these nonallopatric modes are quite frequent in certain genera of cold-blooded vertebrates, but they may be the tip of the iceberg...” (Mayr, 2004):

Devido à grande biodiversidade ainda por desvendar, os processos de especiação da maioria dos grupos é desconhecida (Mayr, 2004). James Mallet (Nature, 430: 503; 2004) refere que: “...*I do not wish to belittle the work of Mayr and the geneticist Theodosius Dobzhansky – but our impression that they solved the species problem is illusory.*”

Ainda com uma visão essencialmente geográfica da especiação, Futuyma (1986) considera-a um processo que consiste no aparecimento de barreiras às trocas genéticas entre populações. Isto deverá acontecer mais por poliploidia e divergência genética entre populações segregadas espacialmente (alopátricas ou parapátricas). As espécies existem não porque são completamente distintas geneticamente mas sim porque apareceram barreiras reprodutoras que têm geralmente uma base genética. Teoricamente, este argumento não contradiz a especiação simpátrica (Futuyma, 1986).

Em síntese, podemos considerar os seguintes modos de especiação (Barton, 1988; Bush, 1975; Cockburn, 1991; Wiley, 1981):

- a) alopátrica – a independência da linhagem é conseguida pela separação geográfica (ver Dobzhansky *et al.*, 1988) ;
- b) alo-parapátrica – a independência da linhagem é conseguida enquanto duas ou mais linhagens estão disjuntas geograficamente, mas a sua diferenciação é melhorada após um período de parapatría;
- c) parapátrica ou peripátrica – a independência da linhagem é conseguida entre linhagens geograficamente distintas que mantêm um nível baixo de cruzamento, ou seja, de fluxo genético, ao longo duma zona de contacto;
- d) estasiopátrica – a independência da linhagem é conseguida através de grandes rearranjos cromossómicos que dão origem a mecanismos de isolamento pós-zigóticos;
- e) simpátrica – a independência da linhagem é conseguida sem separação geográfica, por mudanças ecológicas, mudança de épocas de reprodução, etc.. Tem sido dado pouca importância a este tipo de especiação, mas é possível que esta tenha uma importância maior do que é atribuído (Coyne, 1992).

No processo de especiação deverão estar envolvidas a selecção natural, a selecção sexual e a deriva genética associada a efeito fundador, assim como a história das populações naturais (Schneider, 2000).

Schluter (1996, 1998) refere um tipo de especiação de teor ecológico (especiação como consequência da adaptação a diferentes recursos ambientais) que pode ocorrer em

simpatria ou alopatria envolvendo numerosos agentes de selecção natural e uma combinação de processos adaptativos (Schluter, 2001).

A especiação é tida como um fenómeno frequente nas ilhas, as quais constituem um meio ideal para a diversificação de espécies, na medida em que uma das causas fundamentais deste processo é o isolamento das distintas populações entre si ou seja, a ausência ou intermitência do fluxo genético (Nunn, 1994).

Com o desenvolvimento de técnicas moleculares, tem-se verificado que há uma tendência para que o ritmo ou velocidade de especiação seja muito mais rápido nas ilhas do que nos continentes. A vantagem conferida pelo sedentarismo é uma causa da especiação e origem de endemismos nas ilhas (Perraud, 1992). A especiação é tanto mais evidente quanto mais distante é a ilha e portanto menos sujeita a fluxo genético do que o continente, sendo portanto de esperar aqui maiores percentagens de endemismos (Perraud, 1992).

As diferentes capacidades de dispersão, os diferentes sistemas genéticos e estratégias ecológicas determinam diferentes taxas de especiação e divergência fenotípica consoante os grupos, sendo talvez por causa disso que os mamíferos e pequenos répteis (ex: lacertídeos) desenvolvem tantas espécies e subespécies nas ilhas (Almaça, 2001).

Os mecanismos mais importantes na evolução insular são o isolamento das populações e a deriva genética actuando sobre o pequeno número de indivíduos colonizadores (Carlquist, 1966; Estoup & Clegg 2003). Há também a considerar as diferentes pressões selectivas nas ilhas que determinam muitas vezes uma forte selecção direccionada (Coyne, 1992). Deste conjunto de factores deverão resultar fenómenos de radiação adaptativa, mudanças morfológicas, fisiológicas, etológicas e ecológicas, por vezes acentuadas, e especiação rápida. Segundo Coyne (1992), a radiação adaptativa explica melhor os fenómenos de especiação nas ilhas do que o “efeito-fundador”.

A contínua especialização e adaptação aos nichos encontrados, mesmo que estes mudem, pode ajudar a explicar as espécies encontradas, o elevado nível de endemismos nas ilhas bem como os diferentes morfos encontrados (Losos *et al.*, 1994).

Ao processo de formação de espécies que envolve o isolamento de um pequeno número de indivíduos é atribuído a designação de “especiação por efeito fundador” (Giddings *et al.* 1989; Grant, 1998b; Mayr, 1942) que é um tipo de especiação alopátrica. Evidências biogeográficas, ecológicas e sistemáticas revelaram que o efeito fundador é muitas vezes uma pré-condição para as variações genéticas que levam à especiação (Carson & Templeton, 1984). A importância potencial dos eventos fundadores na redução da

variabilidade e no aumento da divergência genética tem sido muitas vezes reconhecido como factor principal na evolução da divergência e da especiação (Mayr, 1963; Templeton, 1980), contudo na prática é difícil distinguir os efeitos fundadores dos efeitos da selecção, podendo estes últimos se sobrepor aos primeiros nalgumas populações pequenas e isoladas, ou seja a deriva ser suplantada pela selecção na determinação da variabilidade genética (Barton, 1998; Coyne & Barton, 1988). A invasão e subsequente aumento da área de distribuição de muitas espécies fornecem excelentes oportunidades para estudar os efeitos fundadores na estrutura genética das populações colonizadoras (Demelo & Hebert, 1994).

O princípio fundador é muitas vezes responsável pela uniformidade fenotípica e genotípica (baixa variabilidade) dos animais das populações isoladas periféricas (Mayr, 1970). É rápido, comparativamente a outras formas de especiação, pois além do baixo efectivo inicial e dos fenómenos de deriva genética, a origem dos fundadores é geralmente em zonas limítrofes da área de distribuição da espécie em causa. Geralmente estas populações limítrofes apresentam já um elevado grau de homozigotia e endogamia (Carson, 1975, Mayr, 1970).

Ohta (1973, 1974) previu que uma população sujeita a efeito gargalo (“bottleneck”), inerente ao conceito de efeito fundador, teria maiores taxas de evolução molecular do que aquelas que não haviam passado por esse efeito. DeSalle & Templeton (1988) suportam estas previsões.

O efeito gargalo resulta geralmente na perda de alelos (principalmente os mais raros), na reduzida diversidade genética e nas mudanças aleatórias nas frequências alélicas. A perda de heterozigotia é um processo contínuo que é mais rápido nas pequenas populações. O endocruzamento, expondo alelos recessivos e deletérios, é inevitável nas pequenas populações e leva a reduções na heterozigotia, na reprodução e na sobrevivência. (ver Frankham, 1998; Frankham *et al.*, 2004).

Com o advento das técnicas moleculares, novas aproximações à especiação e ao efeito fundador aconteceram (Coyne, 1992; Estoup & Clegg, 2003; Hedrick *et al.*, 2001).

Para Templeton (1994) as linhagens evolutivas são espécies se cumulativamente forem geneticamente distintas, se não houver fluxo genético recente e se houver limitações ecológicas e demográficas na reprodução.

Por detrás da “simples classificação” existem várias razões para determinar os “limites” das espécies: (i) a amostragem dos *taxa* pode ter um profundo impacto na inferência filogenética (Lecointre *et al.*, 1993), afectando as hipóteses evolutivas; (ii) a identificação das

espécies é essencial para se tecerem hipóteses biogeográficas (Palumbi, 1996); (iii) os esforços de conservação só têm efeito quando sabemos o que estamos a proteger.

Para perceber a especiação costuma-se estudar a genética e a ecologia dos casos intermédios onde a hibridação interespecífica ocorre. Quando os gradientes genéticos são estreitos e coincidem com mudanças de habitude podemos dizer que uma selecção natural forte está a acontecer mantendo as distribuições parapátricas, e a adaptação ecológica mantém esta área estreita. Também poderá contribuir a selecção sobre determinados loci, o cruzamento ao acaso ou não e a inviabilidade dos híbridos. (Jiggins *et al.*, 1996 ; Jiggins & Mallet, 2000).

A colonização das ilhas tem sido reconhecida como uma das causas predominantes da especiação alopátrica e conseqüentemente as ilhas oceânicas têm sido apresentadas como sistemas modelo para o estudo da especiação e principalmente da radiação. Uma das tarefas mais interessantes e ao mesmo tempo mais frustrantes é descobrir a origem dos endemismos insulares. Alguns podem tornar-se tão distintos que é muito difícil saber qual o ancestral. A radiação adaptativa associada às dificuldades de sair das ilhas são mecanismos que levam à formação de endemismos. A radiação adaptativa é frequente nas ilhas oceânicas (Báez, 1982a,b; Eliasson, 1995; Givnish, 1998; Grant, 1986, 1998c; Nunn, 1994; Pianka, 1988; Schluter, 1988; Schluter *et al.*, 1985; Shorrocks, 1980).

Segundo Schluter (1996), na primeira metade do século XX, a radiação adaptativa era vista como o resultado de três processos ecológicos: diferenciação fenotípica das populações devido à divergência na utilização de recursos por acção da selecção natural; diferenciação fenotípica através da competição pelos recursos (oportunidade ecológica e deslocamento de caractere divergente); e especiação ecológica (especiação como consequência da adaptação a diferentes recursos ambientais).

Numa revisão extensa à literatura sobre adaptações de populações naturais recentes, nomeadamente aquela que abordava a radiação adaptativa, Reznick & Ghalambor (2001) verificaram que o fenómeno se pode enquadrar em duas categorias: (1) colonização de novos ambientes e (2) adaptações locais num contexto de ambientes heterogêneos e de estruturas metapopulacionais. Estes autores sugerem que o factor chave para a rápida evolução e diversificação possa ser a oportunidade das populações crescerem como acontece em meios isolados com comunidades depauperadas.

A radiação adaptativa ocorre quando uma linhagem evolutiva se diferencia em várias espécies relacionadas que diferem na utilização dos recursos ecológicos, ou ocupam

diferentes nichos ecológicos (Freeman & Herron, 2004; Schluter *et al.*, 1985; Schluter, 1996, 1998). Este tipo de diferenciação é frequentemente definido como um conjunto de especiações rápidas que ocorrem mais ou menos ao mesmo tempo e que deverão depender da evolução da dispersão para habitats não ocupados. Muitas destas especiações podem ocorrer em condições de isolamento ecológico e alopatria (Carr *et al.*, 1989), muitas vezes como consequência da competição entre organismos, ocorrendo simultaneamente um fenómeno de deslocamento de caractere (Schluter, 1988, 1994, 1998, 2000, 2001; Schluter & McPhail, 1992; Schluter *et al.*, 1985).

Os dados geológicos e moleculares indicam nalguns casos que a radiação é fruto de especiações recentes, como é o caso dos ciclídeos do Lago Vitória (Meyer *et al.*, 1990). Nas radiações recentes, as causas de diferenciação e especiação devem estar ligadas aos factores ecológicos existentes (Schluter, 1996). Isto é menos óbvio para radiações mais antigas (Lovette & Bermingham, 1999) em que pode haver uma explosão inicial seguida de processos evolutivos independentes.

Neste fenómeno, a competição intraespecífica inicial, consequência das grandes densidades rapidamente atingidas e a ocupação de “espaços ecológicos” vazios, deverão ser duas condições importantíssimas na radiação das várias formas. A forte diferenciação genética associada a uma estrutura filogeográfica poderão e deverão contribuir duma forma decisiva para a especiação; e se as várias formas tiverem diferenciação ecológica e fisiológica é normal que se assista a uma radiação adaptativa (Garcia-Paris *et al.*, 2000).

De acordo com Warren *et al.* (2003) radiações contemporâneas da formação de ilhas mostram habitualmente um padrão gradual à medida que as ilhas se vão formando. Deverá ter sido este padrão dos lagartos das Canárias (González *et al.*, 1996; Thorpe *et al.*, 1994), nos escincídeos (Brown & Pestano, 1998) e osgas canárias (Nogales *et al.*, 1998). Outro tipo de radiação é aquele que acontece após as ilhas formadas em que a especiação e diversificação são rápidas, como no caso dos tentilhões de Darwin das Galápagos (Sato *et al.*, 1999, 2001). De acordo com Beltrán *et al.* (2002) as radiações adaptativas recentes fornecem excelentes modelos para perceber a especiação, mas a rápida diversificação poderá causar problemas na inferência filogenética com topologias com nós mal suportados.

Uma questão central nesta área da biologia evolutiva é saber se a direcção do processo evolutivo se processa da mesma forma e na mesma direcção em radiações independentes, em ambientes semelhantes. Comparando *Anolis* e várias espécies de lacertídeos, Vanhooydonck & Irschick (2002) chegaram à conclusão que não se pode assumir

que a divergência no uso de habitats esteja associada com variações evolutivas da mesma forma em diferentes grupos.

Os casos mais espectaculares de especiação radiativa são sem dúvida os das moscas do género *Drosophila* do Hawaii (Hollocher, 1998). Cerca de 1/3 do total de espécies conhecidas mundialmente são endémicas do Hawaii. Não só o número de espécies é elevado como existe uma enorme variedade quer a nível comportamental quer morfológico. As principais explicações deste fenómeno assentam no efeito fundador e na ocupação de nichos não ocupados nas ilhas (mas que estariam ocupados no continente) na história geológica e nos eventos de colonização (Brown & Gibson, 1983; Carr *et al.*, 1989; Hollocher, 1998; Roderick & Gillespie, 1998). Os peixes ciclídeos dos lagos de África como o Malawi, o Tanganyika e Vitoria são exemplos frequentemente invocados de especiação explosiva e radiação adaptativa em vertebrados (ver Danley & Kocher, 2001; Rüber *et al.*, 1998). Outro exemplo de radiação adaptativa deverá ter ocorrido com as tartarugas gigantes das Galápagos (Beheregaray *et al.*, 2003).

Na Ilha da Madeira, alguns exemplos podem ser citados, como o de *Trechus* spp. (Insecta: Carabidae) com 22 espécies (Borges & Oromi, 1991). Noutros grupos animais observam-se outros exemplos de radiação adaptativa como o diplópode do género *Cylindrololus* (29 espécies endémicas), o coleóptero do género *Laparocerus* (23 espécies endémicas) (ver Báez, 1993).

Outro exemplo menos espectacular mas igualmente representativo tem a ver com os iguanídeos do género *Anolis* da Jamaica. Todas as espécies resultaram de uma radiação adaptativa. A explicação para este fenómeno baseia-se na ocupação diferencial do espaço por grupos de indivíduos (Williams, 1983). Provavelmente a especiação dos répteis do género *Mabuya* sofreram o mesmo tipo de radiação no Arquipélago de Cabo Verde (Brown *et al.*, 2001). Nas Ilhas Canárias, Lopez-Jurado & Mateo (1995) utilizam igualmente a hipótese da radiação adaptativa para explicar a diversidade de lagartos do género *Gallotia*. É invocado, entre outros, o vulcanismo que leva à formação de ambientes em mosaico e a colonização de novas áreas como bases explicativas da radiação.

Segundo Carranza *et al.* (2000), muitos animais não voadores que efectuaram grandes dispersões transoceânicas, sofreram após a chegada às ilhas uma radiação adaptativa. Contudo, faltam muitos detalhes sobre a reconstrução destes eventos.

Nos últimos anos, a aplicação de marcadores moleculares tem sido importante para a determinação e identificação de fenómenos de radiação adaptativa (Brown *et al.*, 2001; Liu & Hershler, 2005; López-Fernández *et al.*, 2005; Lovette & Bermingham, 1999).

1.5. *Dispersão e fluxo genético*

Vários modelos de fluxo genético existem e que correspondem a diferenças na estrutura populacional apesar de quase todos subentenderem uma taxa constante de fluxo genético (Futuyma, 1986), os quais podemos sumarizar assim:

1- O modelo “Ilha-continente” (Wright, 1931)- considera que há movimento essencialmente numa direcção, do continente (população grande) para a ilha (população pequena e isolada) e em que todas as subpopulações têm o mesmo efectivo ($N_e^{(i)}$). Os indivíduos migram de uma subpopulação para outra à mesma taxa.

2- O modelo “ilha” – em que os organismos migram ao acaso entre um grupo de pequenas populações.

3- Modelo “stepping-stone” (Kimura, 1953) – cada população recebe migrantes apenas das populações vizinhas. Considera que as subpopulações têm o mesmo efectivo ($N_e^{(i)}$), a taxa de migração é constante e define a taxa de mudança de uma população vizinha para outra.

4- Modelo de isolamento pela distância – o fluxo genético ocorre entre vizinhanças numa população distribuída continuamente. Prolongados períodos de fluxo genético restrito poderão resultar em divergência de populações geograficamente distantes através da deriva genética. As populações poderão divergir, também durante o início da fase de não equilíbrio do isolamento pela distância através de eventos de efeito fundador à medida que a espécie se expande (Slatkin, 1993; Wright, 1943).

O modelo de “stepping stone” apresenta uma vertente ecológica, normalmente referida aquando da explicação da deslocação ou dispersão de ilhas distantes, através dos “saltos” pelas ilhas intermédias entre a ilha final e o continente (ver MacArthur & Wilson, 1967). No entanto, Kimura (1953) apresenta e modeliza uma vertente de variação genética ao longo das várias subpopulações formadas (ver também Kimura & Weiss, 1964).

Quando uma espécie ocupa um vasto território, ocorre geralmente diferenciação local sob a forma de raças ou formas geográficas. Cada uma destas formas pode ter diferenças genéticas, o que reflecte diferentes pressões selectivas, ou mudanças ao acaso na constituição genética. O aparecimento duma barreira contribuirá para a manutenção e aumento dessas

diferenças (Kimura & Weiss, 1964). Wright (1943) propõe um modelo de estrutura populacional, no qual a população está distribuída ao longo dum vasto território, mas os parentes dos indivíduos ocorrem numa pequena área circundante. Mesmo que não haja barreiras, em populações com distribuição vasta e com migrações curtas (mais pequenas do que a área de distribuição), a troca de genes entre os limites mais afastados não acontece, podendo ocorrer diferenciação local aleatória, com a ajuda da selecção, daí que Wright (1943) tenha chamado a este modelo “isolation by distance”.

A formulação matemática dos modelos “stepping stone” e isolamento pela distância (“isolation by distance”), dois modelos básicos no estudo dos efeitos da subdivisão populacional bem como as variações genéticas sofridas pelas populações ao longo do tempo, estão delineados em Cox & Durrett (2002), Kimura (1953), Kimura & Weiss (1964) e Wright (1943).

A deriva genética é uma mudança imprevisível nas frequências alélicas devido ao tamanho finito de uma população que pode originar a fixação de certos alelos à custa de outros (Slatkin, 1987). Esta fixação é tanto maior quanto menor forem as populações. Daí que se encontre muitas vezes em pequenas ilhas, alelos e frequências alélicas “estranhas”.

O fluxo genético poderá constrangir a evolução, dificultando a adaptação às condições locais, homogeneizando a composição genética (Futuyma, 1986; Hendry *et al.*, 2002), ou poderá promover a evolução ao espalhar novos genes ou novas combinações de genes pela área de distribuição da espécie (Slatkin, 1987). Aliás, este tem sido um aspecto fundamental da teoria da biologia evolutiva. Segundo Barton & Hewitt (1989), o fluxo genético impede a divergência entre populações, promovendo a homogeneização (ver também Vandewoestijne *et al.*, 1999). Contudo, a existência de gradientes estáveis e de zonas híbridas mostra que o fluxo genético não destrói propriamente as diferenças genéticas entre populações. A questão fundamental é como surgem as barreiras reprodutoras dentro das populações contínuas (Barton & Hewitt, 1989). Deverão surgir por algum mecanismo de selecção sobre os genes que se exerce no tempo e no espaço ? Ou por acumulação de mutações ? Haverá um qualquer tipo de zona de tensão (*sensu* Barton & Hewitt, 1989) ?

No trabalho de Hendry *et al.* (2002), em peixes da espécie *Gasterosteus aculeatus*, os resultados sugeriam que a selecção natural promove a divergência adaptativa entre as formas dos lagos e dos rios enquanto que o fluxo genético constrange a magnitude desta mesma divergência.

Em espécies com distribuição geográfica persistente durante muito tempo, o fluxo genético ocorre através do movimento de indivíduos entre populações e geralmente o fluxo é conservativo, não havendo diferenciação local e inibindo a especiação. Se o fluxo é intermitente ou inexistente então as populações evoluem independentemente (Slatkin, 1987).

Quando as capacidades de dispersão duma espécie estão aquém da sua distribuição geográfica, as diferenças genéticas entre populações deverão aumentar com a distância que as separa (Hellberg, 1994), pois o fluxo genético diminui com a distância. Este fluxo pode ser medido utilizando métodos directos ou indirectos (*sensu* Wright, 1931). Os primeiros usam estimativas das distâncias de dispersão e do sucesso reprodutor das espécies, enquanto que os segundos recorrem às diferenças nas frequências alélicas ou às diferenças entre sequências de DNA.

A teoria e estatística associadas à avaliação da diversidade genética com base em métodos indirectos é exposta em Wright (1951), Slatkin (1987,1993) e Futuyma (1986)

1.6. Ilhas e a conservação das espécies

A conservação da biodiversidade é extremamente importante por razões éticas, científicas, ecológicas, económicas e estéticas (Roman *et al.*, 2001).

As ilhas tendem a apresentar elevados níveis de endemismo e elevado número de espécies relíquias que entretanto se extinguíram nos continentes (Carlquist, 1974). Nalguns casos existe uma estabilidade insular que permite que algumas formas aí se mantenham (Nunn, 1994). Noutros casos e em pequenos ilhéus, devido às dificuldades de acesso o número de predadores é nulo ou reduzido, permitindo a nidificação de aves marinhas como acontece com a cagarra (*Calonectris diomedea borealis*) nas Ilhas Selvagens (Jouanin *et al.*, 1995).

Já vimos antes que a viabilidade de populações fundadas por poucos indivíduos (efeito fundador), não pode ser calculada e é fortemente influenciada pelo acaso (Broders *et al.*, 1999). Quando as populações são pequenas, a probabilidade de desaparecer devido a uma catástrofe natural (ex: vulcão, furacão) aumenta, ou simplesmente, a extinção por flutuações demográficas aleatórios é muito maior nestes pequenos grupos (Frankham *et al.*, 2004; Hasegawa, 2003). Daí que as pequenas populações são as que recebem mais atenção dos conservacionistas tanto mais que na maior parte das vezes estão fortemente caracterizadas por uma baixa variabilidade genética e elevados níveis de endogamia. Diamond (1984) demonstrou que havia um aumento no risco de extinção com o decréscimo do tamanho da

população. Como referi, nas populações pequenas aumenta também os riscos de extinção devida a flutuações estocásticas das populações. No entanto, o tempo esperado para estas extinções é tanto maior quanto maior a capacidade de sustento do meio (Lande, 1993).

Apesar de constituírem nalguns casos refúgio de muitas espécies, as ilhas constituem sistemas muito vulneráveis estando as espécies mais sujeitas à extinção do que em relação ao continente (Frankham, 1997). De acordo com Frankham (1997, 1998), os factores genéticos não podem ser descartados como causas da maior taxa de extinção nas ilhas, apesar de poucas serem as evidências a prová-lo. Segundo o autor existem quatro factores genéticos que contribuem para a maior taxa de extinção nas ilhas: aquilo a que ele chamou de depressão endogâmica, perda de variabilidade genética, acumulação ou fixação de mutações deletérias e “adaptação genética” ao ambiente insular.

As ilhas funcionam muitas vezes como armadilhas evolutivas, em que as espécies muito adaptadas ou especializadas estão sujeitas a elevadas probabilidades de extinção (Báez, 1988). As formas endémicas terão então maior dificuldade em se manter nos casos em que ocorrerem mudanças ambientais, pois a sua variabilidade é geralmente muito reduzida, mais baixa do que nas formas não-endémicas (Frankham, 1997).

A extinção dos animais e plantas nas ilhas pode ter várias causas sendo a mais frequente a caça directa pelo homem (sobrexploração) e outras formas de exploração humana como a desflorestação, modificações do habitat como a sua fragmentação e destruição com a formação de isolados, poluição, predação, competição com as espécies introduzidas. As espécies também podem extinguir-se por causas naturais (ex. vulcanismo, chegada de outras espécies...) e efeitos secundários da extinção de outras espécies (Cushman, 1995; James, 1995; Frankham *et al.*, 2004; Pimm & Gilpin, 1989; Rocha Pité & Avelar, 1996) bem como por taxas elevadas de endogamia e homozigotia. (Frankham *et al.*, 2004).

A importância das invasões biológicas tem vindo a ser reconhecida como muito importante na degradação da diversidade biológica em termos mundiais e locais (Mack *et al.*, 2000; Usher *et al.*, 1988), principalmente nas ilhas oceânicas (Roemer *et al.*, 2001) como as Galápagos (Itow, 2003). As introduções começaram já na pré-história, como foi o caso do rato-do-Pacífico (*Rattus exulans*) introduzido na Polinésia (Matisoo-Smith, *et al.*, 1998).

A maior capacidade competitiva, as interacções mutualistas, a flexibilidade de comportamento podem ser factores importantes no sucesso dos invasores (Mooney & Cleland, 2001) e por isso o comportamento assume um papel importante na biologia da conservação (Holway & Suarez, 1999).

Os efeitos das invasões podem ter vários impactos sobre as populações locais. Parker *et al.* (1999) referem que apesar dos cientistas falarem nos impactos das espécies não indígenas, pouca atenção tem sido dada na definição de impacto, ou na ligação da teoria ecológica às medidas de impacto. A falta de generalizações respeitantes às invasões biológicas, reflectida na incapacidade em fazer previsões é negativo e impede uma estratégia eficaz de combate às invasões (Parker *et al.*, 1999).

Das espécies que chegam às ilhas, algumas podem morrer e outras tornar-se-ão naturalizadas. Só algumas das espécies naturalizadas se podem tornar invasoras. Os invasores biológicos são espécies que estabelecem nova distribuição onde proliferam, expandem e persistem em detrimento do ambiente (Mack *et al.*, 2000).

As invasões causam geralmente danos graves nos ecossistemas atingidos. Os animais podem eliminar formas nativas através da predação, herbivoria, competição e alteração de habitat. Nalguns casos a introdução duma presa pode levar a profundas alterações na rede trófica das ilhas, como aconteceu com a introdução de porcos em certas ilhas do Golfo da Califórnia. Estes permitiram a fixação de águias predadoras que começaram a predar sobre espécies nativas nomeadamente carnívoros. Nestas ilhas a predação substituiu a competição como principal força a dar forma aos biota (Roemer *et al.*, 2001).

Podemos dizer que a maioria das extinções ocorridas a partir de 1600, quer em aves quer em mamíferos ou répteis ocorreram em formas insulares, mesmo pensando que o total das espécies insulares é apenas uma pequena fracção do total de espécies. Assim, por exemplo 20% das espécies de aves ocorrem em ilhas, sendo que 90 % das extinções de aves ocorreram em ilhas (Frankham, 1997; Frankham *et al.*, 2004).

A introdução de cães, gatos e ratos, bem como a acção predatória do homem tem sido invocada para explicar o declínio de certas formas reptilianas insulares, principalmente gigantes, como em *Gallotia* (Machado, 1985). A extrema vulnerabilidade das ilhas às invasões por espécies (Cushman, 1995; Roemer *et al.*, 2001) é provavelmente bem demonstrada pela colonização das ilhas pelas espécies introduzidas pelo homem nos últimos 200 anos.

Segundo Keitt & Marquet (1996), poderá não haver um equilíbrio entre a introdução duma espécie e a extinção de uma nativa, mas a introdução duma espécie poderá despoletar uma “cascata” de extinções. Neste último caso, a relação entre o tempo da introdução e a extinção de diferentes espécies é regida por uma relação exponencial. Inicialmente, o invasor pode ter uma acção subtil ou mesmo insignificante.

A introdução de espécies pode contribuir para o aumento do número de espécies se nenhuma for extinta, por outro lado geralmente leva à redução do número de espécies devido à competição e predação por parte das invasoras (D'Antonio & Dudley, 1995).

Em termos de lagartos, *Anolis carolinensis* foi introduzido, não se sabe como, em La Romana na Costa da República Dominicana e rapidamente atingiu grandes densidades, onde parece estar a influenciar algumas espécies nomeadamente *A. cybotes* através da predação (Fitch, *et al.*, 1989).

O desaparecimento de *Macrosclincus coctei* em Cabo Verde deverá ter sido consequência da introdução de animais relacionados com o homem ou à predação antropogénica (Andreone, 2000; Andreone & Guarino, 2003). Outro exemplo foi a chegada do homem às Galápagos junto com as espécies parasitas ou comensais (ex: ratos) que devastaram várias espécies entre as quais as tartarugas gigantes, quer pela predação directa sobre adultos quer sobre os recém eclodidos e ovos (Beheregaray *et al.* 2003).

Espécies com distribuições restritas estão mais em risco de extinção do que espécies com distribuições geográficas amplas porque qualquer variação ambiental desvantajosa para a espécie pode levá-la à extinção. Este risco será tanto maior quanto mais homogénea e panmítica for a população (Lande 1988; Shaffer *et al.*, 2000). Outro risco tem a ver com a hibridização entre espécies nativas e as introduzidas e invasivas, provocando um tipo de extinção ou de poluição genética (Simberloff, 2001).

É fundamental em conservação de espécies conhecer-se a estrutura populacional vigente (Shaffer *et al.*, 2000), e neste aspecto a utilização de marcadores moleculares tem sido extremamente importante nos últimos anos. As relações filogeográficas baseadas no DNA mitocondrial têm-se revelado duma importância extrema, nomeadamente na detecção de fenómenos de endocruzamento, de fragmentação e isolamento, de efeito de gargalo, de fluxo genético, ou na quantificação da variabilidade genética em espécies em risco (ver por exemplo o trabalho de Randi *et al.*, 1994, em ursos europeus; ver também Avise *et al.*, 1987).

Prevenir e identificar futuros invasores constitui uma das maiores e árduas tarefas da biologia da conservação porque a identificação de características de possíveis invasores tem sido muitas vezes inconclusiva (Simberloff, 2001).

Contudo, o efeito das espécies invasoras pode não ser negativo para todas as espécies. Assim, por exemplo, 5 a 10 % da herpetofauna das Índias Ocidentais parecem ter beneficiado com a introdução de espécies mediadas pelo homem, como as palmeiras, bananeiras, cacauzeiros e plantas de café, ou pela actividade do homem em si. Os lagartos,

principalmente *Ameiva* e *Anolis*, utilizam os recursos introduzidos como abrigo, locais de termorregulação e alimentação assim como locais para interações sociais (Henderson & Powell, 2001).

A combinação da ecologia com a genética é essencial para o desenvolvimento de soluções práticas para o problema das espécies invasoras. Esta aproximação holística inclui por exemplo técnicas moleculares, experiências controladas e modelos matemáticos (Sakai *et al.*, 2001). Muito trabalho é necessário realizar ainda para podermos prever os efeitos dos invasores nas espécies nativas, quer em termos ecológicos (a posição ou espaço ecológico que irá ocupar), quer genéticos (Sakai *et al.*, 2001). Em termos naturais a fragmentação de habitats tem sido responsável pela diferenciação de vertebrados, tanto a nível continental como insular (Avice, 1992; Brown *et al.*, 2000). As mudanças climáticas constituem uma das causas, assim como o vulcanismo (Brown *et al.*, 2000). A perda de habitats e a sua fragmentação, provocada pelo homem, são as maiores ameaças à biodiversidade do planeta (Colinge, 1998; Roman *et al.*, 2001; Templeton *et al.*, 2001).

Poucos são os trabalhos que tratam do impacto da fragmentação nos répteis. O estudo de Nally & Brown (2001) constitui uma excepção à regra, no qual a fragmentação parece não influenciar o número total de espécies, mas sim interferir na existência de certas espécies.

Capítulo 2

2. SISTEMÁTICA MOLECULAR: OS MARCADORES UTILIZADOS

“ Scientific technology is providing experimental data on evolution as the process occurs. Research Projects are finding real-time evidence of natural selection, hybridization and the influence of genetic variation” (WEINER, 1995)

A sistemática molecular fornece ferramentas robustas e muito importantes no estudo da origem e evolução de organismos insulares (Cancino & Meléndez, 2000; Emerson, 2002; Franckam *et al.*, 2004; Hillis & Moritz, 1990; Hillis *et al.*, 1996a,b; Lewis, 2001; Lowe *et al.*, 2004; Veith, 1996).

Até meados dos anos 60 do século XX, quando a electroforese de proteínas começou a ser utilizada para detectar a variação genética em amostras de indivíduos provenientes de diferentes populações e espécies, não era possível obter estimativas rotineiras de parâmetros genéticos de relevância em ecologia e evolução. Termos como heterozigotia média, número de alelos por locus, percentagem de alelos polimórficos, coeficiente de endocruzamento, equilíbrio genético, estrutura populacional, etc. começaram a fazer parte do quotidiano da biologia das populações (Baker, 2000).

Actualmente é o DNA a molécula mais utilizada em evolução e ecologia moleculares. A descoberta da PCR e a sequenciação directa foram outras revoluções não menos importantes que permitiram chegar aos nossos dias com genomas inteiros praticamente sequenciados (Baker, 2000). Os RAPD's, AFLP's, RFLP's e microsatélites, são exemplos da grande variedade de técnicas e marcadores ao nosso dispor (Frankham *et al.*, 2004; Ritland & Ritland, 2000).

As principais vantagens da utilização dos caracteres moleculares centram-se sobretudo no facto de poderem evoluir a uma taxa de substituição constante e regiões diferentes do genoma poderem evoluir a diferentes velocidades, o que poderá ser utilizado para a reconstrução filogenética a vários níveis (Lowe *et al.*, 2004). Também alterações na sequência de nucleótidos principalmente nas codificadoras de proteínas implicam alterações nas posições dos codões que também se reflectem em diferentes taxas de substituição, apesar do facto das sequências poderem ser alvo de convergência.

Uma das razões da escolha dos marcadores usados neste estudo, nomeadamente do citocromo b, do 12S e 16S tem também a ver com a disponibilidade de acesso a inúmeras sequências no Genbank. Outra das razões é que em certos estudos relacionados com o tema deste trabalho e com a adaptação e especiação em répteis, estes marcadores foram utilizados em conjunto, nomeadamente em *Meroles* (Lacertidae: Reptilia) (Harris *et al.*, 1998a).

2.1. O DNA mitocondrial

Os marcadores genéticos ocorrem no genoma nuclear e nos genomas organelares (cloroplastos e mitocondrias). Estes três genomas diferem nas suas características evolutivas (na herança, na sequência e estrutura das taxas de mutação), o que determina os objectivos a atingir em cada estudo. Em cada um destes genomas as regiões não codificadoras e as codificadoras evoluem a diferentes taxas. A escolha do genoma e da região a estudar dependerá da variação necessária para uma investigação em particular (Lowe *et al.*, 2004).

É claro que desde 1987 muito mudou à medida que o genoma de um sem número de organismos foi sendo escalpelizado e novos marcadores e técnicas foram aparecendo e implementadas. Mais de 70% dos artigos publicados em jornais de ecologia molecular ou filogeografia, são contudo baseados em marcadores do DNA mitocondrial. E na generalidade o DNA mitocondrial satisfaz um variado número de critérios nomeadamente possuir regiões com taxas de evolução diferentes e portanto passíveis de ser utilizado em análise inter- e intraespecífica.

Os padrões de variação molecular de *loci* neutrais podem dar informação importante sobre a história das populações, apesar de se aconselhar cuidado na escolha dos genes (Singh & Long, 1992). Como afirma Harrison (1989), a sequenciação de fragmentos homólogos de DNA a partir de diferentes organismos fornece o método directo mais poderoso para a obtenção de informação sobre a quantidade de variação ou divergência genética. Cada nucleótido representa um caractere que pode possuir quatro estados discretos.

A análise filogenética de espécies ou *taxa* próximos deve usar informação de genes com uma taxa de evolução rápida, de que os genes do DNA mitocondrial são exemplo (Avice *et al.*, 1987). Mesmo no interior desta molécula, os genes codificadores devem estar mais constrangidos do que por exemplo a região controladora ou D-loop, selectivamente mais relaxada e que deverá ser mais variável possuindo assim uma taxa de mutação mais elevada (Cook *et al.*, 1999).

Pouca divergência no DNA mitocondrial de duas populações poderá querer dizer que a separação é recente (Cook *et al.*, 1999). Poderão até existir casos de pouca divergência entre espécies já reprodutivamente isoladas, que em isolamento aparecem sem grandes diferenças no DNA mitocondrial (Rocha Olivares *et al.*, 1999a,b).

Se o objecto de estudo forem *taxa* mais afastados, a opção poderá ter de passar pela utilização de genes nucleares. Os marcadores deverão assim ser bem escolhidos consoante os objectivos dos estudos. Se nalguns casos 300-500 bp são suficientes, 1000 ou mais poderão ser insuficientes para obter filogenias com boas resoluções. Há muitas razões que justificam este último caso, mas a existência de elevados níveis de saturação ou homoplasia das posições, principalmente na terceira posição dos codões, é talvez a mais evidente porque baixa o sinal filogenético (Avice *et al.*, 1994).

Muitas vezes é adoptada uma estratégia mista no sentido de se analisarem genes mitocondriais e nucleares, principalmente quando temos muitos *taxas* com diferentes tempos de divergências ou quando temos *taxas* que divergiram há relativamente bastante tempo. Assim, por exemplo, Whiting *et al.* (2003), ao estudarem um grupo da família Scincidae utilizou genes mitocondriais (12S rRNA, 16S rRNA e citocromo b) e genes nucleares (18S, *C-mos* e α -Enolase).

Em geral podemos dizer que a variabilidade intraespecífica é melhor determinada com os marcadores mitocondriais, enquanto que a variabilidade interespecífica, ao nível supraespecífico (grandes tempos de divergência), é melhor determinada com marcadores nucleares (Avice *et al.*, 1994; Moritz *et al.*, 1987; Zhang & Hewitt, 2003). Subsistem contudo alguns óbices quanto ao caso de marcadores moleculares, a maior parte deles relacionados com as questões laboratoriais para recuperar a informação haplotípica, bem como a dificuldade da análise dos dados devido a recombinação e baixos níveis de divergência e multifurcação intraespecífica evolutiva. A recuperação de haplótipos tornou-se um problema menor se forem utilizados dados empíricos e inferência estatística e alguns métodos foram estabelecidos para detectar recombinação e análise de redes (“network e nested clade analysis”). Ainda segundo Zhang & Hewitt (2003), a inclusão de marcadores nucleares em estudos evolutivos e populacionais é hoje indispensável para um melhor entendimento dos processos evolutivos permitindo aceder a uma história anterior à abrangida pelos marcadores tradicionais mitocondriais.

A utilização de marcadores mitocondriais tem sido igualmente muito importante na resolução de espécies crípticas, dificilmente identificáveis pelo fenótipo como foi o caso do

estudo de Bruna *et al.* (1995) em lagartos do género *Emoia* (Sauria: Scincidae). Estes marcadores têm sido também utilizados em filogeografia comparativa como no estudo de Bernatchez & Wilson (1998) em peixes Neárticos e Paleárticos. Outro exemplo ocorreu na detecção de espécies crípticas de morcegos do género *Pipistrellus*. A sua detecção só foi possível com estudos de colocação e com RFLPs (Mayer & Helversen, 2001a). Os mesmos autores utilizaram sequências de ND1 para diferenciar espécies de morcegos morfológicamente semelhantes (crípticas) de vários géneros europeus (Mayer & Helversen, 2001b). Hulva *et al.* (2004) utilizaram sequências do *citocromo b* para distinguir espécies crípticas do complexo *Pipistrellus pipistrellus/Pipistrellus pygmaeus*, bem como as suas origens. O mesmo gene foi utilizado por Juste *et al.* (2004) para a detecção de espécies crípticas de morcegos bem como os padrões de colonização destes animais na Europa e ilhas Atlânticas.

Para tempos de divergência muito elevados, a taxa de mudança do DNA mitocondrial pode revelar-se, aparentemente, semelhante ao DNA nuclear (Attardi, 1985), provavelmente devido a fenómenos de homoplasia. Para grandes níveis de divergência é igualmente possível utilizar as primeiras e segundas posições dos codões, só as transversões, ou os genes rRNA do DNA mitocondrial, duas estratégias para reduzir a homoplasia (Moritz *et al.*, 1987).

O DNA mitocondrial poderá também dar-nos informações valiosas sobre processos demográficos como a fragmentação das populações, isolamento e efeitos gargalo (Wilson *et al.* 1985).

O mérito do DNA mitocondrial dos animais como um marcador molecular de alta resolução em ecologia molecular e genética evolutiva está bem fundamentada na literatura desde há pelo menos 25 anos. O DNA mitocondrial tornou-se numa ferramenta de uso popular, forte e muito útil nos estudos evolutivos, na determinação da estrutura populacional, do fluxo genético, na detecção de hibridação, em biogeografia e, como não poderia deixar de ser, na determinação de relações filogenéticas entre grupos de diferentes níveis taxonómicos, principalmente de grupos filogeneticamente próximos e na sistemática (Avise *et al.*, 1987; Bernatchez & Osinov, 1995; Harrison, 1989; Moritz, 1994; Moritz *et al.*, 1987; Wilson *et al.*, 1985 e veja-se a revisão de Ballard & Whitlock 2004).

Avise (1989b) refere que existem duas componentes gerais da variabilidade intraespecífica do DNA mitocondrial importantes para o evolucionista: (i) a magnitude e o padrão da diferenciação filogenética entre haplótipos; (ii) e a distribuição geográfica dos grupos filogenéticos ou haplótipos. Estas duas componentes juntam-se para formar uma sub-

disciplina, a filogeografia intraespecífica. A filogeografia comparativa estuda os efeitos da história e geografia na distribuição da variabilidade (variação) genética dentro da espécie numa comunidade de organismos.

Três aspectos importantes e básicos inerentes ao DNA mitocondrial são tidos em conta quando utilizamos esta molécula em estudos evolutivos: substituição, adições e deleções de bases, a variação no tamanho da molécula e o arranjo das várias porções da molécula que constituem as mudanças mais comuns no DNA mitocondrial (Densmore *et al.*, 1985; Moritz, *et al.*, 1987).

Uma característica também importante está na sua facilidade de isolamento, extracção e manipulação (Avisé 1989a, 1991). Como referimos, uma propriedade interessante está relacionada com o facto dos seus genes apresentarem diferentes taxas de mutação ou substituição entre si e mesmo intragénica principalmente nos codificadores de proteínas encontram-se diferenças entre regiões e posições nos codões (Marshall & Baker 1998). Sendo assim o DNA mitocondrial poderá ser utilizado em estudos de *taxa* próximos com em estudos entre *taxa* distantes, ou que divergiram há muito tempo (Avisé, 1994).

O DNA mitocondrial é herdado por linhagem materna (Attardi, 1985; Avisé *et al.*, 1987; Densmore *et al.*, 1985; Frankham *et al.*, 2004; Laurent, 1993; Moore, 1995; Randi, 2000), apesar de algumas, raras excepções (Gyllesten *et al.*, 1991; Zouros *et al.*, 1992) e possui uma taxa de evolução nos vertebrados 3 a 10 vezes superior ao DNA nuclear (Avisé, 1994; Avisé *et al.*, 1987; Brown, 1985; Brown *et al.*, 1979; Densmore *et al.*, 1985; Moore, 1995; Hoelzel & Dover, 1991; Randi, 2000; Sheldon *et al.*, 2000), o que a torna adequada ao estudo de grupos próximos (Ashley, 1989). Um caso extremo, e provavelmente o mais extremo, é descrito por Caccone *et al.* (2004) em tartarugas das Galápagos, em que a divergência no DNA mitocondrial é 30 vezes superior ao do DNA nuclear. Segundo estes autores esta discrepância é estranha tendo em conta que os grandes ectotérmicos têm geralmente baixas taxas de evolução do DNA mitocondrial (Mindell *et al.*, 1996; Rand, 1993). Outra característica importante é a provável e geralmente aceite inexistência de recombinação (Brown, 1985) o que a torna excelente para a reconstrução da história das populações e espécies (Avisé *et al.*, 1987).

A diferença em termos de taxa de substituição como já foi referido anteriormente, torna o DNA mitocondrial numa ferramenta importante quando as divergências são recentes para estudar fenómenos de deriva, por exemplo (veja-se uma revisão sobre o DNA mitocondrial em Ballard & Whitlock, 2004).

A respeito das substituições nucleotídicas a relação entre transições e transversões (Ti/Tv) é de cerca de 10 a 20 em comparações intraespecíficas (ver Holmquist, 1983). À medida que aumenta a divergência esta razão diminui podendo descer abaixo de 1.0 e por isso indicando uma saturação das transições. Em média o DNA mitocondrial satura em 10 a 20 milhões de anos (Irwin *et al.*, 1991; Randi, 2000), no entanto nos genes codificadores podemos ter uma resolução filogenética com 250 milhões de anos (Janke & Arnason, 1997). As terceiras posições, as zonas hipervariáveis da região controle e os sítios sinónimos podem evoluir 10 a 20 vezes mais rápido do que o resto do DNA mitocondrial (Randi, 2000). Existem geralmente aquilo a que se designa por “hotspots” de transição na região control do DNA mitocondrial que evolui cerca de 100 vezes mais rápido, tornando difícil neste caso calibrar as taxas evolutivas (Lowe & Scherer, 1997; Willis, 1995).

Uma das formas de resolver será tornar os ramos internos maiores (adicionar mais caracteres à matriz de dados) e os terminais menores (reduzindo o número de caracteres com informação insuficiente ou errada, ou pela adição de *taxa*) (Graf & Sparks, 2000). Segundo os autores o DNA mitocondrial é inapropriado para linhagens que divergiram antes do início do Terceário e mesmo mais tarde em alguns casos.

Em relação ao genoma mitocondrial propriamente dito, parece que o tamanho da molécula é mais variável e maior nos animais ectotérmicos do que nos endotérmicos, não havendo diferenças na heteroplasmia (Rand, 1993). Poderá a sua taxa metabólica estar relacionada com este facto? (ver discussão em Mindel *et al.*, 1996).

Nos vertebrados em geral os genomas mitocondriais são semelhantes, em termos organizativos e em termos de compactação (Bensch & Harlid, 2000; Chang, *et al.*, 1994; Gemmell *et al.*, 1994; Härlid *et al.*, 1998; Harrison, 1989; Kumazawa & Nishida, 1999; Mindell *et al.*, 1998; Quinn & Mindell, 1996; Randi, 2000; Seutin *et al.*, 1994 b). Por exemplo, a carpa, *Cyprinus carpio* (Pisces: Cyprinidae) (Chang, *et al.*, 1994), o anfíbio *Xenopus laevis* (Roe *et al.*, 1985) e a galinha (Desjardins & Morais, 1990), apresenta uma ordem de genes e uma mesma compacticidade genómica semelhantes à dos Mamíferos (Kim *et al.*, 1998), com 22 tRNA's, 2 rRNA's e 13 genes codificadores de proteínas (Awise *et al.*, 1987; Ballard & Whitlock, 2004; Hoelzel & Dover, 1991; Moritz *et al.*, 1987) (ver Figura 1).

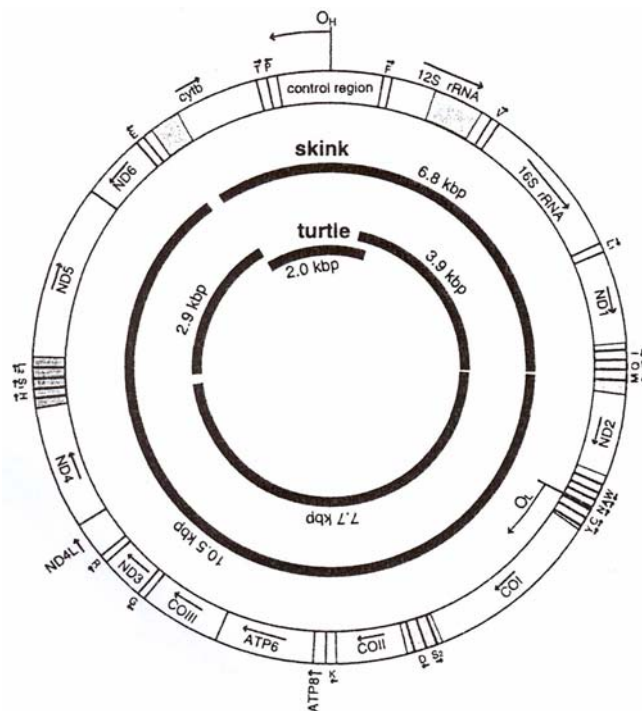


Figura 1: Molécula de DNA mitocondrial e posição relativa dos genes dum escincídeo e duma tartaruga (Kumazawa & Nishida, 1999)

O número de pares de bases do genoma mitocondrial varia entre os 15 a 17Kb, o que corresponde a cerca de 1/10 000 do genoma nuclear animal mais pequeno (Ballard & Whitlock, 2004), sendo a maioria entre 16 e 17,5kb mas existindo casos com 15,1 e 23 kb (Moritz & Brown, 1986).

Alguns estudos mostraram a existência de sequências repetitivas em “tandem” no DNA mitocondrial de lagartos (Densmore *et al.*, 1985; Moritz & Brown, 1986, 1987; Moritz *et al.*, 1987), ou mamíferos quirópteros (Wilkinson *et al.*, 1997), o que contribui para as diferenças nos tamanhos da molécula de DNA. Assim em lagartos da espécie *Cnemidophorus exsanguis* foram encontrados DNA’s mitocondriais com cerca de 22,2 kb, enquanto que a maioria possui cerca de 17,4 kb (Moritz & Brown, 1986). Moritz & Brown (1987) encontraram variações em lagartos entre 17-25 kb. Estas sequências repetitivas abrangem essencialmente as sequências do D-Loop e dos rDNA’s.

Na maioria das vezes as duplicações são raras e aparecem em poucos indivíduos numa população. Também em muitos casos, espécies próximas não partilham a mesma duplicação. Nos lagartos ocorrem em frequências semelhantes nos híbridos e não híbridos, com maior frequência nos triplóides do que nos diplóides (Moritz & Brown, 1987). Zevering *et al.* (1991) encontraram duplicações e formação de pseudogenes em formas partenogénicas

do geonídeo *Heteronotia binoei* podendo tal dever-se ao facto dessas formas resultarem da hibridação entre espécies.

O número de genes é semelhante nos animais em geral, mas ocorrem entre organismos filogeneticamente distantes rearranjos que incluem código genético modificado, traduções pouco ortodoxas, codões de iniciação distintos, e componentes de RNA estruturalmente modificado do sistema de tradução (Wolstenholme, 1992). Há também semelhanças nos sítios de início das transcrições e replicações em muitos vertebrados.

Existem excepções à organização dos genes deste genoma, muito particularmente em aves e que basicamente envolvem trocas de posições sobretudo dos tRNA's em aves (Bensch & Hällid, 2000; Desjardins & Morais, 1990; Gemmell *et al.*, 1994; Mindell *et al.*, 1998), ao que sugeriram que havia origens independentes das ordens dos genes nas aves.

Também nos répteis foram descobertos arranjos diferentes nos tRNA's (Kumazawa & Nishida, 1995). Quinn & Mindell (1996) verificaram que os crocodilos e as tartarugas tinham o mesmo arranjo de genes do que os dos mamíferos na zona do D-loop (região controle), mas com uma pequena alteração: o crocodilo possui um tRNA^{Phe} inserido entre o tRNA^{Pro} e a extremidade 5' da região controle (orientação da cadeia leve (L-strand). Encontraram dois arranjos diferentes em tuatara, outro réptil, um dos quais semelhante ao dos mamíferos e outro às aves. Algumas tuataras parecem ter sofrido deleções, nomeadamente no citocromo b, tRNA^{Pro} assim como 87 bp da região controle. Glenn *et al.* (2002) descobriram uma nova região não codificadora adicional, entre o citocromo b e tRNA^{Thr} em *Alligator mississippiensis* e *A. sinensis*. As diferenças entre as principais linhagens de répteis também se fazem sentir nas taxas de substituição das sequências de genes codificadores de proteínas, com taxas rápidas para as cobras e crocodilos e lentas para as tartarugas e lagartos (Kumazawa & Nishida, 1999). Dentro de cada linhagem existem ainda diferenças significativas.

A maior diversidade do DNA mitocondrial centra-se sem dúvida na região control, conhecida por D-Loop. A mais flagrante é a variação de tamanho (Roe *et al.*, 1985), desde a galinha com 1227 bp, 1122 bp no homem, 879 no ratinho e 2134 bp em *Xenopus laevis* (Desjardins & Morais, 1990). Em *Lacerta dugesii* encontramos variação neste caso ao nível intraespecífico (Brehm *et al.*, 2002).

Fenómenos de heteroplasmia, ou seja, a existência de diferenças no DNA mitocondrial do mesmo indivíduo têm sido observadas em vários animais entre os quais os

lagartos do género *Cnemidophorus* (Sauria: Teiidae) e são geralmente traduzidas por pequenas deleções ou adições, ou pela existência de duplicações em “tandem” (Densmore *et al.*, 1985).

2.1.1. Numts ou o DNA mitocondrial nuclear

Os Numts (“nuclear – copies of mitochondrial sequences”, Lopez *et al.*, 1994), pseudogenes ou parálogos nucleares, são cópias não funcionais do DNA mitocondrial existentes no genoma nuclear. Têm sido descobertos em vertebrados e invertebrados (Arctander, 1995; Lopez *et al.*, 1994). Estes pseudogenes possuem maiores taxas de substituição devido à falta de constrangimentos funcionais, levando a filogenias erradas em muitos casos se não detectados (Bensasson *et al.*, 2001; Woiscnick & Moraes, 2002; Zhang & Hewitt, 1996) funcionando como estruturas vestigiais moleculares. Tradicionalmente, as estruturas vestigiais são definidas como versões não funcionais ou rudimentares de parte do “corpo” que têm importância noutras espécies relacionadas. Ao transpor esta definição para a biologia molecular, os pseudogenes são “falsos genes” que não codificam para RNA’s ou para proteínas. Estes pseudogenes podem ser considerados como evidência de evolução (Freeman & Herron, 2004) e podem contribuir para inferências filogenéticas erradas baseadas na evolução de um “DNA mitocondrial” que não é suposto analisar (Bensasson *et al.*, 2001; Woiscnick & Moraes, 2002).

A origem extra nuclear do DNA mitocondrial tem sido muitas vezes posta em causa alegando-se que as sequências em estudo poderão na realidade ter uma origem nuclear ou seja, tratar-se na realidade de pseudogenes nucleares. Há várias razões que podem indiciar ou indicar da verdadeira natureza da sequência em estudo ou seja, que estamos perante cópias de DNA mitocondrial e não de cópias nucleares. Estas são, por exemplo, o forte desequilíbrio na composição nucleotídica principalmente na falta de G’s nas terceiras posições (Harris *et al.*, 2002b) e a indicação da natureza das respectivas energias livres para avaliar a natureza das estruturas secundárias, para além de uma ausência de codões STOP (Harris *et al.*, 2000b; Voelker, 1999).

Estas constatações são importantes para avaliar da natureza das sequências mitocondriais ou seja de que não são cópias nucleares amplificadas. A verdadeira natureza da sequência só pode ser aferida seguindo a estratégia de Bensch & Härlid (2000) e Saunders & Edwards (2000) ou seja, purificar mitocôndrias a partir de tecidos frescos, principalmente fígado, em gradiente de densidade de cloreto de céσιο-brometo de etídeo. O fragmento assim obtido é então amplificado usando os primers pré-estabelecidos e em seguida as sequências

são analisadas para verificar se são ou não idênticas às obtidas a partir de tecidos sem purificação das mitocôndrias.

2.1.2. Os pontos fracos da molécula do DNA mitocondrial na análise filogenética

De acordo com Ballard & Whitlock (2004) o DNA mitocondrial não está isento de dificuldades na interpretação filogeográfica das sequências obtidas. O DNA mitocondrial não é um marcador suficiente para estudos filogeográficos se o foco da investigação é a espécie e não o organelo. Não se deve pois assumir *a priori* que o DNA mitocondrial evoluiu segundo um padrão neutral na medida em que a selecção directa ou a indirecta influencia o próprio organelo. Já Ballard & Kreitman (1995) haviam posto em causa a neutralidade do DNA mitocondrial, referindo sobretudo o problema da recombinação, do tamanho efectivo populacional (que é $\frac{1}{4}$ do dos genes nucleares), bem como da taxa de mutação e da introgressão.

A neutralidade invocada muitas vezes para o DNA mitocondrial parece não corresponder à realidade, havendo autores que questionaram há já algum tempo este estatuto (ex: Rand, 2001; Singh & Hale, 1990). O acasalamento que não seja ao acaso ou a selecção sexual podem exercer aqui um papel importante. Gerber *et al* (2001) contestam e rejeitam a neutralidade do DNA mitocondrial, através duma ampla revisão efectuada. Estes autores referem ainda que manipulações experimentais revelaram que alguns haplótipos tinham vantagem sobre outros, contudo os efeitos bióticos e históricos e as interacções cito-nucleares torna difícil aceder às importâncias relativas dos factores não neutrais. Referem ainda que a rejeição de padrões neutrais é frequente na literatura mas não predominante.

De acordo com Gerber *et al.* (2001), os padrões de substituições sinónimas dentro e entre espécies identificaram uma tendência para um excesso de substituições intraespecíficas tornando-se necessário avaliar correctamente os testes de neutralidade a aplicar.

Gillespie (1991) afirmava que na evolução molecular as mutações silenciosas e as não silenciosas experimentavam diferentes dinâmicas e que não se podia concluir que ambas estavam sujeitas a evolução neutral.

Existe portanto um certo grau de controvérsia sobre a neutralidade ou não do DNA mitocondrial.

Creemos que a posição de Kreitman (1991) é conciliadora mais consensual e lógica, na medida em que as causas da variação genética são tidas como consequência de duas forças

antagônicas: neutralidade e selecção. Mesmo uma comparação superficial entre as terceiras posições dos codões relativamente às outras posições indicam que quer a deriva genética quer a selecção operam, dado que umas substituições são silenciosas (não se repercutindo em mudanças de aminoácidos- geralmente as terceiras posições) e as outras são não silenciosas (envolvem alterações de aminoácidos, geralmente dadas pelas alterações nas primeiras e segundas posições dos codões) (Gillespie, 1986a,b; Kimura, 1983).

De acordo com Randi (2000) há 3 tópicos principais que devem ser resolvidos para assegurar a utilização correcta das sequências de DNA mitocondrial na análise filogenética:

1- Tamanho da amostra: o número de *taxa*/sequências deverá ser representativo da biodiversidade dos grupos estudados;

2- Tamanho da sequência: depende da taxa de evolução molecular dos genes e dos níveis de divergência dos grupos estudados;

3- A escolha dum modelo de substituição adequado.

2.1.3. Citocromo b

O citocromo b é um dos genes mais sequenciados e utilizados na análise filogenética em animais (Ducroz *et al.*, 1998; Halanych *et al.*, 1999; Harris, 2002; Irwin *et al.*, 1991; Johns & Avise, 1998; Kronauer *et al.*, 2005; Van der Meij *et al.*, 2005; Wüster *et al.*, 2005) principalmente entre grupos infragenéricos mas também a outros níveis taxonómicos (Farias, *et al.*, 2001). Este gene é muito utilizado no estudo das relações filogenéticas entre vários *taxa*, principalmente entre categorias taxonómicas inferiores à ordem e é talvez o que cobre a mais vasta diversidade de organismos quer através de sequências parciais quer totais (de 300 a aproximadamente 1140bp) (Barber, 1999; Cícero & Johnson, 1998; Farias, *et al.*, 2001; Friesen, *et al.*, 1996; Irwin *et al.*, 1991; Juste *et al.*, 2004; Lessa & Cook, 1998; Maldonnado *et al.*, 2001; Martin & Bermingham, 1998; Rocha Olivares, *et al.*, 1999a; Sorenson *et al.*, 1999; Yoder *et al.*, 2000; Zardoya, *et al.*, 1999).

O gene apresenta regiões mais conservadas e outras mais variáveis implicando taxas evolutivas distintas com a terceira posição dos codões a apresentar as maiores taxas de substituição (Fairbairn *et al.*, 1998; Farias *et al.*, 2001; González *et al.*, 1996; Halanych *et al.*, 1999; Harris, 2002; Irwin *et al.*, 1991; Johnson & Sorenson, 1998; Palkovacs *et al.*, 2002; Van der Meij *et al.*, 2005), dando origem na maioria das vezes a mutações silenciosas.

As mutações silenciosas da 3ª posição podem ainda ser utilizadas em linhagens cuja separação é relativamente recente (Graybeal, 1993). Mesmo assim este gene provou ser útil

na resolução de padrões filogenéticos entre vários artiodáctilos ruminantes com divergências de apenas 20-30 milhões de anos (Irwin *et al.*, 1991). Muitos outros trabalhos encontraram disparidades entre as várias posições (Fairbairn *et al.*, 1998; Farias *et al.*, 2001; González *et al.*, 1996; Harris, 2002; Irwin *et al.*, 1991; Johnson & Sorenson, 1998; Palkovacs *et al.*, 2002; Van der Meij *et al.*, 2005).

Rocha-Olivares *et al.* (1999a) constataram que em *Sebastes* e *Sebastomus* (Pisces: Scorpaenidae) mais de 80% do número de mutações aconteciam na terceira posição de cada codão e a maior parte eram transições. Daí que as transições na terceira posição saturavam ao fim de poucos milhões de anos. Nas primeira e segunda posições a taxa de mutação é mais baixa e leva muito mais tempo a haver saturação. A maior taxa de substituição na terceira posição tem sido confirmada em muitos estudos (ex: Barber, 1999; Barome *et al.*, 1998; Demboski & Cook, 2001; Nogales *et al.* 1998; Smith & Patton, 1991), não havendo nenhum a contrariar esta tendência. Assim, Zardoya *et al.* (1999) também encontrou uma prevalência de substituições nas terceiras posições em peixes ciprinídeos da Grécia, assim como Cook *et al.* (1999) em mamíferos cervídeos da espécie *Cervus nippon*. O mesmo foi encontrado em aves do género *Anthus* (Voelker, 1999), em tartarugas de Madagáscar (Caccone, *et al.*, 1999a), e em mamíferos roedores (Smith & Patton, 1991).

No citocromo b as terceiras posições ficam rapidamente saturadas para as transições, enquanto que as transversões são mais lentamente saturadas (Halanych *et al.*, 1999; Kornegay *et al.*, 1993) e são na maioria mutações sinónimas (Hassanin & Douzery, 1999). Observa-se também ao longo do tempo uma redução da razão Ts/Tv.

O citocromo b apresenta uma série de características comuns aos Tetrápodes das quais se destaca a baixa percentagem de G's na terceira posição dos codões (Harris, 2002; Harris & Sá-Sousa 2002; Hassanin & Douzery, 1999; Slowinski & Keogh, 2000). Segundo Harris (2002), nos répteis o conteúdo em G's na terceira posição apresenta uma média de 3,6% e não 18% segundo afirmam Johns & Avise (1998). Os codões terminam geralmente por A ou C e predominam as pirimidinas na segunda posição (Irwin *et al.*, 1991; Birt *et al.*, 1992; Kornegay, *et al.*, 1993; Matthee & Robinson, 1999; Palkovacs *et al.*, 2002; Pang *et al.*, 2003; Rocha-Olivares *et al.*, 1999b; Slowinski & Keogh, 2000; Song *et al.*, 1998; Voelker, 1999) como é típico do genoma mitocondrial e não do nuclear (Pang *et al.*, 2003). Jermini *et al.* (1994), referem que nalguns casos há aumento dos GC, talvez à custa duma pressão de mutação direccionada, ou heterogeneidade nas substituições.

Em relação aos répteis, grupo que nos interessa particularmente, o citocromo b tem sido de longe o gene mais sequenciado (Palkovacs *et al.*, 2002; Whiting *et al.*, 2003). Assim foi utilizado em estudos filogeográficos nas osgas (Kronauer *et al.*, 2005), em cobras foi utilizado para distinguir e clarificar a posição taxonómica de formas insulares como no caso de *Python reticulatus* da Indonésia, uma cobra com distribuição vasta e de grandes dimensões com formas anãs em certas ilhas (Auliya *et al.*, 2002). Noutros répteis, como em *Podarcis atrata* (Sauria: Lacertidae) das ilhas columbretes (Espanha: Mediterrâneo) foi utilizado para detectar a presença de haplótipos continentais, para inferir da introdução de formas continentais nas ilhas (Castilla *et al.*, 1998). Em lagartos australianos da família Scincidae da espécie *Lerista bouganvilli* foi utilizado no estudo das relações filogenéticas entre populações ovíparas e vivíparas (Fairbairn *et al.*, 1998) e em *Tarentola* spp. (Sauria: Gekkonidae) das Ilhas Canárias foi utilizado conjuntamente com o 12S rRNA para estudar as relações filogenéticas e colonização destas ilhas.

O citocromo b combinado com outros genes mitocondriais foi usado para deduzir os padrões filogeográficos das cobras *Thamnophis sirtalis*, amplamente distribuídas e comuns no Noroeste da América (Janzen *et al.*, 2002). Os padrões encontrados permitiram detectar eventos históricos de vicariância durante o Pleistoceno, e efeitos gargalo em dispersões recentes pós-glaciais. No mesmo estudo, a elevada variabilidade morfológica deverá ter sido moldada pelo ambiente e por isso as designações das subespécies não estão de acordo com a filogenia apresentada pelos dados moleculares. Estudos semelhantes foram feitos por Wüster *et al.* (2005) em três géneros (*Acanthophis*, *Oxyuranus* e *Pseudechis*) de cobras da região Australasiática. Muito outros estudos poderiam ser citados.

Keogh (1998) e Slowinski & Keogh (2000) estudaram a filogenia e biogeografia de cobras elapídeas, Upton & Murphy (1997) a filogeografia dos lagartos do género *Uta* (Família Phrynosomatidae) na “Baja California”, Pook *et al.* (2000) a filogeografia de serpentes da espécie *Crotalus viridis* (Família Viperidae). A combinação do 16S rRNA e do citocromo b foi utilizada também no estudo das relações filogenéticas das osgas do género *Rhoptropus* da Namíbia (Lamb & Bauer, 2001) e Pang *et al.* (2003) utilizaram este gene (mais o 12S e 16S) para estimar as relações filogenéticas de agamídeos do género *Phrynocephalus*. Juntamente com o 12 S rRNA foi utilizado para estudar as relações filogenéticas dos lagartos do género endémico das Ilhas Canárias, *Gallotia* (González *et al.*, 1996) bem como para estimar a divergência genética e filogenética de *Lacerta laevis* e do complexo *Lacerta kulzeri* (Sauria:Lacertidae) (Bosch *et al.*, 2003).

Graybeal (1993) não obteve suporte significativo em anfíbios da família Bufonidae que divergiram há muito tempo e desaconselha o uso do citocromo b em divergências mais longas.

Segundo Harris (2002) a distância média do citocromo b para congêneros nos répteis é maior do que o previsto (13,6% em vez de 12%). Sá-Sousa & Harris (2002) obtiveram valores semelhantes, 13% para duas espécies de *Podarcis*. Harris (2002) subestima assim o valor obtido por Lamb & Bauer (2001) para o gênero *Rhoptropus* da Namíbia, que foi de 19 a 27 % de divergência para o citocromo b. Muitos dos erros cometidos podem ter a ver com a falta ou adição de bases num gene que geralmente não possui indels alternando as percentagens dos quatro nucleótidos nas várias posições dos codões.

Harris & Sá-Sousa (2002) obtêm valores de divergência entre linhagens de *P. hispanica* de 10 a 15 % no citocromo b e que sugerem um complexo de espécies.

Segundo Paulo *et al* (2001), a taxa de substituição é considerada alta (2.85%), média (2.00%) e baixa (1.7 %) em *Lacerta schreiberi* (Sauria: Lacertidae) da Península Ibérica. Maca-Meyer *et al* (2003) obtêm 2,2% por milhão de anos em *Gallotia*; Carranza *et al* (2002) obtêm 2,6 % em *Tarentola* spp. Foram obtidos 3,2 % por milhão de anos em *Chalcides* (Carranza & Arnold, dados não publicados *in* Carranza *et al.*, 2004). Curioso é que em *Chalcides* canários Brown & Pestano (1998) obtiveram 1.5 % por milhão de anos.

2.1.4. 12S rRNA e 16S rRNA

Ambos estes genes apresentam indels que correspondem a adições e deleções de bases. Um dos problemas associados a este fenómeno está relacionado com o significado evolutivo e filogenético destes indels. Vários autores têm criado modelos que incluem os indels mas ponderados por “gap-penalties”, ou seja o custo inerente à adição/deleção de uma base (ver Gotoh, 1982). O fenómeno do aparecimento de um indel deve ser único ou seja, é improvável que dois acontecimentos independentes levem ao aparecimento do mesmo indel (Lloyd & Calder, 1991). Isto significa que partilhar indels é o mesmo que dizer que resultaram dum ancestral comum e pressupõe portanto homologia. No entanto parece que muitas vezes acaba por introduzir homoplasia. O problema da transferência lateral de genes, recombinação e paralogia podem obscurecer a informação e por isso muitos autores mostraram que os indels não devem ser considerados na análise filogenética (Baptiste & Philippe, 2002).

O 12S rRNA é muito utilizado no estudo das relações filogenéticas entre vários *taxa*, principalmente entre categorias taxonómicas inferiores à ordem. Foi utilizado em muitos estudos de filogeografia e filogenia em vários grupos de animais como anfíbios (Darst & Cannatella, 2004) e répteis (ver por exemplo Austin *et al.*, 2004; Harris *et al.*, 1998a,b; Hedges & Bezy, 1993; Lin *et al.*, 2002; Schmitz *et al.*, 2003; etc.). A exemplo de outros genes mitocondriais tem sido utilizado na detecção de espécies em novas áreas, como por exemplo na detecção de *Podarcis carbonelli* no Sul de Espanha (Harris *et al.*, 2002a). Num estudo de geconídeos, Nogales *et al.* (1998) encontraram uma média de Ts/Tv de 1,56, variando entre 9,1 entre subespécies e 1,05 entre *Hemidactylus* e *Tarentola*.

Estes genes codificam para a pequena e grande subunidades dos ribossomas mitocondriais (Fu, 2000; Goebel *et al.*, 1999; Smith & Bond, 2003; Springer *et al.*, 1995) e crê-se que evolui lentamente porque apresenta muitas posições que estão constringidas pela função e pelas estruturas secundária e terciária (Fu, 2000). Segundo Simon *et al.* (1994) o 16 S é mesmo o marcador mais aplicável a eventos divergentes mais antigos. Devido às estruturas secundárias, tanto este gene como o 12S possuem regiões homólogas alternadas com zonas mais variáveis (Attardi, 1985).

À semelhança do que acontece com o citocromo b a taxa de transições supera a de transversões (ver Caccone *et al.*, 1999b, em tartarugas; Honda *et al.*, 2000, em lagartos). No estudo de Caccone, as transições AG apareciam mais frequentemente do que as TC, numa proporção de 2:1 mas a situação contrária acontecia com o citocromo b. Neste mesmo estudo a maioria das transversões no 12S eram TA e TG, enquanto que no 16S e citocromo b eram TA e AC. Springer *et al.* (1995), em mamíferos, referem que quer nas zonas homólogas (“stems”) quer nos loops, as transversões entre T e A são mais frequentes do que CG (ver Tabela 1).

Tipo	Via	Stems	Loops	Stems+Loops
Transição	A↔G	170.0	137.7	307.7
Transição	T↔C	181.9	276.0	457.9
Transversão	A↔T	41.0	197.5	238.5
Transversão	A↔C	19.6	164.1	183.8
Transversão	T↔G	11.1	27.0	38.1
Transversão	C↔G	1.5	14.7	16.2

Tabela 1. Número dos diferentes tipos de transições e transversões em Mamíferos (de acordo com Springer *et al.*, 1995)

Lamb & Bauer (2001) obtém maior variação no citocromo b do que no 16S em osgas do género *Rhoptropus* da Namíbia. A exemplo dos outros genes mitocondriais a percentagens

de G's é mais baixa e as pirimidinas aparecem em maior quantidade em relação às purinas (Reeder, 1995).

Comparando com o citocromo b, o 12S é geralmente menos variável. Daí que, por exemplo Janczewski *et al.* (1995), em Felídeos (Mammalia), tenham afirmado que as sequências do citocromo b parecem acumular mais rapidamente as diferenças estabilizando depois, enquanto que o 12S mostra uma evolução mais lenta e gradual. Sullivan *et al.* (1995) referem no entanto que existe uma elevada variação entre posições no 12S sendo mais moderada no citocromo b.

Os genes rRNA do DNA mitocondrial (12S e 16S) têm sido utilizados numa variedade de estudos desde taxas próximos a taxas pouco relacionados ou distantes (Carranza *et al.*, 2004; Sullivan *et al.*, 1995; Whiting *et al.*, 2003). Foram utilizados em conjunto no estudo das relações filogenéticas entre espécies de lagartos da família Phrynosomatidae (Reeder, 1995), nas relações entre diversas populações do complexo *Tarentola mauritanica* (Harris *et al.*, 2004a) e para inferir as relações filogenéticas e a biogeografia entre espécies da subfamília Lygosominae (Sauria: Scincidae) (Honda *et al.*, 2000) e nos agamídeos do género *Phrynocephalus* (Pang *et al.*, 2003). A sua aplicação serviu para estudar a diferenciação intra-ilha de *Chalcides viridanus* (Sauria: Scincidae) em Tenerife (Brown *et al.*, 2000). Foram utilizados em conjunto, junto com o citocromo b, no estudo filogeográfico de cobras do género *Macroprotodon* do Noroeste Africano (Carranza *et al.*, 2004).

Particularmente em répteis e anfíbios o 16S foi usado em rãs hilóides (Darst & Cannatella, 2004), rãs cofilíneas de Madagáscar (Andreone *et al.*, 2005), rãs do género *Rana* (Família Ranidae) (Hillis & Wilcox, 2005), em camaleões da África do Sul (Squamata: Chamaeleonidae) do género *Bradypodium* (Tolley *et al.*, 2004), em serpentes americanas do género *Bothrops* (Werman & Crother, 1999); agamídeos da espécie *Agama impalearis* do Noroeste Africano (Brown *et al.*, 2002), e recentemente na revisão de 26 espécies do género *Mabuya* (Mausfeld *et al.*, 2000). Vences *et al.* (2004) utilizaram-no exclusivamente para estimar a natureza das introduções de *Hemidactylus* em Madagáscar. Vários outros estudos usaram o 16S em répteis (Carranza *et al.*, 2004; Harris *et al.*, 2004a,b; Harris & Arnold, 2000; Honda *et al.*, 2000; Whiting *et al.*, 2003).

Quando comparamos os dois genes anteriores em termos de variabilidade, verificamos alguns aspectos curiosos. Assim em *Gallotia* spp. o citocromo é três vezes mais variável que o 12S rRNA ao nível subespecífico; é duas vezes mais variável ao nível específico e apenas 1,2 mais variável ao nível genérico (González *et al.*, 1996).

Oliverio *et al.* (1998, 2000) obtêm valores de divergência de mais de 3,6 % entre populações de *Podarcis sicula* e sugerem que tal evidencia a existência de um complexo de espécies. Em *Agama impalearis* de Marrocos foram encontrados níveis de divergência genética entre populações de 2,6% o que foram considerados elevados (Brown *et al.*, 2002). Harris *et al.* (2004a), também em Marrocos, mas com *Tarentola mauritanica* obtêm valores de cerca de 5% (entre Líbia e Tunísia: 8%). Entre espécies das osgas do género *Rhoptropus* da Namíbia, a divergência no 16S rRNA foi entre 9 e 15% (Lamb & Bauer, 2001). Portanto, os valores variam nos genes rRNA entre *taxa*.

O produto dos genes rRNA apresentam geralmente extensas estruturas secundárias que leva a fortes constrangimentos funcionais, que culminarão numa variação entre posições bastante elevada. Têm sido propostas várias soluções para o tratamento estatístico e filogenético deste fenómeno nomeadamente atribuir diferentes pesos às posições, com a atribuição de um peso maior às posições com complementaridade (“stem sites”) do que nas sem complementaridade e que formam os característicos “loops” (“loop sites”) (Sullivan, *et al.*, 1995). Muitas vezes é escolhida uma outra alternativa talvez mais correcta estatisticamente que é a de encontrar uma ou mais sequências com características idênticas ignorando para a análise as restantes.

2.1.5. D-loop

A região controle onde se encontra o D-loop é a região mais variável do DNA mitocondrial (Randi, 2000). Zink *et al.* (1998) encontraram 38% de variação no CRII de aves, ou seja na segunda parte da região controle, 20,2% para o citocromo b e 28,4% para o gene ND2. Contudo foram definidos 3 blocos muito conservados (CSB-1, CSB-2 e CSB-3) no interior da região controle em muitas espécies de vertebrados (Brown *et al.* 1986; Walberg & Clayton, 1981). Nalguns estudos a sua variação era equiparável à variação (transições) da terceira posição dos codões do citocromo b (Zink *et al.* (1998). Noutros estudos e considerando a globalidade do citocromo b, verificou-se que a região controle evoluía 3 a 5 vezes mais rápido do que o citocromo b (Meyer, 1994, Rocha-Olivares *et al.*, 1999b). No entanto outros e diferentes resultados foram obtidos por Brehm *et al.* (2002).

O D-loop e regiões adjacentes variam grandemente nas espécies animais, quer em termos de sequências nucleotídicas quer em tamanho, mesmo em espécies próximas (Attardi, 1985). Em toda a sua extensão não se observa uniformidade nas taxas de mutação (Attardi, 1985; Brehm *et al.*, 2002; Froufe *et al.*, 2005).

Nesta região podem ser encontradas zonas repetitivas, como observaram Hoelzel *et al.* (1994) nos mamíferos carnívoros, havendo variações do número e organização de micro e minisatélites, nas várias famílias deste grupo de animais. Wilkinson *et al.* (1997) também verificaram a existência de sequências repetitivas em “tandem” que variavam entre 78 e 85 pares de bases e de duas a nove sequências repetidas na região controle de várias famílias de morcegos. Semelhantes resultados foram obtidos em *Lacerta dugesii* (Brehm *et al.*, 2002) e em canídeos (Mammalia) (Savolainen *et al.*, 2000). Heteroplasmia significativa, em todos os indivíduos, foi observada (Savolainen *et al.*, 2000). Nestes caso as mutações podem ser explicadas por “slippage” ou mutações pontuais. A maioria dos indels continham repetições.

Uma das razões da grande variação das mutações no tamanho é a capacidade de formar estruturas secundárias que podem estabilizar as cadeias desencontradas ou indevidamente emparelhadas, ou bloquear a polimerase durante a replicação da molécula (Savolainen *et al.*, 2000).

Saccone *et al.* (1987) definem três domínios na região contendo o D-loop, o esquerdo (L) e o direito (R) com baixa percentagem de G's, e que contêm as extremidades 5' e 3' do D-loop. Segundo estes autores estas zonas são muito variáveis quer na sequência quer no tamanho. No seu interior existem ainda zonas mais estáveis, CSB1 e TAS, que estão associadas com locais de começo e término da síntese de DNA. Entre os domínios L e R existe uma zona rica em G's.

A região controle é sobretudo escolhida quando há necessidade de observar relações genéticas entre *taxa* muito próximos. É porventura a escolha ideal para estudar migrações populacionais, como em elefantes do Uganda (Nyakaana & Arctander, 1999), como em *Lemur catta* de Madagáscar (Yoder *et al.*, 2000). Foi também utilizada para estudar fenómenos de especiação simpátrica em peixes ciclídeos do Lago Ejagham nos Camarões (Schlienen *et al.*, 2001) e em estudos filogeográficos entre populações de anfíbios (Steinfartz *et al.*, 2000, em *Salamandra salamandra*) e de tartarugas da espécie *Sternotherus minor* (Walker *et al.*, 1995). Constitui hoje uma das principais sequências alvo em qualquer estudo de ecologia molecular sobretudo quando a análise é infraespecífica (ver trabalho de Ashton & De Queiroz, 2001).

2.2. Marcadores nucleares

Mais recentemente, a utilização de marcadores nucleares na reconstrução filogenética tem oferecido uma alternativa às filogenias baseadas exclusivamente no DNA mitocondrial e por conseguinte permite obter duas versões que se podem tornar complementares (Hoegg *et*

al., 2004; Saint, *et al.* 1998; Zhang & Hewitt, 2003). Na realidade, os genes nucleares codificadores de proteínas parecem revelar melhores performances na reconstrução de relações filogenéticas antigas (Springer *et al.*, 2001).

2.2.1. *C-mos*

Sequências parciais deste gene têm sido utilizadas na análise filogenética de vários grupos de répteis (famílias) da ordem Squamata (Harris, 1999; Harris, *et al.*, 1999b; Harris, *et al.*, 2001; Pellegrino *et al.*, 2001; Saint *et al.*, 1998; Vidal & David, 2004). Foram também utilizadas dentro de famílias como nos geconídeos (Austin *et al.*, 2004; Donnelan *et al.*, 1999) e nos colubrídeos de Madagáscar e do arquipélago de Socotra (Nagy *et al.*, 2003), na estimativa das relações entre cobras (Slowinski & Lawson, 2002), na estimativa das relações dentro de géneros das famílias da ordem squamata (Brehm *et al.*, 2001a; Carranza *et al.*, 2002; Jesus *et al.*, 2002a), assim como dentro da mesma espécie (Domingues *et al.*, 2001). A análise revela um elevado grau de informação filogenética quer nas substituições sinónimas quer nas substituições não sinónimas, não havendo saturação mesmo quando se junta à análise grupos tão distintos como as tartarugas, os crocodilos e os squamata (Saint *et al.*, 1998).

Harris *et al.* (2001) referem que a análise das relações filogenéticas de 56 *taxa* de Squamata produz resultados bastante robustos com a utilização deste gene. Verificaram que certos grupos mal suportados com o DNA mitocondrial apresentavam elevados níveis de robustez com a utilização do *C-mos* (Saint *et al.*, 1998; Harris, 1999).

A homoplasia parece não constituir problema na análise filogenética utilizando este gene, nomeadamente ao nível das famílias (Harris, *et al.*, 2001).

Proposto inicialmente por Graybeal (1994) como potencial marcador nuclear para utilização em estudos filogenéticos em *taxa* que divergiram há mais de 300 milhões de anos, este gene é um proto-oncogene, sem intrões, que codifica a quinase serina/treonina, expressa essencialmente nas células germinativas. A proteína é um regulador da maturação meiótica, ou um factor de maturação de oócitos (Saint, *et al.*, 1998; Vidal & David, 2004; Yew, *et al.*, 1993). É um gene único sem cópias o que é sempre uma mais-valia.

Lovette & Bermingham (2000) verificaram em aves que a taxa de substituição no *c-mos* era semelhante à taxa de transversões nos genes mitocondriais codificadores de proteínas. Neste sentido há uma certa sobreposição, mas devemos considerar esta situação como uma situação digna da utilização da complementaridade. Um gene nuclear que pode ser usado na confirmação de outro mitocondrial.

Em média, o citocromo b diverge 7,14 vezes mais rápido do que o *c-mos* nas cobras, 3,82 vezes mais rápido nos lacertídeos e escincídeos, mas apenas 2,3 nos teídeos (Harris, 2003). Esta variação pode estar relacionada com a taxa de evolução das proteínas, associada ao conteúdo de GC.

Em *Drosophila* o conteúdo de GC tem impacto sobre a taxa da evolução das proteínas o que possivelmente distorce as inferências filogenéticas (Rodríguez-Trelles *et al.*, 1999).

Parece existir, assim, um desequilíbrio nos codões mais significativo nos teídeos, com um aumento significativo da evolução do *c-mos* devido a alterações no conteúdo em GC. Isto diz-nos que não devemos utilizar o *c-mos* na análise filogenética dos squamata quando os teídeos são incluídos (Harris, 2003)

2.2.2. Enolase

A enzima enolase [EC 4.2.1.11] é encontrada em todos os organismos com os vertebrados a exibirem isozimas específicas de tecidos, codificadas por 3 genes: Alpha (α) Beta (β) e Gamma (γ). A limitada amostragem não permite estimar há quanto tempo se registou a duplicação destes genes (Tracy & Hedges, 2000).

Os genes utilizados no presente trabalho amplificam a região do intrão 8 e pequenas porções dos exões 8 e 9. Esta região parece ser informativa ao nível interespecífico (Friesen *et al.*, 1997).

Tracy & Hedges (2000) estudaram esta família de genes em 6 *taxa* representativos dos vertebrados (essencialmente peixes). As sequências das Arqueobactérias foram designadas por “enolase-2”, enquanto a dos outros organismos foi designada por enolase-1. Duas das três isoenzimas da “enolase-1” (alpha e beta) foram encontradas em peixes actinoptérgios, sarcoptérgios e nos cartilagíneos. A análise filogeográfica das enolases dos vertebrados, revelou que as duas duplicações de genes que levaram às três isoenzimas da enolase 1 ocorreram posteriormente à divergência dos *Agnatha* que viveram no Proterozoico ou Fanerozoico (aproximadamente há 550 milhões de anos). Duas cópias da alpha, alpha-1 e alpha-2, foram encontrados na truta, indicativo de novo evento de duplicação.

2.3. *Varição das taxas de mutação*

Ao longo deste capítulo temos vindo a referir muitos aspectos sobre as diferenças nas taxas de mutação nos diferentes genomas. Queríamos referir ainda que as taxas de mutação além de variarem entre genes poderão variar entre os grupos de animais (Hasegawa & Kishino 1989; Kocher *et al.*, 1989; Wu & Li, 1985). Animais com diferentes tempos de geração deverão ter, em princípio diferentes taxas de mutação e por isso diferentes relógios moleculares para o mesmo gene. O que acontece numa tartaruga gigante (com longevidades acima dos 200 anos) deverá ser diferente do que acontece em certos lagartos que vivem meia dúzia de anos.

Awise *et al.* (1992) alertaram já para a falacidade de usar valores “universais” dos relógios moleculares, precisamente com o exemplo das tartarugas com taxas menores do que nos restantes vertebrados.

As taxas também variam no interior dum gene. No genoma nuclear, as taxas são mais altas nos intrões e zonas flanqueadoras do que em regiões codificadoras (Li, 1997).

Em relação ao DNA mitocondrial têm sido propostas várias taxas de mutação consoante os grupos estudados. Particularmente nos répteis, Macey *et al.* (1998) apresentam uma taxa de mutação de 0,65-0,7 % por milhão de anos nos agamídeos do grupo da *Laudakia caucasica*. Com base em sequências do 12S rRNA a taxa foi de 0,1 por milhão de anos entre pares de linhagens de *Takydromus* (Reptilia: Lacertidae) (Lin *et al.*, 2002). Já em *Tarentola delalandii* (Reptilia: Gekkonidae) das Canárias a taxa de substituição no citocromo b foi calculada em 1% por milhão de anos (Gubitz *et al.*, 2000).

A variação nas taxas de substituição parece ainda ser de explicação complexa. A demonstração que o tamanho corporal poderá estar relacionado com estas taxas, sugere que os factores fisiológicos (ex: taxa metabólica) ou ecológicos devem estar envolvidos neste fenómeno, no entanto até 1998 faltavam estudos a larga escala (Nunn & Stanley, 1998). Os efeitos do tamanho do corpo devem manifestar-se no tempo de geração, no tamanho da população e nas taxas metabólicas. Maiores tamanhos estão geralmente associados a maiores tempos de geração, menores populações e menores taxas metabólicas.

Em aves marinhas, Nunn & Stanley (1998), utilizando o citocromo b e tendo em conta evidências fósseis, observaram que os *taxa* de maiores dimensões possuíam menores ramos nas árvores filogenéticas sugerindo uma menor taxa de mutação.

2.4. Aplicação dos marcadores genéticos na biogeografia histórica

As razões da distribuição geográfica dos organismos tem interessado os cientistas ao longo dos anos. A distribuição geográfica das linhagens filogenéticas, baseada essencialmente em marcadores moleculares, criou um campo científico que podemos inclui-lo dentro da biogeografia e foi designado por **Filogeografia** que teve como principal impulsionador John Avise (Avise, 1998, 2000). Em 1987 menos de 5 artigos sobre filogeografia, ou empregando os termos filogeográfico ou filogeografia foram publicados e hoje é tema de excelência de revistas inteiras.

A filogeografia posiciona-se entre as disciplinas macroevolutivas como a etologia, demografia e genética populacional e as disciplinas microevolutivas como a geografia histórica, a paleontologia e a filogenética tendo como forte suporte a genética molecular (Avise, 2000; Bermingham & Moritz, 1998).

Trata-se de uma subdisciplina da biogeografia histórica, relacionada com os princípios e processos que regem a distribuição geográfica das linhagens genealógicas (Arbogast & Kenagy, 2001; Avise *et al.*, 1987).

Existem várias escolas para a reconstrução biogeográfica: dispersionista, panbiogeografia, biogeografia filogenética; biogeografia de vicariância cladística e análise parsimoniosa da endemicidade (ver Figura 2) (Vargas, 1992b). Outra divisão é nos dada por Van Veller & Zandee (2002) (ver Figura 3). A biogeografia histórica aborda os estudos da distribuição espacial e temporal dos organismos actuais e investiga tais distribuições baseando-se em fenómenos paleogeográficos, paleoclimáticos e evolutivos. A divisão da biogeografia em ecológica e histórica é antiga mas ainda tem ampla aceitação (Vargas, 1992b).

Crisci (2001) considera que a biogeografia histórica está a ser alvo duma revolução no que concerne aos conceitos básicos, às suas fundações, aos métodos, bem como às relações com outras disciplinas da biologia. Existem forças externas (tectónica global como o principal paradigma nas geociências; cladística como a linguagem base e a percepção da biogeografia pela biogeografia) e internas (discussões filosóficas em torno das suas fundamentações) que estão a moldar a biogeografia histórica Segundo o autor, três tipos diferentes de processos modificam a distribuição geográfica dos organismos: extinção, dispersão e vicariância. A reconstrução de eventos biogeográficos pode então ser feita segundo a perspectiva da distribuição dos grupos individuais (“Taxon biogeography”), das áreas de endemismo (“Area biogeography”) e dos biotas (homologia espacial). Crisci (2001) considera pelo menos 9 aproximações básicas à biogeografia histórica, centro de origem e

dispersão, panbiogeografia, biogeografia filogenética, biogeografia cladística, filogeografia, análise parsimoniosa da endemidade, métodos baseados nos eventos, áreas ancestrais e biogeografia experimental.

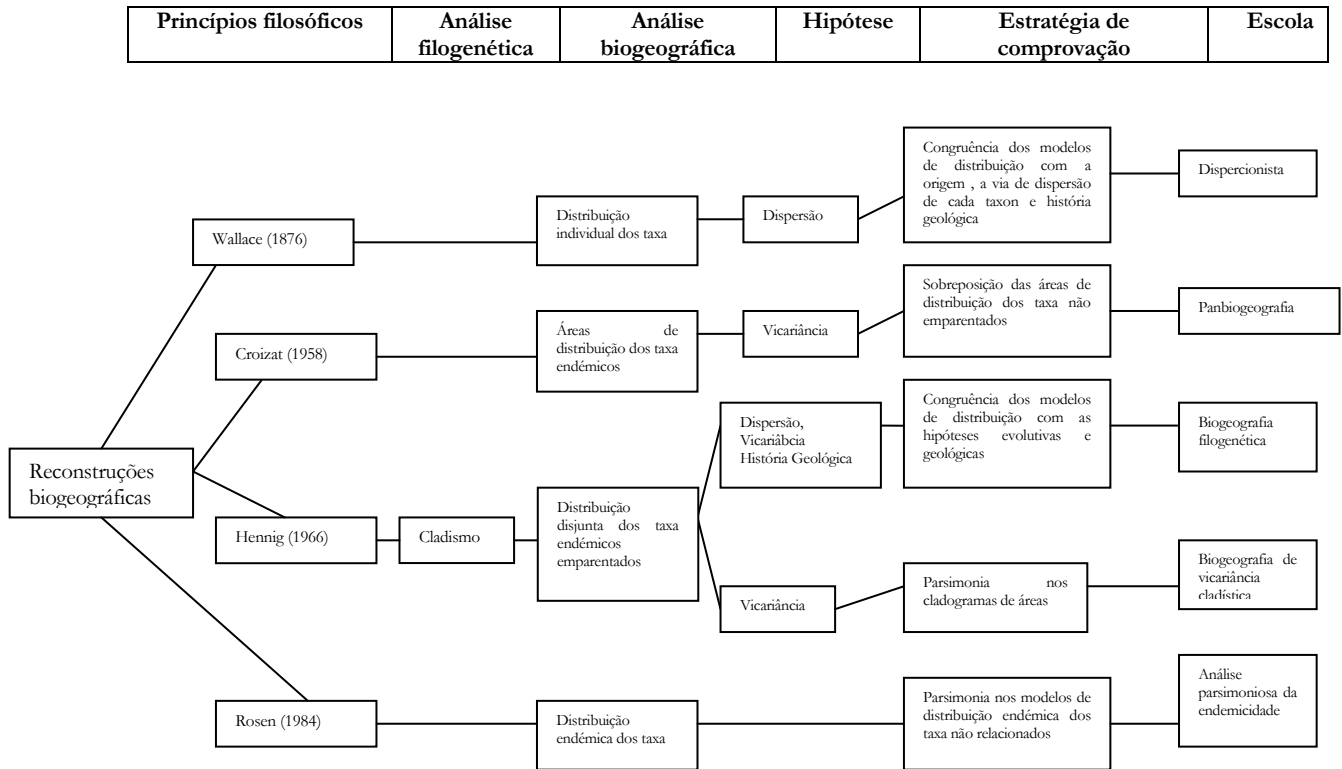


Figura 2. Principais escolas implicadas nas reconstruções das histórias biogeográficas e metodologia seguida por cada uma delas (adaptado de Myers & Giller, 1988a,b)

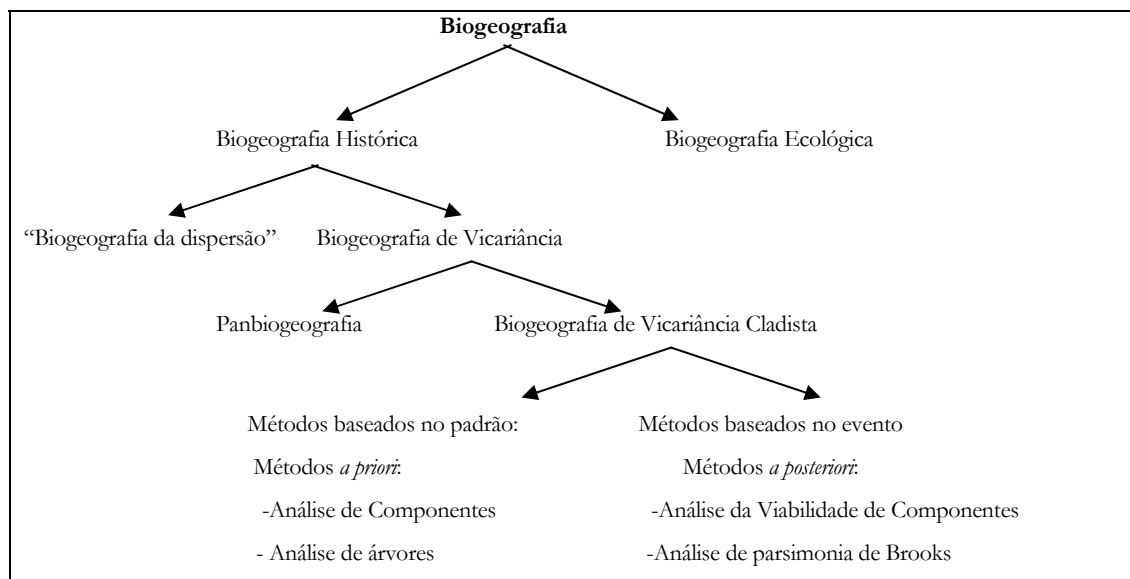


Figura 3. Hierarquia das disciplinas da Biogeografia (adaptado de Van Veller & Zandee 2002)

O dispersionismo é a teoria mais antiga e foi usada até aos anos 70. Actualmente há outros modelos que negam o fenómeno da dispersão. Segundo a teoria, a distribuição no tempo e no espaço de cada organismo é resultante da sua valência ecológica, da sua capacidade de competição e do seu poder de dispersão (Van Veller & Zandee, 2002). A teoria assenta inicialmente nas conclusões do trabalho de Alfred Wallace (Van Veller & Zandee, 2002; Vargas, 1992 b).

Segundo esta teoria os grupos tendem a especiar-se mais activamente no seu centro de origem (zona em que a riqueza específica do *taxon* é máxima, há maior concentração de espécies jovens e presença de fósseis), a partir de onde dispersam. Assim, o descendente mais moderno ocupará o centro de origem e o mais antigo as zonas periféricas (Darlington, 1957; Vargas, 1992b). Nesta teoria, existe o conceito de zonas de refúgio que são zonas de “sobrevivência” durante períodos desfavoráveis, a partir das quais os organismos se dispersam quando as condições voltam a ser favoráveis.

Segundo Pielou (1979) a dispersão pode ser por salto envolvendo grandes distâncias (e a sua duração é menor do que o tempo de geração média dos organismos), a difusão e a migração secular (a sua duração é maior do que o tempo de geração média dos organismos).

Outra teoria da Biogeografia histórica, ou seja, outra teoria que tenta explicar a distribuição dos organismos é a teoria panbiogeográfica que assenta sobre o fenómeno da vicariância. A vicariância é definida como a distribuição disjunta de *taxa* ou biotas aparentados devido ao aparecimento duma barreira que fracciona a área ancestral de distribuição e dá lugar a um processo particular de especiação alopátrica (Vargas, 1992b).

Esta teoria baseia-se essencialmente no facto de que a distribuição alopátrica dos *taxa* relacionados surge da formação duma barreira que fracciona a área de distribuição do *taxon* ancestral. Como consequência a vicariância implica diferenciação geográfica e possibilita a multiplicação de espécies, enquanto que a dispersão (teoria anterior) dá lugar a fenómenos posteriores de simpatria entre diferentes biotas. Segundo a teoria, a vicariância surge de mudanças geográficas dos continentes que subdividem os biotas ancestrais e é essencial para interpretar muitas distribuições actuais de grupos aparentados em alopatria (Vargas, 1992b).

Os métodos associados à panbiogeografia centram-se na análise das homologies espacio-temporais da distribuição dos organismo. A panbiogeografia depende das mudanças tectónicas e geológicas que são responsáveis por se encontrar diferentes espécies em diferentes áreas. Assim a geologia e a distribuição dos organismos são dois aspectos

indissociáveis. Segundo a teoria é ainda possível inferir relações filogenéticas a partir de evidências biogeográficas (Vargas, 1992b).

A teoria da panbiogeografia também tem os seus pontos fracos como por exemplo, a falta de aplicação de critérios filogenéticos rigorosos, não permitindo assegurar a monofilia dos *taxa* relacionados (Nelson & Platnick, 1981), e como se trata dum método fenético (Patierson 1981) não é muito correcto extrair qualquer conclusão com valor histórico já que se limita a comparar estatisticamente povoamentos entre regiões (Nelson & Platnick, 1981).

Assim, de acordo com o que se disse até agora, os dois processos principais envolvidos na distribuição dos organismos acabam por ser a vicariância e a dispersão. Ambos são alternativos mas nunca simultâneos.

Outra teoria da biogeografia histórica é a da Biogeografia Filogenética que teve Hennig (1966) como principal impulsionador. Este autor propôs a sobreposição de árvores filogenéticas com mapas geográficos para ajudar a determinar as ligações entre áreas e a direcção de movimentos entre linhagens. Um dos aspectos básicos e fundamentais desta teoria assenta no facto das relações entre grupos estarem relacionadas com a relação ancestral-descendente.

As bases desta teoria assentam no facto de ser necessário para reconstruir a história biogeográfica dum grupo uma hipótese filogenética desse grupo. Se diferentes grupos monofiléticos possuem modelos biogeográficos similares então devem partilhar a mesma história biogeográfica. Existe um paralelismo entre a progressão morfológica e a progressão corológica das espécies, i.e, uma espécie mais moderna (apomorfa) ocupará uma posição mais distante do que a espécie primitiva (plesiomorfa) do centro de origem. É designada pela regra da progressão (Hennig, 1966; Rosen, 1975; Vargas, 1992b; Wiley, 1981).

Os pontos fracos da teoria são a existência dum centro de origem (os fenómenos de dispersão e a regra da progressão não são aceites pelas escolas que defendem e assumem a vicariância como fonte de multiplicação de espécies (Humphries & Parenti, 1986), a especiação alopátrica por isolamento periférico está sobrestimada (Wiley, 1981) e ainda a reconstruções biogeográficas limitam-se aos grupos estudados sem procurar um modelo comum (Vargas, 1992b).

Outra teoria, a da Biogeografia da Vicariância Cladística, nasce com Platnick & Nelson (1978). Combina os princípios cladistas de Hennig com a Panbiogeografia (Donoghue & Moore, 2003). Segundo a teoria, os fenómenos de vicariância seguidos de especiação alopátrica são os responsáveis pela distribuição actual dos organismos, o que

implica que espécies e áreas evoluíram juntas e assim é possível reconstruir a sequência de fenómenos de vicariância a partir do estabelecimento de filogenias dos organismos. Os fenómenos de dispersão são portanto pontuais, independentes e posteriores à emergência de barreiras e junto com as extinções, responsáveis pela dificuldade de identificação dos antigos biota contínuos a partir de disjunções actuais. (ver Vargas, 1992b; Andersen, 1998; Nelson, 1984; Sanmartín & Ronquist, 2002; Van Veller & Zandee, 2002; Wiley, 1981).

Os principais pontos fracos são a existência de cladogramas com perda de informação (pelo menos uma área não aparece quer devido a amostragem, ausência ou extinção do *taxon* ancestral da área primitiva), cladogramas com informação redundante (pelo menos uma área aparece repetida como consequência de que vários *taxa* ocupam essa mesma área), cladograma de *taxa* com distribuição ampla (*taxa* ocupam mais do que uma área de endemismo) e cladogramas com áreas originais (apresentam uma área que não se reflecte noutros cladogramas) (Ver Nelson, 1984; Nelson & Platnick, 1981; Platnick & Nelson, 1978; Vargas, 1992b; Sanmartín & Ronquist, 2002). Outros pontos fracos estão relacionados com o facto da origem dos biotas de ilhas vulcânicas remotas só poderem ser explicadas invocando processos de dispersão a partir dos biotas continentais, em vez de recorrer a processos de vicariância baseadas em supostas conexões antigas entre as ilhas e continentes (Vargas, 1992b).

Os métodos de parsimonia, incluídos nesta teoria (Brooks, 1981; Zandee & Roos, 1987) são procedimentos quantitativos que têm por objectivo elaborar cladogramas gerais de áreas, baseando-se na aplicação do princípio da parsimonia, a partir dos dados dos grupos monofiléticos. Cada um dos cladogramas de áreas resultantes podem ser codificados numa matriz e todas elas combinadas numa matriz única, a partir da qual se geram novo (s) cladograma(s) geral(ais) de áreas de tamanho mínimo e com o menor número de homoplasias. As homoplasias filogenéticas são análogas às homoplasias biogeográficas, no sentido de que a dispersão e as amplas distribuições são interpretadas como paralelismos ou convergências e as extinções como reversões (Zandee & Roos, 1987). Uma sinapomorfia num cladograma de áreas é interpretada como uma linhagem que está presente em duas ou mais áreas e que o antecessor não estava na área (Sober, 1988). Uma plesiomorfia é equivalente a um cosmopolitismo primitivo (Nelson e Platnick, 1981). O procedimento foi desenvolvido por vários autores entre os quais Kluge (1988) (Ver mais sobre o assunto em, Nelson, 1984; Sanmartín & Ronquist, 2002; Van Veller & Zandee, 2002).

Recentemente surgiu uma nova aproximação e extensão à filogeografia que é a filogeografia comparativa que pretende comparar padrões filogeográficos de múltiplos grupos taxonómicos distribuídos numa mesma área (Arbogast & Kenagy, 2001). Porque as filogenias utilizadas na filogeografia comparativa são construídas com dados moleculares, é possível estimar padrões e testar hipóteses biogeográficas e filogeográficas que incluem o tempo de separação das populações, dos eventos de especiação, bem como as mudanças do tamanho efectivo da população ao longo do tempo. Toda esta informação poderá ser avaliada num contexto interdisciplinar conjuntamente com dados obtidos independentemente através da geologia, paleontologia, palinologia, climatologia, etc. A filogeografia comparativa é então uma aproximação quantitativa e integrada que permite aos biogeógrafos desenhar e testar, sob efeito de várias fontes de informação, a complexa relação entre a “história da terra” e os padrões de biodiversidade actuais (Arbogast & Kenagy, 2001).

Hipóteses filogeográficas

Dentro da mesma espécie, as relações filogenéticas entre populações e a distribuição geográfica dos grupos filogenéticos e conjunto formam aquilo a que se chamou de filogeografia intraespecífica (Avice *et al.*, 1987). Avice resume assim a sua teoria:

- 1- Muitas espécies são compostas por populações geográficas cujos membros ocupam diferentes ramos numa árvore filogenética intraespecífica. Esta partição geográfica dos ramos filogenéticos pode ser designada por “Estrutura Filogeográfica Populacional”.
- 2- Espécies com estruturas filogeográficas populacionais limitadas têm perfis demográficos típicos de populações em dispersão, não havendo impedimentos quanto ao fluxo genético. Estas espécies tiveram fluidez no movimento num passado recente.
- 3- Grupos monofiléticos distinguíveis por grandes hiatos filogenéticos, frequentemente originados por grandes períodos de existência de barreiras extrínsecas ao fluxo genético.

Esta hipótese tem vários corolários:

- a) à medida que o tempo de isolamento aumenta, o grau de concordância filogeográfica aumenta ao longo das diferentes linhagens;
- b) a colocação dos hiatos filogenéticos são concordantes ao longo da espécie, o que pressupõe desde logo um longo isolamento ao fluxo genético que molda da mesma maneira as arquitecturas genéticas das espécies com semelhantes perfis demográficos;
- c) Os hiatos filogenéticos são concordantes geograficamente com as províncias zoogeográficas geralmente reconhecidas.

As filogenias intraespecíficas sobrepostas com mapas geográficos poderão induzir várias interpretações. *Avice et al.* (1987) sugere cinco categorias principais de padrões:

- 1- Descontinuidades filogenéticas-Separação espacial – É a situação mais frequente. Constitui a explicação mais lógica para as principais divergências genéticas que apresenta uma orientação geográfica que envolve longas barreiras extrínsecas ao fluxo genético, de tal forma que as populações ocupam locais bem definidos nas árvores filogenéticas. Outra explicação assenta na extinção de genótipos intermédios. Genes nucleares começam a apresentar níveis de divergência apreciáveis.
- 2- Descontinuidades filogenéticas – Falta de Separação espacial – Nesta situação, mesmo em espécies gémeas é de esperar a existência de diferenças entre o DNA mitocondrial.
- 3- Continuidade Filogenética – Separação espacial – É outra situação comum. Nem todas as populações têm de ter descontinuidades genéticas quando estão separadas geograficamente. Poderá corresponder a um padrão regional dentro da categoria (1). Acontece geralmente em espécies não subdivididas fortemente e nem há bastante tempo por barreiras extrínsecas. Mesmo que o fluxo genético seja limitado.
- 4- Continuidade Filogenética – Falta de Separação espacial – Nestas condições é suposto que as populações geográficas tiveram interconexões recentes e extensas, traduzidas por elevados níveis de fluxo genético. Geralmente, também estão envolvidas espécies com boas capacidades de dispersão. Também se aplica a espécies com expansões recentes e rápidas.
- 5- Continuidade Filogenética – Separação espacial parcial – Nesta situação, alguns haplótipos mitocondriais apresentam uma distribuição vasta e outros são localizados. Isto pode acontecer quando um genótipo é plesiomórfico (ancestral) enquanto que os outros são apomórficos (derivados), ao contrário de (2), o ancestral deverá ocorrer numa área mais vasta, ao contrário de (4) as novas mutações ainda não se espalharam pela área de distribuição da espécie.

Dois elementos determinam o padrão filogeográfico: (i) o grau de divergência entre as sequências dos haplótipos e a (ii) distribuição geográfica dos haplótipos (*Avice*, 2000).

Segundo *Castilla et al* (1998) a presença de haplótipos continentais nas ilhas pode ser indicativo de um polimorfismo ancestral, introdução recente antropogénica ou ainda uma colonização histórica devida a mudanças do nível do mar (sobretudo nas ilhas das

plataformas continentais). Estes autores encontraram elevados níveis de divergência (46%) entre *Podarvis atrata* das ilhas columbretes (Mediterrâneo: Espanha).

A falta de correlação entre a distância geográfica e a distância genética é na maior parte das vezes indicativo duma grande capacidade de dispersão (Hastings & Harrison, 1994). Por outro lado a capacidade de dispersão duma espécie associada à deriva genética influencia a quantidade de diferenciação genética inter- e intrapopulacional (ver por exemplo Jerry & Baverstock, 1998, em peixes catádmomos).

Muitas das explicações dos padrões filogeográficos das espécies actuais das regiões temperadas assentam geralmente nesta capacidade de dispersão dos organismos ou de fenómenos históricos como glaciações ou degelos pliocénicos e pleistocénicos (Bernatchez & Wilson, 1998; Johns & Avise, 1998), bem como de eventos de vicariância. É o caso de *Sceloporus woodi* (Sauria: Iguanidae) que apresentava no passado uma distribuição contínua e actualmente forma isolados devido à fragmentação natural do habitate na Florida (USA) ocorrida aquando das últimas grandes alterações climáticas (Clark, *et al*, 1999). Trata-se de uma espécie com isolados bem definidos porque apresenta baixa capacidade de dispersão e os habitats estão fragmentados. Outros estudos que invocam os efeitos históricos pleistocénicos são por exemplo, o de Janzen *et al.* (2002), em cobras americanas (*Thamnophis sirtalis*) ou o estudo de Lin *et al.* (2002) sobre a colonização do Oriente asiático por *Takydromus* (Reptila: Lacertidae). Sobre a hipótese das oscilações das glaciações pleistocénicas, os grandes níveis de riqueza específica e endemismo característicos do Sul da Europa deverão resultar de menores níveis de extinção neste período. Esta região deverá ter funcionado como refúgio (“Refuge Effect”) durante o máximo glacial. Associado a este fenómeno temos algumas penínsulas e montanhas que conferiram uma topografia complexa, provocando o isolamento de algumas populações com vários eventos de colonização (García-Barros *et al*, 2002). Paulo *et al.* (2001) atribuem importância fundamental nos refúgios pleistocénicos para *Lacerta schreiberi* na Península Ibérica. Riddle *et al.* (2000), estudando 12 *taxa* de mamíferos, anfíbios, aves e répteis do deserto peninsular da Baja Califórnia, verificaram que os padrões encontrados poderiam ser explicados por fenómenos pleistocénicos ou de finais do Pliocénico e por uma vicariância críptica.

Tais eventos são invocados noutros estudos para explicar a filogeografia dos vários grupos, como a tripartição dos três principais agrupamentos de haplótipos em *Sorex ornatus* da Califórnia (Maldonado *et al.*, 2001) bem como a importância da topografia para a delimitação dos três grupos.

Noutras regiões do globo, nomeadamente no Sul de África, os padrões filogeográficos de especiação e radiação adaptativa poderão ser explicados por hipóteses relacionadas com o movimento de areias e subsequente fragmentação das populações, como parece ter sido o caso de *Platysaurus* spp. (Scott *et al.*, 2003), apesar de poderem ser igualmente invocados eventos plio-pleistocénicos. Nesta região, Harris *et al.* (1998a) encontraram em *Meroles* spp. topografias das árvores filogenéticas que indicavam adaptação destes lacertídeos às condições do deserto especialmente ao vento e aos habitats de areia. A robustez das topografias encontradas suporta um modelo de invasão dos vários habitats nos quais sucessivos acontecimentos de especiação, dispersão e adaptação a condições ecológicas extremas ocorreram.

O número de eventos de colonização vai depender das capacidades de dispersão dos organismos ou de outras características associadas à distância da fonte ao território colonizado ou a colonizar. Assim, e apesar da grande distância do Arquipélago do Hawaii aos continentes mais próximos, há casos de plantas que parecem ter realizado múltiplas colonizações como *Asplenium nigrum* (Ranker *et al.*, 1994). Este fenómeno é mais comum em plantas e provavelmente fica a dever-se à pequenez dos esporos envolvidos na dispersão e que provavelmente fazem parte do famoso “plâncton aéreo”.

As estimativas das filogenias são cada vez menos baseadas em registos fósseis mas a validade dessas filogenias depende da robustez da filogenia e da sua topologia. Mudanças nas características individuais podem ser traçadas e histórias gerais de grupos desenvolvidas e comparadas entre uns e outros (Arnold, 1993).

2.5. Sistemática Filogenética

Os sistemas taxonómicos são fundamentais para a biologia comparativa. São regidos por regras e princípios e estão inseridos num contexto teórico. O sistema de Lineu dominou durante mais de 200 anos apesar de não ser baseado em princípios evolutivos. No entanto, a moderna biologia comparativa requer um sistema taxonómico baseado em princípios evolutivos (De Queiroz & Gauthier, 1992). Tal começou com Willi Hennig e seus discípulos que criaram um sistema cujo princípio ancestral-descendente passou a ter um papel central. O desenvolvimento dum sistema filogenético de nomenclatura requer a reformulação de conceitos e princípios, para que não fiquem dependentes ou inseridos numa realidade lineana, mas sim numa lógica de ancestral-descendente. De Queiroz & Gauthier (1994) enuncia

algumas bases desse sistema que cada vez mais ganha terreno e adeptos ao sistema antigo, tendo já dado origem às normas para um novo código (*Phylocode*).

Actualmente poderemos considerar que existem três escolas principais de Sistemática nomeadamente, a da taxonomia numérica (Sneath & Sokal, 1973), a da sistemática evolutiva e a da sistemática filogenética (Wiley, 1981) que teve como principal impulsionador Hennig (1966) e que se baseia na distância temporal a que está o ancestral comum. As Tabelas 2 e 3 apresentam de forma resumida os vários aspectos e comparações entre as três (Blanchette, 2002; ver também Farris, 1967; Hennig, 1966; Simpson, 1961; Sneath & Sokal, 1973).

Taxonomia numérica	Classificação evolutiva	Sistemática Filogenética
- O número de caracteres utilizados é importante para a classificação.	- Totalidade dos caracteres como um conjunto integrado e se tiver genótipos definidos associados melhor é a classificação.	- Quanto mais soubermos sobre a polaridade dos caracteres melhor é a classificação.
- <i>A priori</i> , todos os caracteres têm importância igual para a criação dos <i>taxa</i> .	- Os caracteres são ponderados em função das informações filéticas que eles fornecem.	- Só as sinapomorfias são utilizadas.
- A similaridade global entre duas entidades depende das similaridades individuais de cada carácter que é comparado.	- As evidências da existência de laços de parentesco depende da comparação de caracteres homólogos.	- As relações filogenéticas entre as espécies são estabelecidas a partir das melhores hipóteses disponíveis
- Os <i>taxa</i> distintos podem ser reconhecidos porque as correlações entre os caracteres são diferentes dum grupo de organismos para outro.	- Os <i>taxa</i> distintos podem ser reconhecidos porque os <i>taxa</i> superiores imediatamente reconhecidos têm um significado ecológico definido (as discontinuidades entre os grupos são reais).	- Os <i>taxa</i> distintos podem ser reconhecidos porque é suposto que um só acontecimento de especiação está na origem de cada <i>taxon</i> supraespecífico
- As inferências filogenéticas podem ser feitas a partir da disposição taxonómica dum grupo e das correlações entre caracteres mediante certos pressupostos sobre os mecanismos evolutivos e os caminhos tomados pela evolução.	- A filogenia é tida em consideração tendo em conta dois processos evolutivos: a anagénese e a cladogénese.	- A filogenia é tida em consideração tendo em conta de evento de especiação principalmente por cladogénese
- A Taxonomia é concisa e prática como uma ciência empírica.	- Taxonomia é prática como uma ciência e uma arte	- A taxonomia é prática como uma ciência hipotética-dedutiva
- As classificações são baseadas sobre similaridades fenéticas	- As classificações são baseadas sobre a história evolutiva	- As classificações são baseadas sobre a sequência de episódios de especiação.

Tabela 2. Características das três principais escolas de sistemática (adaptado de Blanchette, 2002)

O desenvolvimento da Sistemática Filogenética tem as suas bases curiosamente nos postulados da teoria de Charles Darwin, nomeadamente todos os organismos estão ligados entre si por uma genealogia compartilhada e a forma e função dos organismos estão estreitamente relacionadas com o habitate (Cancino & Meléndez, 2000; Wiley, 1981).

A taxonomia filogenética tem uma perspectiva histórica e é predictiva tendo como resultado imediato um sistema de classificação natural baseado no uso de caracteres derivados ou apomorfias. Assim, a sistemática filogenética surge duma ligação conceptual e metodológica entre evolução, ecologia e biogeografia, emergindo como uma disciplina

integracionista que potencialmente obtém a evidência da ancestralidade a partir de todos os campos da biologia básica e aplicada (Brower *et al.*, 1996; Wiley, 1981).

	Taxonomia numérica	Classificação evolutiva	Sistemática Filogenética
Os grupos são baseados em:	Avaliação da similaridade global (análise dos agrupamentos)	- Avaliação da similaridade global (análise dos agrupamentos) - A avaliação do parentesco (análise cladística) - Dados paleontológicos - Avaliação da importância da divergência evolutiva	A avaliação do parentesco (análise cladística)
Caracteres utilizados	Todos sem distinção	-sinapomorfias -simplesiomorfias -autapomorfias	Exclusivamente sinapomorfias
Natureza do reagrupamento	<i>Taxa</i> fenéticos	<i>Taxa</i> filéticos	<i>Taxa</i> filéticos
Reagrupamentos obtidos	Exclusivamente “fenes” <i>sensu</i> Sneath & Sokal (1973)	- Monofiléticos (<i>sensu</i> Hennig, 1966) - Monofiléticos (<i>sensu</i> Simpson, 1961)	Monofiléticos (<i>sensu</i> Hennig, 1966)
Tipo de dendograma	Fenograma	Filograma	Cladograma
Divisão	Segundo resultados da análise de agrupamento	Horizontal e vertical	Vertical
Qualidades pesquisadas	-Objectividade -Precisão	- Conformidade com a história evolutiva	Conformidade com a série de episódios de cladogénese
Hierarquia dos taxa	Grau de similaridade global	- Grau de similaridade global - Lugar ocupado na série de episódios de cladogénese	Lugar ocupado na série de episódios de cladogénese
Hierarquia dos taxa		- Grau de divergência das características - Importância das discontinuidades - Diversificação do grupo - Tamanho dos grupos subordinados - Hierarquização equivalente nos <i>taxa</i> relacionados - Estabilidade	
- Outros critérios			

Tabela 3. O reagrupamento das espécies nas três principais escolas de sistemática (Blanchette, 2002)

A filogenia deverá reflectir uma classificação biológica que reflecte as relações evolutivas ou as relações ancestral-descendente. Para reconstruir uma filogenia podem ser utilizados vários tipos de caracteres desde morfológicos a moleculares. Podem-se usar fósseis ou a distribuição dos caracteres nas espécies existentes. Dos caracteres morfológicos, os discretos são os melhores para a reconstrução de filogenias. Os caracteres moleculares, nomeadamente os relacionados com as sequências de DNA constituem a informação mais directa disponível para a reconstrução das filogenias. Como afirma Lewis (2001), durante muito tempo a sistemática filogenética estava praticamente restrita ao domínio da sistemática molecular e aos estudos de evolução molecular. Actualmente os vários métodos estão também a ser utilizados na análise de dados morfológicos discretos, particularmente na estimativa dos estados ancestrais e na correlação de caracteres. Ainda segundo o autor os biólogos estão a começar a aplicar os modelos probabilísticos (“Likelihood models”) e a estatística probabilística Bayesiana.

Durante muito tempo houve tentativas e alertas para a separação da sistemática da teoria evolutiva para que mantivesse alguma objectividade (Sneath & Sokal, 1973). Actualmente são poucos aqueles que adoptam esta estratégia (Mindell & Thacker, 1996).

Na sistemática filogenética a unidade crítica é a unidade monofilética isto é, o ancestral e todos os seus descendentes. Nesta sistemática a espécie é um grupo de organismos diagnosticamente distintos de outros grupos e dentro do qual existe um padrão de ancestral-descendente (Cracraft, 1989).

Os caracteres usados para diagnosticar uma espécie filogenética poderão não ser caracteres derivados mas ser primitivos (plesiomórficos). Sendo assim uma espécie pode deixar de ser apenas monofilética, podendo ser parafilética e mesmo polifilética (Mallet, 2001b), o que de resto era profundamente negado por Cracraft (1989).

Se uma variedade geográfica, que era no passado integrada dentro de outras variedades geográficas se separa e se subdivide em duas formas que coexistem como grupos genotípicos separados, então podemos ter uma situação em que a espécie politípica inicial se tornou parafilética (Mallet, 2001c).

Com este campo da ciência a se desenvolver, a nomenclatura tradicional das espécies tende então a tornar-se numa nomenclatura filogenética. Nos últimos 15 anos, numerosos sistematas têm contestado os códigos com influência Lineana e Aristotélica e baseados em princípios tipológicos que não se enquadram numa visão evolutiva actual não tipológica (Sluys *et al.*, 2004).

Fala-se então em sistemática filogenética e em nomenclatura filogenética, em que o nome científico para um grupo de espécies ou um *taxon* é definido em relação à sua posição relativa na árvore filogenética (De Queiroz & Gauthier, 1992). É defendido que esta designação é mais estável e proporciona mais informação evolutiva porque o mesmo nome será sempre referido ao mesmo grupo genealógico (Bryant & Cantino, 2002; De Queiroz & Gauthier, 1994; Pleijel & Rouse, 2003). Sob estes princípios a designação binomial será desnecessária e apenas será necessário uma palavra. Surge assim um novo código de nomenclatura, o código filogenético de nomenclatura biológica, o “PhyloCode” disponível em <http://www.ohio.edu/phylocode/>

2.6. Aplicação de marcadores moleculares na conservação da Natureza

A informação genética tem tido um papel importante no desenvolvimento da biologia da conservação ao focar-se nas propriedades evolutivas e da genética populacional,

principalmente, das pequenas populações (Milligan *et al.*, 1994), onde os fenómenos de deriva genética são importantes na redução da variabilidade genética. Os fenómenos de vicariância devidos à fragmentação de habitats têm sido também considerados utilizando marcadores moleculares (Macey *et al.*, 1999a,b).

A aplicação de métodos moleculares veio dar oportunidades excepcionais na área da conservação de espécies (Da Silva & Patton, 1998). Isto porque a diversidade genética tem sido reconhecida como um componente fundamental da biodiversidade e a sua protecção é incluída em numerosas convenções ou políticas de conservação (Ciofi & Bruford, 1999; Moritz, 1994; Moritz & Faith, 1998). Contudo os conceitos e métodos para estimar o valor da distribuição geográfica da variabilidade genética não estão claramente definidos até à data.

A capacidade de poder delinear as fronteiras entre as linhagens evolutivas e distinguir populações geneticamente divergentes, muitas em perigo de extinção, é um dos pontos fortes da sistemática molecular, permitindo que se adoptem estratégias adequadas de protecção e conservação da natureza (Luikart *et al.*, 1998; Moritz, 1994).

A aplicação de marcadores moleculares tem sido muito proveitosa, nomeadamente na detecção de invasões crípticas, ou múltiplas invasões, dificilmente identificáveis com a utilização de dados morfológicos (Geller *et al.*, 1997; Grosholz & Ruiz, 1996). Também tem sido proveitosa na detecção de variabilidade críptica (Hammond *et al.*, 2001; Roman *et al.*, 1999).

2.7. O modelo das Ilhas Canárias

Nos últimos anos, as ilhas Canárias têm sido alvo de muito estudos filogeográficos e biogeográficos, utilizando marcadores moleculares em vários grupos de animais tendo dado origem a um modelo para estudo dos fenómenos de dispersão, colonização, relação entre populações, relação entre as divergências genéticas e distribuições geográficas, etc.. Este arquipélago é interessante porque possui ilhas com áreas muito diferentes, idades geológicas distintas, diferentes graus de isolamento e de diversidade de habitats, elevados níveis de endemidade e diferenciação intra e, principalmente, inter-ilhas (Juan *et al.*, 2000). Para além deste facto, a idade das ilhas é conhecida através de numerosos estudos geológicos (Anguita & Hernan 2000; Gómez *et al.*, 2003).

Do ponto de vista evolutivo, os répteis das Canárias constituem um dos grupos mais interessantes do arquipélago. O pequeno número de espécies (devido às características dos meios insulares), a diferenciação de pequenos isolados (ao nível do género, da espécie e da

subespécie) a extinção das grandes espécies, a variação intrainsular com gradientes (“clines”) bem definidos, foram aspectos que desencadearam uma série de trabalhos taxonómicos, genéticos, ecológicos, etc. (ver por exemplo Brown *et al.*, 2000; Brown & Pestano, 1998; Emerson *et al.*, 2002; González *et al.*, 1996; Gubitz *et al.*, 2000; Juan *et al.*, 2000; Juan *et al.*, 1996; López-Jurado & Báez 1985; Nogales *et al.*, 1998; Pestano *et al.*, 2000; Pestano *et al.*, 2003a; Pinto *et al.*, 1997; Thorpe *et al.*, 1993, 1994).

Vários estudos foram realizados sobre a evolução inter e intra-ilhas, baseando-se em técnicas moleculares. Muitos destes estudos revelaram que os padrões de colonização estavam relacionados com a emergência da ilha e sua idade geológica (Emerson *et al.*, 2002; Juan, *et al.*, 1996). Neste arquipélago a colonização de muitos *taxa* parece ter sido feita de leste para oeste, das ilhas mais velhas e mais próximas da plataforma continental para as mais distantes e mais novas, de acordo com um modelo “stepping-stone”. É o caso do género *Hegeter* (Tenebrionidae: Coleóptera) (Juan *et al.*, 1996), e de *Drosophila subobscura* (Pinto *et al.*, 1997). Este padrão não é contudo universal nestas ilhas, apresentando os lagartos *Gallotia* (Thorpe *et al.*, 1993, 1994) e *Chalcides* (Brown & Pestano, 1998) notáveis excepções.

A diferenciação intra-ilhas foi também objecto de vários estudos, nomeadamente nos coleópteros do género *Nesotes* da Ilha de Gran Canaria, que evidenciaram um padrão de diferenciação molecular sugestivo de forte influência da selecção e adaptação aos diferentes tipos de ambientes (Rees *et al.*, 2001).

Nos escincídeos do género *Chalcides*, a monofilia presente no estudo de Brown & Pestano (1998) é indicativo duma colonização do arquipélago, seguida duma migração entre ilhas. A diversidade encontrada dentro das ilhas Canárias parece então ser explicada por um único evento de colonização seguido pela diferenciação intra-ilhas. Esta diferenciação pode então ficar a dever-se a extinções e recolonizações locais durante períodos de intensa actividade vulcânica. Padrões semelhantes foram descritos para insectos no Hawaii onde a dispersão entre ilhas e a vicariância dentro de cada ilha eram fortemente dependentes dos fluxos de lava (Carson *et al.*, 1990; Shaw, 1996).

Pestano & Brown (1999) verificaram que em *Chalcides sexlineatus* da ilha de Gran Canaria os padrões filogeográficos e morfológicos eram concordantes.

Nogales *et al.* (1998) encontraram elevados níveis de diferenciação genética dentro de cada ilha em *Tarentola delalandii* em Tenerife e *Tarentola boettgeri* em Gran Canaria. As relações filogenéticas entre as espécies estudadas revelou um maior nível de diferenciação e um padrão de colonização mais complexo neste género do que em *Gallotia* (González *et al.*,

1996). Nas Canárias o padrão de espécies encontrado actualmente em *Tarentola* spp. deverá ser resultado de vários eventos independentes da colonização e da extinção (Nogales *et al.*, 1998).

Do ponto de vista da variação intraespecífica, Gubitz *et al.* (2000), a exemplo de Nogales *et al.* (1998) obtiveram um elevado grau de diferenciação geográfica em magnitude e padrão numa escala espacial muito pequena na osga *Tarentola delalandii* na ilha de Tenerife, com base em sequências do citocromo b. Pestano & Brown (1999), também encontraram elevada variação no DNA mitocondrial de *Chalcides sexlineatus* (Sauria: Scincidae). Neste mesmo estudo verificaram que na Ilha de Gran Canaria existia um padrão filogeográfico. Utilizando caracteres morfológicos estes animais mostraram um gradiente Norte-Sul relacionado com a ecologia, nomeadamente com o clima. Uma inspecção ao DNA mitocondrial revelou a existência de 3 linhagens separadas geograficamente, uma a norte, outra a sudeste e outra a sudoeste, com padrão semelhante ao obtido com a morfologia. Adaptação diferencial e aos dois principais tipos de habitate e selecção contra os híbridos deverão explicar por que a zona de transição morfológica coincide com o principal ecótono. (Thorpe *et al.*, 1996).

Estudos nos lagartos das Canárias têm sugerido vicariância histórica resultante do vulcanismo e a sua importância no padrão genético intrainsular. *Chalcides viridanus* da Ilha de Tenerife revelou a existência de 3 grupos principais geograficamente distintos (Brown *et al.*, 1991). O terceiro grupo em particular apresenta uma distribuição vasta e representa uma expansão recente após um efeito gargalo, tendo como provável causa a actividade vulcânica (esta terá separado os dois grupos a norte e feito desaparecer as populações intermédias) (Brown *et al.*, 2000).

A não concordância obtida entre os padrões filogeográficos e a morfologia de *Chalcides viridanus* em Tenerife pode ser explicada pelas pressões selectivas sobre a morfologia e o pouco tempo de divergência das linhagens que se sobrepõem à variação no DNA mitocondrial (Juan *et al.*, 1996; Thorpe *et al.*, 1996) ou pela introgressão diferencial entre o DNA nuclear e o mitocondrial (Brown *et al.*, 2000). A filogenia “star-like” e a baixa divergência genética dum dos grupos é sinónimo de expansão recente (Brown *et al.*, 2000).

Haplótipos muito divergentes e em simpatria poderão indicar, um contacto secundário (Conroy & Cook, 2000). A extensão da divergência genética poderá ser prevista com base no fluxo genético (Avice *et al.*, 1987). Contudo a divergência entre populações que

não atingiram o equilíbrio entre mutação, migração e deriva genética também deve reflectir factores históricos, como efeito gargalo e mudanças de distribuição.

Queria referir ainda que outro tipo de marcadores muito utilizados, principalmente no passado, para determinar fluxos genéticos, estruturas populacionais, e diferenciação entre ilhas, como no Caranguejo, *Birgus latro* (Lavery *et al.*, 1995) foram as aloenzimas, Neste estudo os autores encontraram o fenómeno do isolamento pela distância, na medida em que quanto mais distantes geograficamente são duas populações, mais distantes também o são do ponto de vista genético.

Capítulo 3

3. OS TAXA ENVOLVIDOS NO PRESENTE TRABALHO

“ REPTILES pedatri, auribus planmo-denudis absque auriculis, variam vitam ex structura agunt: l'estudines maniuntur Testa; Dracones evolant Alis; Lacerta fugiunt Pedibus; Rana absconduntur Loco; nec omnes Veneno porfus carent, ut Bufo, salamndra, Gecko.” **Linnaeus (1758). Systema Naturae**

Os animais considerados nesta dissertação são vertebrados da classe Reptilia LINNAEUS, 1758. Os animais desta classe caracterizam-se por serem geralmente tetrápodes, pentadáctilos e unguiculados, possuem um crânio com um único côndilo occipital, ossos parietal e esquamosal em contacto extenso externamente, tipicamente com duas vértebras sacrais, presença de costelas nas vértebras pré-sacrais, esterno geralmente presente, coração com duas aurículas e um ventrículo (nalguns casos com dois), pele com escamas epidérmicas e não glandular, presença de ovos amnióticos. São animais com distribuição vasta, não existindo para lá dos círculos polares (Barbadillo, 1987; Hildebrand, 1988; Storer *et al.*, 1982; Zug, 1993).

São portanto répteis que pertencem à subclasse Diapsida OSBORN, 1903, que se diagnostica essencialmente pela existência de duas fossas temporais, superior e inferior. São lepidosáurios, ou seja caracterizam-se essencialmente por terem corpo coberto de escamas (ver Barbadillo, 1987; Hildebrand, 1988; Storer *et al.*, 1982; Zug, 1993).

Os animais aqui considerados pertencem ainda à ordem Squamata OPPEL, 1811, Subordens Sauria MacARTNEY, 1802 (=Lacertilia OWENS, 1842) (famílias Gekkonidae GRAY, 1825, Scincidae GRAY, 1825, Lacertidae GRAY, 1825) e Serpentes LINNAEUS, 1758 (=ophidia) (famílias typhlopidae, MERREM, 1820, Leptotyphlopidae, STEJNEGER, 1891, Colubridae, OPPEL, 1811, Elapidae, BOIE, 1827)

3.1. Os Répteis terrestres dos arquipélagos

As ilhas oceânicas são geralmente pobres em fauna herpetológica (Klemmer, 1976). A maioria das ilhas atlânticas nem sequer possuem répteis de grande porte como crocodilos e as serpentes são raras (Bertin 1946). Em contrapartida apresentam um número relativamente grande de lagartos, lagartixas e osgas. Embora, em termos de número de géneros ou espécies

não possam rivalizar com outros grupo animais ou insectos, eles não são menos importantes do ponto de vista biogeográfico.

3.1.1. Arquipélago da Madeira

No Arquipélago da Madeira e Selvagens existe um pequeno lacertídeo que é o único vertebrado não voador endémico (Sadek, 1981). Mertens (1938) definiu uma subespécie melânica com dimensões menores na Deserta Grande - *Lacerta dugesii mauli* Mertens(1938). Bischoff *et al.* (1989) definiu três subespécies endémicas, *Lacerta dugesii dugesii* (Madeira e Desertas), *Lacerta dugesii selvagensis* (Selvagens) e *Lacerta dugesii jogeri* (Porto Santo). Segundo González *et al.* (1996) a separação subespecífica das populações das Selvagens e da Madeira é bem suportada ao nível molecular.

Na Ilha da Madeira tem sido referida a presença de osgas, dadas como pertencentes à espécie *Tarentola mauritanica* (Báez & Bischoff, 1993) (Tabela 4). Sendo quase certa a sua introdução a partir da Europa (Harris *et al.*, 2004a), a espécie parece estar a expandir-se nos últimos anos.

Joger (1984a) refere ainda a existência de osgas do subgénero *Makariogecko* (subgénero primitivo) na Madeira, mas esta observação nunca foi confirmada posteriormente e nós também não a confirmamos.

Outras espécies de répteis como *Chalcides viridanus* e *Calcides sexlineatus* foram referidas erroneamente, ou carecem de confirmação para o Arquipélago Madeira (Báez & Sanchez-Pinto, 1983; Bertin, 1943; Mateo, 1997b). Pasteur *et al.* (1988) afirmam que não existem espécies deste género na Madeira e que as referências devem-se provavelmente a trocas ou mal etiquetagem das amostras.

Bertin (1943) referiu que *Lacerta dugesii* terá existido nas Canárias e *Gallotia galloti* (género endémico do Arquipélago das Canárias) na Madeira. A presença de *Gallotia* na Madeira foi também referida por Bischoff (1997). Esta nunca foi devidamente provada e a realidade evidencia o contrário. É provável que nestes casos tenha havido troca de espécimes ou mal etiquetagem das amostras (opinião partilhada por Sarmiento, 1948). Mais recentemente, a espécie é referida novamente para a Madeira por Bischoff (1998), mas uma vez mais não a confirmamos. *Gallotia galloti* é bem maior e diferencia-se bem de *L.dugesii*. Durante a nossa longa experiência de campo, nunca encontramos alguma *Gallotia galloti*. Pode ainda dar-se que a referência tenha sido ocasional e decorrente duma introdução ocasional e sem sucesso. Apesar de nunca ter sido capturado nenhum destes indivíduos na Ilha da

Madeira, na base de dados do “EMBL Reptile database”¹ voltamos a encontrar a referência de *G. galloti* para a Madeira, *G. caesaris* e *Chalcides viridamus* todas fruto de introduções. García-Talavera (1998) volta a referir a existência de *Chalcides* spp. na Madeira. Nunca presenciamos nenhum exemplar e duvidamos seriamente que alguma vez tenha existido.

Lacerta dugesii terá sido introduzida em Lisboa (Mateo, 1997b; Sá-Sousa, 1995) e nos Açores (Bertin 1946; Dellinger, 1997; Malkmus, 1984; Mateo, 1997b; Mertens, 1934; Rosa & Crespo, 1997). Neste último arquipélago a introdução está documentada, cerca do ano de 1860 nas ilhas dos grupos Central e Oriental, não se encontrando no grupo ocidental (Dellinger, 1997). Dellinger (1997) refere ainda que existe a possibilidade da introdução antropogénica desta espécie nas Selvagens o que, como veremos é impossível.

ESPÉCIES	Madeira	Porto Santo	Ilhéu Chão	Deserta grande	Bugio
<i>Lacerta dugesii</i>	•	•	•	•	•
<i>Tarentola bischoffi</i>	Introduzida *				
<i>Tarentola mauritanica</i>	Introduzida				
<i>Hemidactylus mabouia</i>	Introduzida				

Tabela 4. Espécies presentes no Arquipélago da Madeira. Fontes: Observações próprias; Cook (1979); Dellinger (1997); Geniez, (1997); Guerrero *et al.*, 1997; Sadek (1981); Sarmiento (1948); (“EMBL Reptile database”: <http://www.embl-heidelberg.de/~uetz/LivingReptiles.html>) * pouco credível segundo Nogales *et al* (1998)

É referida também para a Ilha da Madeira *Tarentola bischoffi* (Joger, 1985). Mas a existir, cremos que não devem ser organismos estabelecidos mas ocasionais (Tabela 4). Mesmo assim temos as nossas dúvidas sobre uma potencial troca de amostras. Nogales *et al.* (1998) referem que não existe nenhuma indicação que sugira a sua presença na Ilha da Madeira e nós corroboramos inteiramente esta opinião.

3.1.2. Arquipélago das Selvagens

A osga das Selvagens apresenta afinidades com algumas das suas congéneres canárias e caboverdeanas, nomeadamente com *Tarentola boettgeri*. Diferencia-se desta osga canária pela cor do olho (mais clara), presença de tubérculos carenados, baixo número de escamas interorbitais e pelo baixo número de lamelas subdigitais (Geniez, 1987).

Antes de 1984, a osga das Selvagens era considerada como pertencente à espécie *Tarentola delalandii*. Nesse mesmo ano foi considerada como uma subespécie de *Tarentola boettgeri*, i.e. *Tarentola boettgeri bischoffi*. É, também neste ano que é elevada ao estatuto de espécie distinta devido às diferenças existentes em certos caracteres proteicos e imunológicos

¹ <http://www.embl-heidelberg.de/~uetz/LivingReptiles.html>

A osga das Selvagens foi estudada bioquímica e imunologicamente por Joger (1985) que lhe atribuiu o nome de *Tarentola bischoffi*. Já em 1984, o autor tinha publicado um trabalho com estudos imunológicos da espécie, dando-lhe o nome de *Tarentola (Makariogecko) boettgeri*. Este autor considera muito provável que *Tarentola bischoffi* constitua a espécie mais primitiva da radiação do género *Tarentola* das Canárias e Cabo Verde. Assim, com base neste trabalho, ele defende que a expansão das osgas nas Canárias se tenha dado de Norte para Sul. A outra espécie de réptil que se encontra neste arquipélago é *Lacerta dugesii* (Tabela 5)

ESPÉCIES	Selvagem Grande	Selvagem Pequena
<i>Lacerta dugesii</i>	•	•
<i>Tarentola bischoffi</i>	•	•

Tabela 5. Espécies presentes no Arquipélago das Selvagens. Fontes: Cook (1979); Dellinger (1997); Geniez (1997); Guerrero *et al.* (1997); Sadek (1981).

3.1.3. Arquipélago de Cabo Verde

Segundo Angel (1935), os primeiros trabalhos realizados com a fauna do Arquipélago de Cabo Verde são dados por Lopez de Lima nos seus trabalhos estatísticos sobre as possessões portuguesas datados de 1844 e 1846. É referido nestes trabalhos a presença de muitas tartarugas marinhas e ausência de serpentes. Só em 1896 Barboza du Bocage publica uma lista comentada dos répteis de Cabo Verde (Angel, 1935).

Bertin (1946) refere para Cabo Verde a existência de espécies pertencentes aos géneros *Tarentola*, *Mabuya*, *Hemidactylus* e *Macrosclincus*. Erradamente ou não, este autor refere a existência de *Mabuya fogoensis* para o Fogo. Embora tenha este restritivo específico, em estudos recentes não se faz alusão à sua existência na ilha do Fogo.

Além das espécies referidas na Tabela 6, Bertin(1946), refere ainda a existência de *Hemidactylus boavistensis* (Boavista) e *Hemidactylus chevalieri* (Sal), provavelmente formas de *H. bouvieri*. Quanto às osgas do género *Tarentola*, Bertin (1946) considera apenas a existência de 2 espécies, *T. gigas* e *T. delalandei* (subespécies: *delalandei*, *rudis* e *boettgeri*). A literatura mais recente está mais de acordo com a Tabela 6 do que com a classificação de Bertin (1946).

Mertens (1934) refere que a herpetofauna destas ilhas apresenta uma maior influência etiópica enquanto que nas outras ilhas da Macaronésica, a influência é essencialmente europeia.

Hemidactylus bouvieri parece estar em risco de extinção no ilhéu de Santa Luzia. É referida a sua presença nesta ilha apenas por Mateo *et al.* (1997). É curiosa no entanto a

riqueza herpetofaunística das ilhas Desertas deste arquipélago, com várias espécies e subespécies endêmicas (Santa Luzia, Razo e Branco) (Mateo *et al.*, 1997; Schleich, 1987) dado a sua pequenez.

Em Cabo Verde houve referências a cágados no Ilhéu de Santa Maria, ou num ilhéu da Baía da Praia (Bertin, 1943), nunca tendo sido capturados quaisquer exemplares.

Parece ter existido neste Arquipélago, mais precisamente no Ilhéu Branco e Ilhéu Raso (Bertin, 1943; Greer, 1976), uma forma gigante de escincídeo *Macrosцинcus coctei* (Duméril & Bibron, 1839), entretanto extinta há cerca de um século (Andreone, 2000; Andreone & Guarino, 2003). Esta espécie com mais de 50 cm terá sido designada de *Macrosцинcus* por Bocage em 1873, em vez de *Euprepis* como havia sido designada por Duméril e Bibron que a descreveu a partir de um indivíduo de origem desconhecida (Peracca, 1891). Andreone & Guarino (2003), ao medirem onze machos e quinze fêmeas da coleção do Museu de Zoologia de Turim (Itália), verificaram que os comprimentos entre o focinho e a cloaca oscilavam entre os 283 mm nos machos e 255 mm nas fêmeas e que tinham idades máximas entre 12 anos nas fêmeas e 16 nos machos. Carranza *et al.* (2001) chegaram a considerá-la como uma forma especializada de *Mabuya*.

É curioso que Bertin (1943) nunca refira que *M.coctei* está extinto, afirmando a determinado momento « ...il doit être signalé comme survivance ou relique d'un groupe de scinques à nombreux ecailles qui devait exister à l' époque Miocène ».

Contudo esta constatação da sua não extinção deverá ser considerada com muito cuidado, pois Bertin parece errar em muitos outros aspectos, como a referência de *Gallotia* spp. (Sauria: Lacertidae). e *Chalcides* spp. (Sauria: Scincidae) para a Madeira.

Outro dado curioso está relacionado com *Tarentola annularis* que apesar de constar da “EMBL Reptile database”¹ não foi nunca referida por Carranza *et al.* (2001) nem nós a encontramos nas duas missões ao Arquipélago de Cabo Verde.

3.1.4. São Tomé e Príncipe e Annobon

Em 1999, Jonathan Baillie visitou a Ilha do Príncipe essencialmente para observar aves, e no seu “diário” relata que a única espécie de lagarto encontrada na manta morta das florestas primárias e secundárias é *Panaspis africana*².

¹ <http://www.embl-heidelberg.de/~uetz/LivingReptiles.html>

² http://ggcg.st/jon_principe.htm

ESPÉCIES	SA	SV	SL	BR	Rz	SN	Sal	BV	M	St	SM	F	B	Rh
<i>Mabuya delalandii</i>		•				•		•		•	•	•	•	•
<i>Mabuya fogoensis</i>	•					•						•?		
<i>Mabuya stangeri</i>		•	•	•	•	•	•	•	•	•			•	
<i>Mabuya salensis</i>							•	•						
<i>Mabuya spinalis</i>							•		•?			•		
<i>Mabuya vaillanti</i>										•		•		•
<i>Tarentola cabo-verdeana</i>	•	•	•?	•?	•	•								
<i>Tarentola rudis</i>	•	•	•			•	•	•	•	•	•	•	•	•
<i>Tarentola Darwin</i>						•?	•?			•		•		
<i>Tarentola gigas</i>				•	•	•?								•?
<i>Hemidactylus bouvieri</i>	•	•	•		•		•	•		•	•	•	•	•
<i>Hemidactylus brooki</i>	•	•				•	•	•		•	•	•	•	•

Tabela 6. Espécies dadas para o Arquipélago de Cabo Verde. SA- Santo Antão; SV- São Vicente; SL- Santa Luzia; BR- Branco; Rz- Razo; SN- São Nicolau; BV- Boa Vista; M- Maio; St- Santiago; SM- Santa Maria; F- Fogo; B- Brava; Rh- Rombos **Fontes:** Observações próprias; Angel (1935); Bocage, 1875; Boulenger (1887); Brown *et al.* (2001); Greer, 1976; Guerrero *et al.* 1997; Joger (1993); Mateo *et al.* (1997); Mertens, (1934, 1955); Pinheiro (1989, 1990); Schleich (1987).

É pouco provável a existência da cobra venenosa *Dendraspis* spp. como havia sido por Bocage (1904-1905) e Mertens (1934). Pode ter-se dado o caso de ter sido confundida com pequenas cobras esverdeadas existentes no arquipélago e pertencentes ao género *Philothamnus* de nome vulgar Soá-Soá. Leonard Fea¹ designou a forma de São Tomé por *Dendrophis jamesoni*, que significava mamba-soá-soá que seria assim uma forma híbrida. Não queremos deixar contudo uma pequena advertência do facto de que muitos curadores de museu, poderão ter recebido amostras incorrectamente identificadas e etiquetadas, dando origem a muitos mal-entendidos que prevalecem até hoje.

Também na “EMBL Reptile database”² é feita referência a *Pelusios subniger* e não a *Pelusius castaneus* que já havia sido mencionada por Bocage (1904-1905) e Mertens (1934). Mertens (1934) refere o pouco conhecimento da herpetofauna de Annobon e esta constatação parece válida até aos nossos dias (Tabela 7).

Neste capítulo tentaremos identificar aquelas espécies utilizadas nesta dissertação. As sinonímias e subespécies foram baseadas em dados oriundos da “EMBL Reptile database”. As descrições encontram-se essencialmente em anexo.

3.2. Breve caracterização e história filogenética dos *Taxa*

3.2.1. Família Gekkonidae

É uma das famílias mais numerosas dos sáurios. Contudo não há uniformidade nos números adiantados na literatura. Assim podemos considerá-la como tendo entre 600 espécies (Barbadillo, 1987), 800 (Glaw & Vences, 1994), ou 900 (Henkel & Schmidt, 2000).

¹ <http://triplov.com/mamba/mamba00.htm>

² <http://www.embl-heidelberg.de/~uetz/LivingReptiles.html>

Esta variação deve-se em parte ao estatuto taxonómico ambíguo de algumas subfamílias.

ESPÉCIES	Príncipe	São Tomé	Annobon	
<i>Panaspis annobonensis</i> ou subsp.			●	Endémica de Annobon ?
<i>Panaspis Africana</i>	●	●		Endémica de São Tomé e Príncipe ?
<i>Mabuya maculilabris</i>	●	●		?
<i>Mabuya affinis</i> syn. <i>Mabuya blandingi</i>	●	●		?
<i>Mabuya ozorii</i>			●***, ●****	
<i>Feylinia polylepis</i>	●			Endémica do Príncipe
<i>Hemidactylus greeffii</i>	●	●		Endémica de São Tomé e Príncipe
<i>Hemidactylus newtonii</i>			●	
<i>Hemidactylus mabonia</i>	●	●	●**** ?	Introduzida
<i>Hemidactylus longicephalus</i>	●	●		?
<i>Lygodactylus thomensis</i>	●	●	●	Endémica de São Tomé, Príncipe e Annobon
<i>Philothamnus girardi</i>			●	
<i>Phyllothamnus thomensis</i>		●		Endémica de São Tomé
<i>Lamprophis lineatus bedriagae</i>	●	●		Endémica de São Tomé e Príncipe
<i>Hapsidophrys principis</i>	●			Endémica do Príncipe
<i>Hapsidophrys smaragdina</i> *		●		?
<i>Naja melanoleuca melanoleuca</i>		●		Introduzida ?
<i>Rhinotyphlops feae</i>	●	●		Endémica de São Tomé e Príncipe
<i>Rhinotyphlops newtoni</i>	●	●		Endémica de São Tomé e Príncipe
<i>Typhlops elegans</i>	●			Endémica do Príncipe
<i>Pelusios castaneus</i>		●**	●****	

* o mesmo que *Hapsidophrys principis* ?; ** Bocage (1904-1905); *** Bocage (1903); **** Bocage (1893a) – quase de certeza que era *H. newtonii*, só que nesta data ainda não estava descrita; ***** Mertens (1934)

Tabela 7. Espécies dadas para São Tomé Príncipe e Annobon. Fontes: “EMBL Reptile database” (<http://www.embl-heidelberg.de/~uetz/LivingReptiles.html>); “Gulf of Guinea Conservation Group” (http://www.gcg.st/reptiles_stp.html), Bocage (1893a; 1903;1904-1905); Mertens (1934)

A família gekkonidae é cosmopolita e ocorre essencialmente em regiões tropicais e subtropicais do Novo e do Velho Mundo (Lee, 2000; Stafford & Meyer, 2000), onde terão colonizado uma grande variedade de nichos ecológicos (Henkel & Schmidt, 2000). Muitas das espécies são conhecidas por osgas.

A sistemática dentro da família não está bem estabelecida (Glaw & Vences, 1994). Há quem subdivide as osgas em dois grandes grupos, um dos quais inclui animais com pálpebras fixas, imóveis e maioritariamente transparentes (subfamílias Gekkoninae, Teratoscincinae e Diplodactylinae). O outro grupo será formado pelas subfamílias Aleuroscalabotinae e Eublepharinae e inclui animais com pálpebras móveis¹. As osgas consideradas neste trabalho pertencem todas ao primeiro grupo. Há também quem inclua algumas destas subfamílias em famílias distintas, como acontece com a Dipodactylinae que é muitas vezes incluída na família Pygopodidae (Kluge, 1987). É também o caso das subfamílias Eublepharinae e Sphaerodactylinae que outrora foram consideradas famílias distintas. Aliás a família Pygopodidae é considerada como muito próxima da Família Gekkonidae (Estes *et al.*, 1988; Schwenk, 1988). Enquanto que esta família é monofilética, a

¹ <http://www.embl.heidelberg.de/~uetz/families/Gekkonidae.html>

família Gekkonidae é de taxonomia muito mais complicada formando um enorme grupo parafilético (Estes *et al.*, 1988). Contudo Presch (1988) considera os Pygopodidae e os Gekkonidae como famílias afastadas. Presch (1988) utilizou menos caracteres do que Estes *et al.* (1988) (148 contra 91), havendo em ambos os casos predominância de caracteres osteológicos, nomeadamente cranianos.

Uma das razões destas discórdias tem a ver com a riqueza específica e com a variabilidade fenotípica da família. Para conhecer algumas sinapomorfias das osgas, relacionadas essencialmente com a osteologia e morfologia remetemos o leitor para a leitura de Estes *et al.* (1988).

3.2.1.1. Género *Tarentola* GRAY, 1825

O género *Tarentola* compreende cerca de 20-22 espécies morfologicamente semelhantes (Joger 1984 a,b; Schleich, 1984). Ocorre essencialmente no Norte de África, regiões costeiras do Mediterrâneo, ilhas macaronésicas (Madeira, Selvagens, Canárias e Cabo Verde), Cuba, Bahamas (Carranza *et al.*, 2000; Harris, *et al.*, 2004a) e Jamaica (Sprackland & Swinney, 1998). A denominação *Tarentola* vem de Taranto, um ponto no Sul de Itália onde ocorre *Tarentola mauritanica* (Schleich *et al.*, 1996).

O género é originário provavelmente do Norte de África e terá colonizado as várias ilhas Atlânticas. Utilizando sequências parciais do citocromo b e do 12S rRNA, num total aproximado de 1 kb, Carranza *et al.* (2000) afirmam que terão ocorrido 4 invasões principais dos arquipélagos, presumivelmente por jangadas flutuantes,

- o subgénero *Neotarentola* terá efectuado uma dispersão de cerca de 6000 km há cerca de 23 milhões de anos, através da Corrente Norte-Equatorial,

- o subgénero *Tarentola* terá invadido as ilhas Canárias orientais, dispersando no mínimo 120 km, sendo este o subgénero que se encontra no Norte de África e Europa,

- o subgénero *Makariogecko* terá chegado à Gran Canaria e às ilhas Canárias Ocidentais há cerca de 7-17,5 milhões de anos, provavelmente dispersado a partir do continente africano, das Ilhas Selvagens ou do Arquipélago da Madeira (um valor de dispersão entre 200 a 1200 km),

- uma única espécie do subgénero *Makariogecko* oriunda de La Gomera ou de Tenerife deverá ter dispersado 1400 km até Cabo Verde, há mais de 7 milhões anos, através da Corrente das Canárias, o que equivale a afirmar que as formas de Cabo Verde pertencem ao subgénero *Makariogecko* (Figura 4).

Nos últimos anos, tem sido um género bastante estudado em termos filogenéticos (Carranza *et al.*, 2000, 2002, Jesus *et al.*, 2002a).

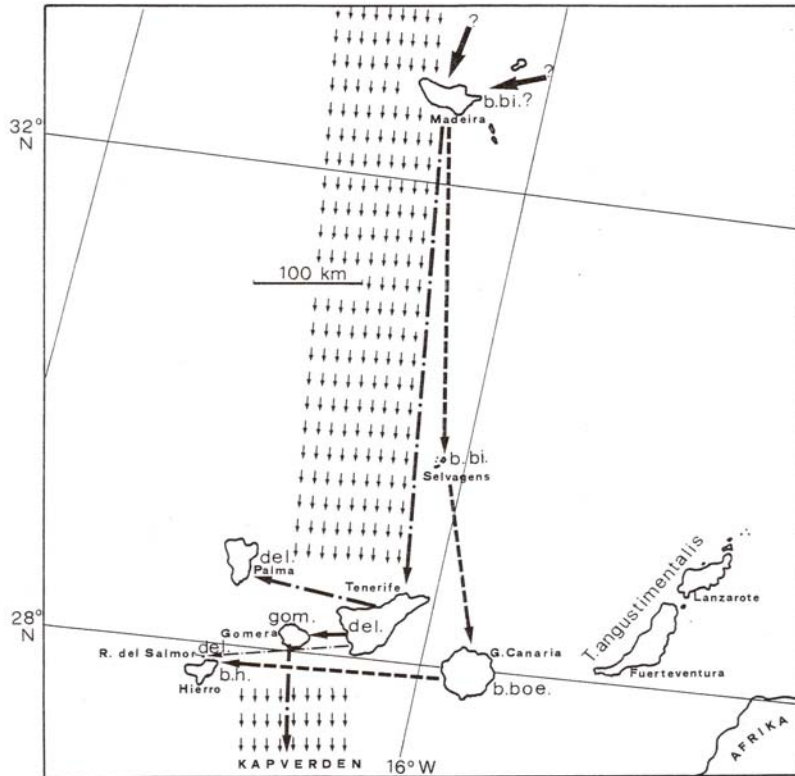


Figura 4 . Colonização das ilhas macaronésias pelo género *Tarentola* (Joger, 1984 b)

Segundo Joger (1984b) o ancestral comum das “tarentolas” macaronésicas terá existido no continente africano e na Península Ibérica, donde terá partido para a Ilha da Madeira ou Norte das Canárias. Das Canárias terá passado para Cabo Verde, seguindo portanto a corrente fria das Canárias. *Tarentola. bischoffi* parece ser mais aparentada com *T. delallandii* e *T. gomerensis*. As Canárias terão sido alvo de duas colonizações, uma dando origem a *dellallandii/gomerensis* e outra a *boettgerii*. Segundo este autor os dados imunológicos e geológicos não permitem suportar todos estes eventos de colonização. Mais tarde, Joger (1985) utilizando dados bioquímicos e imunológicos considera a forma das Selvagens mais próxima de *boettgerii*. Nesse mesmo artigo refere que a *bischoffi* é provavelmente a forma mais primitiva do género *Tarentola* das Canárias e Cabo Verde (figuras 4, 5 e 6).

O género *Tarentola* está representado nas ilhas macaronésicas pelos subgéneros *Tarentola* e *Makariogecko*. O subgénero *Tarentola* inclui apenas *T. angustimentalis* presente

exclusivamente nas Canárias (endémica de Lanzarote e Fuerteventura) e possui origem na África continental. Segundo Guerrero *et al.* (1997), o subgénero *Makariogecko* conta com 8 espécies, e experimentou uma especiação que afecta os arquipélagos das Selvagens, Canárias e Cabo Verde.

A partir de dados morfológicos e bioquímicos de Joger (1984a), Guerrero *et al.* (1997) traçam possíveis cenários de colonização das ilhas macaronésicas por este género. Partindo dum ancestral continental, a primeira fase consistiria em diferentes processos de colonização e especiação que dariam lugar ao subgénero *Makariogecko*. Este colonizaria primeiro as ilhas de Cabo Verde dando lugar ao ancestral de *T. darwinii*. Depois dar-se-ia uma expansão até ao Arquipélago das Canárias, começando por Gran Canária, Tenerife e daqui para a Gomera. As ilhas Selvagens seriam colonizadas a partir de Gran Canaria, diferenciando-se então *T. bischoffi*. Desde a Ilha da Gomera haveria nova colonização de Cabo Verde onde teria lugar a especiação que daria lugar a *Tarentola caboverdiana* e *T. gigas*.

Esta interpretação é contudo diferente da de Joger (1984a,b; 1985). Segundo ele as espécies do subgénero *Makariogecko* das Canárias provêm dum ancestral comum que colonizou em primeiro lugar a Madeira e as Ilhas Selvagens. Estas interpretações distintas a partir dos mesmos dados devem-se a que Joger (1984a,b) se tenha baseado nas correntes marinhas predominantes de Norte para Sul para explicar os padrões biogeográficos e de colonização.

Após as abordagens feitas às osgas caboverdianas do género *Tarentola*, por Joger (1984a) e Schleich (1984, 1987), alguma confusão nomenclatural permaneceu acerca dos *taxa rudis* e *gigas*. Joger tratou estes *taxa* como semiespécies dentro duma espécie designada por *Tarentola borneensis* GRAY, 1845. Por outro lado, Schleich considerou-as como duas espécies distintas, não aceitando a designação *Tarentola borneensis*, mas sim *Tarentola rudis* e *Tarentola gigas*. Segundo Schleich (1987), a bioacústica bem como as diferenças ecológicas e comportamentais justificavam tal separação. De acordo com Joger (1993), esta visão é aceitável tendo em conta a separação geográfica (*rudis* nas ilhas mais a Sul do Arquipélago de Cabo Verde, *gigas* nos ilhéus Razo e Branco).

Quer em Cabo Verde quer nas Canárias, espécies morfologicamente semelhantes, mostraram ser linhagens distintas (Carranza *et al.*, 2000; Jesus *et al.*, 2002a).

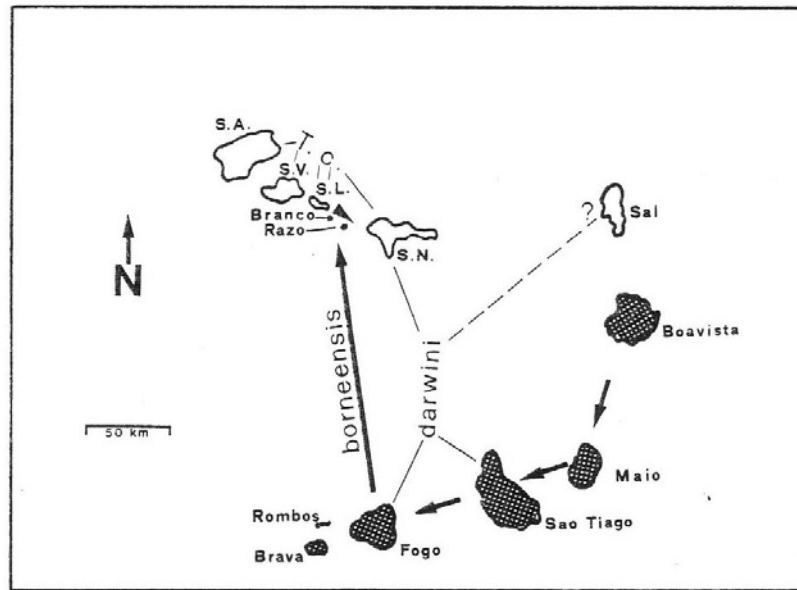


Figura 5. Eventos de colonização no Arquipélago de Cabo verde por osgas do género *Tarentola*, segundo Joger (1984b)

Utilizando sequências de genes mitocondriais (citocromo b e 12S rRNA) e nucleares (*c-mos*), Carranza *et al.*, (2002) obtiveram resultados curiosos para *Tarentola* spp. (Figura 8):

1) Apesar do género ser mais ou menos uniforme, não obtiveram suporte para a monofilia dos subgéneros *Tarentola s. str.* e *Makariogecko*.

2) O subgénero *Makariogecko* inclui *Geckonia* (osgas do Norte de África) bem como o subgénero *Sabelogecko*.

3) As formas continentais do género parecem ter invadido o Deserto do Sahara a partir do seu bordo setentrional (Norte).

4) Colonizaram também as ilhas atlânticas cinco vezes. Uma única invasão para as Índias Ocidentais e três para as Canárias; uma destas três resultou depois na invasão de Cabo Verde.

5) Relação próxima entre *Geckonia chazaliae* e as espécies de *Tarentola* da parte ocidental das Canárias e de Cabo Verde. Os autores sugerem que *Geckonia chazaliae* deve passar a ser considerada *Tarentola chazaliae*.

O reconhecimento dos grupos dentro deste género e a sua filogenia têm sido efectuados utilizando a anatomia, bioquímica e imunologia (Joger, 1984b, 1985). Não existe um trabalho morfológico completo, talvez devido ao facto destas osgas serem mais ou menos “semelhantes” e às vezes difíceis de distinguir morfológicamente. Só recentemente as técnicas moleculares tem sido utilizadas para tentar clarificar a taxonomia (ver Carranza *et al.* 2000).

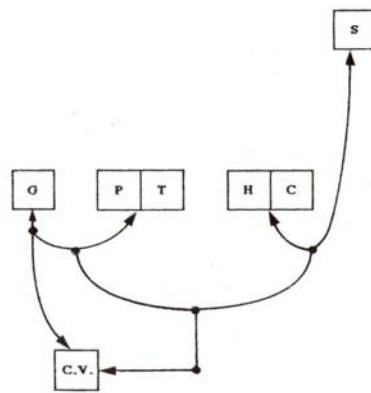
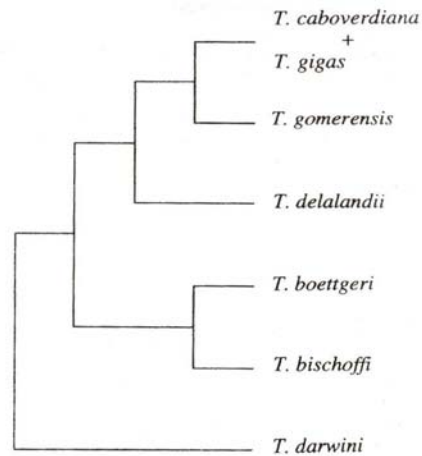


Figura 6. Relações filogenéticas de algumas espécies de *Tarentola* spp. da Macaronésia. S- Selvagens, G- Gomera, P- La Palma, T- Tenerife, H- Hierro, CV- Cabo Verde, C- Gran Canaria (Adaptado de Joger 1984a e Guerrero *et al.*, 1997)

Segundo Carranza *et al.* (2000), deverão ter ocorrido um mínimo de 5 dispersões em Canárias (Figura 7) e cerca de 16 em Cabo Verde. Neste último arquipélago a ocupação deverá ter começado pelo Norte, provavelmente por São Nicolau, com uma subsequente dispersão para as ilhas vizinhas. As ilhas orientais e meridionais terão sido colonizadas a partir destas ilhas setentrionais. Pelo menos duas invasões bem separadas no tempo deverão ter ocorrido. A primeira espécie a chegar a Cabo Verde deverá ter radiado em 5 novas *taxa*. A maioria das ilhas são habitadas por duas espécies que diferem no tamanho, provavelmente devido a um deslocamento de caractere (Carranza *et al.*, 2000).

O estudo de Carranza *et al.* (2000) implica a nosso ver dois comentários:

- Os autores parecem pressupor que o panorama actual (nomeadamente a direcção das correntes marítimas) era semelhante ao existente há cerca de 7-23 milhões de anos, o que manifestamente é difícil de inferir,

- não é simplesmente possível que o subgénero *Makariogecko* tenha origem na Madeira pois a ilha tem uma idade de emersão muito recente. Neste caso talvez fosse de considerar a

Ilha do Porto Santo, bastante mais antiga. A existência nesta ilha de *Makariogecko* só poderá ser atestada com um exame mais profundo aos fósseis (raros) ali existentes. Certo é que os parentes mais próximos das espécies deste género são as formas do Norte de África.

Nas Canárias, o estudo das relações filogenéticas entre as espécies do género *Tarentola* revelou um alto nível de diferenciação, nomeadamente interespecífica, e um complexo modelo de colonização, ao contrário de *Gallotia* (González *et al.*, 1996; Nogales *et al.*, 1998). Semelhante resultado seria de esperar em Cabo Verde, em que a diferenciação de *Tarentola* e a complexidade dos padrões de colonização seriam maiores do que em *Mabuya*. O mesmo seria de esperar para São Tomé no que diz respeito a *Hemidactylus* e *Mabuya*. No fundo, estas expectativas baseiam-se numa lógica de Gekkonidae *versus* Scincidae/Lacertidae, em que os geconídeos são melhores colonizadores e por isso apresentam mais ou vários eventos de colonização como acontece com as *Tarentola* das Ilhas Canárias (Nogales *et al.*, 1998) em que o padrão de espécies encontrado actualmente deverá ser resultado de vários eventos independentes de colonização e da extinção de algumas espécies (Nogales *et al.*, 1998).

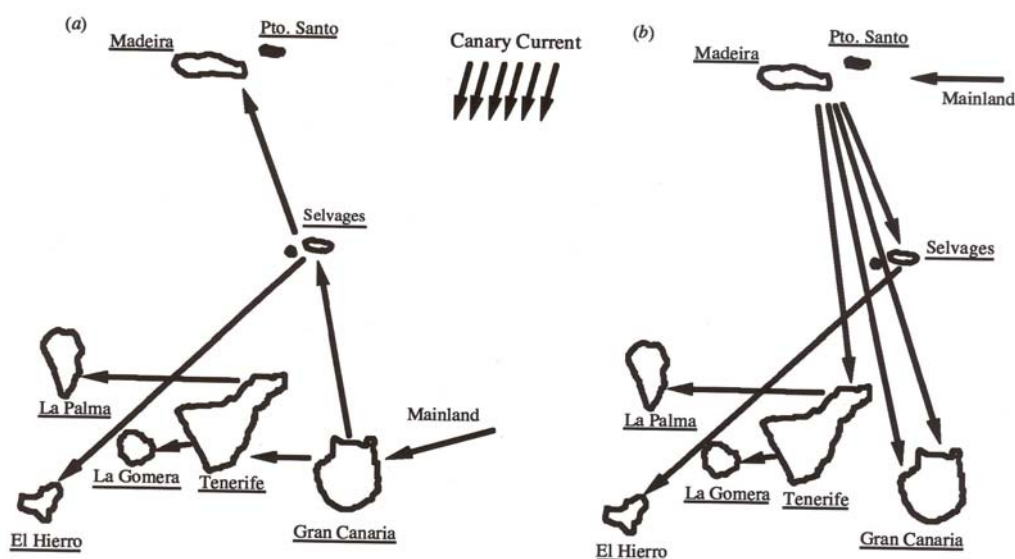


Figura 7. Duas hipóteses alternativas da colonização das Selvagens e da Zona Ocidental das Ilhas Canárias pelo subgénero *Makariogecko*. a) via Gran Canaria; b) via Arquipélago da Madeira (Carranza *et al.*, 2000)

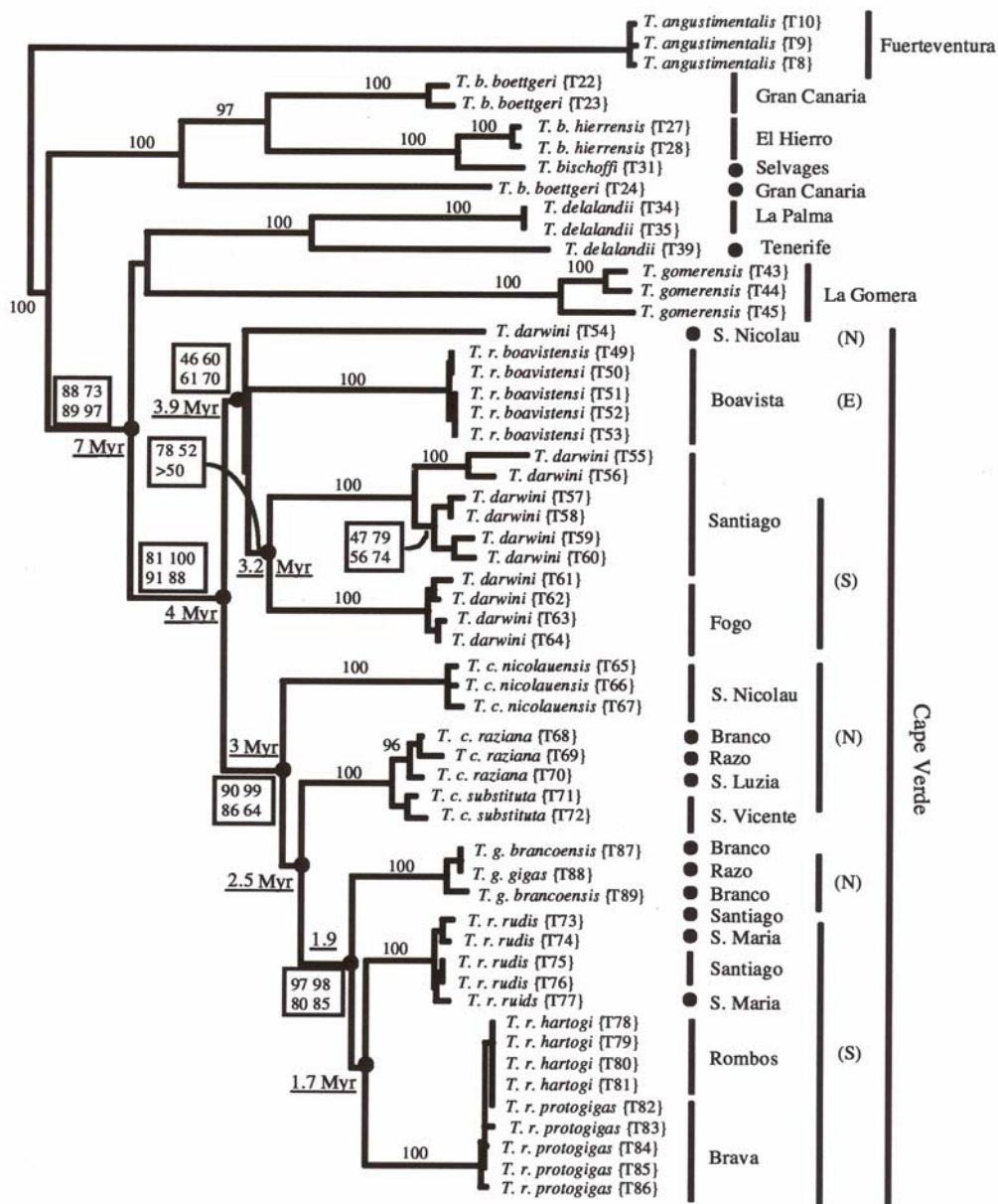


Figura 8. Árvore NJ de 53 representantes do subgénero *Makariogecko* mais três *T. angustimentalis* usadas como “outgroup” baseado num modelo ML. $-\ln$ likelihood = 6357,66426; $T_s/T_v = 4.2$; parâmetro gamma = 0.6254. As terceiras posições do citocromo b não foram incluídas. “Bootstraps” em caixas: em cima e à esquerda, NJ usando um modelo ML, excluindo a terceira posição do citocromo b; em cima à direita, NJ usando o modelo TrN, incluindo as terceiras posições do citocromo b; em baixo à esquerda, Mp ($T_s=T_v$) sem as terceiras posições do citocromo b; em baixo à direita Mp ($T_s=4, T_v=1$) com as terceiras posições do citocromo b. Quando a diferença entre os quatro valores era menor do que 5 % era considerado o valor médio (Carranza *et al.*, 2000).

3.2.1.1.1. *Tarentola darwini* JOGER, 1984

Sinonímia: *Tarentola darwini* JOGER, 1984; *Tarentola delalandii boettgeri* BOULENGER, 1906; *Tarentola delalandii delalandii* LOVERIDGE, 1947; *Tarentola delalandii rudis* MERTENS, 1954; *Tarentola* spp. SCHLEICH, 1982; *Tarentola* spp. SCHLEICH, 1984; *Tarentola darwini* JOGER, 1993; *Tarentola darwini* KLUGE, 1993; *Tarentola (Makariogecko) darwini* RÖSLER, 1995; *Tarentola (Makariogecko) darwini* CARRANZA *et al.*, 2000.

Subespécies: não existem referências

Terra típica : Tarrafal (Santiago)

Esta espécie distribui-se essencialmente pelas ilhas do Sul do Arquipélago de Cabo Verde, nomeadamente pelas ilhas do Fogo e de Santiago.

3.2.1.1.2. *Tarentola caboverdiana* SCHLEICH, 1984

Sinonímia: *Tarentola caboverdianus* SCHLEICH, 1984; *Tarentola caboverdiana* JOGER, 1984; *Tarentola caboverdiana* SCHLEICH, 1987; *Tarentola caboverdiana* JOGER, 1993; *Tarentola caboverdianus* KLUGE, 1993; *Tarentola caboverdiana antoensis* JOGER, 1984 (*nomen nudum*); *Tarentola (Makariogecko) caboverdiana* CARRANZA *et al.*, 2000.

Tarentola caboverdiana caboverdiana SCHLEICH, 1984; *Tarentola delalandii delalandii* LOVERIDGE, 1947; *Tarentola delalandii rudis* MERTENS, 1954; *Tarentola caboverdianus* SCHLEICH, 1984; *Tarentola caboverdiana caboverdiana* JOGER, 1984; *Tarentola caboverdiana caboverdiana* JOGER, 1993.

Tarentola caboverdiana nicolauensis SCHLEICH, 1984; *Tarentola caboverdianus nicolauensis* SCHLEICH, 1984; *Tarentola caboverdiana nicolauensis* JOGER, 1984; *Tarentola caboverdiana nicolauensis* JOGER, 1993; *Tarentola (Makariogecko) caboverdiana nicolauensis* CARRANZA *et al.*, 2000.

Tarentola caboverdiana raziana SCHLEICH, 1984; *Tarentola caboverdianus razianus* SCHLEICH, 1984; *Tarentola caboverdiana raziana* JOGER, 1984; *Tarentola caboverdiana raziana* JOGER, 1993; *Tarentola (Makariogecko) caboverdiana raziana* CARRANZA *et al.*, 2000.

Tarentola caboverdiana substituta JOGER, 1984; *Tarentola caboverdianus caboverdianus* SCHLEICH, 1984; *Tarentola caboverdiana substituta* JOGER, 1984; *Tarentola caboverdiana substituta* JOGER, 1993; *Tarentola (Makariogecko) caboverdiana substituta* CARRANZA *et al.*, 2000.

Subespécies: *Tarentola caboverdiana caboverdiana* SCHLEICH, 1984; *Tarentola caboverdiana substituta* JOGER, 1984; *Tarentola caboverdianus nicolauensis* SCHLEICH, 1984; *Tarentola caboverdianus razianus* SCHLEICH, 1984.

Terra típica : Da subespécie *caboverdiana*: Santo Antão. Da subespécie *substituta*: São Vicente. Da subespécie *nicolauensis*: São Nicolau. Da subespécie *razianus*: Santa Luzia

A espécie distribui-se pelas ilhas de Santo Antão, São Vicente, Santa Luzia, Branco, Raso, São Nicolau. A subespécie *caboverdiana* distribui-se por Santo Antão. A subespécie *nicolauensis* distribui-se por São Vicente e São Nicolau. A subespécie *raziana* distribui-se pelo Ilhéu Branco (Carranza *et al.*, 2000) Santa. Luzia, Raso. A subespécie *substituta* distribui-se por São Vicente.

3.2.1.1.3. *Tarentola rudis* BOULENGER, 1906

Sinonímia: *Tarentola rudis* BOULENGER, 1906; *Tarentola borneensis rudis* JOGER, 1984; *Tarentola gigas rudis* KLUGE, 1993; *Tarentola (Makariogecko) rudis* CARRANZA *et al.*, 2000; *Tarentola borneensis* GRAY, 1845.

Tarentola rudis boavistensis JOGER, 1993; *Tarentola borneensis maioensis* JOGER, 1984; *Tarentola rudis maioensis* SCHLEICH, 1987; *Tarentola rudis boavistensis* JOGER, 1993; *Tarentola (Makariogecko) rudis boavistensis* CARRANZA *et al.*, 2000.

Tarentola rudis bartogi JOGER, 1993; *Tarentola borneensis protogigas* JOGER, 1984; *Tarentola rudis protogigas* JOGER, 1993; *Tarentola (Makariogecko) rudis bartogi* CARRANZA *et al.*, 2000.

Tarentola rudis maioensis SCHLEICH, 1984; *Tarentola delalandii rudis* MERTENS, 1954; *Tarentola rudis maioensis* SCHLEICH, 1984; *Tarentola borneensis maioensis* JOGER, 1984; *Tarentola gigas maioensis* KLUGE, 1991; *Tarentola rudis maioensis* JOGER, 1993; *Tarentola (Makariogecko) rudis maioensis* RÖSLER, 2000.

Tarentola rudis rudis BOULENGER, 1906; *Tarentola delalandii* var. *rudis* BOULENGER, 1906; *Tarentola delalandii* ANGEL, 1937; *Tarentola delalandii* var. *rudis* BOULENGER, 1947; *Tarentola delalandii delalandii* DEKEYSER & VILLIERS, 1955; *Tarentola delalandii rudis* MERTENS, 1955; *Tarentola rudis rudis* SCHLEICH, 1984; *Tarentola borneensis rudis* JOGER, 1984; *Tarentola rudis rudis* JOGER, 1993; *Tarentola gigas rudis* KLUGE, 1993; *Tarentola (Makariogecko) rudis rudis* CARRANZA *et al.*, 2000.

Tarentola rudis protogigas JOGER, 1984; *Tarentola delalandii* var. *rudis* BOULENGER, 1906; *Tarentola delalandii* LOVERIDGE, 1947; *Tarentola rudis rudis* SCHLEICH, 1984; *Tarentola borneensis protogigas* JOGER, 1984; *Tarentola rudis protogigas* JOGER, 1993; *Tarentola gigas protogigas* KLUGE, 1993; *Tarentola (Makariogecko) rudis protogigas* RÖSLER, 2000; *Tarentola (Makariogecko) rudis protogigas* CARRANZA *et al.*, 2000.

Subespécies: *Tarentola rudis boavistensis* JOGER, 1993; *Tarentola rudis bartogi* JOGER, 1993; *Tarentola rudis maioensis* SCHLEICH, 1984; *Tarentola rudis protogigas* JOGER, 1984; *Tarentola rudis rudis* BOULENGER, 1906.

Terra typica: Da subespécie *boavistensis*: Boa Vista (Sal Rei). Da subespécie *bartogi*: Rombos. Da subespécie *maioensis*: Maio. Da subespécie *protogigas*: Fogo. Da subespécie *rudis*: Praia – Santiago ou Fogo - São Filipe.

Mertens (1955) não considera *Tarentola rudis*, considera esta forma como subespécie de *Tarentola delalandii*, com *terra typica* no Fogo. Esta espécie distribui-se essencialmente pelo Sul do Arquipélago de Cabo Verde. Todas as subespécies se distribuem pelas ilhas do Sul excepto a *boavistensis* que se localiza numa posição mais oriental. *T. r. protogigas* também existe na Brava e *T. r. rudis* existe também em Santa Maria.

3.2.1.1.4. *Tarentola gigas* BOCAGE, 1896

Sinonímia: *Tarentola borneensis gigas* BOCAGE, 1875; *Ascalabotes gigas* BOCAGE, 1875; *Platydictylus gigas* ROCHEBRUNE, 1884; *Tarentola gigas* BOULENGER, 1885; *Tarentola gigas* BOCAGE, 1896; *Tarentola*

giganteu SCHERER, 1907; *Tarentola gigas* ANGEL, 1937; *Tarentola delalandii gigas* LOVERIDGE, 1947; *Tarentola delalandii gigas* MERTENS, 1955; *Tarentola delalandii gigas* SCHLEICH, 1979; *Tarentola delalandii gigas* SCHLEICH, 1980; *Tarentola "delalandii" gigas* SCHLEICH, 1982; *Tarentola delalandii gigas* GRUBER & SCHLEICH, 1982; *Tarentola delalandii gigas* BÁEZ & SANCHEZ-PINTO, 1983; *Tarentola delalandii gigas* SCHLEICH & WUTTKE, 1983; *Tarentola gigas* SCHLEICH, 1984; *Tarentola borneensis* JOGER, 1984; *Tarentola borneensis* JOGER, 1993; *Tarentola gigas* KLUGE, 1993; *Tarentola borneensis gigas* JOGER, 1993; *Tarentola (Makariogecko) gigas* CARRANZA *et al.*, 2000; *Tarentola borneensis* GRAY, 1845.

Tarentola gigas brancoensis SCHLEICH, 1984; *Ascalabotes gigas* BOCAGE, 1875; *Platydactylus gigas* ROCHEBRUNE, 1884; *Tarentola gigas* BOULENGER, 1885; *Tarentola giganteu* SCHERER, 1907; *Tarentola gigas* ANGEL, 1937; *Tarentola delalandii gigas* LOVERIDGE, 1947; *Tarentola delalandii gigas* MERTENS, 1955; *Tarentola delalandii gigas* SCHLEICH, 1980; *Tarentola "delalandii" gigas* SCHLEICH, 1982; *Tarentola gigas brancoensis* SCHLEICH, 1984; *Tarentola borneensis borneensis* JOGER, 1984; *Tarentola gigas brancoensis* SCHLEICH, 1987; *Tarentola borneensis borneensis* JOGER, 1993; *Tarentola (Makariogecko) gigas brancoensis* CARRANZA *et al.*, 2000; *Tarentola (Makariogecko) gigas brancoensis* RÖSLER, 2000.

Tarentola gigas gigas (BOCAGE, 1875); *Ascalabotes gigas* BOCAGE, 1875; *Platydactylus gigas* ROCHEBRUNE, 1884; *Tarentola gigas* BOULENGER, 1885; *Tarentola gigas* BOCAGE, 1896; *Tarentola giganteu* SCHERER, 1907; *Tarentola gigas* ANGEL, 1937; *Tarentola delalandii gigas* LOVERIDGE, 1947; *Tarentola delalandii gigas* MERTENS, 1955; *Tarentola gigas gigas* SCHLEICH, 1984; *Tarentola borneensis gigas* JOGER, 1984; *Tarentola borneensis gigas* JOGER, 1993; *Tarentola (Makariogecko) gigas gigas* CARRANZA *et al.*, 2000.

Subespécie: *Tarentola gigas brancoensis* SCHLEICH, 1984; *Tarentola gigas gigas* BOCAGE, 1875

Terra typica: Da subespécie *brancoensis*: Branco. Da subespécie *gigas*: Raso

A subespécie *brancoensis* distribui-se pelo ilhéu Branco enquanto a *gigas* se distribui pelo Razo. Todavia mantém-se questionável se existiriam ou não nos Ilhéus Rombos. Fósseis recém descobertos parecem indicar que era uma espécie mais vastamente distribuída no passado (Carranza *et al.*, 2000)

Mertens (1955) não a considera *Tarentola gigas* porque a coloca como subespécie de *Tarentola delalandii*, com *terra typica* no Ilhéu Razo. Nos últimos tempos tinha sido considerada como *Tarentola borneensis* (Joger, 1984b). Pelo facto de serem endémicas de Cabo Verde e não do Borneo o nome *Tarentola gigas* foi retomado (Schleich, 1988) de modo a evitar confusões.

3.2.1.2. Género *Hemidactylus* OKEN, 1817

É um género cosmopolita, com cerca de 79 espécies reconhecidas, sendo por isso o segundo género com mais espécies nos geconídeos (Kluge, 2001) embora a maioria delas se concentre no “Velho Mundo” (África, incluindo Madagáscar, EuroÁsia, etc.) (Anderson, 1999; Glaw & Vences, 1994; Lee, 2000). Segundo Bauer & Pawels (2002), apesar de estar

distribuído por quase todo o velho e novo mundos nas regiões tropicais e subtropicais é no Corno de África e regiões adjacentes onde atinge a maior riqueza específica.

Algumas espécies deste género são cosmopolitas com distribuições moldadas por dispersões naturais transoceânicas bem como por introduções recentes mediadas pelo homem. Na maioria destes casos a relação com o homem é uma relação comensal (Vences *et al.*, 2004).

Não existem trabalhos significativos que abordem as filogenias dos *Hemidactylus* das ilhas consideradas.

3.2.1.2.1. *Hemidactylus brookii* GRAY, 1845

Sinonímia: *Hemidactylus Brookii* GRAY, 1845; *Hemidactylus tytleri* TYTLER, 1865; *Hemidactylus guineensis* PETERS, 1868; *Hemidactylus affinis* STEINDACHNER, 1870; *Hemidactylus kushmorensis* MURRAY, 1884; *Hemidactylus gleadowi* MURRAY, 1884; *Hemidactylus stellatus* BOULENGER, 1885; *Hemidactylus murrayi* GLEADOW, 1887; *Hemidactylus tenkatei* LIDTH DE JEUDE, 1895; *Hemidactylus togoensis* WERNER 1897; *Hemidactylus brookii* DE ROOIJ, 1915; *Hemidactylus luzonensis* TAYLOR, 1915; *Hemidactylus brookii* SCHMIDT, 1919; *Hemidactylus neotropicalis* SHREVE, 1936; *Hemidactylus angulatus* THYS VAN DER AUDENAERDE, 1967; *Hemidactylus trokii* ELTER, 1981 (*nomen nudum*); *Hemidactylus brooki* SCHWARTZ & HENDERSON, 1991; *Hemidactylus brookii* LINER, 1994; *Hemidactylus brookii angulatus* HALLOWELL, 1854; *Hemidactylus angulatus* HALLOWELL, 1854; *Hemidactylus brookii angulatus* BROADLEY & HOWELL, 1991; *Hemidactylus brookii leightoni* BOULENGER, 1911; *Hemidactylus leightoni* POWELL *et al.*, 1996; *Hemidactylus leightoni* FUENMAYOR, 2002.

Subespécies: *Hemidactylus brookii angulatus* HALLOWELL, 1854; *Hemidactylus brookii brookii* GRAY, 1845; *Hemidactylus brookii leightoni* BOULENGER, 1911 (fide Kluge 1969); *Hemidactylus brookii parvimaculatus* DERANIYAGALA, 1953; *Hemidactylus brookii subtriendroides* ANNANDALE, 1905.

Terra typica: Da subespécie de Cabo Verde, *Hemidactylus brooki angulatus*: Costa Ocidental Africana

Esta espécie terá sido introduzida em Cabo Verde. Apresenta uma distribuição vasta, pela África, Ásia, Indonésia, Caraíbas, México, etc.. A subespécie que aparece em Cabo Verde parece ser a *H. b. angulatus* (Mertens, 1955).

3.2.1.2.2. *Hemidactylus bouvieri* (BOCOURT, 1870)

Sinonímia: *Emydactylus bouvieri* BOCOURT, 1870; *Hemidactylus bouvieri* ROCHEBRUNE, 1884; *Hemidactylus bouvieri* BOULENGER, 1885; *Hemidactylus bouvieri* KLUGE, 1993; *Hemidactylus bouvieri* RÖSLER, 2000; *Hemidactylus bouvieri bouvieri* BOCOURT, 1870; *Hemidactylus cessacii* BOCAGE, 1873 (fide LOVERIDGE, 1947); *Hemidactylus bouvieri bouvieri* LOVERIDGE, 1947; *Hemidactylus bouvieri bouvieri* WERMUTH, 1965 ;

Hemidactylus bouvieri boavistensis BOULENGER, 1906; *Hemidactylus boavistensis* BOULENGER, 1906; *Hemidactylus chevalieri* ANGEL, 1935 (fide MERTENS, 1955); *Hemidactylus bouvieri boavistensis* LOVERIDGE, 1947; *Hemidactylus bouvieri boavistensis* MERTENS, 1955; *Hemidactylus bouvieri boavistensis* WERMUTH, 1965.

Subespécies: *Hemidactylus bouvieri bouvieri* (BOCOURT, 1870); *Hemidactylus bouvieri boavistensis* BOULENGER, 1906; *Hemidactylus bouvieri rasoensis* GRUBER & SCHLEICH, 1982

Terra Typica: Da espécie: São Vicente. Da subespécie *bouvieri*: São Vicente. Da subespécie *boavistensis*: Boa Vista. Da subespécie *rasoensis*: Razo.

Esta espécie distribuiu-se por várias ilhas e ilhéus de Cabo Verde. *H. bouvieri bouvieri* apresenta como *terra typica* a ilha de São Vicente (Mertens, 1955). Distribuiu-se pelas ilhas de São Vicente, Santo Antão, Santiago, Fogo e Brava. *H. bouvieri boavistensis* apresenta como *terra typica* a ilha da Boavista. Distribuiu-se pela Boavista e Sal (Mertens, 1955)

3.2.1.2.3. *Hemidactylus greeffii* BOCAGE, 1886

Sinonímia: *Hemidactylus greeffii* BOCAGE, 1886; *Hemidactylus greeffii* BOULENGER, 1887; *Hemidactylus greeffii* LOVERIDGE, 1947; *Hemidactylus greeffii* WERMUTH, 1965; *Hemidactylus greeffii* KLUGE, 1993; *Hemidactylus greeffii* WELCH, 1994; *Hemidactylus greeffii* RÖSLER, 2000.

Subespécies: não há referências

Terra typica: São Tomé.

Distribuiu-se pelas ilhas de São Tomé, Príncipe e Rolas..

Foram referidas desde a sua descrição em 1886 por Barboza du Bocage, na Ilha de São Tomé e Ilhéu da Rolas (Bocage, 1904-1905). Era confundida com *H. mabouia* mas já Bocage (1904-1905) havia separado as duas espécies (ver anexo I)

3.2.1.2.4. *Hemidactylus mabouia* (MOREAU DE JONNÉS, 1818)

Sinonímia : *Gekko mabouia* MOREAU DE JONNÉS, 1818; *Gekko incanescens* WIED, 1824; *Gekko tuberculatus* RADDI, 1823 (syn. Fyde LOVERIDGE, 1947); *Gekko armatus* WIED, 1824 (syn. Fyde LOVERIDGE, 1947); *Gekko aculeatus* SPIX, 1825; *Gekko cruciger* SPIX, 1825; *Gekko incanescens* WIED, 1825 (syn. Fyde LOVERIDGE, 1947); *Hemidactylus tuberculatus* FITZINGER, 1826; *Gekko mabouia* CUVIER, 1829 (*nomen substitutum pro Gekko mabouia*); *Hemidactylus mabouia* DUMÉRIL & BIBRON, 1836; *Hemidactylus mercatorius* GRAY, 1842 (fide BROADLEY & HOWELL, 1991); *Hemidactylus (Tachybates) mabouia* FITZINGER, 1846; *Hemidactylus (Tachybates) armatus* FITZINGER, 1846; *Hemidactylus platycephalus* PETERS, 1854 (syn. Fyde LOVERIDGE, 1947); *Hemidactylus mabouia* GUICHENOT, 1855; *Hemidactylus exaspis* COPE, 1868; *Hemidactylus frenatus* var. *calabaricus* BOETTGER, 1878 (syn. Fyde LOVERIDGE, 1947); *Hemidactylus bengellensis* BOCAGE, 1893 (syn.

Fyde LOVERIDGE, 1947); *Hemidactylus gardineri* BOULENGER, 1909 (fyde BROADLEY & HOWELL, 1991); *Hemidactylus persimilis* BARBOUR & LOVERIDGE, 1928 (fyde BROADLEY & HOWELL, 1991); *Hemidactylus mandanus* HEWITT 1932 (syn. Fyde LOVERIDGE, 1947); *Hemidactylus mabouia mabouia* AUERBACH, 1987; *Hemidactylus mabouia* SCHWARTZ & HENDERSON, 1991; *Hemidactylus mabouia* CEI, 1993; *Hemidactylus mabouia* LINNER, 1994; *Hemidactylus mabouia* GLAW & VENCES, 1994.

Subespécies : não há referências

Terra typica: "Insel St. Vincent, Kleine Antillen" (SMITH & TAYLOR 1950).

Esta espécie poderá corresponder a um conjunto de espécies crípticas (McBee *et al.*, 1987), ou poderemos simplesmente estar perante um complexo. De qualquer modo trata-se de uma espécie ou complexo com taxonomia complicada e mal definida, e com a existência de muitas interrogações quanto à validade de determinadas formas como sendo entidades taxonómicas distintas (ver a curta revisão feita por Vences *et al.*, 2004). Como exemplo desta taxonomia controversa, *H. platycephalus* foi tratada por vários antigos naturalistas como sinónimo de *H. mabouia*. Noutros casos foram realizadas descrições de formas e estas foram designadas com nomes diferentes e no entanto algumas como sinónimos de *H. mabouia* (ver Vences *et al.*, 2004). Kluge (1969) realizou uma revisão das formas do Novo Mundo dos complexos *H. mabouia* e *H. brooki* e verificou que o holótipo de *Gecko mabouia* Moreau de Jonnés era aparentemente um exemplo da população colombiana actualmente designada por *H. brooki leightoni*. Isto dá-nos uma ideia da dificuldade de caracterizar esta espécie.

A espécie distribui-se por quase todo o mundo mas principalmente na região intertropical. Foi introduzida em muitas ilhas como por exemplo no arquipélago de Abrolhos (Brasil) (Rocha *et al.*, 2002).

Tem uma distribuição muito vasta (Manaças, 1952). Incluindo os locais onde foi introduzida é encontrada na América do Sul, África, Caraíbas, México etc. (ver Henkel & Schmidt, 2000). Já no século XIX havia sido identificada no Ilhéu das Rolas e em São Tomé (Bocage, 1904-1905). Provavelmente com origem africana, terá sido introduzida em locais tão distantes como aqueles anteriormente citados (Henkel & Schmidt, 2000). Em toda a sua área de distribuição esta espécie apresenta um carácter antropófilo, sendo frequentemente encontradas junto das habitações humanas. É frequente encontrá-las nas frestas das casas (Henkel & Schmidt, 2000, observação pessoal), sob a casca das árvores, material de construção, etc., e à noite é frequente encontrá-las nas cidades junto às luzes em intensa actividade.

Hemidactylus mabouia e *H. geefii* de São Tomé e Príncipe foram confundidas no passado. Daí que Bocage (1886) tivesse comparado as duas espécies (ver anexo I).

3.2.1.2.5. *Hemidactylus newtonii* FERREIRA, 1897

Sinonímia: *Hemidactylus mabouia* BOCAGE, 1893; *Hemidactylus newtoni* FERREIRA, 1897; *Hemidactylus newtoni* WERMUTH, 1965; *Hemidactylus newtoni* KLUGE, 1993; *Hemidactylus newtoni* RÖSLER, 2000.

Subespécies: não há referências

Terra typica: Annobon.

Esta espécie começou por suscitar confusão com *H. mabouia*. É muito provável que os indivíduos de *H. mabouia* referidos por Bocage (1893a) para Annobon sejam na realidade *H. newtonii* dadas as diferenças apontadas pelo autor como a ausência de poros femurais e anais. Os de Annobon são ligeiramente mais pequenos e apresentam tubérculos dorsais relativamente maiores e mais aproximados.

3.2.2. Família Scincidae

É uma das famílias mais numerosas dos Saurios (Whiting *et al.*, 2003; Zug, 1993). O número varia de autor para autor. Assim pode atribuir-se a esta família entre 600 e 1200 (Barbadillo, 1987; Glaw & Vences, 1994; Henkel & Schmidt, 2000; Lee, 2000; Pough *et al.*, 1998; Zug, 1993), ou ainda 1300 espécies em 85 géneros de acordo com Bauer (1992). Muitos dos grupos da família apresentam sistemática controversa ou estão mal estudados.

A maioria das espécies desta família distribui-se pela zona intertropical de todo o globo terrestre (Glaw & Vences, 1994). Apresenta uma distribuição cosmopolita, principalmente entre os trópicos e nalgumas zonas temperadas do globo terrestre (Zug, 1993). As principais áreas de distribuição são o Sudoeste Asiático, África e Austrália (Henkel & Schmidt, 2000 e Stafford & Meyer, 2000). Muitas das espécies atingem elevadas densidades populacionais, nomeadamente no género *Mabuya* (Henkel & Schmidt, 2000). Tal facto foi possível observar por nós em *Mabuya delalandii* das Ilhas do Fogo e Santiago (Arquipélago de Cabo Verde) assim como em *M. maculilabris* de São Tomé.

A família está dividida em quatro subfamílias, Scincinae, Acontinae, Feylininae e Lygosominae (Greer 1970; Pough *et al.*, 1998). Excepto Scincinae, as outras podem ser diagnosticadas a partir de caracteres derivados (Greer 1970, 1986). A subfamília Scincinae parece ser parafilética. A subfamília Lygosominae contém cerca de 600 espécies distribuídas

pelas zonas temperadas e tropicais da Ásia, Austrália e África central e meridional. Também aparece em Madagascar e na América incluindo as Caraíbas (Greer, 1970; Ota *et al.*, 1996; Zug, 1993). A grande diversidade de espécies torna o grupo atractivo para a análise filogenética e estudos biogeográficos (Greer, 1974; Ota *et al.*, 1996).

A maioria dos estudos subsequentes seguiram a divisão de subfamílias realizada por Greer (1970) embora com algumas críticas pelo meio, principalmente relacionado com a monofilia do grupo Lygosominae (ver Honda *et al.*, 2000). A relação entre as quatro subfamílias permanece obscura. Greer (1986) propõe uma série de caracteres novos que reforçam a monofilia do grupo, não existindo posteriores estudos sobre o tema (Honda *et al.*, 2000). As relações filogenéticas inferidas a partir de sequências do 12S rRNA e do 16S rRNA voltaram a revelar a monofilia da Subfamília Lygosominae (Honda *et al.*, 2000).

Mais recentemente Whiting *et al.* (2003) parecem contestar a monofilia ao não encontrarem suporte para esta condição nos grupos Scincinae e Lygosominae. A monofilia é apenas suportada para a subfamília Acontinae. Ainda segundo os autores o subgrupo subsahariano dos Scincinae e *Feylinia* formam um grupo monofilético

Dentro da subfamília Lygosominae, a mais numerosa e com distribuição mundial mais vasta dentro da família Scincidae (Whiting *et al.*, 2003), existem três linhagens evolutivas constituídas pelos *Eugongylus*, *Mabuya* e *Sphenomorphus*, reconhecidas morfológica, cariologicamente e imunologicamente (Baverstock & Donnellan, 1990; Donnellan, 1991 a,b; Greer, 1979; King, 1973; Ota *et al.*, 1988, 1991, 1995, 1996). Com base em sequências parciais de DNA mitocondrial Honda *et al.* (1999b) demonstraram a presença de três linhagens distintas dentro de *Mabuya*, ou seja *Egernia*, *Lygosoma* e *Mabuya*. No todo a subfamília Lygosominae parece assim ter cinco linhagens distintas (Honda *et al.*, 2000).

As subfamílias Acontinae (18 espécies) e a Feylininae (4 espécies) constituem dois pequenos grupos de lagartos sem patas e restritos a África. A subfamília Feylininae tem origem provável na subfamília Scincinae (Whiting, 2004), no grupo *Scelotes-Melanoseps-Scolecoseps* (Greer, 1985)

No estudo de Whiting *et al.* (2003) não parece existir concordância quanto à família mais próxima da família Scincidae se Cordylidae (Estes *et al.*, 1988; Schwenk, 1988) ou Xantusiidae (Presch, 1988). Para conhecer algumas sinapomorfias desta família, relacionadas essencialmente com a osteologia e morfologia remetemos o leitor para a leitura de Estes *et al.* (1988).

3.2.2.1. Género *Mabuya* FITZINGER, 1826

O género *Mabuya* inclui actualmente cerca de 85 a 100 espécies (Greer *et al.*, 2000; Greer & Broadley 2000; Greer & Nussbaum, 2000; Lee 2000; Mausfeld *et al.*, 2002; Ota *et al.*, 1996). É um género da subfamília Lygosominae (Glaw & Vences, 1994, Henkel & Schmidt, 2000). Concentra-se essencialmente entre os trópicos e parte das zonas temperadas do “Velho Mundo” (África e Sudeste da Ásia) e do Novo mundo (principalmente América do Sul), e aparece também em numerosas ilhas do Índico e do Atlântico (ex. Cabo Verde, Caraíbas e Seychelles) (Greer *et al.*, 2000; Greer & Broadley 2000; Greer & Nussbaum, 2000; Lee, 2000). A maioria das espécies do género ocorrem em África (Greer, 1977).

É um género com um apreciável variação interespecífica (Greer *et al.*, 2000). Greer & Nussbaum (2000), Mausfeld *et al.* (2002) e Mausfeld & Schmitz (2003) referem que as relações dentro do género são mais complexas do que se pensava e a taxonomia das espécies pode ser difícil. É costume usar-se caracteres com forte grau de sobreposição entre espécies, como o número de fiadas longitudinais de escamas em torno do corpo, o número de lamelas subdigitais, o número ou grau de desenvolvimento das carenas nas escamas, e aspectos subtis do padrão de coloração (Greer & Nussbaum, 2000). Estes autores comentam neste trabalho a importância dum carácter que se trata do padrão de sobreposição entre a escama parietal e a temporal superior anterior, e referem que é um carácter útil. O padrão primitivo caracteriza-se pela sobreposição da parietal sobre a temporal anterior superior. No padrão derivado é a temporal que sobrepõe a parietal. A condição primitiva ocorre na maioria das espécies de África, pelo menos nas espécies de Cabo Verde, em todas as espécies das “Américas” e Seychelles. A condição derivada ocorre nas formas do Sudeste Asiático, nalgumas formas do Sul Asiático, em Madagáscar e nalgumas Africanas continentais. Greer & Broadley (2000) propõe seis caracteres (o grau de contacto entre a primeira supraocular e a frontal; número da supraocular mais posterior modalmente conectada com a frontal; número de escamas prétemporais; número e configuração das escamas temporais primárias e secundárias; naquelas espécies com “janela” nas pálpebras – o número de fiadas de escamas bordejando o limite superior da “janela”; robustez/fragilidade da pele) . Os autores começam por estudar *Eumeces* spp., considerado o grupo de escincídeos mais primitivos e portanto, aqueles com maior número de caracteres primitivos.

Até 2000 não tinha existido qualquer análise filogenética de todo o grupo e por isso qualquer carácter que ajudasse a distinguir inequivocamente os grupos eram potencialmente

importante quer do ponto de vista da taxonomia das espécies quer da filogenia (Greer & Nussbaum, 2000).

O grupo ou género *Mabuya*, não parece ser monofilético, mas sim parafilético (Honda *et al.*, 1999a,b; Honda *et al.*, 2000; Whiting *et al.*, 2003). Os autores sugerem a divisão do grupo em três, *Egernia*, *Lygosoma* e *Mabuya*. Como veremos, mais adiante, Mausfeld *et al.* (2002) sugerem a divisão em quatro grupos.

A análise molecular efectuada por Mausfeld *et al.* (2002) com sequências dos genes mitocondriais, 16S rRNA e 12S rRNA, sugere que *Mabuya* spp. é constituída por algumas linhagens há muito tempo separadas formando cada uma, uma radiação monofilética bem suportada estatisticamente. Assim temos quatro grupos que se transformam em géneros e que se encontram distribuídos por quatro áreas que são, a América do Sul, Ásia, África-Madagáscar e Cabo Verde. As topologias obtidas com a análise de “Maximum Parsimony” e “Maximum Likelihood” são semelhantes mas com alguns *taxa* terminais a diferirem. Já em 2000 Mausfeld *et al.* referiam a monofilia das formas africanas (Figura 9).

De acordo com Mausfeld *et al.* (2002), o género *Mabuya* passa a ser dividido em *Mabuya* FITZINGER, 1826 (América do Sul), *Eutropis* FITZINGER, 1843 (Ásia), *Euprepis* WAGLER, 1830 (África) e *Chioninia* GRAY, 1845 (Cabo Verde) (Figura 9).

Mausfeld *et al.* (2002) apresenta as descrições de *Euprepis* WAGLER, 1830 e de *Chioninia* GRAY, 1845 (ver anexo I). Com base nessas descrições apresentadas podemos dizer que o dois géneros criados por Mausfeld *et al.* (2002) em pouco ou nada diferem, tendo esta separação mais valor filogenético do que propriamente morfológico.

Greer (1976) supõe uma origem do género *Mabuya* na Ásia tropical e uma posterior radiação adaptativa em África. Esta radiação pode estar na origem do aparecimento de espécies como *M. maculilabris* que parece ser um complexo de espécies (Figura 10).

Neste género importa salientar *Mabuya atlantica* que habita o Arquipélago de Fernando Noronha (350 km a Nordeste da Costa do Brasil) e que apresenta afinidades com formas africanas, mais do que com as caboverdianas, asiáticas e da América do Sul, nomeadamente com *Mabuya maculilabris* e *M.comorensis*, embora este grupo esteja filogeneticamente mal suportado (ver Mausfeld *et al.*, 2002). As formas do Golfo da Guiné encontram-se na rota da corrente Benguela de sentido Sul-Norte que provavelmente poderá ter levado *M. atlantica* em jangadas flutuantes, para o Arquipélago de Fernando Noronha ao longo de 5000 a 6000 km), durante cerca de 139 dias (Mausfeld *et al.*, 2002) (Figura 11).

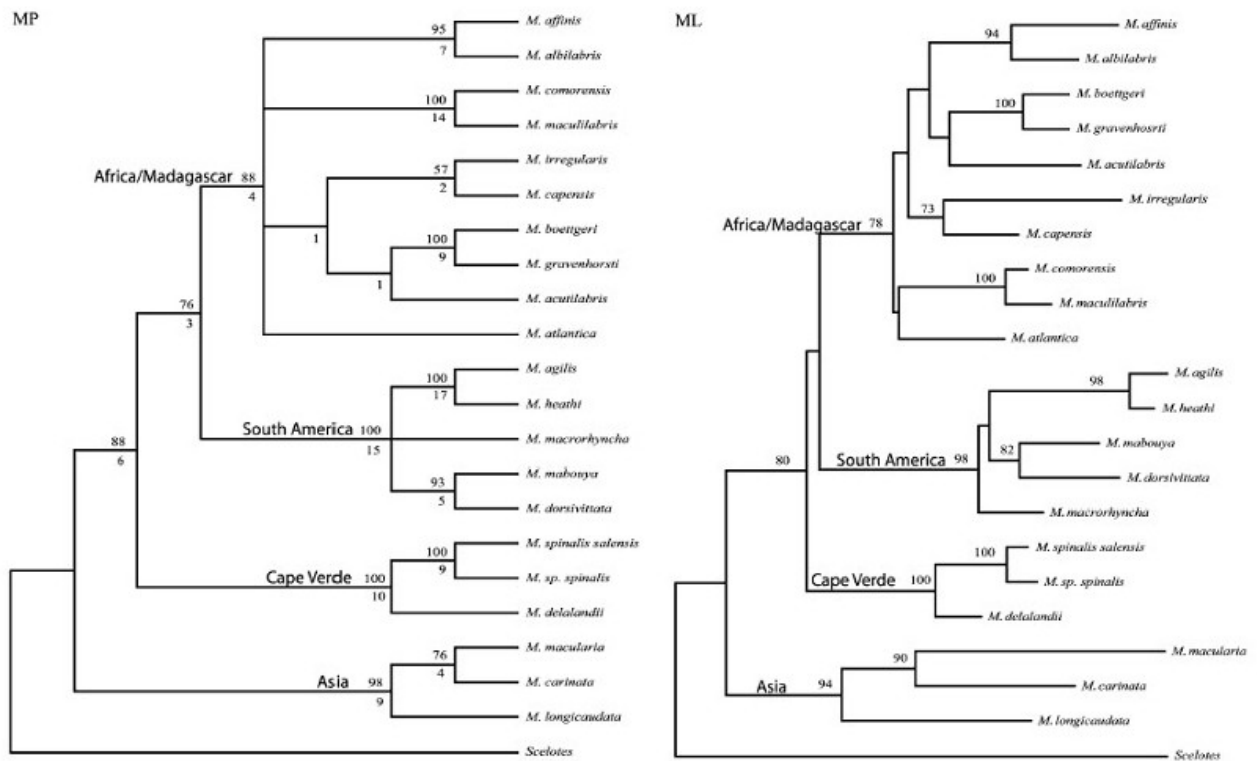


Figura 9. Relações filogenéticas entre várias espécies do género *Mabuya*. Cladograma da máxima parsimonia (MP) e filograma da “Maximum likelihood” (ML), obtidas a partir do PAUP, com *Scelotes* como outgroup. Números acima dos nós representam os valores de “bootstrap” para 2000 e 100 pseudoreplicados para a análise de parsimonia e “likelihood”. Números por baixo dos nós na MP correspondem a valores do “decay index”. ML conduzida sob o modelo de Tamura-Nei + I + G (Tamura & Nei, 1993); -lnL = 4625,6782; parâmetro gamma = 0,536; Proporções de posições invariáveis = 0,5097 (Mausfeld, *et al.*, 2000).

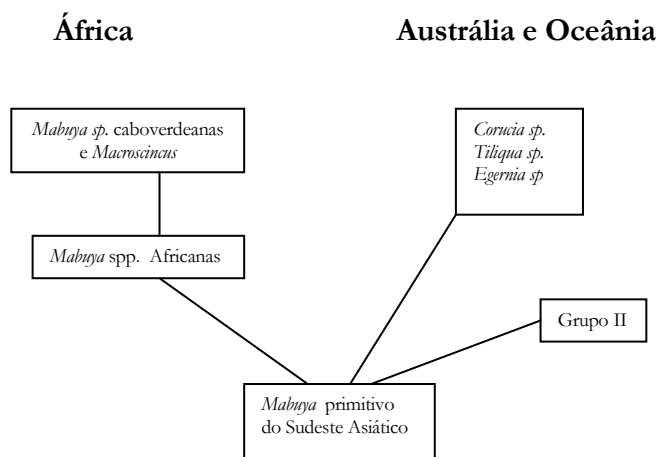


Figura 10. Relações filogenéticas hipotéticas dos principais grupos de escincídeos (adaptado de Greer, 1976).

Em estudos mais recentes, utilizando sequências de genes mitocondriais e nucleares, Carranza & Arnold (2003) e Whiting (2004) mostraram que a América do Sul (Tropical) terá

sido invadida duas vezes por *Mabuya* spp. a partir de África, nos últimos 9 milhões de anos. Uma delas chegou ao continente americano e a outra a Ilha de Fernando Noronha. Portanto, duas dispersões transoceânicas, com pelo menos 3000 km.

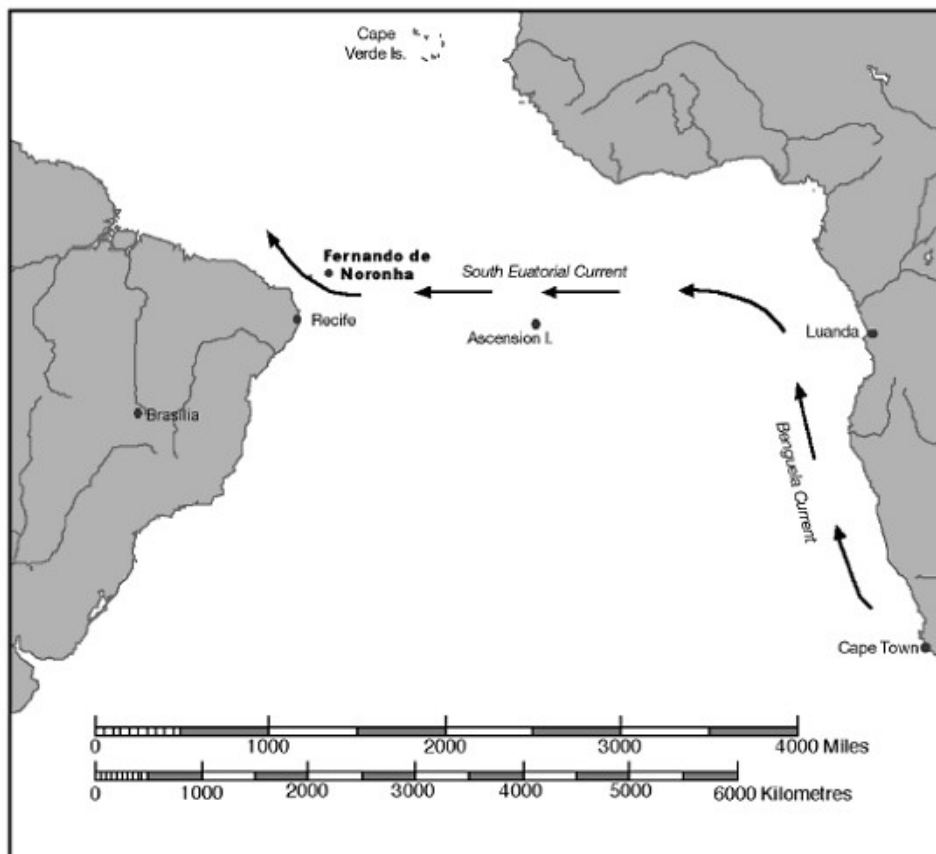


Figura 11. Migração trans-marinha do antepassado de *Mabuya atlantica* (Mausfeld *et al.*, 2002)

Segundo estes autores, parece que os eventos de colonizações transoceânicas a longa distância foram relativamente frequentes. Os resultados filogenéticos são compatíveis com uma origem do género *Mabuya* no Sudeste Asiático ou Austrália, seguida de expansão para Oeste, chegando a Cabo Verde (ver Figura 12). O mesmo é considerado por Carranza *et al.* (2001). Jangadas flutuantes terão posteriormente e a partir destes locais chegado à América (Greer, 1977). A outra alternativa é a da colonização da América a partir da Ásia. Outra alternativa ainda, não considera estas “grandes viagens”, mas sim o facto de *Mabuya* estar presente na África e América do Sul quando as duas massas continentais formavam um só continente há cerca de 119 a 105 milhões de anos (McLoughlin, 2001), hipótese que não é suportada pela análise realizada por Carranza & Arnold (2003), sendo necessário que a taxa de substituição dos genes considerados fosse mais ou menos 10 vezes mais lenta do que o

normalmente considerado. Introduções realizadas pelo homem são pouco prováveis dado as diferenças morfológicas existentes (Carranza & Arnold, 2003). A topologia filogenética bem suportada indica que as *Mabuya* do Velho Mundo são parafiléticas em relação às americanas indicando que o movimento ter-se-á dado para ocidente a partir de África, favorecida pelas correntes que ocorrem na zona do Equador e paralelo a este, bem como pelos ventos que também têm uma orientação para Ocidente a partir do Golfo da Guiné até à América do Sul. As invasões da América são independentes da invasão de Cabo Verde (Carranza & Arnold, 2003) (ver Figura 12).

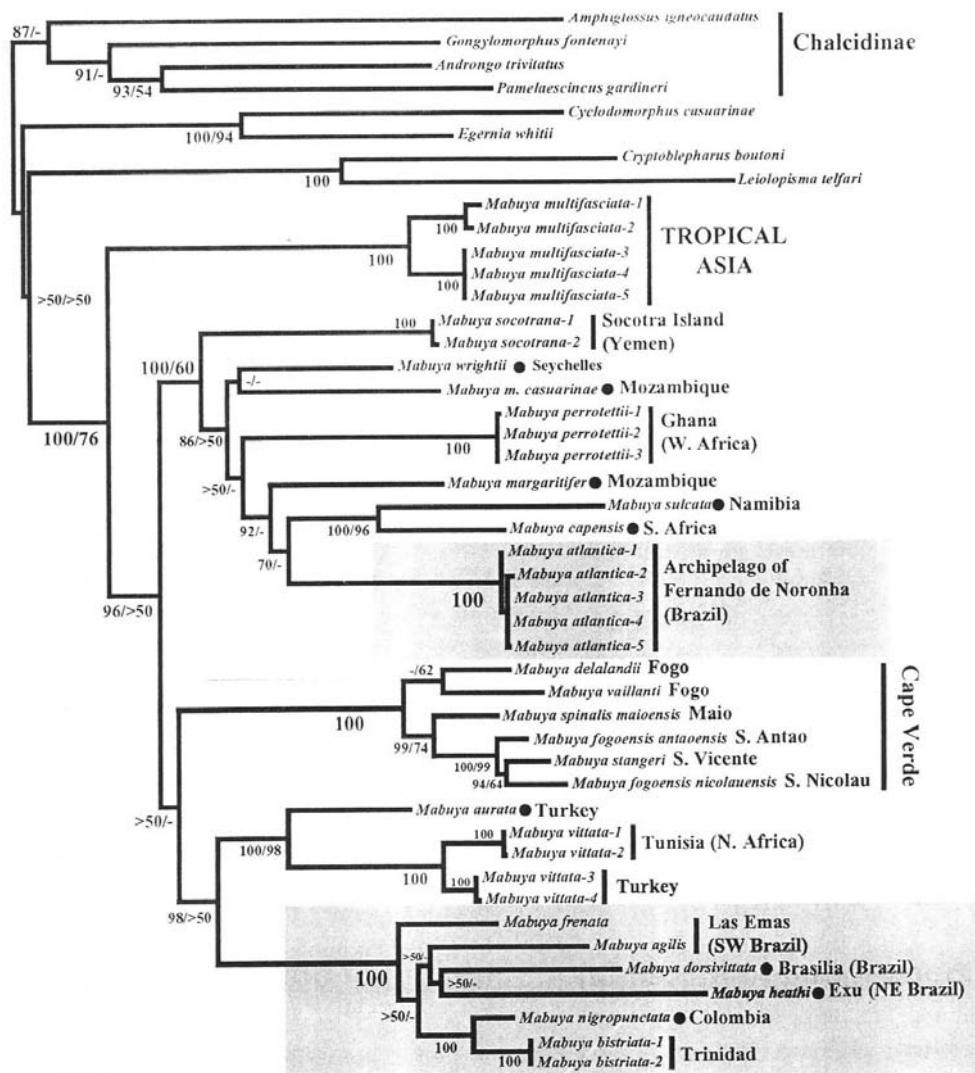


Figura 12. Árvore filogenética ML (GTR+I+G); lnL = 10200,87208 baseada no citocromo b, 12S rRNA e 16S rRNA. Números adjacentes aos nós indicam da esquerda para a direita, a probabilidade posterior da análise Bayesiana e os valores de “bootstrap” para a análise de parsimonia. O símbolo indica que um nó particular não foi recuperado. Onde só é mostrado um valor, a probabilidade posterior e o valor de “bootstrap” são iguais (Carranza & Arnold, 2003).

Greer *et al.* (2000) consideram *Mabuya* como um género muito importante em termos taxonómicos por duas razões: por ser considerado um grupo relativamente primitivo nos Lygosominae (Greer, 1976) e porque apresenta uma variabilidade interespecífica assinalável.

Greer *et al.* (2000) estudaram o número de vértebras pré-sacrais em 76 espécies do género *Mabuya*. A maioria das espécies apresentam 26 destas vértebras. As espécies americanas, excepto *M. atlantica* de Fernando Noronha apresentam número igual ou superior a 28. Só mais sete espécies têm mais de 26 vértebras e todas são de África ou perto de África e entre outras espécies incluem as caboverdianas *M. fogoensis*, *M. spinalis* e *M. stangeri* com 27. A informação sobre as vértebras proporcionou informação adicional sobre a sistemática de dois grupos, americano e caboverdeano. Outros caracteres parecem separar as americanas como a viviparidade e a ausência de dentes petrigoides (Blackburn *et al.*, 1984; Vitt & Blackburn, 1983, 1991).

As cinco espécies de Cabo Verde, com excepção de *M. geisthardti* (descrita apenas a partir dum exemplar por Joger, 1993), formam dois grupos: um formado por *M. delalandii* e *M. vaillanti* que possuem as parietais e interparietais fundidas (único nos escincídeos) mas mantêm as 26 vértebras pré-sacrais; e o grupo *M. fogoensis*, *M. spinalis* e *M. stangeri* com 27 vértebras pré-sacrais. Embora a reprodução seja desconhecida, *M. vaillanti* parece ser vivípara (Hauschild & Gassner, 1995). *Macrosclincus coctei*, a espécie extinta do Branco e do Razo, parece fazer parte do grupo com 27 vértebras e parece ter sido ovípara, o mesmo devendo acontecer com as outras três espécies.

Mabuya spp. terá efectuado 17 deslocações inter-ilhas em Cabo Verde (Carranza *et al.*, 2001). Os répteis da família Scincidae estão representados em Cabo Verde por 6 espécies do género *Mabuya*. Mas, segundo Carranza *et al.* (2001) existem pelo menos 5 espécies.

Carranza *et al.* (2001) elaboraram um estudo filogenético destas espécies, usando sequências do citocromo b, citocromo oxidase I e 12S rRNA. Os resultados corroboraram os dados morfológicos de que as espécies formam um único grupo. Incluíram na análise *Macrosclincus coctei*, já extinto, e obiveram a seguinte relação ((*M. vaillanti* e *M. delalandii*)(*M. spinalis* e *Macrosclincus coctei* (*M. fogoensis nicolauensis* (*M. fogoensis antaoensis* e *M. stangeri*))) (Figura 13), Portanto, a exemplo de Greer (1976), consideram *Macrosclincus coctei* próximo do grupo das *Mabuya* spp. caboverdianas.

Brown *et al.* (2001) obtêm uma monofilia recíproca de *M. spinalis* e *M. stangeri* que deve ter surgido no fim do Miocénico, princípio do Pliocénico. Encontram também uma divergência entre ilhas relativamente grande para *M. spinalis* (podendo dever-se ao facto do

autor não considerar *M. salensis* como uma espécie, mas sim uma subespécie de *M. spinalis*), que pode ter colonizado primeiro as ilhas do Sal e da Boavista. Menor divergência entre ilhas foi encontrada para *Mabuya delalandii* indicando uma expansão mais recente. Parece haver uma certa similaridade entre os lagartos das Canárias e de Cabo Verde quanto aos padrões filogeográficos obtidos, no sentido de que o Fogo e Brava foram colonizados logo após o seu aparecimento das ilhas assim como aconteceu com La Palma e Hierro (Brown & Pestano, 1998; González *et al.*, 1996; Nogales *et al.*, 1998; Thorpe *et al.*, 1994) e após a formação de cada ilha poucas colonizações ocorreram (Brown *et al.*, 2001).

O estudo de Brown *et al.* (2001) peca pela não inclusão de determinados *taxa* de *Mabuya* como por exemplo *M. vaillanti*. No entanto tenta traçar um cenário filogeográfico no qual a dispersão mais antiga terá tido lugar entre São Vicente (ou ilhas vizinhas) e Sal, Boavista Maio ou Santiago, por um ancestral de *M. spinalis*/*M. stangeri*.

Para Greer (1976), a evidência para esta proximidade está numa característica osteológica relacionada com o palato (pequeno processo digitiforme no ectopterigoide que se estende até ao lado antero-lateral do *ramus* palatal do pterigoide até ao palatino. Este arranjo apenas foi identificado em *M. irregularis* (África Oriental) e em *M. stangeri*, *M. fogoensis* e *M. vaillanti*. O autor refere ainda que existe outro ponto de similaridade morfológica se bem que possa ser um fenómeno de convergência e que está relacionado com os dentes cúspides lateralmente comprimidos, semelhantes aos de *M. vaillanti* (padrão raro nos escincídeos), diferentes apenas na forma (que pode ser arredondada ou não). Greer (1976) apresenta uma filogenia hipotética baseada nos dentes e na fusão ou não das placas interparietais e parietais (Figura 14), em que as formas mais primitivas são *M. fogoensis* e *M. stangeri*. Segundo o autor *Macrosclincus* deriva de *Mabuya* e não ao contrário (Figura 14).

O arquipélago deverá ter sido assim colonizado a partir da África Ocidental, no fim do Miocénico ou no princípio do Pliocénico. As ilhas mais a Norte deverão ter sido as primeiras a serem colonizadas, após o qual o ancestral de *M. delalandii* e *M. vaillanti* terá surgido na Boavista há cerca de 6 milhões de anos. Desta ilha, o ancestral de *M. delalandii* deverá ter colonizado as ilhas de Santiago e Fogo. O grupo *M. stangeri* - *M. fogoensis* terá colonizado o ilhéu Branco, o Razo, Santa Luzia e São Vicente a partir de São Nicolau. Só depois terá colonizado Santo Antão, a ilha mais a ocidente (Carranza *et al.*, 2001). A colonização das ilhas mais a Norte parece ter sido lenta, quer pelo não desenvolvimento das ilhas receptoras quer devido às correntes e ventos predominantes. A expansão rápida para sul ocorreu com *M. spinalis* nas ilhas meridionais e orientais e depois por *M. vaillanti* e *M.*

delalandii. O aparente atraso na colonização do sul poderá ser devido a colonizações anteriores que foram mascaradas e substituídas pelas posteriores, à existência de catástrofes como vulcanismo e eventos climáticos que permitiram as últimas colonizações (Carranza *et al.*, 2001). Joger (1993) também considera o grupo *Mabuya delalandii*, *M. vaillantii* monofilético.

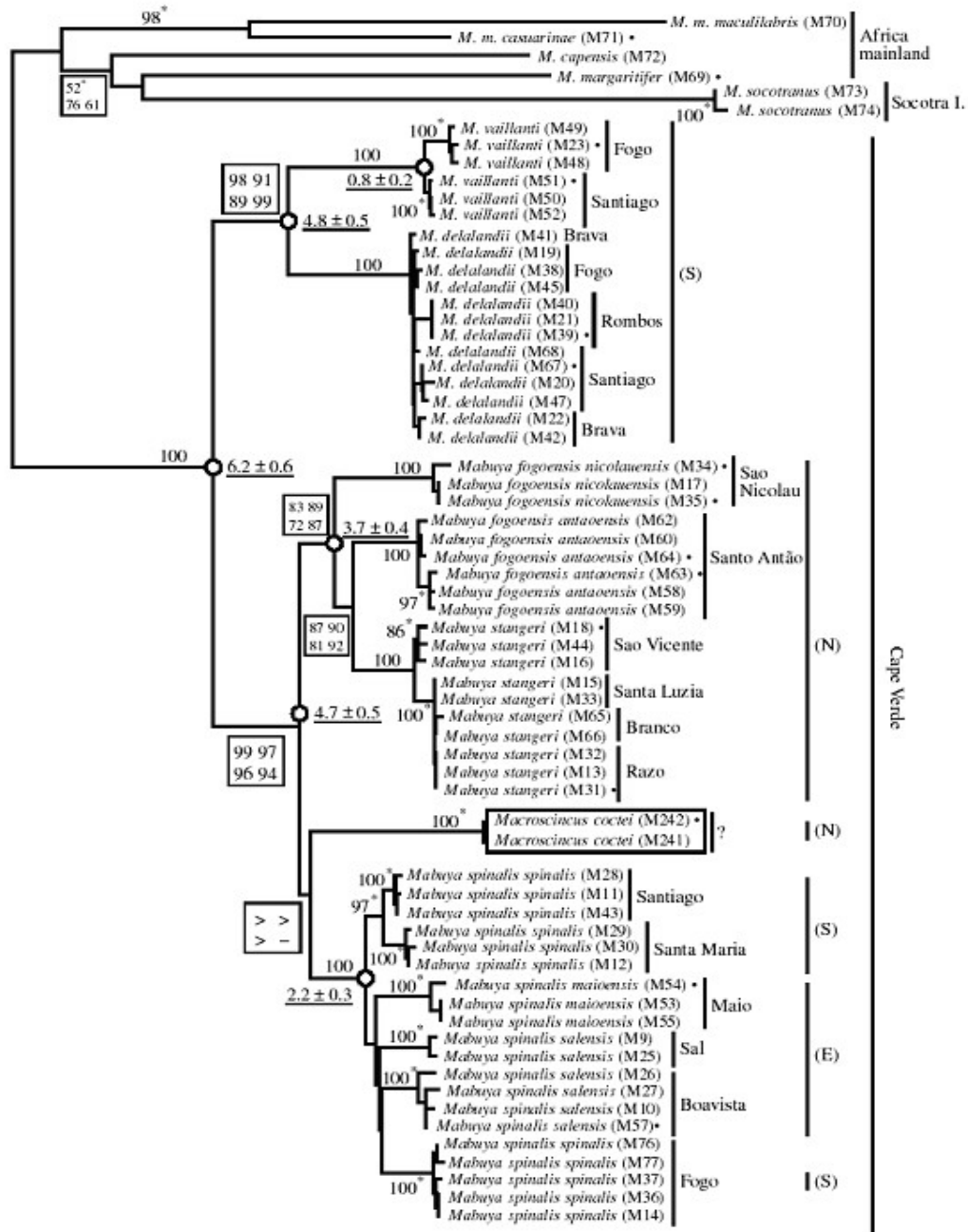


Figura 13. Árvore NJ sob o modelo GTR+I+G para 58 *Mabuya* e 2 *Macroscincus coctei* mais seis “outgroups”. As terceiras posições dos códons do citocromo b e CO I foram incluídas na análise. Valores de suporte dos nós são mostrados em caixas. No canto superior esquerdo, “bootstraps” do NJ (GTR+I+G). No canto superior direito, “bootstraps” do ML (GTR+I+G). No canto inferior esquerdo, “bootstraps” do MP (I_s=I_v). No canto inferior direito, “bootstraps” do MP (I_s=1; I_v=6). Quando as diferenças dos valores de “bootstrap” são menores do que 5 % apenas o valor médio é mostrado. O símbolo > é mostrado para indicar que o suporte do nó é inferior a 50 %. – indica que o nó nunca é recuperado quando é utilizado esse método. * significa que a MI não incluiu suficientes indivíduos para testar (Carranza *et al.*, 2001)

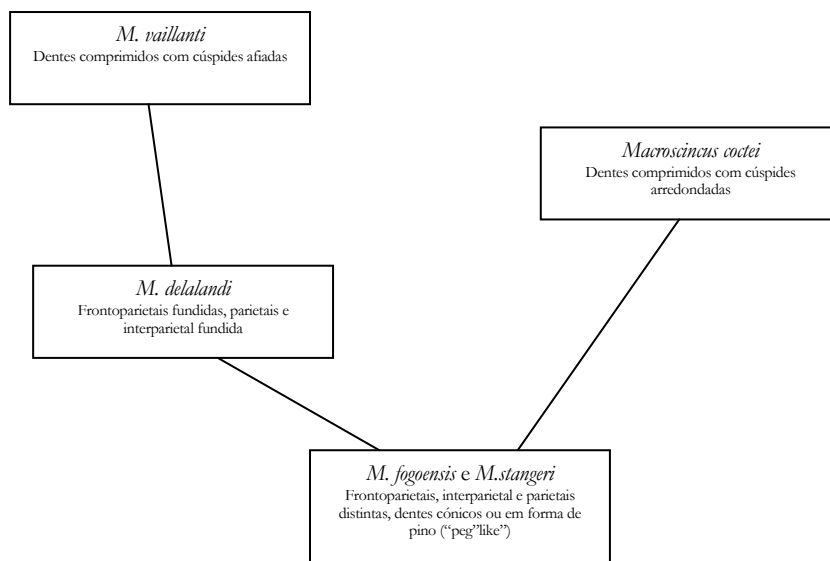


Figura 14. Relações filogenéticas dos escincídeos caboverdeanos. Faltam *M. spinalis* e *M. salensis* (adaptado de Greer, 1976).

A inclusão do *Macrosclincus* no mesmo grupo das *Mabuya* spp. caboverdianas subentende uma radiação monofilética (Greer, 1976). Os argumentos morfológicos, como o número de vértebras pré-sacrais, particulares das espécies do género *Mabuya* spp. de Cabo Verde têm sido invocados para justificar a radiação monofilética sofrida por estas espécies. Muitas destas características morfológicas estão ausentes ou são raras nas outras espécies do género sendo que muitas delas são características derivadas e não primitivas (ver Carranza *et al.*, 2001; Greer, 1976; Greer *et al.*, 2000).

O intervalo de tempo entre a formação dos cinco principais *taxa* de Cabo Verde por especiação e a sua subsequente dispersão é longo e segundo Carranza *et al.* (2001) poderia dever-se ao facto das ilhas não estarem emersas todas ao mesmo tempo bem como às correntes e ventos predominantes que impediriam a colonização em certos sentidos. A exclusão de populações por outras também não está posta de parte e isto poderá ter acontecido nas ilhas do Sul do Arquipélago. A descoberta de fósseis mais antigos do que as invasões referentes aos *taxa* actuais é indicativo de colonizações/extinções rápidas. Curioso é também a existência de apenas uma espécie em Santo Antão, São Nicolau e Brava enquanto que São Vicente, Razo, Branco, Boavista e Maio têm duas e Santiago e Fogo possuem três espécies. Não existe uma relação aparente de área - número de espécies, talvez devido às razões invocadas da colonização de Norte para Sul. Nas ilhas com mais de uma espécie, observa-se uma diversificação comportamental: uma espécie é grande e vegetariana e as outras pequenas e insectívoras (Carranza *et al.*, 2001). A forma gigante actual, *M. vaillanti*,

parece ser herbívora (Greer, 1976). Esta situação é segundo os autores semelhante ao que aconteceu nas Canárias, já que entre a partida do antepassado de *Gallotia* spp. do continente Africano até chegar a La Gomera decorreram cerca de 8 milhões de anos.

3.2.2.1.1. *Mabuya salensis* ANGEL, 1935

Sinonímia: *Mabuya salensis* ANGEL, 1935; *Mabuya stangeri salensis* MERTENS, 1955; *Mabuya salensis* BREHM *et al.*, 2001a.

Subespécies: não estão referenciadas

Terra typica : Ilha do sal

Esta espécie encontra-se no Sal e Boavista, e foi incluída por vários autores na espécie *Mabuya stangeri* (Mertens, 1955), ou *Mabuya spinalis*.

3.2.2.1.2. *Mabuya vaillanti* BOULENGER, 1887

Sinonímia: *Mabuia vaillanti* BOULENGER, 1887; *Mabuya vaillantii* GREER, 1976; *Mabuya vaillantii* BREHM *et al.*, 2001a; *Chioninia vaillantii* MAUSFELD *et al.*, 2002.

Subespécies: não estão referenciadas

Terra typica : Ilha de Santiago

Segundo Mertens (1955), a espécie existe no Fogo, Santiago e Rhombos.

Baseado em caracteres morfológicos, as duas espécies simpátricas *M. delalandii* e *M. vaillanti* são consideradas como muito próximas (Greer, 1976; Pinheiro, 1989; Jogger, 1993). É o maior escincídeo actual do Arquipélago de Cabo Verde (cerca de 130 mm entre a ponta do focinho e a cloaca (Carranza *et al.*, 2001). É reconhecível também pela coloração amarelada da ponta do focinho. Também é possível distinguir duas bandas laterais extensas e três bandas dorsais mais estreitas e mais claras (Jogger, 1993). Contrariamente ao defendido por Schleich (1987) não há diferenças na folidose do píleo em relação a *M. delalandii* (Jogger, 1993).

3.2.2.1.3. *Mabuya delalandii* (DUMERIL & BIBRON, 1839)

Sinonímia: *Euprepes delalandii* DUMÉRIL & BIBRON, 1839; *Euprepes delalandii* BOCAGE, 1875; *Mabuia delalandii* BOULENGER, 1887; *Mabuia delalandii* MERTENS, 1955; *Mabuya delalandii* JOGGER, 1993;

Mabuya delalandii GREER & NUSSBAUM, 2000; *Mabuya delalandii* BREHM *et al.*, 2001a; *Chioninia delalandii* MAUSFELD *et al.*, 2002.

Subespécies: não estão referenciadas

Terra typica: foi erradamente atribuída ao Cabo da Boa Esperança por Dumeril & Bibron 1839 (Mertens, 1955). Será possível que seja a Ilha do Fogo em Cabo Verde?

Distribui-se pelo Fogo, Santiago, Brava, Rhombos e Boavista (Mertens, 1955; Schleich, 1987) ou seja, essencialmente pelas ilhas do Sul do Arquipélago.

3.2.2.1.4. *Mabuya fogoensis* O'SHAUGHNESSY, 1874

Sinonímia: *Euprepes fogoensis* O'SHAUGHNESSY, 1874; *Euprepes fogoensis* BOCAGE, 1875; *Mabuia fogoensis* BOULENGER, 1887; *Mabuya fogoensis* MERTENS, 1955; *Mabuya fogoensis* GREER *et al.*, 2000; *Mabuya fogoensis* BREHM *et al.*, 2001a; *Chioninia fogoensis* MAUSFELD *et al.*, 2002.

Subespécies: *Mabuya fogoensis fogoensis* (O'SHAUGHNESSY, 1874); *Mabuya fogoensis antaoensis* SCHLEICH, 1987; *Mabuya fogoensis nicolauensis* SCHLEICH, 1987.

Terra typica: Da subespécie *fogoensis*: Ilha do Fogo (Nunca foi capturada nesta ilha). Da subespécie *antaoensis*: Ilha de Santo Antão. Da subespécie *nicolauensis*: Ilha de São Nicolau.

Distribui-se essencialmente pelas ilhas do Norte do Arquipélago de Cabo Verde. Embora tenha o restritivo específico *fogoensis*, nunca foi capturada na Ilha do Fogo. No entanto, Mertens (1955) refere esta espécie para o Fogo, São Nicolau, São Vicente, e Santo Antão. Boulenger (1887) refere-a apenas para o Fogo e São Vicente.

3.2.2.1.5. *Mabuya stangeri* (GRAY, 1845)

Sinonímia: *Euprepis stangeri* GRAY, 1845; *Euprepes pohylepis* PETERS, 1870; *Euprepes hopfferi* BOCAGE, 1875; *Mabuia stangeri* BOULENGER, 1887; *Mabuya stangeri* GREER *et al.*, 2000; *Chioninia stangeri* MAUSFELD *et al.*, 2002.

Subespécies: *Mabuya stangeri stangeri* (GRAY, 1845); *Mabuya stangeri maioensis* MERTENS, 1955; *Mabuya stangeri salensis* ANGEL, 1935; *Mabuya stangeri spinalis* BOULENGER, 1906

Terra typica: Da subespécie *stangeri*: África Ocidental. Da subespécie *maioensis*: Ilha do Maio. Da subespécie *salensis*: Ilha do Sal. Da subespécie *spinalis*: Ilha do Fogo

O autor considera como subespécies desta espécie a *M. stangeri spinalis* (*terra typica*: Fogo), a *M. stangeri maioensis* (*terra typica*: Maio, e nova subespécie criada pelo autor) e a *M. stangeri salensis* (*terra typica*: Sal) e *Mabuya stangeri stangeri* (*terra typica*: São Vicente). A primeira e a terceira foram já consideradas como espécies, respectivamente por Joger, (1993) e Angel (1935) e Brehm *et al.*, (2001a).

Foi considerada como existente na África ocidental por Gray (1845). Boulenger (1887) considera que esta espécie distribuía-se pelo Ilhéu Raso, São Vicente e pelo ocidente africano. Actualmente sabe-se que não existe no continente africano.

3.2.2.1.6. *Mabuya spinalis* BOULENGER, 1906

Sinonímia: *Mabuya spinalis* BOULENGER, 1906; *Mabuya stangeri spinalis* MERTENS, 1955 ; *Mabuya stangeri* SCHLEICH, 1984 (fide JOGER, 1993); *Mabuya spinalis* GREER *et al.*, 2000; *Chioninia spinalis* MAUSFELD *et al.*, 2002; *Mabuya spinalis salensis* ANGEL, 1935; *Mabuya spinalis* BREHM *et al.*, 2001a.

Subespécies: *Mabuya spinalis spinalis* BOULENGER, 1906; *Mabuya spinalis salensis* ANGEL, 1935; *Mabuya spinalis maioensis* MERTENS, 1955

Mabuya spinalis foi considerada como sinónimo de *Mabuya stangeri* (Gray, 1845). Mertens (1955) refere-a como subespécie de *M. stangeri*. Mas, Joger (1993) atribui-lhe o estatuto específico de *M. spinalis*. Brown *et al.* (2001) confirmam a posição de Joger (1993).

Terra typica: Da subespécie *spinalis*: Ilha do Fogo. Da subespécie *maioensis*: Ilha do Maio. Da subespécie *salensis*: Ilha do Sal.

Se considerarmos as subespécies então distribui-se pelo Maio, Sal e Fogo. No entanto na Ilha do Sal a subespécie foi elevada a espécie *M. salensis* (Angel 1935). Mertens (1955) refere-a apenas para as ilhas do Fogo e Sal. Pinheiro (1990) afirma que *M. stangeri spinalis* não foi capturada na Ilha do Fogo. No entanto nas nossas missões conseguimos capturar um exemplar desta espécie na Chã das Caldeiras (Ilha do Fogo).

3.2.2.1.7. *Mabuya maculilabris* (GRAY, 1845)

Sinonímia: *Euprepis maculilabris* GRAY, 1845; *Euprepes notabilis* PETERS, 1879; *Euprepes albilabris* MÜLLER, 1885; *Mabuia (sic) maculilabris* BOULENGER, 1887; *Mabuia maculilabris* BOCAGE, 1903; *Mabuya maculilabris* SCHMIDT, 1919; *Mabuya maculilabris* ANGEL, 1942; *Mabuya maculilabris comorensis* LOVERIDGE, 1953; *Mabuya maculilabris maculilabris* DE WITTE, 1953; *Mabuya polytropis* ANGEL, GUIBÉ & LAMOTTE, 1954; *Mabuya maculilabris* BRYGOO, 1981; *Mabuya maculilabris* LANZA, 1990; *Mabuya maculilabris maculilabris*

BROADLEY, 1991; *Mabuya maculilabris* GREER *et al.*, 2000; *Mabuya maculilabris maculilabris* BROADLEY & HOWELL, 1991; *Euprepis maculilabris* MAUSFELD *et al.*, 2002; *Mabuya maculilabris albotaeniata* BOETTGER, 1913; *Mabuia albotaeniata* BOETTGER, 1913; *Mabuya maculilabris albotaeniata* BROADLEY & HOWELL, 1991; *Mabuya albotaeniata* BROADLEY, 2000.

Subespécies: *Mabuya maculilabris maculilabris* (GRAY, 1845); *Mabuya maculilabris albotaeniata* BOETTGER, 1913; *Mabuya maculilabris casuarinae* BROADLEY, 1974

Terra typica: África Ocidental. Da subespécie *maculilabris*: África Ocidental. Da subespécie *albotaeniata*: Ilha Pemba, Tanzânia. Da subespécie *casuarinae*: Ilha Casuarinae (Costa Norte de Moçambique).

Broadley (2000) elevou *M. m. casuarinae* ao estatuto de espécie.

A espécie distribui-se por quase toda a África, essencialmente pela África SubSahariana. Também é encontrada em certos arquipélagos africanos como as Ilhas Comoros e São Tomé e Príncipe. A subespécie *albotaeniata* pode também ser encontrada nas ilhas Mesale (“EMBL Reptile database”¹; Hoogmoed, 1974). Desde há mais de cem anos que é conhecida em São Tomé e Ilhéu das Rolas (Bocage, 1904-1905).

Mabuya maculilabris deve ser entendida como um complexo de espécies onde também se deve incluir a espécie gémea *M. comorensis* (Mausfeld *et al.*, 2000; Mausfeld & Schmitz, 2003). Há ainda a salientar que *Mabuya comorensis* já foi considerada uma subespécie de *M. maculilabris* (Brygoo, 1981).

3.2.2.1.8. *Mabuya affinis* (GRAY, 1838)

Sinonímia: *Tiliqua affinis* GRAY, 1838; *Euprepis blandingi* HALLOWELL, 1844; *Eupretes raddoni* GRAY, 1845 (fide BOULENGER, 1887); *Euprepes (Euprepis) aeneofuscus* PETERS, 1864; *Euprepes gracilis* BOCAGE, 1872 (fide BOULENGER, 1887); *Eupretes stangeri* MÜLLER, 1882; *Euprepes pantaenii* FISCHER, 1885 (fide BOULENGER, 1887); *Mabuia raddonii* BOULENGER, 1887; *Mabuia affinis* BOULENGER, 1887; *Mabuia raddonii* BOCAGE, 1895; *Mabuya blandingi* MERTENS, 1941; *Mabuya blandingi* GRANDISON, 1956; *Mabuya blandingi* LAWSON, 1993; *Mabuya affinis* GREER *et al.*, 2000; *Euprepis affinis* MAUSFELD *et al.*, 2002.

Subespécies: Não há referências

Terra typica: Libéria (desconhecida segundo Hoogmoed, 1974)

¹ <http://www.embl-heidelberg.de/~uetz/LivingReptiles.html>

Esta espécie distribuiu-se por Angola, Congo ?, Gabão, Guiné Equatorial, Camarões, Nigéria, Togo, Benin, Gana, Costa do Marfim, Libéria, Serra Leoa, Guiné Bissau, Senegal, República Centro Africana; Gâmbia (“EMBL Reptile database”¹).

3.2.2.1.9. *Mabuya ozorii* BOCAGE 1893

Sinonímia: *Mabuya ozorii* BOCAGE 1893

Subespécies: não há referências

Terra typica : Annobon

Esta espécie distribuiu-se pela Ilha de Annobon (Bocage, 1903). Muito poucas referências têm sido feitas a esta espécie e nem aparece na “EMBL Reptile database”².

Espécie muito comum em Annobon (Bocage, 1893b).

3.2.3. Família Lacertidae

É uma família constituída por cerca 250 espécies pertencentes a cerca de 27 géneros que se distribuem pela Eurásia e África (Arnold, 1989; Harris *et al.*, 1998b). Também podem ser encontradas em ilhas, principalmente naquelas da plataforma continental, que estiveram ligadas ao continente durante a última glaciação, indicando que as espécies desta família não são bons migradores transoceânicos ou migradores no meio marinho (Arnold, 1989). Nesta família incluem-se os répteis que na Península Ibérica são conhecidos vulgarmente por lagartos e lagartixas. É uma das famílias de saúrios mais representativas do Velho Mundo. Distribuiu-se essencialmente pela Eurásia e África excepto Madagáscar (Arnold, 1989).

A maior revisão taxonómica da família deverá ter sido realizada por Arnold (1989) baseando-se em 112 caracteres relacionados com o esqueleto (ex: no crânio - disposição dos ossos, forma das suturas, existência ou não e forma de projecções ou processos em determinadas áreas nomeadamente forma do processo quadratojugal, etc.; Esqueleto Post-craniano – forma da interclavícula, orientação das expansões da clavícula, número e forma das costelas, padrões das vértebras caudais autotómicas, etc.), genitalia, anatomia, comportamento (ex: emissão ou não de sons, posição de cópula, etc.) e nalgumas

¹ <http://www.embl-heidelberg.de/~uetz/LivingReptiles.html>

² <http://www.embl-heidelberg.de/~uetz/LivingReptiles.html>

características externas (ex: disposições ou tamanho relativo de certas placas; presença ou não de janelas transparentes nas pálpebras, coloração, etc.) . No entanto, muitas relações e muitos grupos dentro da família continuaram “mal resolvidos”. No passado, várias tentativas com outros caracteres foram realizadas. Estas incluem electroforese de proteínas e imunologia, particularmente de albuminas (Busack & Maxon, 1987; Guillaume & Lanza, 1982; Lutz & Mayer, 1985; Mayer & Tiedmann, 1982). Estas aproximações muitas vezes deram resultados concordantes com a morfologia e também muitas vezes deram resultados não concordantes (Arnold, 1993). Outras aproximações relacionadas com a cariologia foram utilizadas como o tipo e forma dos cromossomas (ver: Odierna *et al.*, 1987, 1991,1993; Olmo *et al.*, 1991, 1993). Também, a utilização de satélites de DNA, mostrou concordância com os dados da imunologia e morfologia (Capriglione, 1995).

Mais recentemente, a análise do DNA tem fornecido resultados que podem ou não ser concordantes com a morfologia e podem ou não descrever uma diferente história evolutiva (Harris *et al.*,1998 b).

Fu (2000) tentou estudar a filogenia da família Lacertidae, utilizando sequências de seis genes mitocondriais, obtendo um fraco suporte para a subfamília Lacertinae. Dois grupos, ou duas subfamílias, são reconhecidos dentro da família: Gallotiinae (géneros: *Gallotia* e *Psammodromus*) (grupo reconhecido também por Arnold, 1989 e Harris *et al.*, 1998b) e Lacertinae. Lacertinae divide-se em dois grupos (apenas reconhecidos por Mayer & Benyr, 1994; Harris *et al.*, 1998b). O grupo africano e arábico e o da Eurásia constituído por *Eremias* e *Ophisops*. A maior parte das relações dentro destes dois grupos não puderam ser resolvidas na totalidade, se bem que as monofilias dos géneros *Lacerta* (*sensu stricto*), *Lacerta* (*Timon*), *Meroles*, *Gallotia* e *Podarcis* estejam bem suportadas por dados moleculares. O ancestral comum dos grupos africano e eurasiático deve ter sofrido múltiplos eventos de especiação simultâneos ou quase simultâneos (cladogénese rápida), o que deixou poucos ou nenhuns caracteres fixos nos internódulos. Segundo Fu (2000) a reconstrução filogenética torna-se assim difícil de efectuar. Considera ainda que o conjunto de dados de Harris *et al* (1998b) e de Fu (1998) insuficientes o que limita a resolução da análise.

Em muitas situações a falta de resolução tem um efeito limitado na nomenclatura, mas nos lacertídeos, o problema é maior porque os estudos baseados na morfologia e imunologia revelam que o género *Lacerta* é parafilético (Arnold, 1989; Mayer & Benyr, 1994).

O registo fóssil é fragmentário demais para dar uma informação sobre as relações dentro da família (Arnold, 1973). Esta família tem uma história evolutiva comum com as

famílias Teiidae e Gymnophthalmidae (distribuem-se essencialmente pela América) (Estes *et al.*, 1988), sendo consideradas “*taxa* irmãos” (Vitt & Pianka, 2004). As três famílias fazem parte dum grupo monofilético, os Lacertiformes. Para conhecer algumas sinapomorfias desta família, relacionadas essencialmente com a osteologia e morfologia, remetemos o leitor para a leitura de Estes *et al.* (1988). Presch (1988) e Schwenk (1988) obtém resultados diferentes em que as duas famílias “americanas” estão num grupo separado de Lacertidae, não sendo correcto falar em *taxa* irmãos entre Lacertidae e Teiidae.

A família Lacertidae pode ser considerada como um grupo com muitos ramos sucessivos nas zonas áridas de África e Eurásia e provavelmente um grupo mal suportado e parafilético no Mediterrâneo e áreas Paleárticas (Arnold, 1993).

Os géneros mais primitivos desta família existirão nas regiões orientais da região Paleártica e os mais modernos terão invadido as regiões ocidentais e África. A família deverá ter surgido na Europa durante o Paleocénico (Estes, 1983).

3.2.3.1. Género *Lacerta* LINNAEUS, 1758

“*LACERTA. Corpus tetrapodum, caudatum, nudum*” **Linnaeus (1758)**

São lagartos e lagartixas de pequenas a médias dimensões (35 a 210 mm de comprimento focinho-cloaca) (Arnold, 1973). É um género parafilético (Harris *et al.* 1998b, Harris, 1999) que tem sido alvo de muita controvérsia em termos taxonómicos, sendo alguns subgéneros elevados a géneros por alguns autores. Após a grande revisão efectuada por Arnold (1973) utilizando caracteres morfológicos, osteológicos e muitos relacionados com o hemipénis, o género foi dividido em 4 grupos, *Lacerta* parte I, *Lacerta* parte II, *Podarcis* e *Gallotia*, tendo estes últimos dois passado a género com excepção de *Lacerta (Podarcis) dugesii* que permaneceu com o mesmo nome.

Já anteriormente outras revisões tinham sido feitas, mas menos exaustivas, como a de Boulenger (1916) in Arnold (1973) que dividiu *Lacerta* em cinco secções: I- *Lacerta* s. str, II- *Gallotia* Boulenger, III- *Zootoca* Wagler, IV- *Podarcis* Wagler e V- *Thethia* Gray.

É um género que se distribui pela Europa, parte da Ásia Ocidental e Norte de África (Arnold, 1973).

***Lacerta* Parte II (sensu Arnold, 1973)**

Nesta secção são incluídas as espécies duvidosas, altamente variáveis, com nichos e habitats muito variados, aquelas que não se encaixam em *Lacerta* parte I e nos outros grupos, daí que seja difícil definir uma forma típica. A caracterização deste grupo encontra-se no Anexo I.

O grupo contém uma grande variedade de espécies de vários subgéneros como *Zootoca*, *Archaeolacerta*, *Apathya* e *Scelaris*, (muitos destes subgéneros têm sido elevados a género) mais as espécies com posição mal definida tal como *Lacerta dugesii*. Não devemos esquecer que esta espécie apesar de fazer parte deste grupo não foi incluída por Arnold nas espécies mais típicas do grupo. Alguns subgéneros constituintes têm sido elevados a géneros, o que pode, do ponto de vista prático confundir os não - especialistas (Harris & Carretero, 2003). Harris *et al.* (1998b) recomendaram o uso de subgéneros para grupos monofiléticos encontrados dentro do género especialmente para evitar as mudanças binomiais.

Quando se elevaram alguns subgéneros, *Teira* foi o nome genérico atribuído à lagartixa da Madeira. *Teira* GRAY, 1838, inclui também a *andreanskyi* e *perspicillata*. A análise morfológica revela parafilia do grupo, em que *Teira andreanskyi* está mais próxima do género *Podarcis* (Arnold, 1989). Padrão semelhante foi encontrado por Harris & Arnold (1999) através da análise de sequências parciais de genes mitocondriais. Resultados diferentes foram propostos por Oliverio *et al.* (2000), com base numa outra análise do DNA mitocondrial. Um maior conjunto de dados foi considerado por Fu (2000), e a exemplo de Harris & Arnold (1999), não há suporte para a consideração de *taxa* irmãos entre *andreanskyi* e *perspicillata*. Portanto, a evidência existente sugere que as três espécies não formam um grupo, a não ser que *T. andreanskyi* seja excluída. *T. dugesii* e *T. perspicillata* são bem suportadas como *taxa* irmãos (Harris & Arnold, 1999; Harris & Carretero, 2003). Portanto, será melhor considerar *Teira* como subgénero e não como género, conforme é sugerido por Harris & Carretero (2003).

3.2.3.1.1. *Lacerta dugesii* MILNE-EDWARDS 1829

Sinonímia: *Lacerta dugesii* MILNE-EDWARDS, 1829; *Lacerta dugesii* DUMÉRIL & BIBRON, 1839; *Lacerta dugesii* BOULENGER, 1887; *Lacerta dugesii* MERTENS, 1934; *Lacerta dugesii maulli* MERTENS, 1938 (fide BISCHOFF *et al.*, 1989); *Lacerta dugesii* WELCH, 1982; *Podarcis dugesii* ENGELMANN *et al.*, 1993; *Teira dugesii* MAYER & BISCHOFF, 1996; *Teira dugesii* WAGNER, 2002; *Lacerta dugesii* BREHM *et al.*, 2003.

Subespécies: *Lacerta dugesii dugesii* (MILNE-EDWARDS, 1829); *Lacerta dugesii selvagensis* (BISCHOFF, OSENEGG & MAYER, 1989); *Lacerta dugesii jogeri* (BISCHOFF, OSENEGG & MAYER, 1989).

Terra típica: Da subespécie *selvagensis*: Selvagem Grande. Da subespécie *jogeri*: Porto Santo. Da subespécie *dugesii*: Restantes locais da distribuição. Da espécie: Ilha da Madeira.

Distribuiu-se pelos Arquipélagos da Madeira e Selvagens (Cook, 1979; Crisp *et al.*, 1979, Sadek, 1981). Foi introduzida nalgumas ilhas açoreanas (Dellinger, 1997; Malkmus, 1984) e na zona portuária de Lisboa (Mateo, 1997b; Sá-Sousa, 1995).

É uma espécie que apresenta grande polimorfismo na morfologia, padrão de coloração e coloração inter-ilhas e intra-ilhas (ver Báez, 1990; Báez & Brown, 1997; Cook, 1979; Crisp, *et al.*, 1979; Davenport & Dellinger, 1995; Jesus *et al.*, 1994, 1998; Sadek, 1981; Sampaio & Jesus, 1994). Num estudo sobre microdiferenciação da espécie na Ilha da Madeira, Báez & Brown (1997) não encontraram um padrão dominante e significativo de variação ao longo da ilha ou seja, uma relação evidente entre a variação morfológica e a variação geográfica, apesar de terem encontrado algumas combinações lineares de variáveis morfológicas de acordo com a orientação Oeste-Este. Repararam que a elevação e a humidade podiam contribuir muito para a variação morfológica encontrada nas escamas mas o padrão encontrado não parecia ser explicado por vicariância populacional em larga escala.

Muita discussão tem ocorrido em torno da sua designação genérica, desde *Lacerta*, *Podarcis*, até *Teira*. Após Arnold (1973), Richter (1986) considera *L. dugesii* e *L. perspicillata* como *taxa* irmãos de *Podarcis s. str.* Considerou as duas unidades como subgéneros, respectivamente *Teira* e *Podarcis* e colocou-as dentro do género *Podarcis*. Arnold (1989) volta a sugerir a sua retirada do género *Podarcis* por este ser muito uniforme e as espécies em causa possuírem muitas características diferentes. Sugere ainda a consideração de *Lacerta sensu lato* como sendo um grupo parafilético, possuindo vários tipos que têm sido usados, entre os quais *Teira* Gary 1845, onde se inclui *L. dugesii*.

Lacerta dugesii, *L. andreanskyi* e *L. perspicillata* são colocadas por alguns autores num género à parte, ou seja no género *Teira* GRAY 1838, (Böhme & Corti, 1993; Richter, 1979). Esta linhagem terá se separado das restantes “Lacertas” há cerca de 18 milhões de anos (Mayer & Lutz, 1989). Contudo Böhme & Corti, (1993) afirmam não haver base para suportar estas relações filogenéticas hierárquicas.

De acordo com a maior revisão feita ao género *Lacerta* spp. com base em caracteres essencialmente morfológicos, esqueléticos, genitais, etc. (Arnold, 1973) e trabalhos mais recentes baseados em sequências de DNA (Harris *et al.*, 1998b), assim como revisões feitas à família (Arnold, 1989), optamos por chamar este *taxon* por *Lacerta dugesii*.

Arnold (1973) refere um conjunto de características que servem para excluir a espécie do género *Podarcis*.

De acordo com estudos moleculares (Harris *et al.*, 1998b; Harris & Arnold 1999), a espécie mais próxima de *Lacerta dugesii* é *Lacerta perspicillata* que se distribui por certas zonas do Norte ou Noroeste Africano, sendo consideradas espécies irmãs e encontrando-se entre o género *Podarcis* (subgénero *Podarcis* antes de Arnold, 1973) e o género *Lacerta* propriamente dito, possuindo assim uma relação de proximidade com *Podarcis* (Harris & Arnold, 1999; Odierna *et al.*, 1987). Mais próximo de *Podarcis* está *L. andreanskyi*.

Lacerta dugesii e *L. perspicillata* assemelham-se na estrutura peculiar da interclavícula, no número de postnasais (2), nos padrões dorsais (Arnold, 1973), na inexistência de placa massetéica diferenciada, na existência de grandes escamas na pálpebra, braços da interclavícula dirigidos para trás e na fontanela esternal oval (Arnold, 1989). *L. andreanskyi* que apenas existe em Marrocos (Schleich *et al.*, 1996) e *L. dugesii* têm ambas 6 fiadas longitudinais de escamas ventrais. Estas três espécies são incluídas no grupo das espécies do Sudoeste (Arnold, 1973). Curioso é a semelhança nos hábitos e padrões dorsais com *L. danfordi*, o que é estranho em termos zoogeográficos porque esta última espécie se distribui pelo Sudoeste Asiático e Europa Ocidental (Arnold, 1973).

Como curiosidade, Mertens (1934) considera *L. dugesii* como uma forma modificada de *Lacerta muralis bocagei* (actualmente *Podarcis bocagei* ?) do Norte de África.

Capítulo 4

4. OS OBJECTIVOS DO TRABALHO

Os objectivos da presente dissertação podem ser basicamente enumerados como segue:

- 1- Inferir os eventos de colonização para as ilhas e inter-ilhas e as origens das colonizações bem como analisar os fenómenos de fragmentação e dispersão de populações,
- 2- determinar os padrões de diversidade genética observados nestas e noutras ilhas vulcânicas e determinar o número de espécies ou unidades evolutivas de répteis presentes nas ilhas com base em marcadores moleculares,
- 3- verificar se espécies com distribuição vasta em ilhas com diversidade de habitats apresentam estruturação geográfica,
- 4- redefinir, caso seja necessário, a taxonomia de alguns grupos,
- 5- inferir quais as espécies que possam ter tido uma introdução antropogénica,
- 6- determinar prioridades de conservação dos *taxa* estudados, caso as hajam.

Estes são naturalmente objectivos que versam essencialmente as relações filogenéticas e a filogeografia da maioria dos répteis terrestres das ilhas consideradas.

Tendo em conta que a altitude, área, idade e distância ao continente são factores que certamente influenciam a fauna e flora insulares, será de esperar que ilhas como Bioko, São Tomé, Príncipe e Annobon, todas posicionadas em linha recta e seguindo uma formação geológica bem conhecida, apresente uma fauna mais pobre à medida que nos afastamos do continente e da ilha maior para a menor. Contudo, as ilhas costumam desenvolver endemismos, principalmente as oceânicas, devido aos efeitos da deriva genética ou pressões selectivas sobre as pequenas populações distintas da área original.

Enquanto São Tomé é mais alta e maior, o Príncipe é a mais antiga (quase o dobro da idade de São Tomé; quando São Tomé apareceu o Príncipe já tinha cerca de 17 milhões de anos), o que permite a São Tomé ficar com uma segunda e mais perto fonte de colonização.

As espécies de répteis consideradas deverão ter chegado às três ilhas mais afastadas do Golfo da Guiné através da ilha mais próxima (e primeira a ser colonizada) até à mais distante segundo um modelo de “stepping stone”. Assim será de esperar um decréscimo de

espécies à medida que nos afastamos do continente. Também é possível que a chegada de cada *taxon* tenha sido através de eventos independentes para cada ilha e subsequente dispersão para as restantes o que obrigaria a que cada ilha apresentasse uma herpetofauna basicamente distinta. Outra via seria a especiação nas ilhas mais velhas e subsequente dispersão das novas formas como unidades endêmicas. Neste caso seria de esperar nas ilhas mais novas elementos endêmicos ou semelhantes aos endêmicos das mais velhas.

No Arquipélago de Cabo Verde é igualmente de esperar um modelo do tipo “stepping stone”, tal como no Arquipélago da Madeira. É interessante referir que entre a Ilha da Madeira e a Península Ibérica existem vários bancos submarinos que certamente estiveram a descoberto durante as últimas glaciações e que apresentam idades crescentes à medida que nos aproximamos da plataforma continental.

Dos arquipélagos mais a norte para os do Golfo da Guiné, será de esperar um enriquecimento do número de espécies que poderá camuflar o efeito de área, distância ao continente e idade da ilha, na medida em que existe uma tendência para o aumento do número de espécies à medida que nos aproximamos do equador (Rosenzweig, 1995).

Da mesma forma é de esperar que semelhantes grupos taxonómicos apresentem semelhantes padrões de colonização, e como referimos na introdução desta dissertação, sendo os geconídeos bons dispersantes, poderemos esperar maior número de eventos de colonização por parte deste grupo.

Os representantes dum *taxon* em duas áreas podem ter começado a divergir antes ou após a separação da população original. A diversificação numa área com uma ou mais das suas linhagens a expandirem para outra área adjacente, sofrendo um processo de vicariância aquando da separação é um fenómeno que poderá ser observado.

O método comparativo tem sido utilizado desde Darwin (1859) e será a filosofia inerente a este método que estará na base do tratamento de dados deste trabalho.

As hipóteses filogenéticas podem ser usadas para analisar os padrões evolutivos em várias espécies e para inferir quais os caracteres que devem ter evoluído numa espécie particular como adaptação ao ambiente circundante (Harvey & Pagel, 1991); no nosso caso, para inferir quais as mudanças observadas nas sequências de várias espécies e a subsequente reconstrução filogenética e filogeográfica.

Capítulo 5

5. METODOLOGIA DE TRABALHO

5.1. Breve caracterização dos sistemas insulares amostrados

Apesar da grande distância que separa os Arquipélagos considerados, pelo menos três características comuns parecem evidentes: a proximidade ao continente africano (Figura 15); a origem vulcânica e a posição oriental no Atlântico.



Figura 15. Localização relativa das ilhas consideradas neste estudo, em relação a África.

África é um continente que possui poucas ilhas associadas. Excepto Madagáscar são todas pequenas. No Atlântico Norte médio e central, encontramos de norte para sul, os arquipélagos dos Açores, Madeira, Canárias, Cabo Verde e ilhas do Golfo da Guiné. Os arquipélagos da Madeira, Selvagens e Cabo Verde estão incluídos numa área designada por Macaronésia (termo criado por Webb & Berthelot no século XIX) (García-Talavera, 1998; Guerrero *et al.*, 1997). No entanto há autores que contestam a existência desta entidade, afirmando que do ponto de vista biogeográfico estes arquipélagos são muito distintos (ver Beyhl *et al.*, 1995; Guerrero *et al.*, 1997).

Os arquipélagos macaronésicos possuem analogia geológica quanto à constituição e estruturas paisagísticas (Báez & Sanchez-Pinto, 1983; García-Talavera, 1998; Guerrero *et al.*, 1997; Mitchell-Thomé, 1979, 1980; Teixeira, 1949). O vulcanismo relaciona-se com a formação da Cordilheira Dorsal-Atlântica, com a deriva dos continentes e com a existência de pontos frágeis na crosta. Em todas as ilhas abundam as rochas do tipo alcalino-sódico. (Alves & Forjaz, 1991; García-Talavera, 1998; Guerrero *et al.*, 1997; Teixeira, 1949). Os arquipélagos da Madeira, Selvagens e Canárias parecem ter origem no deslocamento de “hotspots”, resultantes de “upwellings” no manto, que formam cadeias de ilhas e bancos submarinos, estando geralmente os mais velhos a Nordeste (Geldmacher *et al.*, 2001). Um facto curioso é termos Canárias e Cabo Verde em linhas vulcânicas semelhantes à linha vulcânica dos Camarões responsável pelo aparecimento das ilhas do Golfo da Guiné, e com orientação SW-NE. Estas evidenciam vulcanismo intraplaca e levantamentos da crosta miocénicos ou ante-Miocénicos. A linha dos Camarões não foi só formada por uma pluma do manto ou por um “hotspot” móvel, e envolveu também movimentos verticais da crosta e fenómenos de “upwelling” do manto (Caldeira & Munhá, 2002; Meyers *et al.*, 1998).

Os bancos situados entre os arquipélagos considerados e a costa continental serão elevações vulcânicas submarinas alinhadas ao longo de zonas de fracturas (tipo linha vulcânica dos Camarões) de direcção NE-SO. Por exemplo, entre a Madeira e o continente encontramos Goringa (profundidade = -42m), Gettysburg (-60m), Sena (-150m, Ampere (-250m), Josefina (-1500m) (Teixeira, 1949), e muitos seriam ilhas com dimensões apreciáveis, entre 200 e 300 km² (García-Talavera, 1998).

A formação das ilhas macaronésicas deve ter-se iniciado no Cretácico Superior ou no princípio do Eocénico, prolongando-se até ao Quaternário com fases de actividade e repouso. As ilhas não se formaram todas ao mesmo tempo. É provável que no Miocénico quase todas já estivessem formadas, assim o indicam os depósitos calcários vindobonianos conhecidos em todos os arquipélagos. Nesta altura, estavam algumas ilhas em formação porque se encontram rochas vulcânicas sobre estes depósitos calcários (Teixeira, 1949). Os 5 arquipélagos da Macaronésia têm idades entre 0.8 a 21 milhões de anos (Carracedo, 1994).

Os arquipélagos macaronésicos têm climas muito diversos desde húmidos e frescos (Açores) a áridos e quentes (Cabo Verde), com temperaturas médias anuais entre 17.3° e 27.7° (Guerrero *et al.*, 1997). Há diminuição da pluviosidade e aumento da temperatura de Norte para Sul. O regime de correntes actual, corrente de Norte na Madeira, Selvagens e Cabo Verde (corrente fria das Canárias) poderá não ter sido sempre assim. Durante as

últimas glaciações as calotes polares chegaram aos 42 ° N, e provavelmente existiram mudanças dramáticas de correntes marítimas em relação ao padrão actual (Coope, 1986) e também devem ter ocorrido mudanças na circulação atmosférica (Nicholson & Flohn, 1980).

O clima africano deverá influenciar a maioria das ilhas consideradas neste trabalho. Segundo Nicholson & Flohn (1980), desde fins do Pleistocénico ocorreram três períodos principais, o primeiro de aridez e formação de dunas - entre 22 000 e 14 000 anos atrás (Sahara avançou para Sul até à costa da Guiné), e é sincrónico do pico da última glaciação e provavelmente as regiões equatoriais eram mais secas; período húmido, lacustre- entre 12 000 e 10000 anos atrás, caracterizado por um aumento da precipitação no Golfo da Guiné e na zona da Guiné e Senegal; período húmido, lacustre – entre 8500 e 6500 anos atrás, no qual o Sahara contraiu consideravelmente; aumento da precipitação na zona da Guiné e Senegal.

As afinidades faunísticas e florísticas destes arquipélagos são com o continente europeu e africano. Assim a Madeira tem afinidades com o Mediterrâneo e a Península Ibérica; as Canárias com o Noroeste africano, com o Mediterrâneo e Península Ibérica e Cabo Verde com o Noroeste africano e região central africana. As ilhas do Golfo da Guiné terão afinidades com os países da zona e de alguns do Sudeste do continente africano (devido às correntes). Para Báez (1982a), as Selvagens e Madeira têm afinidades paleárticas ocidentais e holárticas e Cabo Verde tem afinidade etiópica. Uma das características dos biotas dos arquipélagos macaronésicos é um elevado nível de endemidade de certos *taxa* (Machado, 1995). A maioria das espécies dos biota da Macaronésia terá dispersado para estas ilhas no Miocénico e Pleistocénico, quando a glaciação e desertificação do Norte de África levou a extinções massivas e à migração e dispersão de plantas e animais (Francisco-Ortega *et al.*, 1996). É possível que muitos grupos animais tenham chegado a estas ilhas através de ilhas actualmente submersas ou ainda imersas, através do modelo de “stepping stone” (Borges, 1992). Várias terão sido as histórias de colonização nestes arquipélagos atlânticos consoante os grupos ou espécies.

Como vimos no capítulo 3, a fauna de répteis dos arquipélagos é pobre em termos de número de espécies, mas rica em termos de endemismos (Guerrero *et al.*, 1997).

5.1.1. Arquipélagos da Madeira, Desertas e Selvagens

5.1.1.1. Localização e dimensões

A Ilha da Madeira localizada entre 32° 37' 52" N e 32° 52' 08" N, e 16° 39' 19" W e 17° 15' 54" W, é a maior ilha do arquipélago com cerca 728 Km². Encontra-se a cerca de 700 Km de África e a 980 Km da Costa Ibérica (Lisboa) (Pereira, 1989) (Figura 16).

As Desertas são três ilhas de pequenas dimensões (ver Figura 16) em linha com direcção NNW-SSE, com o Ilhéu Chão mais a Norte, o Bugio mais a Sul e a Deserta Grande ao meio. Estão localizadas a cerca de 40 km do Funchal e a cerca de 60 km do Porto Santo, entre 32° 24' 05" N a 32° 35' 20" N e 16° 27' 45" W a 16° 32' 50" W (Pereira, 1989). A Deserta Grande encontra-se a 450 m a Sul do Ilhéu Chão, o Bugio encontra-se a 1,3 km a sul da Deserta Grande (Pereira, 1989) (Figura 16).

O Porto Santo está localizado a cerca de 38 km a Nordeste da Madeira. Porto Santo e ilhéus adjacentes ficam compreendidos entre 33° 07' 35" N e 33° 59' 40" N e entre 16° 24' 35" W e 16° 16' 35" W (Pereira, 1989). Com uma orientação NE-SW, possui uma área de cerca de 41 km² (Figura 16).

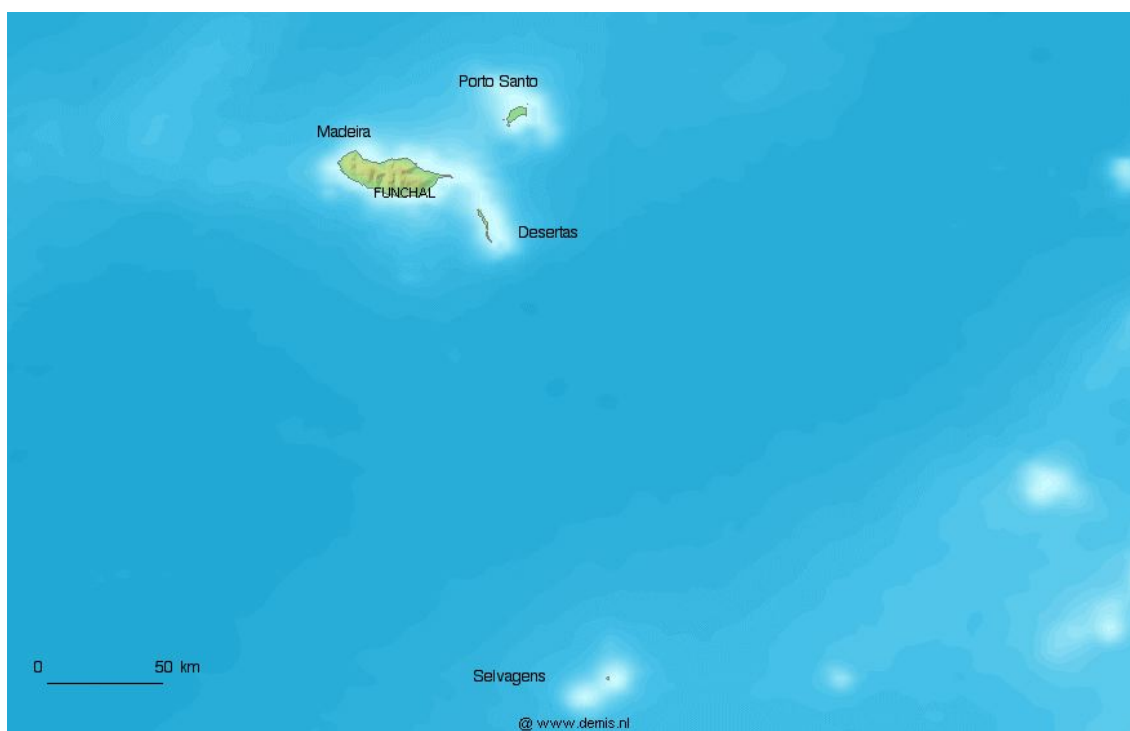


Figura 16. Localização relativa da Ilha da Madeira, Desertas, Porto Santo e Selvagens.

As Selvagens estão localizadas entre 30° 01' 35" e 30° 09' 10" N, e 15° 56' 15" e 16° 03' 05" W (Figueira, 1964; Pereira, 1989; Serviço do Parque Natural da Madeira, 2004). Os principais ilhéus deste arquipélago são a Selvagem Grande, a Selvagem Pequena e Ilhéu de Fora. A Selvagem Grande com forma pentagonal possui uma área de 2,46 Km² (Figueira, 1964). A Selvagem Pequena ou Pitão Grande apresenta uma forma bastante irregular, irradiada, com uma área de 0.16 km² (Figueira, 1964). Há no entanto uma grande variação na área da Selvagem Pequena, consoante o nível de maré. Assim, por exemplo, a linha de costa varia entre 2300 m na preia-mar e os 6300 m na baixa-mar (Figueira, 1964; Pereira, 1989). As Selvagens consistem em dois grupos ligados por uma isobata de 1000 m. O grupo mais a Norte com a Selvagem Grande com os ilhéus Palheiro da Terra e Palheiro do Mar, separados da ilha maior por profundidades que rondam os 40 m; e o grupo mais a Sul, a cerca de 16 km do anterior, contendo a Selvagem pequena, o Ilhéu de Fora e outros pequenos ilhéus (Figueira, 1964). As Selvagens encontram-se a 160 km de Tenerife e a 250 km da Madeira (García-Talavera, 1998).

5.1.1.2. Geologia e Clima

A rochas principais da Madeira são alcalino-basálticas (Weijden & Pacheco, 2003).

As grandes fases de formação da Madeira devem ter começado no Miocénico, Antemiocénico até ao Quaternário (Gagel, 1969; Mitchell-Thomé, 1979). Segundo Ribeiro *et al.* (1980) as primeiras erupções vulcânicas foram submarinas e começaram no Vindoboniano. Mitchell-Thomé (1979) refere a existência de quatro fases de vulcanismo na formação da Madeira. As Desertas, a Ponta de São Lourenço (extremidade oriental da Madeira) e a Madeira em geral, são incluídas no mesmo complexo vulcânico. A profundidade entre a P. S. Lourenço e as Desertas é baixa, i.e., 100 a 500m, segundo Ribeiro *et al.* (1980). O Porto Santo parece não pertencer a este edifício, pois a profundidade entre a Madeira e o Porto Santo, ou Desertas e Porto Santo é de cerca de 3000 m (Ferreira, 1993; Teixeira, 1949).

A Ilha da Madeira e as Desertas são as ilhas emersas há menos tempo ou seja, há cerca de 5-6 milhões de anos (Galopim de Carvalho & Brandão, 1991; Prada & Serralheiro, 2000), ou 4,6 milhões de anos (Geldmacher *et al.*, 2000). Os valores podem estar sujeitos aos erros introduzidos por oscilações verticais do nível do mar e das ilhas.

As maiores elevações estão no centro da ilha (ex: Pico Ruivo - 1861 m), e fazem parte dum eixo montanhoso com orientação W-E.

Quanto às Desertas, as duas ilhas mais velhas e de semelhante idade, Deserta Grande e Bugio, possuem complexos vulcânicos semelhantes aos da região de Machico (Zona Oriental da Ilha da Madeira). O Ilhéu Chão é o mais moderno. As Desertas devem estar emersas há cerca de 5-6 milhões de anos (Galopim de Carvalho & Brandão, 1991), ou há cerca de 3,6 milhões de anos (Geldmacher *et al.*, 2000). A Deserta Grande é uma ilha com uma altitude máxima de 408 m e com muitas arribas. No cimo existe um planalto irregular e estreito que constitui o topo duma cadeia montanhosa (NNE-SSW)(Pereira, 1989). Com a forma de arco, o Bugio é constituído por arribas e escarpas que terminam numa crista com a maior elevação aos 348 m (Pereira, 1989). A isobata dos 100m quase liga as Desertas à Ponta de São Lourenço e por isso é de supor uma ligação no passado entre todos estes ilhéus (Galopim de Carvalho & Brandão, 1991).

O vulcanismo que deu origem à Ilha do Porto Santo parece ter começado no Miocénico, prolongando-se ao Quaternário (Ribeiro *et al.*, 1980). A ilha e os ilhéus circundantes estão assentes numa plataforma que testemunha a existência de uma maior extensão emersa no passado (Galopim de Carvalho & Brandão, 1991). A profundidade entre estes ilhéus e o Porto Santo é inferior a 50 m, o que subentende que durante a última glaciação estariam unidas ao nível sub-aéreo (Bloom, 1971). O Porto Santo é a ilha que está emersa há mais tempo, há cerca de 14 milhões de anos (Galopim de Carvalho & Brandão, 1991; Geldmacher *et al.*, 2000). É uma ilha plana com relevo suave e ondulante. A altitude máxima é de 507 m (Ribeiro, *et al.*, 1980). Entre a Madeira e o Porto Santo parece não ter havido qualquer conexão terrestre pois as profundidades ultrapassam os 2000m.

O Arquipélago das Selvagens é de origem vulcânica e emerge nos extremos NE e SW dum grande monte submarino que a meio tem profundidades de 500m. As Selvagens ligam-se todas pela curva batimétrica dos 1000m (Pereira, 1989) e estão situadas no extremo da plataforma das Canárias (Figueira, 1964; Serviço do Parque Natural da Madeira, 2004). A Selvagem Grande parece estar emersa há cerca de 12-13 milhões de anos (Galopim de Carvalho & Brandão, 1991; Geldmacher *et al.*, 2000). A máxima altitude da Selvagem Grande ronda os 163m (Figueira, 1964). Segundo Bravo & Coello (1978) a meseta superior da Selvagem Grande, de 80 a 90 m de altitude está integrada por formações tipicamente marinhas e por uma cobertura basáltica de lavas submarinas. Isto poderá querer dizer que as ilhas poderão ter estado submergidas à relativamente pouco tempo. Movimentos verticais das ilhas e do nível médio do mar podem ter contribuído para a submersão.

Os dois conjuntos, Porto Santo-Madeira-Desertas e Selvagens (e Canárias) encontram-se sobre duas plumas de vulcanismo com larga expressão de migração para Sul como reflexo da translação para Norte da Placa litosférica africana (Ferreira, 1993).

As idades dos bancos submarinos encontrados entre estas ilhas e o continente são maiores do que as das ilhas expostas (Geldmacher *et al.*, 2000, 2001). Estes bancos poderão ter estado no passado a descoberto e desta forma pudessem ter ocorrido uma dispersão de organismos de acordo com o modelo de "Stepping-Stone".

O clima destes arquipélagos é fortemente influenciado pelos ventos alísios de Nordeste, pela corrente fria das Canárias e pela orografia. A Ilha da Madeira apresenta uma distinção climática entre as vertentes norte e sul (García-Talavera, 1998; Weijden & Pacheco, 2003). A quantidade de precipitação é maior (ultrapassando nalguns locais os 3000 mm) e a temperatura é menor no Norte e a altas altitudes (Báez & Sanchez-Pinto, 1983; Sjögren, 1972). Os valores médios da humidade variam muito, sendo maiores no Norte (Pereira, 1989; Sjögren, 1972). A extremidade oriental constitui a parte mais árida da Madeira, com cerca de 400 mm de precipitação anual.

O Porto Santo, Desertas e Ponta de São Lourenço são áridos com uma precipitação anual de cerca de 400 mm e uma temperatura média anual que ronda os 20 ° (Pereira, 1989).

As Selvagens tem um clima semelhante ao das Canárias, podendo ser considerado como subtropical marítimo. As chuvas são escassas e os ventos predominantes são os alísios (García-Talavera, 1998; Serviço do Parque Natural da Madeira, 2004). As temperaturas são mais elevadas do que na Ilha da Madeira.

5.1.1.3. Aspectos da Flora e da Fauna

Existem cerca de 1100 espécies de plantas vasculares na Madeira, sendo 121 endémicas (Hampshire, 1984). Parte importante da flora desta ilha é testemunho de uma vegetação que se desenvolveu no Sul da Europa durante o Terciário e que desapareceu devido às glaciações (Báez & Sanchez-Pinto, 1983) e constitui a Laurissilva. Segundo Romariz, a Madeira, no centro da Macaronésia, forma um "nó" dos elementos holártico atlântico, africano e holártico mediterrânico que domina indiscutivelmente (78% das espécies são mediterrânicas). A estes juntam-se os elementos endémico macaronésico, o endémico madeirense e o introduzido. Recentemente, Sequeira *et al* (*in press*) descreveram para a Ilha da Madeira 16 classes de vegetação que incluíam cerca de 40 associações e comunidades,

existindo uma relação entre as comunidades vegetais e o clima. A península de São Lourenço possui zonas abertas com vegetação rasteira e zonas sem vegetação (Teixeira & Abreu, 2003).

Quanto às Desertas e Porto Santo, abunda a vegetação xerófila e espaços abertos estando condicionada pelas condições climáticas e geomorfológicas (Báez & Sanchez-Pinto, 1983; Costa, 1946; García-Talavera, 1998; Pickering, 1962).

Nas Selvagens, a vegetação é rasteira e arbustiva (Pereira, 1989; Pickering & Hansen, 1969). A flora de plantas vasculares compreende mais de cem espécies, sendo onze exclusivas das Selvagens (Serviço do Parque Natural da Madeira, 2004). Na Selvagem Pequena, observa-se a maior percentagem de endemismos botânicos por unidade de superfície da Macaronésia. (Serviço do Parque Natural da Madeira, 2004).

Segundo Báez (1993), a fauna terrestre da Madeira é constituída por cerca de 3300 espécies, sendo 900 endémicas. Apresenta uma percentagem de endemismos relativamente alta (Teixeira & Abreu, 2003), cerca de (27%) (Báez, 1993), variando de grupo para grupo, sendo nos répteis terrestres de 100 % (Báez, 1993). Observa-se, também na Madeira valores médios de endemismos intermédios entre os Açores e Canárias como no caso dos coleópteros (Serrano, 1982). Segundo Báez (1993), a maior parte da fauna da ilha principal apresenta afinidades com a fauna europeia e mediterrânica. Nos arquipélagos da Madeira e Selvagens parece existir uma relação empírica entre a área e o número de espécies de muitos grupos, como nas aves (ver Bernstrom, 1951, Biscoito & Zino, 2002; Zino *et al.*, 1995).

Quanto às Selvagens, grande parte da fauna terrestre tem afinidades com Canárias (Oromi, 1983). Do ponto de vista da conservação e considerando apenas os vertebrados, os mais importantes são os répteis (répteis serão tratados num capítulo à parte) com dois *taxa* endémicos e as aves com a nidificação de aves marinhas. É também interessante pela elevada percentagem de endemismos de invertebrados (García-Talavera, 1998). Nas Selvagens foram introduzidas cabras, coelhos e ratos, levando à redução de muitas espécies vegetais (Serviço do Parque Natural da Madeira, 2004).

5.1.2. Arquipélago de Cabo Verde

5.1.2.1. Localização e dimensões

Cabo Verde localiza-se a cerca de 500 km da costa ocidental de África (Naurois, 1994a), sendo de 455 km da Ilha da Boavista ao continente e 725 km da Ilha de Santo Antão ao continente. Está a cerca de 1300 km das Canárias e a cerca de 2000 km da crista dorsal Atlântica, a 16° N de latitude média (Costa, 1996a; García-Talavera, 1998, Torres *et al.*, 1998),

entre 14°48' - 17°12' N e 22°44' - 25°28' W (Torres *et al.*, 1998), ou entre 22°30' e 25°20' W e 14° 50' e 17°03' N (Naurois, 1994a) (Figura 17). O arquipélago possui dez ilhas, seis ilhéus com área inferior a 8 km² e uma dúzia de ilhotas distribuídas ao longo das costas (Naurois, 1994a). As dez ilhas são divididas em dois grupos, o de Sotavento e o de Barlavento. No entanto do ponto de vista geomorfológico e geográfico devemos dividi-las em três grupos (García-Talavera, 1998): o Norocidental (Santo Antão, São Vicente, Santa Luzia, Ilhéu Razo, Ilhéu Branco e São Nicolau), o Oriental (Sal, Boavista e Maio) e o Sul (Santiago, Fogo, Ilhéus Rombos e Brava). A área total do arquipélago é de cerca de 4000 km² (García-Talavera, 1998; Naurois, 1994a). A ilha de Santo Antão é a segunda maior (797 km²) e a mais ocidental e setentrional do arquipélago (Correia & Costa, 1996). A ilha de São Vicente possui uma área total de cerca de 227 km² (Correia & Costa, 1996). A ilha de Santa Luzia é a mais pequena com cerca de 35km² (García-Talavera, 1998; Mateo *et al.*, 1997). A maior ilha é a de Santiago com uma área de cerca de 990 km² (García-Talavera, 1998; Naurois, 1994a). A ilha do Fogo é a quarta maior do Arquipélago com 476 km² e apresenta uma forma arredondada, com um diâmetro médio de 25 km (Costa, 1998). A Boavista é a mais oriental das ilhas cabo-verdianas e a terceira maior ilha do arquipélago com cerca de 620 km² (Costa, 1996b). A ilha do Sal é a mais setentrional (16° 45' N) das três ilhas rasas e a mais oriental de todas. Tem uma forma alongada no sentido norte-sul perfazendo uma superfície de cerca de 216 km² (Costa, 1996b). O Maio é a mais meridional das três ilhas rasas (Maio, Sal e Boavista) com uma área de 269 km² (Costa, 1996b). O ilhéu Branco tem 3 km² e o Razo 7 km² de área (Mateo *et al.*, 1997).

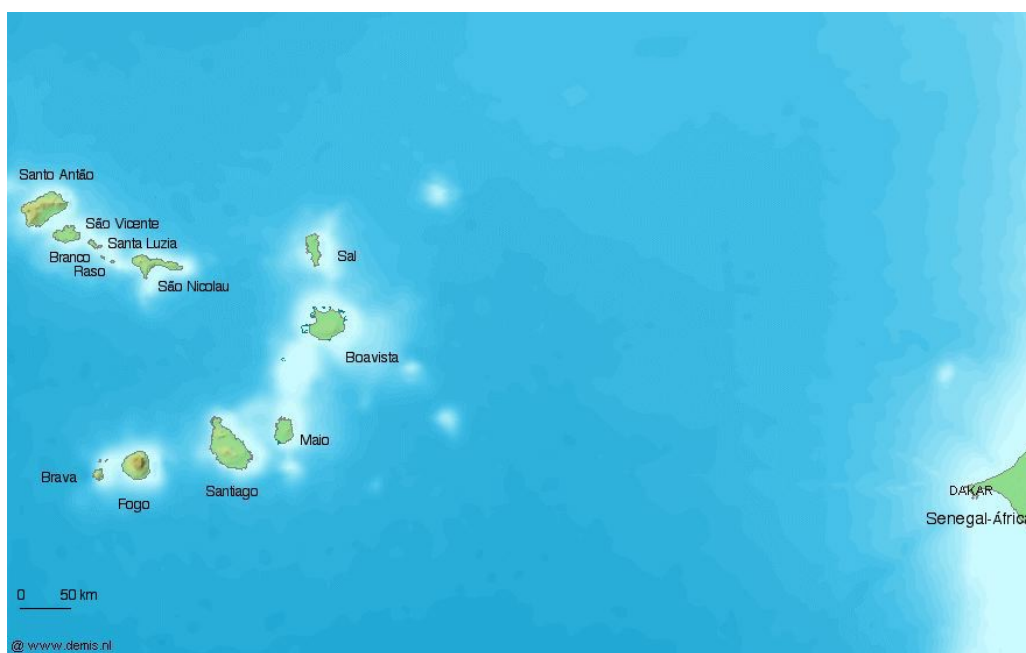


Figura 17. Localização relativa das ilhas do Arquipélago de Cabo Verde

5.1.2.2. *Geologia e Orografia*

As ilhas do arquipélago são de origem vulcânica e nunca estiveram ligadas ao continente africano (Mitchell-Thomé, 1983,1985). Estas ilhas têm origem em “hotspots” e encontram-se sobre uma área mais elevada da crosta oceânica com menos de 4000 m de profundidade (Plesner *et al.*, 2002). Foram consideradas como as ilhas mais antigas da Macaronésia datadas do Mesozóico (García-Talavera, 1998). A actividade vulcânica parece decorrer no Maio entre 20 a 8 milhões de anos atrás, sendo o período de maior intensidade entre 12 a 6.5 milhões de anos atrás (Plesner *et al.*, 2002) Para Mitchell-Thomé (1985), Sal e Boavista têm cerca de 26 milhões de anos; o Maio cerca de 7-20 milhões de anos). A actividade vulcânica ainda se faz sentir com a última erupção no Fogo em 1995 (Costa, 1998; García-Talavera, 1998; Plesner *et al.*, 2002). A disposição das ilhas, assim como as idades relativas parece indicar a acção duma pluma do manto associado a uma crosta fragmentada (Torres *et al.*, 1998). Nalguns locais existem bancos submarinos que quase afloram à superfície (García-Talavera, 1998). Santiago é a maior ilha com dois maciços montanhosos centrais (altitudes médias superiores a 1000 m) separados por uma zona planáltica (altitude média de 500 a 550 m) e numerosos vales profundos. Segundo Mitchell-Thomé (1985) esta ilha já deverá estar a descoberto há cerca de 10.3 milhões de anos. A ilha Brava deverá existir desde há cerca de 5.5 milhões de anos (Mitchell-Thomé, 1985). As ilhas do Maio, Boavista e Sal são as ilhas mais antigas e mais erodidas cuja altitude não ultrapassa 400 m. As ilhas mais novas têm um relevo mais acentuado onde as altitudes atingem 976 m na Ilha Brava, 1304 em São Nicolau, 1392 em Santiago, 1979 em Santo Antão e 2830 no Fogo (vulcão) (Costa, 1998).

A costa da Ilha de Santo Antão é pouco recortada e geralmente constituída por arribas com altitudes superiores a 50m. (Correia & Costa, 1996). O vulcanismo da Ilha de Santo Antão parece ter ocorrido entre 7.57 e 0.09 milhões de anos (Plesner *et al.*, 2002).

Do ponto de vista geológico, a ilha de São Vicente é um antigo cone vulcânico que posteriormente evoluiu em caldeira, cujo sector abatido corresponde à depressão central e os topos dos relevos periféricos à bordeira (Correia & Costa, 1996). As ilhas de São Vicente e Santa Luzia e os ilhéus Razo e Branco encontram-se situados num banco submarino, com profundidade que ronda os 50 m. As ilha da Boavista e Sal possuem costas pouco recortadas. Particularmente o Sal já deverá existir, provavelmente desde o Miocénico (Mitchell-Thomé, 1985).

O grupo Noroeste está separado das restantes ilhas do arquipélago por profundidades superiores a 2500 m e provavelmente nunca estiveram ligadas (Greer, 1976).

5.1.2.3. *Clima*

Cabo Verde está integrado na zona africana de clima saheliano árido e semi-árido (Costa, 1996a). Os ventos predominantes são os alíseos (Castanheira & Cardoso, 1994; Naurois, 1994a). Este arquipélago está também sujeito à Corrente das Canárias, (Naurois, 1994a). O clima de Cabo Verde é árido mas não quente como do tipo Sahariano, com humidades relativas elevadas, mais parecido aos climas da costa ocidental do Norte de África. A precipitação pode ser sob a forma de chuvas de monção e outros tipos de humidificação. As chuvas de monção podem ocorrer com violência entre Agosto e Outubro (Naurois, 1994a). O arquipélago apresenta assim duas estações distintas. De Dezembro a Junho predomina a estação seca. A estação húmida decorre entre Agosto e Outubro. Nesta altura costuma cair cerca de 90% da precipitação anual (Costa, 1996a,b). As ilhas mais altas apresentam níveis de precipitação e humidade superiores (Naurois, 1994a). O panorama descrito varia muito entre as ilhas. É provável que no Sal e noutras ilhas rasas (Boavista e Maio) a seca seja mais acentuada (Costa, 1996b). As ilhas ditas desertas, Santa Luzia, Razo e Branco apresentam precipitações anuais inferiores a 100 mm (Castanheira & Cardoso, 1994).

5.1.2.4. *Fauna e Flora*

Segundo Naurois (1994a), quando se compara a flora caboverdiana com a canariana e circum-sahariana, esta revela uma pobreza de espécies e endemismos. Também mostra formações descontínuas e com carácter pré-sahariano. A fisiografia e climatologia determinam a existência de dois tipos de zonas em que se desenvolve com maior intensidade quer a vida animal quer vegetal. Uma zona até aos 400m de altitude, onde apenas recebe as chuvas de monção e na orla costeira onde também as gotículas de mar; uma zona média e alta, acima dos 400m até aos cumes. As árvores pouco abundantes e de médio a pequeno porte, encontram-se até aos 900-1000 m de altitude. Os biótopos, relativamente pouco diversificados devido à aridez aparecem dentro do escalonamento anterior (Naurois, 1994a):

Devido à situação geográfica, a flora e fauna do arquipélago mostra muita afinidade com a região paleotropical (África subtropical e intertropical; Norte de África) e pouca afinidade com a região mediterrânica e com os restantes arquipélagos macaronésicos. (Naurois, 1994a).

A acção humana na fauna e flora manifesta-se essencialmente na desflorestação e introdução de espécies exóticas (García-Talavera, 1998).

Dos vertebrados terrestres, deverão ser os répteis os que apresentam maior nível de endemidade (García-Talavera, 1998).

Nas ilhas, incluindo Santa Luzia, Branco e Razo foram introduzidos vários animais como ratos, cães e gatos, provocando desequilíbrios (Mateo, *et al.*, 1997). Esta talvez tenha sido uma das razões para a extinção do *Macrosclincus coctei*, uma espécie de lagarto gigante.

5.1.3. Ilhas do Golfo da Guiné: São Tomé, Príncipe e Annobon

5.1.3.1. Localização e dimensões

A Ilha do Bioko é a maior e mais próxima de África (a cerca de 32 km dos Camarões), e possui uma área de 2017 km² (75 x 25 km). A altitude máxima é de 3010 m. Mais pequenas e mais afastadas estão São Tomé e Príncipe e Annobon.

Em torno das Ilhas de São Tomé e Príncipe encontram-se uma série de ilhéus, dos quais se destacam as Rolas. A ilha de São Tomé com cerca de 850 km² de área (Naurois, 1994b; Ribeiro *et al.*, 1984) dista cerca de 300 km¹ ou 235 km (Ribeiro *et al.*, 1984) do continente mais próximo. A ilha do Príncipe está localizada entre 1° 32' N – 1° 43' N e 7° 20' - 7° 28' E. A sua área é de cerca de 128 km² (Juste, 1996), ou 139 km² (Naurois, 1994b). Dista do continente mais próximo cerca de 250 km² ou 215 km (Ribeiro *et al.*, 1984) (Figura 18).

A ilha de Annobon é a mais pequena e mais afastada do continente. Está localizada a cerca de 01° 26' S e 05° 37' E (Naurois, 1994b). Encontra-se a cerca de 160 km a Sul-Sudoeste de São Tomé e a cerca de 335 km do Gabão (Sunderland & Obama, 1999) ou 350 km¹ (Figura 28). A sua área é de aproximadamente 17-18 km² e possui um único povoado, San Antonio de Palea³.

5.1.3.2. Geologia e Orografia

As ilhas do Bioko, São Tomé, Príncipe, Annobon e ilhéus circundantes encontram-se sobre uma linha de fractura da crosta terrestre e oceânica, tendo uma origem vulcânica associada ao mesmo acidente geológico (Déruelle *et al.*, 1991). Esta linha de fractura parece incluir a ilha de Santa Helena (Meyers *et al.*, 1998) e é designada por Linha dos Camarões

¹ http://www.calacademy.org/research/guinea_islands/

² http://www.calacademy.org/research/guinea_islands/

³ <http://www.425dxn.org/dc3mf/annobon.html>

(“Cameroon line”) e estende-se desde o Monte Camarões (África, Camarões) numa extensão de pelo menos 1600 km (Caldeira & Munhá, 2002). A cadeia de ilhas do Golfo da Guiné deverá ter iniciado a sua formação durante meados da Era Terceária (Meyers *et al.*, 1998). No continente temos o sector continental e nas ilhas do Golfo da Guiné temos o sector oceânico. O vulcanismo silicioso neste último sector parece ter ocorrido entre 31 e 5 milhões de anos (Lee *et al.*, 1994; Marzoli *et al.*, 1999).



Figura 18-. Localização relativa das ilhas do Golfo da Guiné.

Das quatro ilhas do Golfo da Guiné, o Bioko é a única que faz parte da plataforma continental e que esteve provavelmente ligada ao continente na última época glacial¹.

Em São Tomé, apesar de não se conhecerem erupções vulcânicas em termos históricos, a informação retirada do isótopo Argon indica actividade vulcânica há menos de 100000 anos². São Tomé é essencialmente constituído por lavas basálticas com menos de 1 milhão de anos. No entanto encontram-se zonas piroclásticas com menos de 0.4 milhões de anos nos extremos Norte e Sul da ilha. Um período vulcânico mais antigo (3-8 milhões de anos) é encontrado na região Sul-Sudeste. Na região Norte\Nordeste da ilha encontra-se uma predominância de lavas basálticas com idades inferiores a 1 milhão de anos (Caldeira &

¹ http://www.calacademy.org/research/guinea_islands/

² http://volcano.und.nodak.edu/vwdocs/volc_images/africa/wafrica.html

Munhá, 2002). A altitude mais elevada é de 2024 m (Aka *et al.*, 2001; Naurois, 1994b). As rochas mais antigas datam de há mais de 15,7-13 milhões de anos. A idade da ilha será de cerca de 14 milhões de anos (Déruelle *et al.*, 1991; Lee *et al.*, 1994).

A ilha do Príncipe é mais antiga do que Annobon e São Tomé, com cerca de 31 milhões de anos. É uma ilha muito erodida² (Lee *et al.*, 1994) e a altitude mais elevada é de 948 m no Pico¹ (Naurois, 1994b).

A ilha de Annobon a mais afastada das consideradas (Aka *et al.*, 2001; Lee *et al.*, 1994; Marzoli *et al.*, 1999). Nesta ilha são reconhecidos afloramentos basálticos, espalhados pela ilha, com cerca de 4,8 – 4,9 milhões de anos e deverá ser esta a idade da ilha (Lee *et al.*, 1994). Parece ter existido vulcanismo até há menos de 100 000 anos², mas a exemplo das outras ilhas do Golfo da Guiné, não se conhecem erupções históricas. A maior elevação de Annobon é de cerca de 654 m¹. Grande parte da costa é abrupta, essencialmente constituída por arribas. Alguns pequenos ilhéus bordejam esta pequena ilha.

5.1.3.3. *Clima*

No geral, o clima caracteriza-se por uma uniformidade nomeadamente na temperatura devida à reduzida variação anual do ângulo de incidência do sol e da duração do dia. A precipitação é elevada mas com variações entre as ilhas, com Annobon mais seco e intra ilhas com o Sul de São Tomé mais chuvoso do que o Norte¹. A humidade atmosférica é elevada. O clima das duas ilhas, de São Tomé e Príncipe é semelhante. Em São Tomé e Príncipe existem basicamente duas estações. A estação mais chuvosa decorre entre o Outono ao início de Maio, e a estação mais seca, conhecida localmente por “gravana” entre Junho, Julho e Agosto. Existe também uma curta estação seca entre meados de Dezembro e meados de Janeiro, conhecida localmente por “gravanita” (Naurois, 1994b).

É provável que no passado, a exemplo do que aconteceu na região ocidental dos Camarões, o clima fosse mais frio árido e seco há cerca de 20000 anos até há 10000 anos, predominando a vegetação herbácea e áreas abertas. Entre 13000 e 12000 anos atrás houve um aquecimento e aumento da precipitação, e entre 11500 e 10400 anos terá havido uma diminuição da precipitação, aumento da sazonalidade e manutenção da temperatura elevada tal como é sugerido através de análises paleobotânicas (Maley & Brenac, 1998).

¹ http://www.calacademy.org/science_now/são_tomé/we_begin.htm

5.1.3.4. *Fauna e Flora*

Apenas a Ilha do Bioko deverá ter estado ligada ao continente por via sub-aérea ao contrário do Príncipe, São Tomé e Annobon. Este facto reflecte-se na flora e fauna que encontramos no Bioko. Por exemplo existem mais de 30 espécies de cobras e muitas famílias de lagartos como escincídeos, geconídeos, varanídeos, agamídeos, lacertídeos e camaleonídeos. Nas outras ilhas mais afastadas não se encontram as quatro últimas famílias, e o número de cobras é mais reduzido. Só uma pequena proporção de espécies é endémica do Bioko (2 ou 3 espécies) ao contrário do que acontece nas outras ilhas com elevadas percentagens de endemismos¹ (Drewes 2002). As ilhas do Golfo da Guiné apresentam assim uma elevada taxa de endemismos quer da flora quer da fauna² (Drewes & Wilkinson, 2004; Juste, 1996).

A flora das ilhas do Golfo da Guiné é muito rica. Segundo Exell (1973), o número de espécies conhecidas nas ilhas, incluindo as introduzidas são: 314 para o Príncipe; 601 para São Tomé e 208 para Annobon e 1105 para o Bioko. As percentagens de endemismos de plantas exclusivos de cada ilha, obtidas por Exell (1973) é de 9,9 % para o Príncipe, 15,4% para São Tomé, 7,7% para Annobon e 3,6 % para o Bioko. A percentagem dos endemismos exclusivos mais a percentagem dos endemismos que aparecem em pelo menos uma das outras ilhas do Golfo da Guiné é de 13,7% para o Príncipe; 17,8 % para São Tomé, 11,0% para Annobon e 3,8 % para o Bioko.

É reconhecido por muitos cientistas que decorridos cinco séculos de exploração da madeira e de culturas diversas, quase não resta mais floresta primária (*sensu stricto*) em São Tomé e Príncipe (Naurois, 1994b). As formações primárias estão restritas, essencialmente às grandes altitudes (2024 m no Pico de São Tomé), e constituem o “Obó microtérico” e nalgumas áreas perto do mar (Lains e Silva, 1958). No Pico de São Tomé e acima dos 1930 m não existe propriamente uma floresta mas sim um mato espesso de cerca de 2 a 3m de altura.

As formações primárias secundarizadas seguem-se às primárias, localizando-se geralmente até aos 1000 m e nalguns locais até aos 500 m. Nas áreas onde são encontradas, a temperatura é quente e a humidade elevada (“Obó mesotérico”) (Lains e Silva, 1958).

As formações secundárias são constituídas por matos, brenhas, matagais e pradarias. (Lains e Silva, 1958) e estendem-se da costa até aos 1200 m de altitude (Lains e Silva, 1958).

As formações artificiais incluem sobretudo as plantações (Lains e Silva, 1958).

¹ http://www.calacademy.org/research/guinea_islands/

Quanto à fauna, não são muitos os levantamentos efectuados nestas ilhas. Os primeiros contributos deverão ter sido fornecidos por C. Weiss em 1847, Grief em 1884, Moller em 1885, Francisco Quintas, Francisco Newton, Ch. Gravier e A. Chevalier¹.

No que respeita a répteis marinhos, estas ilhas têm importância como local de nidificação de tartarugas como acontece em São Tomé com *Chelonia mydas*, *Caretta caretta*, *Lepidochelys olivacea*, *Dermochelys coriacea* e *Eretmochelys imbricata*. No entanto ao contrário do que acontece noutras latitudes o homem é nestas ilhas a principal ameaça destes répteis (Graff, 1996), quer através da extracção de areias onde são efectuadas as posturas, mas também através da sua acção predatória directa sobre os ovos e tartarugas.

A ilha de Annobon tem sido muito pouco visitada por ser de difícil acesso. O que se sabe é muito antigo, ou é informação oriunda de relatos ocasionais ou esporádicos². Pouco se sabe sobre a sua fauna de vertebrados, nomeadamente de répteis.

5.2. Colheita das amostras

Um dos passos deste trabalho envolveu a utilização da PCR. Esta é importante porque requer pouca quantidade de material biológico (Laurent, 1993), não sendo necessário sacrificar animais desnecessariamente, o que em espécies ameaçadas seria impraticável. Dado que os répteis das famílias Gekkonidae, Lacertidae e Scincidae têm a capacidade de autotomização da cauda, como mecanismo de defesa, foram utilizadas com elevada frequência as pontas das caudas para extracção de DNA.

Os espécimes usados neste trabalho foram provenientes de missões científicas levadas a cabo a Cabo Verde, Guiné-Bissau e São Tomé e Príncipe de 2000 a 2003 no âmbito da Universidade da Madeira. Usaram-se igualmente espécimes de colecções de museus de outras instituições, sobretudo para completar as colecções locais para os quais a recolha no campo se revelou impossível de efectuar. Outras amostras foram ainda fornecidas por terceiros. Todo o material usado estava perfeitamente identificado, quer em relação à sua origem quer à data de colecta, bem como estavam identificados do ponto de vista taxonómico.

O material recolhido nas missões e utilizado neste trabalho está depositado no Departamento de Biologia da Universidade da Madeira e com números de colecção que estão disponíveis no catálogo da colecção e que portanto nós dispensamos de apresentar aqui.

¹ <http://www.triplov.com/>

² <http://angelicus.netliberte.org/articles/atl/atlant.htm>

5.3. *Extracção, amplificação e sequenciação do DNA das regiões em estudo*

A extracção do DNA genómico foi efectuada segundo protocolos baseados em metodologias que utilizam solventes orgânicos, nomeadamente fenol-clorofórmio (ver Hillis *et al.*, 1996b; Keller & Manak, 1989; Werman *et al.*, 1990).

Os fragmentos de DNA escolhidos para estudo, mitocondriais e nucleares, foram amplificados fazendo recurso da PCR (“Polymerase Chain Reaction”, ver procedimento e princípios em Birt & Baker, 2000; Taylor, 1991). As reacções de PCR seguiram igualmente os procedimentos e metodologias universalmente usados na maior parte dos laboratórios de biologia molecular (Erlich *et al.*, 1991; Erlich & Arnheim, 1992). As condições de amplificação dos fragmentos incluídos neste estudo foram efectuadas com temperaturas de “annealing” da reacção de PCR ajustadas ou alteradas em relação ao descrito na literatura e são apresentados na Tabela 8.

Gene/região	Condições de amplificação	Gene/região	Condições de amplificação
12S rRNA	4 min a 94° 30s a 94° 30s a 50° 35 ciclos 30s a 72° 5 min 72°	Enolase	4 min a 94° 30s a 94° 30s a 50° 35 ciclos 30s a 72° 5 min 72°
16S rRNA	5 min a 85° 35s a 94° 35s a 50° 35 ciclos 1 min a 72° 5 min 72°	<i>C-mos</i>	3 min a 94° 25s a 94° 55s a 50° 40 ciclos 40s a 70° 3 min 72°
Citocromo b Curto	4 min a 94° 30s a 94° 30s a 52° 35 ciclos 30s a 72° 5 min 72°	CR	30s a 94° 30s a 60° 35 ciclos 2 min a 70°
Citocromo b Longo	5 min a 85° 40s a 94° 50s a 50° 35 ciclos 2 min a 72° 5 min 72°	Reacção de sequenciação	4 min a 94° 10s a 96° 5s a 50° 30 ciclos 4min a 60° 10 min a 60°

Tabela 8. Temperaturas e durações das várias fases da reacção para os diferentes genes utilizados

No presente trabalho adoptamos geralmente os primers indicados na literatura para cada fragmento e discriminados na Tabela 9. Alguns foram redesenhados pois chegou-se à conclusão que os publicados davam maus resultados para certos *taxa*. Os novos primers são também incluídos na Tabela 9 e estão devidamente referenciados.

Para mais pormenores sobre a sequenciação, ver procedimentos em Brown (1994).

Os fragmentos amplificados foram depois sequenciados num sequenciador automático (ABI PRISM 310, Applied Biosystems).

Sequência do Primer	Código do Primer	Gene	Tamanho do fragmento (bp)	Autor
5'-ctgggattagatacccta-3' ver 5'-tgaggagggtgacggcggt-3'	12Sa 12Sb	12S rRNA	~370	Baseado em Kocher <i>et al.</i> , (1989)
5'-ccatccaacatctcagcatgatgaaa- 3' 5'-ccctcagaatgaatgatattgtcctca-3'	Cytb1 Cytb2	Citocromo b	~320	Baseado em Kocher <i>et al.</i> , (1989)
5'-ccatccaacatctcagcatgatgaaa- 3' 5'-ggcaaataggaartatcattc- 3'	Cytb1 Cb3h	Citocromo b	~690	Baseado em Palumbi <i>et al.</i> , (1991); cytb1 é semelhante ao do Kocher <i>et al.</i> (1989)
5'-tgaggacaataatcattytgrgg-3'	P1	Citocromo b	---	Desenhado pela nossa equipa
5'-cgcctgtttaacaaaacat-3' 5'-ccggtctgaactcagatcacg-3'	16SL 16SH	16S rRNA	~520	Baseado em Simon <i>et al.</i> , (1990)
5'-taaccacgtgaagaaa-3' REVER 5'-tgaccatccaaagtctccaatc-3' REVER	G73 G74	<i>C-mos</i>	~370	Saint <i>et al.</i> , (1998)
5'-tggacttcaaatccccgatgccacc-3' 5'-ccaggcaccctcactctctggcgtcaaa-3'	EnoL731 EnoLH912	Alfa Enolase	~225 Muito variável	Baseado em Friensen <i>et al.</i> , (1997)
5'-ctgcactctccacatcggacg-3' 5'-aagttttcactttagtctctggcgg-3'	cBL 12L	Control Region	~3100	Desenhados pela nossa equipa

Tabela 9. Primers utilizados para a amplificação dos fragmentos de genes mitocondriais e nucleares. (~ = aproximadamente).

5.4. Análise Filogenética

Foi nosso principal objectivo efectuar uma análise filogenética com base no máximo número de genes possível e aplicando métodos e algoritmos filogenéticos que servirão para testar as nossas hipóteses filogenéticas.

5.4.1. Alinhamento múltiplo das sequências

O alinhamento das sequências nucleotídicas dos ácidos nucleicos é um passo inicial crítico nos estudos de evolução molecular ou filogenéticos (Hickson *et al.*, 2000; Miyamoto & Cracraft, 1991). É o processo de procura das homologias e é fundamental na reconstrução das árvores (Funk & Brooks, 1990; Miyamoto & Cracraft, 1991; Mindell, 1991; Phillips *et al.*, 2000; Schuler, 2001). Com a melhoria das técnicas de sequenciação, maiores sequências vão sendo obtidas e com isto um aumento na complexidade do alinhamento dessas sequências. A situação complica-se ainda mais quando se consideram sequências muito divergentes (Hein & Stovlbaek, 1994; Hickson *et al.*, 2000). Nesta situação o alinhamento torna-se difícil e pode não ser adequado ou não reflectir as relações históricas. Por este motivo vários programas informáticos de alinhamento surgiram (Hickson *et al.*, 2000).

Phillips *et al.* (2000) referem três aspectos para a reconstrução do alinhamento filogenético: (1) definição dum critério de optimização para alinhamento; (2) a utilização consistente de pressupostos na análise do alinhamento e das reconstruções filogenéticas; e (3) o exame dos pressupostos através de análises que examinam a robustez das conclusões.

Dado que o alinhamento procura minimizar as não-homologias, a parsimonia parece ser o critério de otimização mais lógico para o alinhamento. Este inclui muitas vezes a construção do cladograma de tamanho mínimo que deverá, por definição, diminuir a não homologia (Phillips *et al.*, 2000).

O alinhamento complica-se com o aparecimento de zonas ricas em indel's (inserções e deleções) como é o caso de alguns dos genes utilizados por nós, ou quando as sequências não estão muito conservadas, o alinhamento torna-se ambíguo. As estruturas secundárias tornam necessário efectuar o alinhamento através de inspecção visual (manualmente). Em alternativa, é aconselhável pura e simplesmente eliminar as zonas de alinhamento ambíguo porque podem não ser posições ou zonas homólogas ou podem estar sujeitas a saturação por múltiplas substituições (Castresana, 2000; Gatesy *et al.*, 1993; Harris *et al.*, 1999b; Randi, 2000).

Wheeler *et al.* (1995) propõe uma forma de ultrapassar a situação, atribuindo menos peso às posições ambíguas. Hickson *et al.* (2000) testaram a performance de vários programas de alinhamento múltiplo em cinco *taxa* de vertebrados e cinco de invertebrados no 12 S rRNA. A performance baixava quando toda a sequência incluindo os indels era considerada. Clustal W, Divide, Conquer e Treealign foram os “softwares” que deram melhores resultados quando as “gap costs” aumentavam (Hickson *et al.*, 2000). Nos alinhamentos feitos por computador, a maioria dos algoritmos contemplam o estabelecimento dum valor ou probabilidade de alinhamento (Waterman *et al.*, 1991; para mais pormenores sobre programas de alinhamento ver também Schuler, 2001).

Para o alinhamento das sequências em todos os nossos estudos adoptamos uma estratégia mista, a utilização de um programa (clustal W, Thompson *et al.*, 1994; clustal X, Thompson *et al.*, 1994) aliado ao alinhamento manual. O alinhamento manual é relativamente fácil quando as sequências são mais ou menos semelhantes.

Os indels resultam do alinhamento de sequências de tamanhos distintos durante a pesquisa de homologia. Vistas como estados de caracteres originados de determinados eventos (mutações), uma posição com indel contém informação histórica que pode ser utilizada na análise filogenética (Giribert & Wheeler, 1999).

Observa-se muitas vezes nos programas a alusão a “unit gap cost” que é o custo para aumentar o tamanho da gap em uma base; e a “open gap cost” que é o custo para abrir uma gap na sequência (Mindell, 1991).

5.4.2. *Sobre os caracteres*

Os caracteres são geralmente categorizados como sendo não variáveis se não produzem ou fornecem qualquer informação relevante para a construção de uma filogenia. São não informativos caso variem apenas num único indivíduo ou unidade taxonómica e finalmente são informativos se são polimórficos em pelo menos dois indivíduos. Os caracteres são igualmente divididos em ancestrais (subdivisíveis em primitivos e plesiomórficos), derivados (apomórficos) e compartilhados (que ainda se sub-dividem em simplesiomórficos se compartilham com o caractere primitivo ou sinapomórficos se compartilham com o derivado).

As simplesiomorfias não definem com rigor os grupos porque os *taxa* não perdem o estado ancestral de acordo com um padrão hierárquico. As simplesiomorfias podem sugerir diferentes (conflituosos) padrões hierárquicos ou seja, topologias. Podem ser filogeneticamente fracas ou insuficientes. Pelo contrário, as sinapomorfias definem os grupos dentro duma hierarquia sendo filogeneticamente informativas e sem conflitos.

Havendo dois caracteres homólogos encontrados num grupo, consideramos que é caractere ancestral se existir num “outgroup” enquanto que o caractere encontrado só no grupo é considerado um caractere derivado.

A análise da compatibilidade dos caracteres é importante na filogenética (Estabrook, 1984; Meacham, 1984). Os métodos filogenéticos podem assim produzir filogenias menos correctas devido à diferente composição de bases entre as linhagens em jogo (Bussche *et al.*, 1998). Aliás, muitos factores podem alterar as topologias obtidas tais como a heterogeneidade na taxa de substituição entre as linhagens, a taxa de mutação, simetria na substituição de nucleótidos, e a composição de nucleótidos como já anteriormente referido.

Muitas vezes as estratégias de atribuir diferente peso aos caracteres têm sido utilizadas para diminuir ou remover a homoplasia, e é lógico que assim seja com o intuito de manter a congruência com a partição dos dados. Incongruência entre as posições dentro dos codões do mesmo gene pode ser pior do que a incongruência entre genes em posições análogas dos codões (Vidal & Lecointre, 1998).

No DNA mitocondrial, as terceiras posições dos codões comportam-se muito distintamente em termos de congruência entre diferentes genes, mas em vez de se retirarem posições, é preferível a retirada das substituições que são incongruentes (Vidal & Lecointre, 1998). Devido ao elevado teor de variação entre posições que se faz sentir particularmente no gene mitocondrial 12S (e que é moderada no citocromo b), pode levar a análises filogenéticas

menos correctas (Sullivan *et al.*, 1995). Nesta área da filogenética, assume particular importância a determinação da polaridade dos caracteres, sob a qual recaem particulares cuidados (Stuessy & Crisci, 1984).

5.4.3. O que se entende por Homoplasia ?

Um caractere mostra homoplasia se um estado do caractere evoluiu mais do que uma vez ou seja, um caractere é partilhado por 2 grupos, mas não por todos os ancestrais entre eles e o seu mais recente ancestral comum. São similaridades em qualquer caractere que não são sinapomorfias (ex: evolução convergente, inclui também simplesiomorfias em caracteres variáveis). A homoplasia não é distribuída hierarquicamente, o que pode gerar muitos cladogramas filogeneticamente pouco informativos (Futuyma, 1986). A homoplasia pode ser produzida por evolução paralela ou por reversão evolutiva (“evolutionary reversal”) sendo que estas últimas são mudanças evolutivas que consistem no retorno ao estado ancestral (Figura 19).

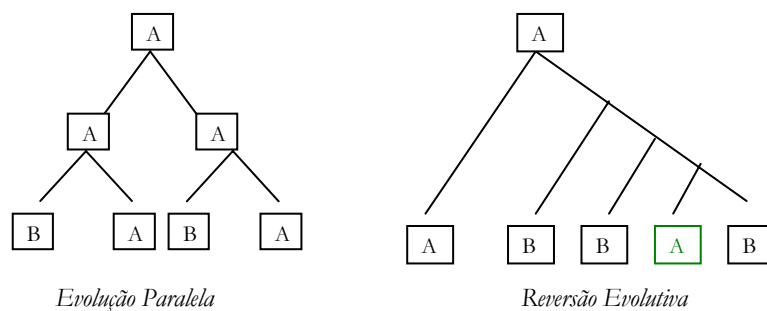


Figura 19. Cladogramas onde se representam os dois tipos principais de homoplasia.

A homoplasia pode ser estimada. A utilização do índice de consistência (CI – Consistency Index) e do índice de retenção (RI; Farris, 1989, 1990) são formas de obter essa estimativa e foram utilizadas por nós como medidas de aferição. O índice de consistência (CI; Kluge & Farris, 1969) está contudo dependente do número de *taxa* e do número de caracteres (Forey *et al.*, 1992). Segundo Hedges & Bezy (1994), é uma medida da quantidade do conflito entre caracteres (homoplasia) numa árvore de parsimonia. Ainda segundo estes autores o índice pode ser inflacionado com a adição de caracteres não informativos, estando também relacionado com o número de *taxa* e de caracteres utilizados.

O melhor valor do CI é 1, quando os dados e a árvore estão em completa sintonia, isto é, a árvore representa completamente os dados e é dado pela fórmula.

$$CI = \sum (x_i - 1) / L$$

n – é o número de caracteres, x número de estados do caractere i, L número mínimo de mudanças na árvore

$$\text{ou } CI = M/S$$

M- número total de mudanças de caracteres esperados dado um conjunto de dados, S- número actual (observado) de mudanças que ocorrem na árvore.

Outro índice é o de retenção (Farris, 1989) e é dado pela fórmula.

$$RI = (G-S)/(G-M)$$

S e M – significado semelhante ao referido para o CI, G – maior número de passos que pode ter um cladograma

e a melhor árvore é obtida quando RI está próximo de 1.

5.4.4. Homologia

O objectivo final em filogenética, o que na realidade se procura, são as homologias. É assim fundamental discernir entre as homologias e analogias ou homoplasia. O conceito de homologia repousa na ideia de que dois caracteres partilham de um ancestral comum. Caracteres homólogos partilham caracteres comuns dos ancestrais mais recentes. Ou seja, estamos perante uma homologia quando as características são similares entre grupos porque foram herdadas dum ancestral comum e daí podermos usá-las para extrapolar as relações entre grupos. Quanto mais distantes do ponto de vista evolutivo forem os grupos menor serão as homologias (Freeman & Herron, 2004; Futuyama, 1986; Mindell & Meyer, 2001).

O conceito relativamente recente de evolução reticulada tem trazido alterações ao conceito de homologia. Assim, introduz por exemplo, ramos horizontais em árvores bifurcantes e fornece portanto relevância maior às transferências laterais de genes processo em que o conceito de homologia já não se ajusta ao tradicional (Mindell & Meyer, 2001).

5.4.5. Árvores Filogenéticas

A árvore é uma representação bidimensional que mostra as relações evolutivas entre os organismos. No entanto houve quem tentasse criar um algoritmo para a representação tridimensional de árvores filogenéticas e estimular o seu uso como complemento à interpretação da representação bidimensional (Pinou *et al.*, 1996). Defendida para espécies próximas, o principal problema parece residir na interpretação da terceira dimensão. O

ângulo formado deveria indicar a separação entre duas espécies e o plano definido a trajetória evolutiva (Pinou *et al.*, 1996).

Existem basicamente os cladogramas que indicam a posição relativa dos organismos sem nos indicar tempos de divergência (nós terminais estão ao mesmo nível), os filogramas que nos dão a posição relativa dos organismos e nos permite saber os tempos de divergência das linhagens e não pressupõe igualdade de divergência para todas as árvores, e ainda as árvores ultramétricas que são semelhante aos filogramas mas pressupõe que dois *taxa* divergentes a partir dum nó apresentem tamanhos de ramos idênticos

Uma árvore ou topologia filogenética é um gráfico composto de nós e ramos (“branches”), em que um liga dois nós adjacentes. Cada um destes nós representa uma unidade taxonómica e os ramos definem as relações entre as unidades em termos de ascendência-descendência. A topologia é portanto um termo que se refere ao padrão dos ramos.

O tamanho dos braços da topologia (“branch lengths”) num filograma fornece importante informação sobre o tempo e a extensão da separação entre os *taxa*, sendo proporcional ao número de mutações ocorridas. Uma análise correctamente efectuada da história evolutiva de qualquer grupo depende da estimativa dos “branch lengths”. No entanto, em muitos casos a estimativa destas medidas está mal definida (Corneli & Ward, 2000). Por exemplo, quando os ramos são muito pequenos ou inexistentes e existe uma uniformidade entre várias formas de determinada ilha podemos estar perante uma espécie introduzida pelo homem (Avice, 2000; Vences *et al.*, 2004). Longos ramos em espécies relacionadas e simpátricas poderá querer indicar a evolução de mecanismos de isolamento eficazes que impedem a introgressão do DNA apesar das muitas oportunidades de hibridização (Lovette & Bermingham, 1999). A distribuição dos tamanhos das árvores pode dar indicações preciosas sobre o modelo de filogenia (Hillis, 1991). Existe um fenómeno designado por “Long –Branch attraction” que pode contribuir para histórias filogenéticas erradas ou menos correctas (ver Philippe & Germot, 2000) e que pode ser devido à taxa de variação ou à amostragem inadequada (Harris *et al.* 1999b). Braços longos terminais, maiores que os internos poderão indicar também uma rápida cladogénese.

As árvores deverão ter uma raiz para se possível determinar a polaridade dos caracteres e dos grupos. Uma árvore sem raiz não nos permite estimar a polaridade (Figura 20).

Na filogenia em geral, existem várias ferramentas para criar uma raiz que incluem padrões de desenvolvimento, registo fóssil e análise de “outgroups” que nos diz directamente respeito tendo em conta o conteúdo deste trabalho. A escolha de outgroups deve ser cuidadosa. Devendo ser escolhidos grupos relacionados e mais próximos do ancestral possível do “ingroup”.

A determinação da raiz pelo uso de um “outgroup” cria um dilema. Se muito próximo do “ingroup” pode levar à exclusão de algum membro do “ingroup”. Se muito distante pode ter uma grande divergência de tal forma que a ligação ao “ingroup” está sujeita ao já mencionado fenómeno de “Long-branch attraction” (Brinkman & Leipe, 2001).

Numa topologia com raiz (Figura 21), existe um nó particular chamado justamente de raiz (D), a partir da qual uma única “passagem” leva a outro nó. A topologia mais parsimoniosa é aquela que mostra menor número de mudanças para explicar os dados.

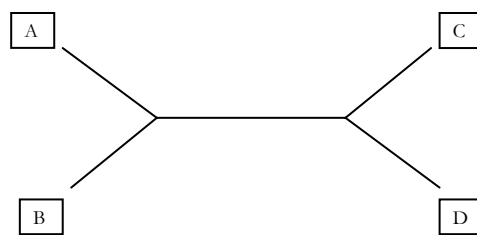
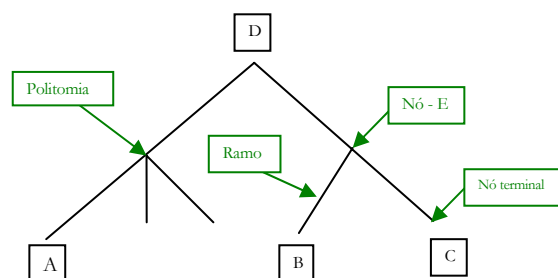


Figura 20. Topografia numa árvore filogenética sem raiz.



A,B,C- são nós externos; D,E- são nós internos

Figura 21. Topografia numa árvore filogenética com a designação dos principais aspectos da ramificação (ver por exemplo Brinkman & Leipe, 2001).

A topologia de uma árvore pode dizer-nos muito sobre os processos evolutivos que caracterizam o conjunto dos *taxa* que nela estão incluídos. Assim, uma árvore muito assimétrica parece sugerir que a probabilidade de extinção e especiação difere nas diferentes linhagens (Losos & Adler, 1995). A árvore de partida para testar as árvores obtidas, ou o

modelo nulo assume que a especiação ocorre com a mesma intensidade em todos os ramos das árvores (ver artigo de Losos & Adler (1995), para melhor entendimento da problemática). A topologia e o tamanho dos ramos das árvores combinado com as estimativas do tempo de divergência é muitas vezes utilizada para gerar hipóteses sobre a direção e sequência de colonização das ilhas (Warren *et al.*, 2003).

A topologia filogenética poderá sugerir há quanto tempo as linhagens ou grupos divergiram, se foram alvo de introduções pelo homem (divergência extremamente recente, ou falta desta) ou sofreram processos de dispersão trans-marinha. Podem ainda sugerir a direção do movimento, dado que a filogenia de espécies na área de origem é muitas vezes parafilética em relação aos subgrupos que aparecem por invasão da segunda área (Carranza & Arnold, 2003). Fornece também informação sobre o número de invasões e dá-nos também uma ideia de quando aconteceram. A maior evidência para uma invasão traduz-se pela presença dum único grupo numa área invadida que derivou dum conjunto parafilético na área de origem. As múltiplas invasões determinam geralmente a existência de vários grupos distintos na área invadida. Adicionar novas espécies da fonte de origem à análise filogenética parece não perturbar o caso de introduções múltiplas, apesar de poder aumentar o número de eventos de colonização. Contudo o grau de amostragem pode determinar ideias erradas sobre o número de eventos de colonização (Carranza & Arnold, 2003). Num estudo filogenético, uma conclusão de múltiplas colonizações é muitas vezes mais segura do que de uma única colonização (Carranza & Arnold, 2003).

Se todas as espécies dum grupo são igualmente susceptíveis de especiar ou se tornarem extintas, as árvores podem assumir uma tipologia simétrica ou assimétrica. A variação entre espécies em especiação e taxas de extinção podem igualmente causar assimetria excessiva a qual pode ser testada por testes não paramétricos que avaliam o acaso ou não da topologia da árvore (Kirkpatrick & Slatkin, 1993). Numa árvore assimétrica com duas espécies, apenas uma das duas espécies descendentes continua a especiar após o momento de separação. Numa topologia simétrica todas as linhagens participam na cladogénese (Kirkpatrick & Slatkin, 1993).

Um desvio ao processo de formação dos clados (“random branching”) numa árvore genética, deverá indicar um desvio da neutralidade e/ou existência de panmixia na população. Uma rápida especiação pode ser evidenciada pelo baixo valor de suporte dos nodos (“bootstraps”) e pequenos ramos das árvores separando as principais linhagens (Kimball *et al.*, 1999). Radiações adaptativas recentes e rápidas são disso exemplo. Introgressão de genes

poderão ocorrer antes da evolução do isolamento efectivo ou polimorfismos presentes no último ancestral comum deverão ser separados aleatoriamente nas múltiplas linhagens descendentes. Eventos de especiação próximos não deverão ter, muitas vezes, muitas sinapomorfias especialmente se esses eventos ocorreram relativamente cedo na história do grupo (Lanyon, 1988) e conseqüentemente os valores de suporte indicarão baixos níveis de confiança na hipótese filogenética

Radiações adaptativas recentes dão árvores filogenéticas com baixa resolução e uma filogenia cuja topologia toma a forma de estrela (“Star-Like”) (López-Fernandez *et al.*, 2005; Scott *et al.*, 2003). Nestas condições os tamanhos dos ramos basais não são significativamente diferentes de zero.

5.4.6. Topologias de genes versus topologias de espécies

Muitas vezes as topologias construídas com base em sequências de DNA (de um gene por exemplo) podem não ser semelhantes às topologias das espécies construídas com base noutros marcadores. De acordo com Nei (1991) a probabilidade das topologias génicas e das topologias baseadas nas espécies serem diferentes é alta quando as espécies são muito polimórficas ou quando a separação é recente. É aconselhável portanto incluir no estudo o maior número possível de genes.

As filogenias baseadas no DNA mitocondrial representam na verdade topologias de um ou mais genes a qual pode não ser congruente com a equivalente topologia das espécies. Uma solução para obter uma aproximação à topologia “real” é incluir *loci* independentes do genoma nuclear (Giannasi *et al.*, 2001).

As sequências moleculares têm a limitação de identificar topologias génicas e que não podem nem devem ser confundidas com as topologias dos respectivos *taxa*. Apesar deste factor contra, os estudos filogenéticos podem ser extremamente úteis no registo da riqueza específica, independentemente do conceito de espécie considerado (Brower *et al.*, 1996). No nosso caso e sempre que possível incluímos genes mitocondriais e nucleares como já descrevemos antes.

5.4.7. Noção de grupo monofilético, parafilético e polifilético

Um grupo de *taxa* monofilético inclui o seu ancestral comum mais recente e todos os seus descendentes (Farris, 1974). No caso do ancestral comum mais recente não incluir todos os descendentes, dizemos que estamos em presença de um grupo parafilético. Um grupo

polifilético é constituído por grupos que não se encontram ligados por um ancestral comum mais recente (Farris, 1974) (Figura 22).

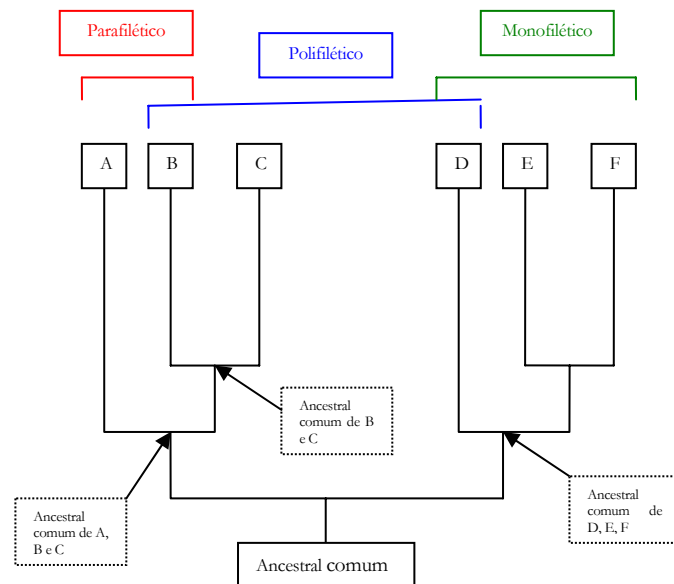


Figura 22. Representação dos fenómenos de polifilia, parafilia e monofilia.

5.4.8. Principais métodos utilizados na análise filogenética para a construção de árvores filogenéticas

A análise filogenética engloba geralmente quatro fases fundamentais (Brinkman & Leipe, 2001): (1) alinhamento das sequências; (2) determinação do modelo de substituição; (3) construção da árvore e (4) avaliação da árvore.

Os modelos inerentes aos métodos filogenéticos apresentam geralmente os seguintes pressupostos (Brinkman & Leipe, 2001):

- 1- As sequências estão correctas e originam-se nas fontes especificadas.
- 2- As sequências são homólogas (descendentes duma sequência ancestral comum).
- 3- Qualquer posição numa sequência num alinhamento de sequências é homóloga com a mesma posição de todas as outras sequências.
- 4- Cada uma das sequências múltiplas incluídas numa análise tem uma história filogenética comum com as outras (isto é, não há misturas de sequências organelares e nucleares).
- 5- A amostragem é adequada para resolver o problema em questão.
- 6- A variação das sequências é indicativa da “largura” do grupo em causa.

7- A variabilidade das sequências na amostra contém sinal filogenético adequado para resolver o problema em questão.

Nos trabalhos incluídos na presente dissertação a construção das árvores foi realizada com os programas MEGA 2.1 (Kumar, *et al* 2001) e PAUP 4.0b10 (Swofford, 2002). O teste dos 56 modelos de substituição nucleotídica foi realizado essencialmente com o Modeltest (versão 3.6) (Posada & Crandal, 1998).

Existem numerosos métodos à disposição para aplicação a um conjunto de dados de sequências de DNA. Uns são considerados sempre que os dados estão convertidos em distâncias e são: UPGMA (Sneath & Sokal, 1973), Método das Distâncias Transformadas (TD) (Farris, 1977), Neighbour Joining (Saitou & Nei, 1987), Método de Fitch & Margoliash (FM) (Fitch & Margoliash, 1967), Método da Mínima Evolução (ME) (Edwards & Cavalli-Sforza (1963), transformado por Saitou & Imanishi (1989) usando a aproximação de Fitch & Margoliash), Método das Distâncias de Wagner (Farris, 1972), “Neighborliness Method” (ST) (Fitch, 1981).

No caso dos dados analisados serem de natureza discreta (ex: sequências de DNA), os métodos ao dispor do investigador são geralmente os seguintes: Máxima Parsimonia (MP) (Fitch, 1971) ou método de parsimonia de Wagner (Farris, 1970), Método de parsimonia evolutiva (EP) (Lake, 1987) e “Maximum likelihood” (Felsenstein, 1981).

O principal objectivo de todos estes métodos é a obtenção duma árvore que é a hipótese para a reconstrução filogenética dos grupos de *taxa* em estudo. A produção duma hipótese filogenética implica um primeiro passo que consiste na aplicação de um método de inferência filogenética, como “minimum evolution”, análise de parsimonia, “maximum likelihood” ou “bayesian analysis”. Após este passo inicial é possível o cálculo do suporte interno para discriminar os grupos com sinal filogenético claro e os fracamente suportados. Vários métodos foram propostos para a determinação do suporte interno, mas as técnicas de re-amostragem como o “bootstrap”, “Jackknife”, “Decay Index”, “Branch swapping by tree bisection and reconnection” são as vulgarmente mais utilizadas (ver Salamin *et al.*, 2003).

Nenhum dos métodos citados é isento de pontos fracos (Huelsenbeck & Hillis, 1993). A eficiência dos vários métodos vai depender de vários factores como a forma da árvore, o número de substituições nucleotídicas, a razão entre número de transições e número de transversões, ou a taxa variável de substituição nucleotídica (Nei, 1991). A probabilidade de obter a verdadeira filogenia vai pois depender de vários factores como o

tamanho do conjunto de dados (número de *taxa* e de caracteres, topologia da árvore verdadeira, taxa de mudança dos caracteres, método de análise, etc.) (Hedges & Bezy, 1994).

Os métodos e modelos da análise filogenética que se utilizam actualmente são muito variados e a sua utilização depende dos dados a analisar. É aconselhável começar pela escolha dum critério de optimização que implica seleccionar uma estratégia de busca para gerar uma série de árvores (Tabelas 10 e 11), sob as quais vai actuar o critério de optimização de forma a permitir obter a melhor árvore (Ver Holder & Lewis, 2003; Lewis, 2001).

Critério	Dados	Baseado em Modelos ?
Parsimonia	Discretos	Não
“Likelihood”	Discretos/contínuos	Sim
“Minimum evolution”	“Pairwise distances”	Sim
“Least squares”	“Pairwise distances”	Sim

Tabela 10. Os diferentes critérios de optimização

Estratégia	Tipo de estratégia
“Stepwise addition”	Algorítmica
“Star Decomposition”	Algorítmica
“Exhaustive Enumeration”	Exacta
“Branch & Bound”	Exacta
“Branch swapping: NNI, SPR, TBR”	Heurística/Sistemática
“Genetic Algorithm”	Heurística/Estocástica
“Markov Chain Monte Carlo”	Heurística/Estocástica

Tabela 11. Tipo de estratégias de busca de árvores ou da melhor hipótese

Das várias estratégias de busca (ver Brinkman & Leipe, 2001 Funk & Brooks, 1990; Swofford & Olsen, 1990) as procuras exaustivas (“Exhaustive search”) examinam todas as árvores possíveis e é praticamente impraticável quando temos muitos *taxa*. O número de árvores cresce tão rapidamente que a partir 12 ou 13 *taxa* a análise se torna tecnicamente irrealizável (por exemplo existem 2×10^6 possíveis árvores para apenas 10 *taxa* (Swofford & Olsen, 1990)). É a estratégia que fornece sem qualquer dúvida a melhor árvore.

Outra estratégia de busca similar é a “Branch-and-Bound” apesar de estar limitada quando o número de *taxa* é superior a 25. Embora possa ser utilizada com outros critérios de optimização, ela é melhor explicada no contexto da parsimonia (Holder & Lewis, 2003; Lewis, 2001). No fundo é semelhante à técnica anterior, mas vai havendo uma eliminação das árvores menos prováveis à medida que se adicionam os *taxa* (Swofford & Olsen, 1990).

Outra técnica de busca é a “Heuristic Search”. Começa com a mesma árvore (quer seja a árvore ao acaso “random tree” quer a “stepwise addition tree”) e esta sofre uma série de colapsos dos ramos de modo a recuperar as melhores árvores. Não há garantias desta recuperação mas os resultados costumam ser bons e é difícil encontrar exemplos em que esta

procura deu diferentes resultados duma procura exaustiva. É aconselhável efectuar várias “Heuristic seach”, cada uma começando de diferentes pontos de partida (Ver Holder & Lewis, 2003; Lewis, 2001).

Como vimos, existem vários métodos para inferir filogenias, sendo os principais os métodos de distâncias, a parsimonia e a “maximum likelihood”. Os métodos de distâncias são aproximações a uma “likelihood” plena, e é assim menos desejável quando é possível realizar uma “maximum likelihood” (Hillis *et al.*, 1996a,b). Análises simuladas revelaram que o método da máxima parsimonia (“Maximum Parsimony”) é um método menos eficaz na reconstrução filogenética do que os “likelihood methods” quando a complexidade dos processos de substituição nucleotídica é incluída no modelo (Yang, 1996a). O conhecimento do padrão de substituição nucleotídica é importante quer para a compreensão da evolução molecular das sequências quer para a estimativa das relações filogenéticas (Yang, 1994a), e a análise deverá então ter em conta os tamanhos dos ramos (“branch lengths”), relação entre transições e transversões (Ts/Tv) e variação entre sítios da sequência (“among-site variation”) (Hillis *et al.*, 1996a,b).

O rigor da estimativa das distâncias é muito importante na reconstrução filogenética. Uma árvore baseada em distâncias poderá ser inconsistente se as distâncias forem mal calculadas, se o modelo de substituição, ou o método de cálculo das distâncias forem mal escolhidos (Zharkikh, 1994). Quando se estimam as relações filogenéticas entre sequências assume-se um determinado modelo de evolução, pelo que a escolha do modelo a usar para os dados que possuímos é um problema estatístico (Goldman, 1993).

A variação das taxas e substituição nucleotídicas entre posições e as diferentes probabilidades nas mudanças entre os quatro nucleótidos foram parâmetros um pouco esquecidos no passado. Quando estas variações existem mas são ignoradas, os desequilíbrios entre as taxas de substituição são subestimados. Portanto, é fundamental ter em conta estes parâmetros na análise. Alguns autores promovem vários modelos e fórmulas para que possam ser consideradas estas variações (ver Wakeley, 1994).

Com o desenvolvimento dos computadores e o aparecimento de novos modelos analíticos e evolutivos que incluem a complexidade da transformação dos caracteres (ou probabilidades), os custos de transformação por sítio (ex: diferentes custos entre transições e transversões e diferenças entre os tipos de transições e transversões, o custo das “indels”), a utilização de métodos e fórmulas que consideram o mesmo peso para todos os sítios têm

tido cada vez menos importância e sido cada vez menos utilizados. Portanto os modelos de transformação de caracteres deverão ser lógicos e naturalmente aplicados (Wheeler, 1993).

Segundo Nei (1991) e Swofford & Olsen (1990), o método de máxima parsimonia é tão eficiente como o “Neighbour Joining method” (NJ), o “Minimum evolution method” (ME) e o “Maximum likelihood” (ML), apenas quando o número de substituições nucleotídicas por site é pequeno e o número de nucleótidos usados é grande. Caso contrário o NJ, ME, e o ML são opções melhores independentemente de haver desequilíbrios na razão transições/transversões. Em muitos casos a árvore obtida com o NJ é semelhante à obtida com o ME. A vantagem do primeiro é o menor tempo que gasta na computação. O NJ poderá ser também vantajoso porque além da topologia fornece o tamanho dos ramos da árvore. Muitos investigadores não estão satisfeitos com o NJ porque só dá uma árvore (Nei, 1991). Considerando condições comparáveis, Huelsenbeck (1995), verificou que o “maximum likelihood” era geralmente superior e mais robusto do que o “neighbor joining”, mesmo quando se violavam alguns pressupostos.

Árvores construídas a partir de regiões codificadoras implicam a utilização de algoritmos e técnicas que tenham em conta as diferenças entre substituições sinónimas e não sinónimas. Enquanto que o modelo de evolução de Jukes-Cantor (Jukes & Cantor, 1969) assume que os quatro nucleótidos são igualmente frequentes e portanto a taxa de variação é igual em cada posição, outros modelos aplicam diferenças entre transições e transversões e diferentes frequências nucleotídicas e diferentes taxas de mutação consoante as posições, etc. É o caso dos modelos posteriores como o de “Kimura-2parameter” (Kimura, 1980) e o modelo GTR (“General Time-Reversible”) (Lanave *et al.*, 1984; Rodríguez *et al.*, 1990; Tavaré, 1986) que considera as diferenças nas frequências nucleotídicas mas também que as seis possíveis mudanças de nucleótidos ($A \leftrightarrow C$, $A \leftrightarrow G$, $A \leftrightarrow T$, $C \leftrightarrow G$, $C \leftrightarrow T$ e $G \leftrightarrow T$) apresentam diferentes taxas (Lewis, 2001; Swofford & Olsen, 1990).

Um melhoramento posterior está relacionado com a consideração da variação das taxas de substituição ao longo das posições (Churchill *et al.*, 1992; Gaut & Weir, 1994; Goldman & Yang, 1994; Yang, 1993, 1994a; 1994b; Yang & Nielsen 2000). Um dos métodos mais aplicados é o método discreto “gamma” que assume que as taxas relativas estão distribuídas de acordo com uma distribuição “gamma” com uma média de 1 e uma variância de $1/\alpha$, onde α define a forma da distribuição. Grandes valores de α significam uma baixa variância nas taxas relativas (isto é as taxas em todas as posições são equivalentes ou semelhantes). Quando α é muito baixo (ex: 0.01) a distribuição apresenta uma forma de L,

que significa que a maior parte das taxas são baixas, mas algumas são elevadas. Várias revisões importantes sobre a heterogeneidade das substituições ao longo das várias posições foram realizadas por Huelsenbeck & Crandall (1997), Swofford *et al.* (1996) e Yang (1996a).

De todos os métodos disponíveis, a nossa análise dos dados baseou-se praticamente nos métodos para os quais se fornece uma breve descrição.

5.4.8.1. Máxima Parsimonia (“Maximum parsimony”) (MP)

Segundo esta análise, a árvore correcta é aquela que requer o menor número de substituições (árvore mais pequena) para explicar os dados obtidos. É este o paradigma da parsimonia. É um critério de lógica e da procura do cladograma que possui menos convergências ou reversões (homoplasia) e maximiza as congruências (Brinkman & Leipe, 2001; Crother & Presch, 1994; Freeman & Herron, 2004; Swofford & Olsen, 1990).

Este método de análise filogenética faz parte da escola cladística para a análise de sequências de DNA (Farris, 1970; Kitching *et al.* 1998; Swofford & Olsen, 1990), que segue o princípio da parsimonia já praticamente enunciado (procura das árvores com menos mudanças) e cuja relevância para a sistemática filogenética é comentada por Kluge (1984).

Um dos problemas da MP é a inexistência dum modelo evolutivo associado, e algumas vezes são considerados pressupostos irrealistas quanto ao processo de substituição (Steel & Penny, 2000; Yang 1996b). Por isso alguns autores sugerem a sua não utilização em estudos do processo evolutivo (Yang & Goldman, 1996).

5.4.8.2. Probabilidade Máxima /Máxima verosimilhança (“Maximum Likelihood”) (ML)

Basicamente, este método está relacionado com o cálculo da probabilidade dos dados tendo em conta uma topologia e um modelo de evolução.

A escolha dum modelo de substituição correcto é um passo decisivo neste método de inferência filogenética (Piontkivska, 2004). Normalmente são utilizados os programas de software PAUP (Swofford, 2000) e Modeltest (Posada & Crandal, 1998). Este último é um programa que utiliza os valores de verosimilhança logarítmica (“log likelihood”) para estabelecer o modelo de evolução do DNA que melhor explica os dados (Posada & Crandall, 1998).

Para a escolha do modelo poderíamos utilizar os vários valores de $-\ln L$ (logaritmo do “likelihood”) obtidos com a experimentação de vários parâmetros de substituição (feito

automaticamente por muitos dos softwares disponíveis). No entanto, é comum utilizar o “Likelihood Ratio Test” para testar a significância da escolha.

O ML faz parte da escola probabilística para a análise de sequências. Na sua base está um modelo de evolução das sequências ao longo do tempo tendo cada mudança uma probabilidade associada e portanto o objectivo é encontrar a árvore mais provável de acordo com o modelo (Felsenstein, 1973; Goldman, 1990). É fundamental a utilização de modelos correctos (Bruno & Halpern; 1999; Goldman, 1990; Huelsenbeck & Crandal, 1997; Posada & Crandall, 1998; Steel & Penny, 2000; Sullivan & Swofford, 2001; Swofford & Olsen, 1990; Yang, 1997).

A ML é a aproximação mais geral à inferência estatística. Envolve a computação da “likelihood” da topologia com maior probabilidade de representar os dados observados. O “likelihood” é visto como função da árvore, e nós procuramos aquela árvore que maximiza o “likelihood”. A probabilidade da árvore tendo o conjunto de dados, é resultado duma análise posterior (*a posteriori*) (Felsenstein, 1984; Swofford & Olsen, 1990).

A ML tem sido ultimamente utilizada, principalmente devido ao desenvolvimento de hardware e software necessários. Parece ser um método melhor do que os outros, porque é menos sensível às oscilações em composição de bases, além de que entra em linha de conta com os modelos de evolução, com os modelos de substituição e permite a inclusão de parâmetros críticos na análise (Swofford *et al.*, 2001).

Muitas destas vezes, o aumento dos parâmetros, de dados e de complexidade introduzem um “ruído” enorme nas inferências estatísticas. Nestas condições os modelos mais complexos poderão não dar melhores topologias (Felsenstein, 1984; Piontkivska, 2004).

Geralmente começa-se por calcular uma árvore com o método do “Neighbour Joining” (NJ), e é a partir desta topologia que se calcula os valores de probabilidade (“likelihood scores”) para os vários modelos de evolução que são depois comparadas estatisticamente usando um teste de Qui-Quadrado com graus de liberdade iguais às diferenças entre os parâmetros livres dos modelos a serem testados (Harris *et al.*, 1999b).

Há certas premissas que constituem hipóteses nulas a serem testadas nesta forma e que incluem frequências nucleotídicas iguais, taxas de transição iguais às taxas de transversão, taxa de homogeneidade no conjunto dos dados, inexistência de uma proporção significativa de posições invariáveis.

Muitas vezes, após a escolha do modelo de evolução, uma árvore é estimada usando o método de “Maximum Likelihood” (Felsenstein, 1981) usando a adição aleatória de

sequências (“random sequence addition”), e uma procura heurística (“heuristic search”) com um mínimo de pelo menos 10 replicados. (Harris *et al.*, 1999b).

Segundo Huelsenbeck & Crandall (1997) um dos pontos fortes do “maximum likelihood” é a facilidade com que pode ser formulado e testado devido principalmente aos avanços recentes nos modelos de substituição, programas de computador e velocidade computacional.

O teste das hipóteses pode ser realizado com “bootstraps” e “likelihood ratio tests”. A aplicação de “likelihood ratio tests” (que no fundo se baseia no coeficiente entre o likelihood da hipótese nula e da hipótese alternativa) é relativamente recente (ver Huelsenbeck & Crandall, 1997 sobre os testes).

5.4.8.3. “Neighbour Joining” (NJ)

É um método de distâncias. Todos os possíveis pares de sequências são alinhados para determinar quais os pares mais próximos e quais os mais afastados. Este método pertence à escola fenética para a análise de sequências. Segundo esta, as várias sequências são agrupadas de acordo com a sua similaridade, de forma a minimizar o tamanho total dos ramos em cada nível de agrupamento das OTU’s, começando por uma topologia em forma de estrela (“star-like”) e frequentemente utilizando algum modelo para a transformação das bases. É talvez o método mais popular e usado em comparações infraespecíficas. Como afirmado anteriormente, começa por encontrar uma filogenia com topologia em estrela, minimiza as distâncias totais quando cada par de OTU’s é encontrado, o qual forma um novo nó na topologia até que todos os OTU’s estejam agrupados (Saitou & Nei, 1987, Nei, 1991).

O NJ parece ser menos eficiente quando o número de *taxa* aumenta e os ramos são curtos (Strimmer & Von Haeseler, 1996). Este método parece sensível à ordem em que a informação é introduzida no algoritmo e está desenhado para produzir apenas uma árvore e não tem em conta a qualidade da informação (Saitou & Nei, 1987; Farris *et al.*, 1996) sendo o seu aspecto mais fraco pois não fornece uma forma objectiva de ver o grau de suporte da árvore. O método é conceptualmente englobado na Análise Grupal (“Cluster analysis”). Não assume a mesma divergência para as diferentes linhagens. A análise começa com a união dos dois OTU’s mais próximos, e a seguir une os dois com outro mais próximo (Swofford & Olsen, 1990).

5.4.8.4. “Nested Clade Analysis” (NCA)

Esta técnica de análise tem sido aplicada a répteis como no estudo filogeográfico das víboras do bambo (*Trimeresurus stejnegeri*) na Tailândia (Creer *et al.*, 2001), nos teídeos da espécie *Ameiva chrysoleama* da Ilha Hispaniola (Gifford *et al.*, 2004), em *Lacerta schreiberi* da Península Ibérica (Paulo *et al.*, 2002).

O método foi inicialmente descrito por Templeton *et al.* (1995), sendo aplicado inicialmente para testar a significância de padrões geográficos. Desde os anos 20 do século XX que os geneticistas populacionais têm tido possibilidade de medir ou descrever a forma de como a variação genética está distribuída geograficamente dentro duma espécie (Templeton, 1998), sendo um dos métodos mais antigos a utilização do “F-Statistics” (Wright, 1931, 1951).

Templeton (1998) mostrou que a “Nested Clade Analysis” era mais forte e com mais poder de discriminação biológica do que a F_{st} no teste da hipótese nula da inexistência de associação entre a variação geográfica e a geografia. O F_{st} não discrimina entre forças recorrentes (ex: fluxo genético restrito) *versus* eventos históricos (ex: fragmentação), enquanto que a NCA consegue. O F_{st} também não incorpora a história evolutiva e por isso é um fraco substituto da NCA para testar associações filogeográficas (Templeton, 2002). A utilização do F_{st} antes do NCA é defendida no entanto por Petit & Grivet (2002).

A NCA fornece uma estatística objectiva para discriminar entre processos históricos (ex: expansão da área de distribuição, fragmentação) e recorrentes (ex: fluxo genético, deriva) que deverão explicar a variação genética observada (Gifford *et al.*, 2004). Esta análise considera além das diferenças genéticas, as diferenças geográficas ou espaciais entre os haplótipos. Importante é que esta análise poderá diferenciar entre associações filogeográficas devido ao restrito fluxo genético e eventos históricos que operam na população (Templeton, 1998).

Este método tenta extrair a importância de certas forças (como o fluxo genético), de eventos históricos (como a fragmentação ou ampliação da distribuição), através da sobreposição da distribuição geográfica dos haplótipos, ou grupos de haplótipos com as árvores filogenéticas obtidas. O espaço (geografia) e o tempo (árvore) são assim integrados na mesma análise. “Nested Analysis” é uma forma recente de verificar esta distribuição geográfica, com base em dados da biologia molecular. A hipótese nula é que os haplótipos ou clados de haplótipos estão distribuídos aleatoriamente pela área geográfica, ao contrário

daqueles que se agrupam formando “nested clades”. A força da hipótese nula é assumir a inexistência de sinal filogenético *a priori* dentro dos “nesting clades”. Também elabora pressupostos *a priori* sobre as causas biológicas de qualquer associação (Templeton, 2002).

O tempo é incorporado através da conversão da árvore numa hierarquia gradual mas sucessiva (“nested hierarchy”) de grupos (“branches”). Estas hierarquias reflectem as idades relativas de haplótipos ou grupos de haplótipos específicos. A idade do haplótipo ou grupo de haplótipos deve ser menor ou igual à idade do grupo (“clade”) onde estão inseridos. Se a árvore de haplótipos tem raíz, então um conjunto destas hierarquias sucessivas pode ser definido, na qual cada grupo é mais recente do que o grupo maior e imediatamente consecutivo onde se insere (“nested clade”). O principal objectivo da NCA é identificar a influência do papel do fluxo genético e dos eventos históricos na estrutura filogeográfica (Templeton, 2002).

Uma vez o cladograma transformado ou convertido numa série de grupos hierárquicos de haplótipos, a informação geográfica é quantificada quer directamente a partir de registos de longitude e latitude quer através de uma matriz de distâncias, em duas distâncias estatísticas. Assim a NCA quantifica a distribuição espacial dos haplótipos e grupos de haplótipos através de duas distâncias. A primeira é a distância do grupo, D_c (“clade distance”), a qual mede a amplitude geográfica de um grupo como sendo a distância média que um indivíduo com um haplótipo de um grupo fica do centro geográfico de todos os indivíduos portadores de haplótipos do mesmo grupo. A segunda medida é a “nested clade distance”, D_n , que quantifica a distância de um haplótipo ou grupo de haplótipos dos outros mais próximos evolutivamente, ou seja os outros grupos com os quais está conectado a um nível grupal imediatamente superior. O programa GEODIS realiza estes cálculos (Posada *et al.*, 2000). A distância de grupo mede a distância média que um indivíduo portador dum haplótipo dum grupo fica do centro geográfico de todos os indivíduos portadores de haplótipos do mesmo grupo. Resumindo, a “nested clade distance” mede a distância média dum indivíduo portador dum haplótipo dum grupo fica do centro geográfico de todos os indivíduos portadores de haplótipos do próximo nível hierárquico que contém o grupo em causa ou de interesse (Templeton, 1998). A árvore haplotípica é assim estimada pelo programa TCS (Clement *et al.*, 2000).

Inferências na NCA estão limitadas aos casos com associações geográficas com uma ou ambas medidas de distância. A hipótese nula é a da inexistência de associações geográficas. O próprio Templeton reconhece que a análise tem algumas limitações como a da

“Inference Key” original não considerar explicitamente a situação de contacto secundário após fragmentação das populações (Templeton, 2002). Templeton (2001) propõe assim estatística adicional que permite a inferência acerca do contacto secundário. Esta nova estatística está baseada mais na aproximação aos sítios de amostragem do que numa aproximação haplotípica, calculada com o programa GEODIS desenvolvido por David Posada e colaboradores (Posada *et al.*, 2000).

A significância estatística é determinada através de “random permutation tests” baseada na hipótese nula de distribuição geográfica aleatória para todos os grupos do “nesting clade”. Depois as associações estatisticamente significativas entre os grupos (“clades”) e a distância são interpretados à luz da chave de inferência de Templeton (1998). Esta chave de inferência foi modificada recentemente por Templeton (2004) e permite realizar inferências biológicas.

5.4.8.5. *Análise Baiesiana (“Bayesian Analysis”)*

Basicamente neste método há o cálculo duma probabilidade posterior de obter a topologia tendo um conjunto de dados na base da sua construção e um modelo de evolução.

A base do teorema de Bayes está na seguinte igualdade (ver Huelsenbeck *et al.*, 2001, 2002):

$$\text{Pr}[\text{árvore} | \text{dados}] = \text{Pr}[\text{Dado} | \text{Árvore}] * \text{Pr}[\text{árvore}] / \text{Pr}[\text{dados}]$$

em que, Pr- significa probabilidade. A barra vertical significa “dada”, isto é, Pr[árvore|dados], significa a probabilidade da árvore de acordo com os dados, e esta probabilidade é a probabilidade *a posteriori*. Pr[Dado | Árvore] é o “likelihood”, e Pr[árvore] é a probabilidade *a priori* da filogenia.

A probabilidade posterior da árvore pode ser interpretada como a probabilidade de estar correcta. A árvore com maior valor desta probabilidade deve ser a escolhida para inferir a filogenia.

É uma análise utilizada para estimar a confiança dos grupos formados nas árvores. Ao contrário do ML a “Bayesian analysis” tem sido utilizada para estimar *a posteriori* as probabilidades para as relações filogenéticas inferidas na análise ML (ex: estudo de Reeder, 2003). Esta análise pressupõe probabilidades *a priori*.

Muitos estudos revelaram diferenças consideráveis entre o “bootstrapping” não paramétrico e as probabilidades posteriores de Bayes em termos de valores de suporte dos ramos das topologias (Erixon *et al.*, 2003). Utilizando modelos idênticos Erixon *et al.* (2003) verificaram que as probabilidades posteriores de Bayes eram significativamente superiores às obtidas com o “maximum likelihood bootstrapping”, mas por outro lado a probabilidade de cometer erros era maior, principalmente quando os modelos apresentavam poucos parâmetros.

A inferência Bayesiana usando o método “Markov Chain Monte Carlo” (MCMC) foi defendida como um método bom e robusto para a inferência filogenética em diferentes espécies, podendo considerar grandes árvores filogenéticas e complexos modelos evolutivos (Huelsenbeck *et al.*, 2001). O MCMC começa por uma topologia que pode ser escolhida aleatoriamente ou que descreva melhor os dados e depois forma uma segunda topologia. Através de mecanismos que devem satisfazer certas condições como o facto do processo proposto dever ser estocástico; toda a árvore possível deve ser acessível por repetida aplicação do mecanismo envolvido; a cadeia deve ser aperiódica (Huelsenbeck *et al.*, 2002).

Este método tem tido, no entanto, algumas críticas. Assim, Suzuki *et al.* (2002), referem que apesar de ser reconhecido como um método bom e robusto para a inferência filogenética, em que os níveis de suporte ou confiança estatística dos ramos interiores são maiores do que quando se utiliza o “Maximum likelihood”. Apresenta elevada sensibilidade às probabilidades *a priori* (ver também Helsenbeck *et al.*, 2002), ou seja, no fundo a probabilidade de eventos históricos só pode ser 0 e 1 e não valores entre estes dois extremos.

5.4.9. “Mismatch distribution”

A “Mismatch distribution”, ou a distribuição das frequências de diferenças nucleotídicas entre duas sequências, é afectada por alterações demográficas históricas. Expansões repentinas ou o efeito gargalo geram distribuições unimodais, em forma de L, enquanto que populações estáveis ou em ligeiro declíneo, ou fragmentadas, produzem uma variedade de distribuições multimodais (Harpending *et al.*, 1998). Populações recém chegadas ou oriundas de colonizações recentes também apresentam topologias em estrela (Conroy & Cook, 2000; Slatkin & Hudson, 1991). A distribuição bimodal pode ainda ser indicativa de contacto secundário entre populações (Frankham *et al.*, 2004). Segundo Rogers & Harpending (1992), os episódios de crescimento e declíneo populacionais deixam marcas características na distribuição das diferenças nucleotídicas (ou de restrição) entre pares de

indivíduos. Estas marcas aparecem em histogramas que mostram as frequências relativas de pares de indivíduos que diferem em i sítios ($i=1, 2, 3, \dots$). Nesta distribuição, um episódio de crescimento gera uma onda que se “desloca” para a esquerda no gráfico, atravessando uma unidade no eixo horizontal em cada $1/2u$ gerações, onde u é a taxa de mutação.

5.4.10. *O Relógio Molecular (“Molecular Clock”)*

O relógio molecular é uma abstracção das observações de que o número de substituições de aminoácidos ou de nucleótidos separando um par de espécies é mais ou menos proporcional ao tempo de divergência do ancestral comum (ver Gillespie, 1991, para mais pormenores sobre relógios moleculares).

Segundo Gillespie (1991), existem duas razões porque nos devemos preocupar com o relógio molecular: como um instrumento para estimar tempos de divergência entre linhagens e pelas suas implicações acerca dos mecanismos de evolução molecular. É no entanto preciso ter cuidado com o estabelecimento da escala temporal da evolução e com os erros associados à determinação do relógio. Um erro poderá determinar a consideração de diferentes modelos de evolução (Gillespie, 1991). Podemos ainda adiantar como veremos mais adiante que a velocidade de substituição poderá mudar entre *taxa*, entre genes e entre posições nos genes.

Segundo Huelsenbeck *et al.* (2000), a hipótese do relógio molecular continua a ser uma importante ferramenta analítica e um importante conceito na biologia evolutiva apesar da existência de várias observações em que a hipótese do relógio não explica perfeitamente a variação observada nas sequências de DNA. Estes autores criaram então um modelo paramétrico que relaxa o relógio molecular permitindo que as taxas de variação variem entre linhagens de acordo com um processo composto de Poisson. Quando num evento a taxa de substituição varia, a taxa de substituição corrente é modificada por uma variável aleatória com distribuição gamma.

Para estimar o tempo de divergência de um conjunto de *taxa* (por exemplo espécies) ou grupo de *taxa*, Takezaki *et al.* (1995) apresentaram dois testes de relógio molecular (“molecular clock”) para aplicação a uma determinada topologia: “two-cluster test” e “branch length test”. O primeiro examina a hipótese do relógio molecular para as duas linhagens criadas por um nó interior da árvore, o segundo examina o desvio entre a raiz da árvore e topo. A estimativa dos tempos de divergência de linhagens evolutivas estão dependentes da filogenia estabelecida, de uma datação paleontológica bem feita pelo menos para um nó da

árvore filogenética e de um teste de correcção das diferentes taxas evolutivas (Arnason *et al.*, 2000).

A comparação de várias sequências de DNA mitocondrial em muitos vertebrados levou ao pressuposto que as substituições nucleotídicas acumulavam linearmente com o tempo e eram semelhantes nos vários grupos de animais (Brown, *et al.*, 1979; Hillis & Moritz, 1990). No entanto isto parece não corresponder à realidade. Por exemplo, as taxas de substituição nos roedores é quatro a oito vezes maior do que nos primatas superiores (Li *et al.*, 1987). Muitos autores defendem que as diferentes linhagens podem ter diferentes taxas de substituição devido ao tempo de geração (Li, *et al.* 1987), à eficiência de reparação do DNA, à exposição a mutagénicos, à taxa metabólica, etc. (Cantatore, *et al.*, 1994; Mindell *et al.*, 1996; Sibley & Ahlquist, 1990). Para responder à variação existente nas taxas de substituição vários modelos foram propostos (ver por exemplo Rambaut & Bromham, 1998).

Os relógios moleculares são problemáticos (Hillis *et al.*, 1996a,b). É portanto correcto referir que as taxas de evolução molecular variam consoante os grupos e consoante os genes e posições dentro dos genes (Mindell & Thacker, 1996). É difícil calibrar um relógio molecular, principalmente devido aos fenómenos de heterogeneidade de substituição entre as várias posições (Harris *et al.*, 2000). Não é igualmente aconselhável usar valores de outros grupos taxonómicos. Podem ser eventualmente utilizados valores de grupos próximos (Harris *et al.*, 2000), mas mesmo assim podem surgir discrepâncias.

Avise *et al.* (1992) sugerem diferentes taxas para diferentes organismos. Curioso é que seis anos mais tarde Avise *et al.* (1998) volta a utilizar uma taxa de substituição, ou relógio molecular padrão de 2% para o DNA mitocondrial de répteis embora admitam a existência de taxas de substituição mais baixas e considerem como mais baixa a de 0.5% por milhão de anos. Este valor pode não ser real pois para uma tartaruga que tem uma longevidade de várias dezenas de anos, o seu relógio molecular será diferente dum lagarto que apenas vive 2 a 3 anos.

Mais recentemente, Palkovacs *et al.* (2002), num estudo em tartarugas do Índico, obteve resultados que suportavam as teorias de que um pequeno tempo médio de geração e um pequeno tamanho corporal estavam relacionados com um aumento da taxa de substituição do DNA mitocondrial dos vertebrados.

Muitas vezes a calibração de uma determinada topologia pode ser efectuada mais realisticamente com base em informação exterior ao conjunto de dados que suporta a topologia. Sabendo por exemplo a idade geológica ou histórica da separação das linhagens é

um passo importante para o estabelecimento dum relógio molecular ou para a sua calibração. Foi assim que se deduziu para o citocromo b, 2% para *Gallotia galloti* (González *et al.*, 1996), mas 1.5 a 1.9 % no grupo dos *Gallotia* spp. gigantes (Pestano *et al.*, 2003). E, também foi assim que Irwin *et al.* (1991) obtiveram uma taxa de substituição de transversões, em mamíferos, de cerca de 0,20% por milhão de anos no citocromo b.

Dois dos primeiros trabalhos a estimar taxas de mutação foram o de Upholt & David (1977) e o de Brown *et al.* (1979) que encontraram uma taxa de mutação no DNA mitocondrial dos vertebrados de cerca de 2% por milhão de anos. Após estes trabalhos, muitos trabalhos utilizaram este valor numa grande variedade de organismos: peixes ciclídeos (Meyer *et al.*, 1990), ou lagartos do género *Gallotia* (Thorpe *et al.*, 1994). No entanto a literatura tornou-se errática em relação às taxas de calibração. Mesmo no interior duma espécie a taxa pode variar como na Víbora *Lachesis muta*, entre 0,47 e 1,32 % por milhão de anos (Zamudio & Greene, 1997).

Caccone *et al.* (1999b) obtiveram uma taxa de substituição em tartarugas de cerca de 0,4 a 0,6 % por milhão de anos. No escincídeo, *Ablepharus kitaibelii*, Poulakakis *et al.* (2005), consideraram para o citocromo b uma taxa de mudança de 1,3% por milhão de anos e para o 16S rRNA consideraram uma taxa de mudança de 0.457 %.

Noutros vertebrados, Kasapidis *et al.* (2005) consideraram a taxa evolutiva de 12,4 % para o domínio I da região controle (CR-I) de lebres (*Lepus europaeus*). Para a mesma região Vilá *et al.* (1999) consideraram o valor de 10% para o Lobo (*Canis lupus*); Horai *et al.* (1995), consideraram o valor de 7.39 % para o homem; Sturmhuber *et al.* (2001) consideraram o valor entre 6,5 a 8,8 % para os ciclídeos africanos.

Nos trabalhos de Thorpe *et al.* (1994) e González *et al.* (1996) em *Gallotia* spp. (Reptilia: Lacertidae), uma regra pôde ser encontrada ou seja, em que a divergência de 24 % no citocromo b define géneros distintos, 10-12% espécies distintas e 5% ou menos encontra-se ao nível da separação dentro das espécies, nomeadamente ao nível das subespécies.

Gillespie (1986b) já havia referido as diferentes taxas existentes no DNA. Uma das razões referidas pelo autor para explicar a maior taxa de substituição silenciosa no DNA mitocondrial do que no DNA nuclear é de que o segundo apresenta histonas associadas que são conservativas enquanto que o DNA mitocondrial não as possui.

Capítulo 6

6. RESULTADOS OBTIDOS

Apresentam-se a seguir os artigos que servem de base a esta dissertação e onde estão assinalados entre outros aspectos, os principais resultados e conclusões obtidas.

Os artigos estão essencialmente ordenados por áreas geográficas excepto os dois últimos artigos subordinados à introdução duma espécie na Ilha da Madeira e à discussão sobre a utilidade dum marcador nuclear; não estando estes dois directamente relacionados com os artigos anteriores os quais tratam de filogenias, filogeografia e relações entre *taxa*.

Arquipélago da Madeira:

Artigo I- BREHM, A.; JESUS, J.; SPÍNOLA H.; ALVES, C.; VICENTE, L. & HARRIS, D. J. (2003). Phylogeography of the madeiran endemic lizard *Lacerta dugesii* inferred from mtDNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **26**: 222-230.

Artigo II- BREHM, A.; KHADEM, M.; JESUS, J.; ANDRADE, P. & VICENTE, L. (2001). Lack of congruence between morphometric evolution and genetic differentiation suggests a recent dispersal and local habitat adaptation of the madeiran lizard *Lacerta dugesii*. *Genetics Selection and Evolution* **33**: 671-685.

Artigo III- BREHM, A.; HARRIS, D. J.; ALVES, C.; JESUS, J.; THOMARAT, F. & VICENTE, L. (2002). Structure and evolution of the mitochondrial DNA complete control region in the lizard *Lacerta dugesii* (Lacertidae, Sauria). *Journal of Molecular Evolution* **55**: 1-8.

Artigo IV- KHADEM, M.; JESUS, J. & BREHM, A. (1997). Peptidase-3 polymorphism in populations of the madeiran lizard *Lacerta dugesii*, from Porto Santo Island. *Boletim do Museu Municipal do Funchal* **49** (276): 99-105.

Arquipélago de Cabo Verde:

Artigo V- BREHM, A.; JESUS, J. ; PINHEIRO, M. & HARRIS, D. J. (2001). Relationships of scincid lizards (*Mabuya* spp; Reptilia: Scincidae) from the Cape Verde islands

based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **19**: 311-316.

Artigo VI- JESUS, J.; BREHM, A. & HARRIS, D. J. (2002). Relationships of *Tarentola* (Reptilia: Gekkonidae) from the Cape Verde islands estimated from DNA sequence data. *Amphibia-Reptilia* **23**: 47-54.

Artigo VII- JESUS, J.; BREHM, A.; PINHEIRO, M. & HARRIS, D. J. (2001). Relationships of *Hemidactylus* (Reptilia: Gekkonidae) from the Cape Verde islands: What mitochondrial DNA data indicate. *Journal of Herpetology* **35** (4): 672-675.

Ilhas do Golfo da Guiné (Príncipe, São Tomé, Annobon):

Artigo VIII- JESUS, J.; HARRIS, D. J. & BREHM, A. (*submitted*). Phylogeography of *Mabuya maculilabris* (reptilia) from São Tomé Island (Gulf of Guinea) inferred from mtDNA sequences. *Molecular Phylogenetic and Evolution* (*Submitted*).

Artigo IX- JESUS, J.; BREHM, A. & J. HARRIS, D. J. (2005). Relationships of scincid lizards (*Mabuya* spp.) from the islands of the Gulf of Guinea based on mtDNA sequence data. *Amphibia- Reptilia* (*in press*).

Artigo X- JESUS, J.; BREHM, A. & HARRIS, D. J. (2005). Phylogenetic relationships of *Hemidactylus* geckos from the Gulf of Guinea islands: patterns of natural colonizations and anthropogenic introductions estimated from mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **34**: 480-485.

Artigo XI- JESUS, J.; BREHM, A. & HARRIS, D. J. (2003). The herpetofauna of Annobon island, Gulf of Guinea, West Africa. *Herpetological Bulletin* **nº 86**: 20-22.

Artigo XII- JESUS, J.; FREITAS, A.; BREHM, A. & HARRIS, D. J. (2002). An introduced population of *Hemidactylus mabonia* (MOREAU DE JONNÉS, 1818) on Madeira island. *Herpetozoa* **15** (3/4): 179-180.

Artigo XIII- JESUS, J.; BREHM, A. & HARRIS, D. J. (2005). Is *c-mos* phylogenetically informative at lower taxonomic levels in reptiles? An assessment of variation within *Lacerta* (*Teira*) *dugei* MILNE-EDWARDS, 1829 (Squamata: Sauria: Lacertidae). *Herpetozoa* **18** (1/2) (*in press*).



Phylogeography of the Madeiran endemic lizard *Lacerta dugesii* inferred from mtDNA sequences

A. Brehm,^{a,*} J. Jesus,^a H. Spínola,^a C. Alves,^b L. Vicente,^c and D.J. Harris^d

^a Centre of Macaronesian Studies, University of Madeira, Funchal 9000, Portugal

^b IPATIMUP, University of Porto, Rua Dr. Roberto Frias, Porto 4000, Portugal

^c Centro de Biologia Ambiental, Department of Zoology and Anthropology, University of Lisbon, C2 Campo Grande, Lisbon 1700, Portugal

^d Centro de Estudos de Ciência Animal (CECA), ICETA-UP, Campus Agrário do Vairão, Vila do Conde 4485-661, Portugal

Received 5 March 2002; revised 27 June 2002

Abstract

Partial sequences from two mitochondrial DNA genes, cytochrome *b* and 12S rRNA, were used to assess the phylogenetic relationships of populations of *Lacerta dugesii* from the volcanic Atlantic islands of Madeira, the Desertas, Porto Santo, and the Selvagens. All four-island groups are genetically distinguishable and populations within each contain similar degrees of genetic diversity. Molecular clock estimates suggest that the islands were colonized much later after their emergence compared to other Atlantic islands, possibly due to their greater geographical isolation. Mismatch analysis of all populations is consistent with exponential growth, as expected after colonization of empty niches. The Selvagens contain genetic substructuring between the islets. © 2002 Elsevier Science (USA). All rights reserved.

Keywords: *Lacerta dugesii*; 12S rRNA; Cytochrome *b*; Phylogeography; Madeira

1. Introduction

Geographical isolation is an important barrier to local genetic differentiation of populations. Islands constitute perfect choices to study differentiation phenomena in lizard populations because gene flow among them may be almost non-existent if an effective sea barrier prevents the dispersal of individuals. In this case, each island may be regarded as a discrete evolutionary unit. Considerable genetic variation in reptiles has been found in inter- and intra-island studies and volcanism has been used to explain such a variation by producing rapid recurrent isolation and bottlenecks of populations (Brown et al., 2000; Gübitz et al., 2000).

The Madeira Archipelago consists of Madeira, Porto Santo Islands, the Desertas, and the Selvagens Islands (Fig. 1). Madeira is the largest island (750 km²) and lies about 700 km from the western coast of Africa (Morocco). The island is ecologically very heterogeneous due

to very different weather conditions, humid subtropical in the north to hot and arid in the south and east. Porto Santo and the Desertas are almost deprived of vegetation. The Selvagens are situated about 300 km south of Madeira Island, mid-way to the Canary Islands. Geological studies have shown that all these islands have a long and complex volcanic history (Mitchel-Thomé, 1976). According to Geldmacher et al. (2000) and Galopim de Carvalho and Brandão (1991), island ages are 3.6 million years (MY) (Desertas), 4.6 MY (Madeira), 14 MY (Porto Santo), and 12 MY for the Selvagens. Volcanic activity occurred on Madeira almost exclusively from 3.9 to 4.6 MY and from 0.7 to 3.7 MY. The last eruptions are well localized and took place around 6500 YBP (Geldmacher et al., 2000). The three Desertas islands, together with Madeira, are part of the same volcanic complex and were probably connected by land bridges as recently as 18,000 years ago, before the last deglaciation periods (or the last Pleistocene glacial cycles), when the sea level rose. In fact, the sea depth between both groups is just 90 m in certain areas, otherwise the groups of islands are separated by deep channels and have never been connected above sea level.

* Corresponding author. Fax: +351-291-705399.
E-mail address: brehm@uma.pt (A. Brehm).

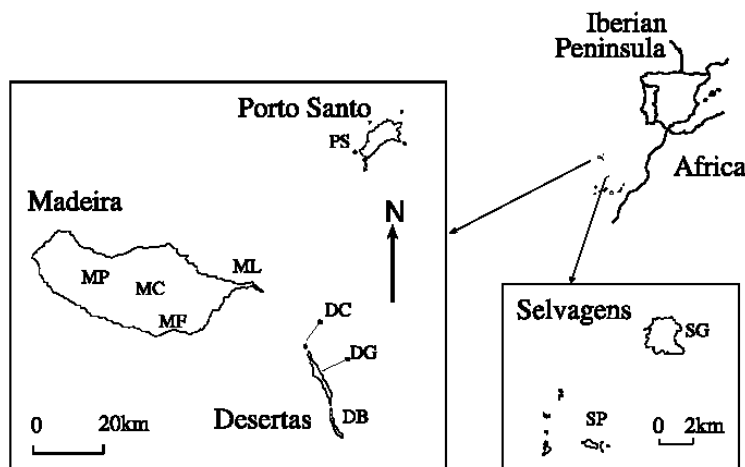


Fig. 1. Geographical locations of *Lacerta dugesii* populations used in this study. All populations are represented by a two-letter code with the first letter representing the name of the island group (M, Madeira; S, Selvagens; D, Desertas; and P, Porto Santo). The second letter means the site from where the population was captured (MP, Paúl da Serra; MC, Curral das Freiras; ML, Ponta de Ssimaõ Lourenço; MF, Porto do Funchal; SG, Selvagem Grande; SP, Selvagem pequena; DG, Deserta Grande; DB, Bujio; DC, Ilhéu Chão; and PS, Porto Santo).

The lizard *Lacerta dugesii* is the sole flightless vertebrate endemic to the Madeira Archipelago, although it had been introduced to some islands of the Azores and the Iberian Peninsula. In the Selvagens, the species coexists with a small gecko, *Tarentola bischoffii*. The origin of *L. dugesii* is unknown, but studies of Arnold (1989) and Harris et al. (1998) showed that its closest extant relative is *Lacerta perspicillata*, endemic to Northwest Africa, thus, suggesting that its ancestor could be from the African mainland. Other life history traits also suggest this relationship (Galán and Vicente, 2002). *L. dugesii* presents broad intra- and inter-island morphological and colour pattern polymorphism (Cook, 1979; Crisp et al., 1979). Several subspecies have been described in the past, on the basis of morphological or enzymatic polymorphisms. Mertens (1938) described a subspecies endemic to the Desertas (*Lacerta dugesii maui*), but Bischoff et al. (1989) accepted *Lacerta dugesii dugesii* on Madeira and the Desertas, and described *Lacerta dugesii jogeri* for Porto Santo Island and *L. dugesii selvagensis* for the Selvagens. A recent study using enzymatic markers and morphological characters failed to show a clear picture of the relationships between the different island populations (Brehm et al., 2001a).

Because the age of the Madeira Archipelago, as well as the time some of the islands have been linked are well known, *L. dugesii* is a good model to study the population genetic variation among islands and compare this with the islands' age, size, and distances separating them. The goal of this study was to present an insight into the genetic variation and relationships of *L. dugesii* populations, particularly the possible

patterns that may explain the species past historic events related to the colonization process among islands. Also, to assess for intra-island variation we analyzed four different populations from sites that are geologically of different ages from Madeira Island. We use partial cytochrome *b* and 12S rRNA mtDNA gene sequences. These regions have been shown to evolve in a clocklike fashion in other reptiles, with approximately 2% divergence per million years (Carranza et al., 2000), so we can compare the levels of variation within *L. dugesii* to this calibration. The data gathered might also give insight into the subspecific status that had been proposed for some of these populations.

2. Materials and methods

Ninety-six *L. dugesii* specimens were collected from 10 localities spanning the species present-day distribution (Fig. 1). Four of the 10 sites are located in Madeira Island and coded as MP, MC, ML, and MF. Two sites are located in each of the two islands of the Selvagens Archipelago (360 km from Madeira) and coded as SG and SP. Three sites are localized in each of the three islands constituting the Desertas group (24 km from Madeira) and coded as DG, DB, and DC. Finally, PS is a sample from the island of Porto Santo (42 km north of Madeira). The number of individuals per site is indicated in Table 1. Genomic DNA was extracted from tail-tip samples of *L. dugesii* following standard phenol-chloroform protocols. For each individual, mitochondrial cytochrome *b* and 12S fragments were amplified by

Table 1
Variable sites of the cytochrome *b* and 12S rRNA mtDNA gene sequences in 96 individuals of *Lacerta dugesii*

1111111111111122222222333333334444444455555555555566 113445678889001123445556680233456781115892234455580011222225905 6928058762478368176527039288451418195149972402603016279030234569217	M P	M C	M L	M F	S G	S P	D G	D B	D C	D S	P S
TTAATTTCTCCCGTGCCTCCATCCGGCCTAGATTACATTCACGTGCGATTTCMACTCC---T-AA (M1)			1		5						
...T.....C.....C.....C.....A..... (M2)	1										
.....C.....C.....C.....A..... (M3)				3							
.....C.....C.....C.....A..... (M4)	1			1							
.....C.....C.....C.....G..... (M5)					1						
.....C.....C.....C.....A..... (M6)	1		1								
...T.....C.....C.....C.....A..... (M7)	1										
.....C.....C.....C.....A..... (M8)			1								
.....C.....C.....C.....A..... (M9)	1										
.....C.....C.....C.....A..... (M10)	2	2									
.....C.....C.....C.....A..... (M11)	1										
.....C.....C.....C.....A..... (M12)	1										
.....C.....C.....C.....A..... (M13)	1										
.....C.....C.....C.....A..... (M14)				2							
.....G.....C.....C.....C.....A..... (M15)				2							
.....G.....C.....C.....C.....A..... (M16)	1	1									
.....G.....C.....C.....C.....A..... (M17)			1								
.....G.....C.....C.....C.....A..... (M18)	3										
.....A.....C.....C.....C.....A..... (M19)	1										
.....C.....C.....C.....C.....A..... (M20)				1							
.....C.....C.....C.....C.....A..... (M21)				1							
.....C.....C.....C.....C.....A..... (M22)				1							
..G.C...T.CA...G.C...C...C...G...G...C...G... (S1)					4						
..G.C...T.ACA...G.C...C...C...G...C...G... (S2)					2						
..G.CC...T.C...T...G.C...TC...C...C...G... (S3)					1						
..G.CC...T.C...T...G.C...C...C...G...C...G... (S4)					1						
..G...T.ACA...G.C...C...C...G...C...G... (S5)					1						
..C...T.CA...G.C...C...C...G...C...G... (S6)					1						
..C.A.T.CA...C...T...GCC...C...C...G... (S7)						1					
..C...T.CA...G.C...T...C...C...G... (S8)						1					
..C...T.CA...A...G.C...C...C...G... (S9)						1					
..C...T.CA...G.C...C...C...G... (S10)						5					
..C.A.T.CA...C...T...GCC...C...C...G... (S11)						2					
C...C.C.TT...TT.CFFF.T.C.CCCT.GCG.AC.A.C...T.CC... (D1)										1	
C...C.C.TT...TT.CFFF.T.C.CCCT.GCG.AC.A.C...T.C...A... (D2)								3	3	3	
C...C.C.TT...TT.CFFF.T.C.CCCT.GCG.AC.A.C...T.C...A... (D3)								2	3	4	
C...C.C.TT...TT.CFFF.T.C.CCCT.GCG.AC.A.C...T.C...A... (D4)								1			
C...C.C.TT...TT.CFFF.T.C.CCCT.GCG.AC.A.C...T.C...A... (D5)								1			
C...C.C.TT...TT.CFFF.T.C.CCCT.GCG.AC.A.C...T.C...A... (D6)								1			
C...C.C.TT...TT.CFFF.T.C.CCCT.GCG.AC.A.C...T.C...A... (D7)								1			
C...C.C.TT...TT.CFFF.T.C.CCCT.GCG.AC.A.C...T.C...A... (D8)										1	
C...C.C.TT...TT.CFFF.T.C.CCCT.GCG.AC.A.C...T.C...A... (D9)										1	
C...C.C.TT...TT.CFFF.T.CA.CCCT.GCG.AC.AFC...T...A... (D10)										1	
C...C.C.TT...TT.CFFF.T.C.CCCT.GCG.AC.A.C...T.C...A... (D11)											1
CC.GC.C...T.TTC...C...TT...C...T.G...ACA.A...G... (P1)											1
CC.GC.C...T.TTC...C...TT...C...T.G...ACA.A...G... (P2)											5
CC.GC.C...T.TTC...C...TT...C...T.G...ACA.A...G... (P3)											2
CC.GC.C...T.TTC...C...TT...C...T.G...ACA.A...G... (P4)											1
CC.GC.C...T.TTC...C...TT...C...T.G...ACA.A...G... (P5)											1
CC...C.TC...AC.ACT...T...TCC...C.CT...ACA.ACCC...G...A... (PE)											

Haplotype names are shown in parentheses and digits at the top of the table indicate nucleotide positions relative to the beginning of sequences. Numbers on the right are the total number of individuals per site bearing a haplotype. Site codes are according to Fig. 1. Dots represent identical bases to the first haplotype, a dash represents a deletion. The last haplotype is from *Lacerta perspicillata*. The entire sequences are deposited in GenBank.

PCR using the published primers and PCR conditions of Kocher et al. (1989). Sequencing of the amplified products was performed in both strands in an automated sequencer (ABI Prism). Previously published sequences of the closely related *L. perspicillata* and two *Podarcis hispanica* complex were included as outgroups (Harris et al., 1998; Harris and Sá-Sousa, 2002). Sequences of both genes were aligned using Chustal X (Thompson et al., 1997). Minor adjustments to the

alignment of 12S rRNA sequences were made by eye with reference to the secondary structure (Hickson et al., 1996). Differences in substitution rates between gene regions can potentially result in conflicting signals if one gene is saturated. Thus, we used the partition homogeneity test (Farris et al., 1994) implemented in PAUP*4 (Swofford, 2001) to evaluate whether the two regions contained significantly different phylogenetic signals. This test indicated no significant incongruence between

regions ($p = 0.66$), so they were combined in all phylogenetic analyses (Table 1).

2.1. Data analysis

Evolutionary relationships above and below the species level are fundamentally different in nature. Relationships between genes for individuals belonging to different species are hierarchical, while those sampled from individuals within a species are not (Posada and Crandall, 2001). Methodologies for interpreting the genetic variation at these two levels are therefore also different. We expect that populations from different island groups could behave as “species” with limited gene flow, whereas, within island groups, gene flow could be extensive. We used the statistical parsimony algorithm (Templeton et al., 1992) performed in TCS (Clement et al., 2000) to estimate the maximum number of differences among haplotypes as a result of a single substitution with a 95% confidence level and also the most probable ancestral haplotype. For each of these identified groups, inter-haplotype divergence was represented by median networks (Bandelt et al., 1995, 2000). For the phylogenetic analysis, we used maximum likelihood (ML) and Bayesian inference. For the ML analysis, we followed the approach outlined by Huelsenbeck and Crandall (1997) to test 56 alternative models of evolution, employing PAUP*4 (Swofford, 2001) and Modeltest version 3 (Posada and Crandall, 1998). *L. perspicillata* and two *Podarcis* species were designated as outgroups. A starting tree was obtained using neighbour-joining (NJ). With this tree, likelihood scores were calculated for 56 various models of evolution and then compared statistically using a χ^2 test with degrees of freedom equal to the difference in free parameters between the models being tested. Once a model of evolution was chosen, it was used to estimate a tree using the maximum likelihood (ML) criteria (Felsenstein, 1985). A single replicate heuristic search was used with TBR branch-swapping. Support for nodes was estimated using the “fast” bootstrap technique, with 100 pseudoreplicates implemented in PAUP*4. The Bayesian analysis was implemented using MrBayes (Huelsenbeck and Ronquist, 2001), which calculates Bayesian posterior probabilities using a Metropolis-coupled, Markov chain Monte Carlo (MC-MCMC) sampling approach. Two independent runs were conducted with random starting trees, run 0.5×10^6 generations, and sampled every 10 generations using a general-time-reversible model of evolution. In both searches, stationarity of the Markov Chain was determined as the point when sampled log-likelihood values plotted against generation time reached a stable mean equilibrium value; “burn-in” data sampled from generations preceding this point were discarded. All data collected at stationarity were used to estimate posterior

nodal probabilities and a summary phylogeny. Two independent replicates were conducted and inspected for consistency to check for local optima (Huelsenbeck and Bollback, 2001). To test for demographic signatures of population expansions following colonization of each island group, we used the mismatch distribution analysis (Rogers and Harpending, 1992). To compare the observed distribution with that expected under the expansion model, we calculated the raggedness index (Rogers and Harpending, 1992) using Arlequin (Schneider et al., 2000).

3. Results

Amplified cytochrome *b* and 12S rRNA partial genes yielded unambiguous sequences of 299 and 371 bp in length, respectively. Cytochrome *b* sequences presented no indels, but the 12S sequences varied from 365 to 371 in size, depending on a variable C-stretch characteristic of this sequence. The cytochrome *b* and 12S (including gaps as a fifth character) sequences comprised 37 and 30 variable positions, respectively. Table 1 shows the variable nucleotide positions found in both sequences. Numbers referring to these positions are based on the entire sequences that are available from the GenBank database under Accession Nos. AF543302–AF543309. Thus, nucleotide positions 6–285 refer to the partial cytochrome *b* gene fragment sequenced. Variable positions of the 12S sequences are from nucleotides 311 to 657.

None of the networks from the four island groups (Madeira, Porto Santo, Selvagens, and Desertas) could be confidently linked using statistical parsimony, so separate networks were constructed for each group (Fig. 2). The number of haplotypes and the number of individuals carrying a particular haplotype per site are shown in Table 1. Haplotypes are labelled according to the place where animals were captured (M, Madeira Island; S, Selvagens group; D, Desertas group; and P, Porto Santo Island). Madeira Island yielded 22 different haplotypes in 39 samples from four sites. The Selvagens group had 11 haplotypes in 20 individuals, the Desertas 11 in 27 individuals, and Porto Santo Island had 5 haplotypes in 10 individuals. Table 1 also includes the cytochrome *b* and 12S sequences of *L. perspicillata* (Harris et al., 1998) as a reference outgroup. In this case, only the variable positions found in *L. dugesii* are shown in *L. perspicillata*.

For the ML analysis, we concluded that the TrN (Tamura and Nei, 1993) model with a discrete approximation to a gamma distributed rate heterogeneity model ($\alpha = 0.21$) was the most appropriate model of evolution for this data set. A heuristic search incorporating this model found seven trees of $\ln 2091$ (Fig. 3). These differed only in the position of the short branches separating within island haplotypes.

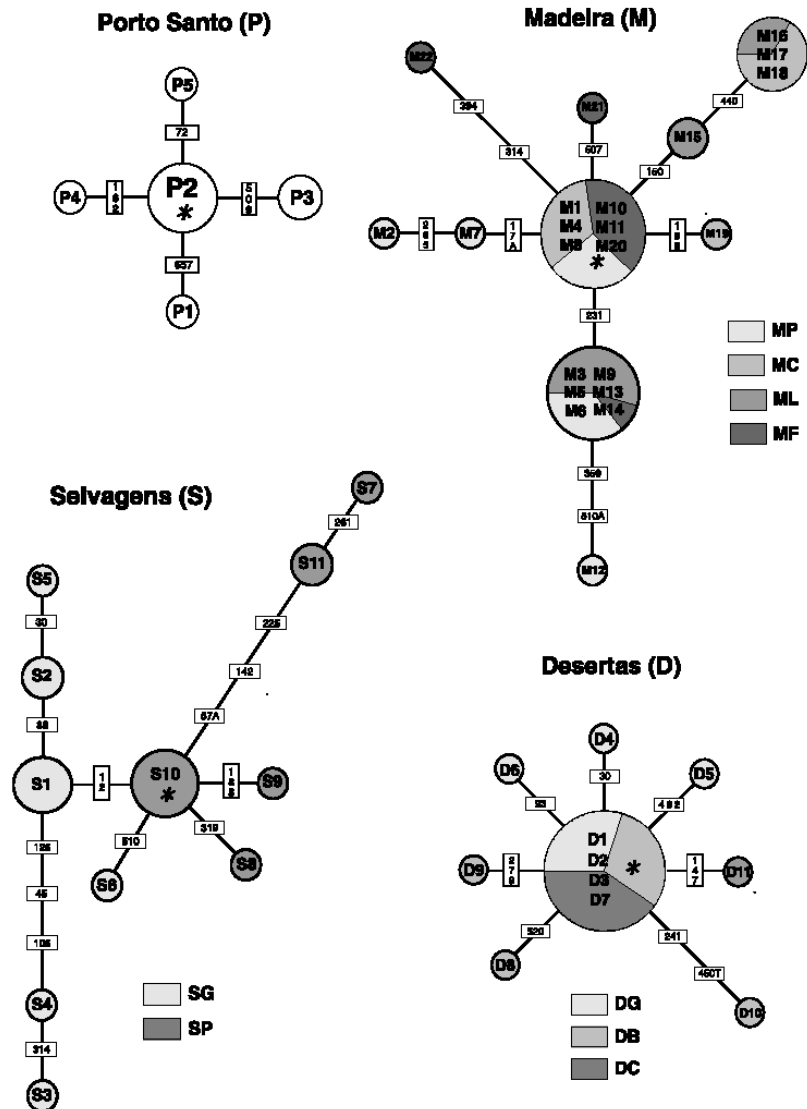


Fig. 2. Median networks showing the phylogenetic and geographic relationships between *Lacerta dugesii* mtDNA haplotypes (circles). Relationships for the different groups of islands are represented separately: Porto Santo, Madeira, Selvagens, and Desertas Islands. Circled areas are proportional to the number of individuals bearing a particular haplotype. Branch lengths are proportional to the number of mutations involved between haplotypes. Numbers on branches refer to the mutated base and are the same as in Table I. Indels were excluded. Labels inside circles correspond to haplotypes from Table I. Different shadows represent the proportion of haplotypes found in the different sites sampled. A star indicates the most probable root of the network.

Fig. 4 shows the mismatch distribution (Rogers and Harpending, 1992) of all sequences and a comparison to Poisson expectation. The close match between the two suggests that *L. dugesii* populations have undergone a historical population increase and/or range expansion. The raggedness index (Rogers and Harpending, 1992)

was low and not significantly different from expectation (Madeira: $R = 0.27$, $p = 0.35$, Selvagens: $R = 0.019$, $p = 0.91$, Porto Santo: $R = 0.26$, $p = 0.13$, Desertas: $R = 0.03$, $p = 0.974$). This indicates a smooth distribution of pairwise differences and again supports a hypothesized population increase.

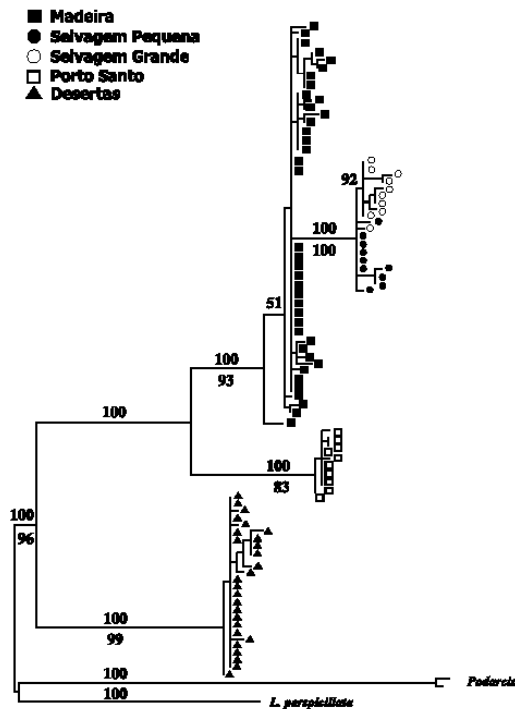


Fig. 3. Tree derived from the Bayesian analysis. Average posterior probabilities are shown above nodes. The tree was rooted using *Lacerta perspicillata* and both *Podarcis* sequences. The bootstrap 50% majority rule consensus tree derived from the ML analysis was identical, except for being less well resolved (bootstrap values are shown below the nodes).

4. Discussion

All haplotypes found can be unambiguously assigned to one of the four major groups of islands, Madeira, Desertas, Selvagens, and Porto Santo, as none is common to two different island groups. Pairwise mismatch analysis (Fig. 4) shows single monomodal distributions for Madeira, Desertas, and Porto Santo. This is the signature expected, following the exponential growth in a panmictic population. Although we have only one population sampled from Porto Santo, we cannot make inferences of geographical isolation, for Desertas and Madeira we can infer that there is substantial gene flow between populations. For the two populations from the Selvagens, however, there is a bimodal distribution of pairwise differences, something expected when populations are geographically subdivided (Marjoram and Donnelly, 1994). Further, when the migration rate is very low or the initial population size is high, separation of the peaks in the pairwise mismatch analysis is more extreme. Our close bimodal data are more similar to results

from simulated data with a very low initial population size and a high migration rate (Marjoram and Donnelly, 1994), something unsurprising given the geographic isolation of the Selvagens coupled with the close proximity of islands within the group. According to Bravo and Coello (1978), although the Selvagens are very old, most of the emerged land dates only to the Quaternary, up to 1.5 MY. Other studies suggest a constant subaerial landmass dating to the mid-Pliocene and the probable existence of several small islands in the recent past of this island group (Geldmacher et al., 2001). Assuming a molecular clock of 1.96% divergence per million years (Carranza et al., 2000), the *L. dugesii* populations on the Selvagens have been reproductively isolated nearly 2.5 MY. Although calibration of molecular clocks is complex (see Bromham, 2002), our data seem to be more consistent with the hypothesis proposed by Geldmacher et al. (2001). It will be interesting to determine the genetic diversity within the Selvagens endemic gecko *Tarentola bischoffi* to test these hypotheses further.

Both the ML and Bayesian analyses support the monophyly of the Selvagens, Porto Santo, and the Desertas. The two populations from the Selvagens are nested within those from Madeira. Individuals from the Selvagens have enough fixed differences from those on Madeira that the two networks cannot be linked. However, they also contain all the fixed differences that define the Madeira populations. Therefore, in the phylogenetic analyses, populations from Madeira are paraphyletic. This is not surprising if the Selvagens were colonized from Madeira and shows the advantages of using both networks and phylogenetic analyses in combination.

Genetic diversity within islands is not correlated with island age—there is no significant difference in the number of haplotypes in each island, despite the fact that Porto Santo is approximately four times older than the Desertas. This could be due to a relatively recent radiation of *L. dugesii*. The highest uncorrected divergence between populations is only approximately 5.6%. This divergence is similar between each of the four island groups, suggesting that once *L. dugesii* reached the first island, it spread quickly to the others. If the ancestor of *L. dugesii* colonized the islands only 2.8 mya, all the islands were already formed. This means that both Porto Santo and the Selvagens were not colonized for more than 10 MY. Studies of the herpetofauna from the Canary Islands (Carranza et al., 2000) and Cape Verde Islands (Brehm et al., 2001b; Carranza et al., 2001) suggest that these islands were colonized much more rapidly after their emergence. The late arrival of *L. dugesii* could be due to a poor transmarine colonization ability of lacertids compared to geckos—geckos have made more separate colonizations within these island groups than either skinks or the lacertid lizards *Gallotia* (inferred from Carranza et al., 2000; Jesus et al., 2001,

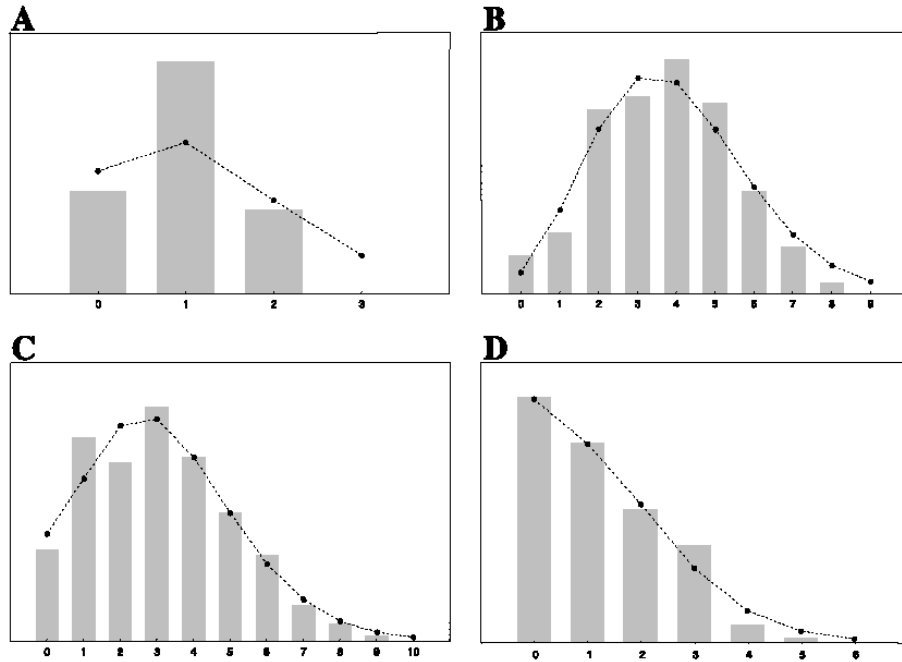


Fig. 4. Observed distribution of pairwise differences among individuals within each island group ((A) Porto Santo, (B) Madeira, (C) Selvagens, and (D) Desertas). A simulated Poisson's distribution is indicated by a dotted line. All four groups fit a wave characteristic of an episode of population growth. The bimodal wave observed in the Selvagens (C) also indicates population fragmentation.

2002; Thorpe et al., 1994). The Madeira islands are also more geographically isolated from continental source populations than either the Canary islands or the Cape Verde and this could also explain the delay in their colonization.

Few other studies have assessed genetic diversity in the fauna and flora of the Madeira archipelago. Whereas *L. dugesii* shows strong differentiation among islands, the liverwort *Porella canariensis* does not, with populations from Madeira being paraphyletic with respect to both Porto Santo and the Desertas (Freitas and Brehm, 2001). More studies are needed for other taxa before any general pattern of colonization in the archipelago can be determined.

Sequences for an individual from *L. dugesii* from São Miguel Island in the Azores (Harris et al., 1998) partially overlap with those used in this analysis. Because the exact same regions are not available, it was not included in the phylogenetic analysis. However, a simple NJ analysis including this taxon (with non-overlapping sections included and coded as missing data in this sequence, analysis not shown) provides compelling evidence that the source population for this introduction was from Madeira. *L. dugesii* are found on several islands in the Azores and only further data and more

variable markers will determine whether these were introduced once or several times.

Our data suggest that four genetically distinct units exist within *L. dugesii*, on Madeira, the Desertas, Porto Santo, and the Selvagens. Genetic monophyly of the Desertas populations would support the resurrection of *L. dugesii maui* as an endemic subspecies. Gene flow is clearly restricted to be minimal or non-existent, even though the distance between the Desertas and Madeira is minimal. Colonization of the islands took place enough time ago to allow the accumulation of unique mutations in each of the island groups.

The Canary Islands have become an important model region for studying the colonization and diversification of different organisms (Juan et al., 2000), especially reptiles (e.g., Brown et al., 2000; Carranza et al., 2000; Gübitz et al., 2000). Recently, phylogenetic analyses have been used to study similar processes among the Cape Verde herpetofauna (e.g., Brehm et al., 2001b; Carranza et al., 2001; Jesus et al., 2001). Whereas, many of the patterns observed in these island archipelagos are similar, others are not. By obtaining phylogenetic data across diverse taxa in all three systems, we can understand more clearly the complex nature of colonization and subsequent radiations.

Acknowledgments

We thank Parque Natural da Madeira for providing some of the specimens used in this study. The authors are grateful to Professor A. Amorim from IPATIMUP, University of Porto, for his support, to Professors H.-J. Bandelt and Adalgisa Caccone for their help and comments on data analysis, two anonymous reviewers, and P. Andrade for the technical support. The work was partially financed through contract PBIC/C/BIA/2095/95/from Fundação para a Ciência e Tecnologia, Lisbon, to LV. JJ is the recipient of a Ph.D. grant PRAXIS XXI/BD/2637/94 from FCT.

References

- Arnold, E.N., 1989. Towards a phylogeny and biogeography of the Lacertidae: relationships within an old-world family of lizards derived from morphology. *Bull. Br. Mus. Nat. Hist. (Zool)* 55, 209–257.
- Bandelt, H.-J., Forster, P., Sykes, B.C., Richards, M.B., 1995. Mitochondrial portraits of human populations using median networks. *Genetics* 141, 743–753.
- Bandelt, H.-J., Macaulay, V., Richards, M.B., 2000. Median networks: speedy construction and greedy reduction, one simulation, and two case studies from human mtDNA. *Mol. Phylogenet. Evol.* 16, 8–28.
- Bischoff, W., Osenege, K., Mayer, W., 1989. Untersuchungen zur subspezifischen Gliederung der Madeira-Mauereidechse, *Podarcis dugesii* (Milne-Edwards, 1829). *Salamandra* 25, 237–259.
- Bravo, T., Coello, J., 1978. Aportación a la geología y petrología de las islas Salvajes. In: *Contribución al estudio de la historia natural de las islas Salvajes*. Aula de Cultura de Tenerife, Santa Cruz de Tenerife, Spain, pp. 15–35.
- Brehm, A., Khadem, M., Jesus, J., Andrade, P., Vicente, L., 2001a. Lack of congruence between morphometric evolution and genetic differentiation suggests a recent dispersal and habitat shift of the Madeiran lizard *Lacerta dugesii*. *Gen. Sel. Evol.* 33, 671–686.
- Brehm, A., Jesus, J., Pinheiro, M., Harris, D.J., 2001b. Relationships of scincid lizards (*Mabuya* spp; Reptilia: Scincidae) from the Cape Verde islands based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* 19, 311–316.
- Bromham, L., 2002. Molecular clocks in reptiles: life history influences rate of molecular evolution. *Mol. Biol. Evol.* 19, 302–309.
- Brown, R.P., Campos-Delgado, R., Pestano, J., 2000. Mitochondrial DNA evolution and population history of the Tenerife skink *Chalcides viridanus*. *Mol. Ecol.* 9, 1061–1067.
- Carranza, S., Arnold, E.N., Mateo, J.A., López-Jurado, L.F., 2000. Long-distance colonization and radiation in gekkonid lizards, *Tarentola* (Reptilia: Gekkonidae), revealed by mitochondrial DNA sequences. *Proc. R. Soc. Lond. B* 267, 637–649.
- Carranza, S., Arnold, E.N., Mateo, J.A., López-Jurado, L.F., 2001. Parallel gigantism and complex colonization patterns in the Cape Verde scincid lizards *Mabuya* and *Macroscolecus* (Reptilia: Scincidae) revealed by mitochondrial DNA sequences. *Proc. R. Soc. Lond. B* 268, 1595–1603.
- Clement, M., Posada, D., Crandall, K.A., 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Mol. Ecol.* 9, 1657–1660.
- Cook, L., 1979. Variation in the madeiran lizard *Lacerta dugesii*. *J. Zool. (Lond.)* 187, 327–340.
- Crisp, M., Cook, L., Hereward, F., 1979. Color and heat balance in the lizard *Lacerta dugesii*. *Copeia* 2, 250–258.
- Farris, J.S., Källersjö, M., Kluge, A.G., Bult, C., 1994. Testing significance of congruence. *Cladistics* 10, 315–319.
- Felsenstein, J., 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39, 783–791.
- Freitas, H., Brehm, A., 2001. Genetic diversity of the Macaronesian leafy liverwort *Porella canariensis* inferred from RAPD markers. *J. Hered.* 92, 339–345.
- Galán, P., Vicente, L., 2002. Reproductive characteristics of the insular lacertid *Teira dugesii*. *Herpetol. J.* (in press).
- Galopim de Carvalho, A.M., Brandão, J.M., 1991. Geologia do Arquipélago da Madeira. *Mus. Nac. de Hist. Nat. (Ed.)*, Lisbon.
- Geldmacher, J., van der Bogaard, P., Hoernle, K., Schmincke, H.-U., 2000. A-r age dating of the Madeira Archipelago and hotspot track (eastern North Atlantic). *Geochem. Geophys. Geosyst.* 1.
- Geldmacher, J., Hoernle, K., Bogaard, P., Zankl, G., Garbe-Schoenberg, D., 2001. Earlier history of the >70 Ma old Canary Hotspot based on the temporal and geochemical evolution of the Selvagen Archipelago and neighboring seamounts in the eastern North Atlantic. *J. Volcanol. Geoth. Res.* 111/1–4, 55–87.
- Gübitz, T., Thorpe, R.S., Malhotra, A., 2000. Phylogeography and natural selection in the Tenerife gecko *Tarentola delalandii*: testing historical and adaptive hypothesis. *Mol. Ecol.* 9, 1213–1221.
- Harris, D.J., Arnold, E.N., Thomas, R.H., 1998. Relationships of lacertid lizards (Reptilia: Lacertidae) estimated from mitochondrial DNA sequences and morphology. *Proc. R. Soc. Lond. B* 265, 1939–1948.
- Harris, D.J., Sá-Sousa, P., 2002. Is *Podarcis hispanica* a species complex: evidence from mitochondrial DNA sequence data. *Mol. Phyl. Evol.* (in press).
- Hickson, R.J., Simon, C., Cooper, A., Spicer, G.S., Sullivan, J., Penny, D., 1996. Conserved sequence motifs, alignment and secondary structure for the third domain of animal 12S rRNA. *Mol. Biol. Evol.* 13, 150–169.
- Huelsenbeck, J.P., Crandall, K.A., 1997. Phylogeny estimation and hypothesis testing using maximum likelihood. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 28, 437–466.
- Huelsenbeck, J.P., Bollback, J.P., 2001. Empirical and hierarchical Bayesian estimation of ancestral states. *Syst. Biol.* 50, 351–366.
- Huelsenbeck, J.P., Ronquist, F., 2001. MR-BAYES: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics* 17, 754–755.
- Jesus, J., Brehm, A., Pinheiro, M., Harris, D.J., 2001. Relationships of *Hemidactylus* (Reptilia: Gekkonidae) from the Cape Verde islands: what mitochondrial DNA data indicate. *J. Herpetol.* 35, 672–675.
- Jesus, J., Brehm, A., Harris, D.J., 2002. Relationships of *Tarentola* (Reptilia: Gekkonidae) from the Cape Verde Islands estimated from DNA sequence data. *Amphibia-Reptil.* 23, 47–54.
- Juan, C., Emerson, B.C., Orom, P., Hewitt, G.M., 2000. Colonization and diversification: towards a phylogeographic synthesis for the Canary Islands. *Trends Ecol. Evol.* 15, 104–109.
- Kocher, T.D., Thomas, W.K., Meyer, A., Edwards, S.V., Pääbo, S., Villablanca, F.X., Wilson, A.C., 1989. Dynamics of mitochondrial evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86, 6196–6200.
- Marjoram, P., Donnelly, P., 1994. Pairwise comparison of mitochondrial DNA sequences in subdivided populations and implication for early human evolution. *Genetics* 136, 673–683.
- Mitchel-Thomé, R.C., 1976. Geology of Middle Atlantic Islands. *Gebrüder Borntraeger (Ed.)*, Berlin.
- Mertens, R., 1938. Eine melanistische Rasse der Madeira-Eidechse. *Senckenbergiana* 30, 287–290.
- Posada, D., Crandall, K.A., 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14, 817–818.
- Posada, D., Crandall, K.A., 2001. Intraspecific gene genealogies: trees grafting into networks. *Trends Ecol. Evol.* 16, 37–45.
- Rogers, A.R., Harpending, H., 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Mol. Biol. Evol.* 9, 552–569.

- Schneider, S., Kueffer, J.-M., Roessler, D., Excoffier, L., 2000. Arlequin v2.000: a software for population genetic data analysis. University of Geneva, Geneva, Switzerland.
- Swofford, D.L., 2001. PAUP*: phylogenetic analysis using parsimony (and other methods) 4.0b.3.a. Sinauer Associates, Sunderland, MA, USA.
- Tamura, K., Nei, M., 1993. Estimation of the numbers of nucleotide substitution in the control region of mitochondrial DNA in human and chimpanzees. *Mol. Biol. Evol.* 10, 512–526.
- Templeton, A.R., Crandall, K.A., Sing, C.F., 1992. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III Cladogram estimation. *Genetics* 132, 619–633.
- Thorpe, R.S., McGregor, D.P., Cumming, A.M., Jordan, W.C., 1994. DNA evolution and colonization sequence of island lizards in relation to geological history: mtDNA RFLP, cytochrome *b*, cytochrome oxidase I, 12S rRNA sequence and nuclear RAPD analysis. *Evolution* 48, 230–240.
- Thompson, J.D., Gibson, T.J., Plewniak, F., Jeanmougin, F., Higgins, D.G., 1997. The Clustal X windows interface: flexible strategies for multiple alignment aided by quality analysis tools. *Nucl. Acids Res.* 24, 4876–4882.

Lack of congruence between
morphometric evolution and genetic
differentiation suggests a recent dispersal
and local habitat adaptation
of the Madeiran lizard *Lacerta dugesii*

António BREHM^{a,*}, Mahnaz KHADEM^b,
José JESUS^a, Paula ANDRADE^b, Luis VICENTE^c

^a Centre of Biological and Geological Sciences,
Campus of Penteadá, 9000 Funchal, Portugal

^b Department of Biology, University of Madeira, 9000 Funchal, Portugal

^c Centre of Environmental Biology, Departments of Zoology and Anthropology,
Science Faculty of Lisbon,
University of Lisbon, C2 Campo Grande, 1700 Lisbon, Portugal

(Received 22 March 2000; accepted 6 July 2001)

Abstract – Genetic differentiation among nine populations of the endemic lizard *Lacerta dugesii* Milne-Edwards 1829 (Lacertidae) from four groups of islands constituting the Archipelago of Madeira, was investigated by protein electrophoresis at 23 enzyme loci. Among twenty polymorphic loci, the total genetic diversity was due primarily to intra-population variation. The allele and genotypic frequencies among populations showed some heterogeneity, allowing the species to present a structuring pattern compatible with their geographical clustering. Some evidence suggests that selection acting on some loci in different ecological conditions may be responsible for the clustering of the populations studied. There was no apparent isolation effect expected under an "island" model of population divergence, and no correlation was found between genetic and geographic distances among populations. Morphological variation of the proposed three *L. dugesii* subspecies is not congruent with the allozyme analysis. This most probably suggests a rapid colonization of the islands followed by a strong effect of selection operating over the morphological characters used to define the subspecies.

Lacerta dugesii / allozymes / morphology / geographical population structure

* Correspondence and reprints
E-mail: brehm@uma.pt

1. INTRODUCTION

Islands constitute excellent systems for studying divergence and speciation in lizard populations because in most cases gene flow is almost completely absent and each island becomes a discrete unit [15]. Patterns of genetic variation among islands can thus be attributed to population history, founder events, drift or selection. Divergence may be a direct consequence of geographic distance separating the populations (isolation-by-distance model [35]), although selection may contribute to this divergence when populations are under different ecological conditions [30]. All these processes may produce similar patterns of population genetic structuring making it difficult to distinguish these alternative hypotheses. It has recently been shown [19] that rapid adaptative radiation of lizards in similar environments could overcome historical contingencies, producing morphological similar outcomes on genetically different individuals. Natural selection acting in similar habitats can be the major force in generating phenotypic (and thus morphological) diversity in lizards [19].

The Madeira Archipelago consists of Madeira and Porto Santo Islands plus two groups of smaller islands (Selvagens and Desertas). Distances between the islands vary from a few kilometres to 300 km (Fig. 1). Madeira is the largest island and has a climate ranging from humid subtropical in the north to hot and arid in the south and east. Porto Santo, Desertas, and Selvagens are arid, with sparse vegetation. Except the presence of the gecko *Tarentola bischoffi* in the Selvagens, *Lacerta dugesii* is the sole flightless vertebrate endemic to the Archipelago. Its origin, (European or African) and the time and historical colonization of the islands are unknown. The species does not have any close relative in the Canary Islands, although this archipelago is close to the Selvagens. According to morphological and molecular data, the sister species of *Lacerta dugesii* is *L. perspicillata*, endemic to Morocco [17]. *Lacerta dugesii* is a small lizard that shows considerable color and pattern variability among populations [2, 3, 9, 10]. Its phenotypic variation remains to be understood but could be the result of selection over different habitats in *Anolis* and *Tropidurus* [19, 23, 32]. The species is extremely abundant, occurring on all islands of the archipelago, and occupying habitats ranging from sea level to the highest point (1 800 meters) of Madeira. *Lacerta dugesii* is omnivorous and its only natural predators are birds of prey and rats. Its taxonomic status remains under discussion but here we have adopted the name *Lacerta dugesii* following Arnold [1]. The species has been seen aboard the ships that occasionally link Madeira Island with the Desertas and Selvagens groups (pers. obs.). The heavy maritime traffic existing between the two inhabited islands (Madeira and Porto Santo) makes the exchange of individuals between them extremely plausible. Few studies have investigated intra-specific divergence of *L. dugesii*. Morphological variation of the individuals on Madeira Island or among the four

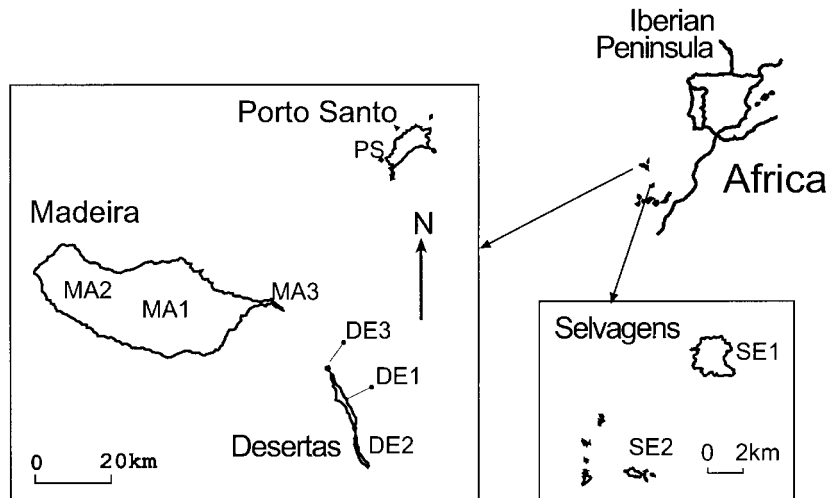


Figure 1. Map of the Archipelago of Madeira, showing the location of population samples used in this work. Codes of populations are as follows: Madeira group of islands (MA1, MA2, MA3), Desertas group of islands (DE1, DE2, DE3), Porto Santo Island (PS), and the Selvagens group of islands (SE1, SE2).

groups of islands has been addressed [2,9]. Bischoff *et al.* [4] have presented both morphological and allozyme data but the number of specimens studied was relatively small (175 for the morphological characters, but only 22 individuals from five islands were assayed for allozyme characters). A dendrogram based on these data was consistent with the biogeographical distribution of *L. dugesii* populations. Based on these studies, Bischoff *et al.* [4] proposed the existence of three subspecies: *Podarcis dugesii dugesii* (Desertas Islands), *P. dugesii jogeri* (Porto Santo Island) and *P. dugesii selvagensis* (Selvagens Islands) [4]. The population from Madeira was given no subspecific name.

In the present study, we examined allozyme variation within and among nine populations distributed across the archipelago in order to look for any pattern of genetic structure. The results revealed a rather weak pattern of genetic differentiation in the populations of *L. dugesii* congruent with their geographic distribution. The habitat shift prevailing in the different populations could favor selection to act differently upon certain loci and therefore be responsible for the pattern observed. A comparison of our results with those of Bischoff *et al.* [4] inferred from morphological characters revealed a total lack of congruence between the two types of data. Multidimensional analysis of genetic distances based on these two types of data showed different geographic clustering of the populations, a fact that may be due to a recent divergence

of populations, subjected to differential selective constraints and adapted to different habitats.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Samples and gel electrophoresis

Specimens of *L. dugesii* were collected from nine locations, spanning the Madeira Archipelago (Fig. 1). Liver tissue was removed from 410 specimens and frozen at -70°C . The tissues were homogenized in an equal volume of distilled water, followed by centrifugation at $10\,000\text{ g}$ for 30 min at 4°C . Supernatants were collected and stored at -20°C . Protocols for horizontal starch gel electrophoresis and histochemical staining were similar to those described previously [21]. Samples from two individuals of known electrophoretic mobility for a given locus were used in each gel as markers. Enzyme systems are listed in the Appendix and buffer systems are available from the authors upon request.

2.2. Analysis of genetic diversity

Allele frequencies and measures of intra- and inter-population variation (average heterozygosity, percent polymorphic loci, mean number of alleles per locus, within and overall gene diversity) were estimated with GENEPOPv3.1d [24]. Gene diversity parameters include within and overall gene diversity (H_s and H_t), and Nei [22] G_{ST} and G_{IS} as measures of gene diversity among populations [22,24,33,34]. Exact tests for divergence from Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE) were done for each locus in each population with P -values estimated by the Markov chain method [16]. Population differentiation at each locus and over all loci among populations, was tested by estimating unbiased P -values of a log-likelihood G -exact test, using FSTAT [13]. Random permutation procedures were used to test whether values differed significantly from zero. The amount of gene flow among populations was estimated within each island by substituting F_{ST} with G_{ST} in Wright's [34] island model of gene flow. This model estimates $Nm = (1 - G_{ST})/2G_{ST}_{\alpha}$ with Nm being the effective number of migrants per generation, and $\alpha = (n/(n - 1))^2$, where n is the number of populations. An AMOVA [12] on genotype frequencies in each population was performed with the software ARLEQUIN [27], to test the hierarchical partitioning of genetic variability within and among populations of the four groups of islands. Significance of F_{ST} values was assessed by random permutation tests. Pairwise Cavalli-Sforza and Edwards [6] chord distance was calculated and subjected to Multidimensional Scaling (MDS) [18] using NTSYS-pc [26]. Correlation between genetic and geographic distances among populations was tested with

Option 6 of GENEPOPv3.1d [24], based on Slatkin and Maddison's [29] isolation by distance model, using F instead of F_{ST} [8]. Finally we performed an MDS plot using the mean values of morphometric characters (meristics and pholidotics) of individuals belonging to six populations of *L. dugesii* published by Bischoff *et al.* [4]. The values were first standardized and a distance matrix was constructed based on Euclidean distances. Whenever possible we kept the same population codes to allow an easier comparison.

3. RESULTS

Twenty-three presumptive loci were scored for all populations (see Appendix); three of these (AK, PGI and SOD) were monomorphic and were excluded from data analysis. Mean number of alleles per locus was similar across populations, varying from 1.7 to 2.1. Direct-count heterozygosity estimates (H) ranged from 0.10 to 0.22. The percentage of polymorphic loci (presence of more than one allele) varied from 55% to 85% (see Appendix). Heterozygosity among populations did not differ significantly (two way ANOVA, $F = 1.68$, NS), and island size and mean heterozygosity were not related ($F = 0.34$, NS). There were no fixed differences between populations at any locus. Some alleles were archipelago-specific: G3PDH-allele 3, AAT-allele 3 and G6PDH-allele 3 from the Selvagens Islands (SE1, SE2), Est-allele 4 and LDH2-allele 3 from the Desertas Islands (DE2, DE3), MDH-alleles 5,6, PEP1-allele 4 and PEP3-allele 4, which are specific to the Porto Santo Island (PS). Most of the populations showed a high percentage of loci in which the most common allele was at a frequency greater than 90%. Only 16 out of 106 tests for conformity to HWE in individual loci in each population, showed a significant deficit of heterozygotes when α was set to 0.005 (data not shown). Pooling the genotypes into three classes: (1) homozygotes for the most common allele, (2) common and rare heterozygotes and (3) rare homozygotes, thereby avoiding classes with an expected low allele frequency, did not change the results. Table I gives basic genetic diversity measures, P -values associated to Hardy-Weinberg expectations for each locus across all populations, and probability exact tests related to genotypic differentiation across all populations. All P -values were subjected to Bonferroni corrections, and α was set to 0.002 since 20 tests were done (0.05:20). Even so, seven loci showed deviation to HWE, all in the direction of heterozygote deficiency. Except for ME-1, PEP-2, G6PDH, LDH-1, PGM-2 and XDH, genotypic distributions differed significantly ($P < 0.0001$) across populations (Tab. I). We followed Nei [22] notation and measured genetic differentiation among populations as G_{IS} and G_{ST} . The mean values of G_{IS} and G_{ST} for all populations across all loci surveyed were 0.27 and 0.19 respectively. Unbiased estimates of log-likelihood (G)-based exact tests for population differentiation revealed significant genotypic differences among all

populations, indicating a major pattern of heterogeneity among loci (Tab. I). The same tests done between pairs of populations belonging to the four groups of islands either within or among these groups gave similar results (data not shown). The highest number of loci with significant P -values of genotypic differentiation tests (in all cases $P < 0.05$, $\alpha = 0.002$) was found between population pairs MA1-MA2 and MA2-MA3 from Madeira Island (nine and five loci respectively). Also, two populations of the Desertas group (DE2 and DE3) showed seven loci with significant P -values. Pooling the populations from the same group, and applying the same tests, led us to uncover some loci such as EST, MDH and PEP-3, which consistently showed strong genotypic structure among these groups. Other loci discriminate a particular group of populations (AAT, G6PDH, ME-3 in Selvagens, or LAP and PEP-3 Porto Santo island, data not shown). Three loci (PGM-2, XDH, MPI) did not show any significant P -values related to genotypic differentiation either within or among groups. Pooling the populations from each of the three archipelagos (Madeira, Desertas and Selvagens) allowed us to compare the respective GST - and GIS -values (Tab. II). The three populations from Madeira Island showed the highest genotype heterogeneity. The GST -values depicted in Table II also clearly indicate that the two populations from Selvagens were the least differentiated.

The AMOVA results are shown in Table III and indicate that 99.7% of the genetic differentiation existing in *L. dugesii* populations was due to intra-population variation. Only a negligible amount of variation was attributed to differences among populations within and among archipelagos. These values confirm the analysis of variance done on heterozygosity estimates.

Multidimensional Scaling (MDS) plot based on Cavalli-Sforza and Edwards chord distances (Fig. 2, left), shows a close proximity of the Desertas group (DE1, DE2, DE3) to the MA3 population from Madeira Island and to a lesser extent with the other populations from the same island (MA1 and MA2). The two samples from the Selvagens (SE1 and SE2) and the sample from Porto Santo (PS) Island appear to be slightly separated from the others. Although one may be tempted to cluster the populations according to their geographic origin, the truth is that they do not show clear and separate groups. Only the two Selvagens remain close to each other as well DE3, DE1 and MA3. The fact is that the plot from Figure 2, left, allows any kind of interpretation. To assess the effects of geographical distance on genetic divergence in *L. dugesii* populations, pairwise FST -values were tested for correlation with geographic distances. No significant correlation was found ($r = 0.47$, $t = 2.9$, $P > 0.05$). Finally, the multidimensional scaling (MDS) plot based on the Bischoff morphological characters gave different results from those obtained with the enzymatic data (Fig. 2, right).

Table I. Nei estimates of heterozygosity and gene diversity parameters, per locus, over all populations of *Lacerta dugesii* and over all loci.

Loci	<i>Hs</i>	<i>Ht</i>	<i>GST</i>	<i>GIS</i>	GD ^(a) <i>P</i> -values	HW <i>ws</i> ^(b) <i>P</i> -values
ADH	0.11	0.14	0.23	0.37	*	NS
G3PDH	0.28	0.33	0.15	0.15	*	NS
EST	0.29	0.36	0.21	0.26	*	*
AAT	0.32	0.36	0.11	-0.00	*	NS
G6PDH	0.18	0.18	0.01	0.14	NS	NS
IDH	0.17	0.19	0.12	0.31	*	*
LAP	0.04	0.05	0.11	-0.13	*	NS
LDH-1	0.10	0.11	0.03	0.25	NS	NS
LDH-2	0.14	0.16	0.08	-0.09	*	NS
MDH	0.38	0.59	0.38	0.59	*	*
ME-1	0.14	0.14	0.03	0.25	NS	NS
ME-3	0.35	0.46	0.27	0.37	*	*
PEP-1	0.19	0.21	0.09	0.15	*	NS
PEP-2	0.08	0.09	0.02	0.27	NS	*
PEP-3	0.25	0.34	0.26	0.37	*	*
PEP-4	0.10	0.11	0.09	0.36	*	*
PGM-1	0.07	0.09	0.31	-0.47	*	NS
PGM-2	0.03	0.03	0.00	0.01	NS	NS
XDH	0.03	0.04	0.02	-0.03	NS	NS
MPI	0.08	0.09	0.08	0.11	*	NS
Mean	0.17	0.20	0.19	0.27	*	*

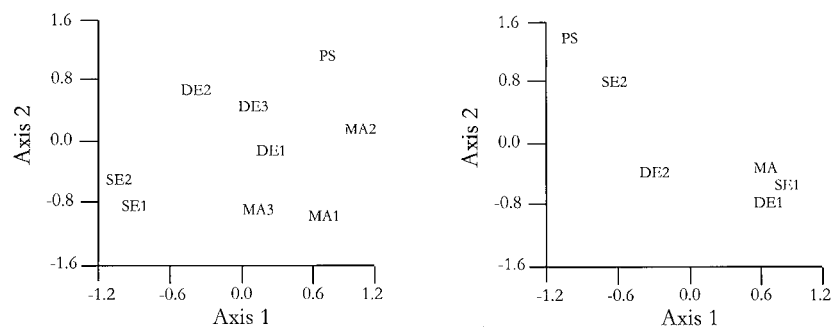
* $P = 0.0025$, NS: non-significant;^(a) Test for genotypic differentiation of populations using G -tests with 1 000 randomisations [13];^(b) P -values for testing Hardy-Weinberg within samples.**Table II.** Genotypic differentiation parameters within three archipelagos, across loci and populations of *Lacerta dugesii*.

Archipelago	<i>Hs</i>	<i>Ht</i>	<i>GST</i>	<i>GIS</i>	HW ^(a)	<i>Nm</i>
Madeira	0.15	0.18	0.19*	0.26	*	1
Desertas	0.19	0.20	0.09*	0.18	*	2
Selvagens	0.14	0.15	0.03*	0.28	*	4

* $P < 0.05$, $\alpha = 0.0025$;^(a) Significance of Hardy-Weinberg tests within samples based on FIS -values, with 1 000 randomisations.

Table III. Hierarchical AMOVA results based on genotype frequencies of *Lacerta dugesii* populations.

Source of variation	Df	Sum of squares	Percentage of variation	FST
Among groups	3	7.15	0.11	0.0023*
Among populations, within groups	5	6.59	0.19	
Within populations	8 311	4 056.5	99.70	

* $P < 0.0001$.**Figure 2.** Left: Multidimensional Scaling (MDS) based on Cavalli-Sforza and Edwards [6] chord distance, among populations of *Lacerta dugesii* plotted in two dimensions. Right: MDS plot based on morphological data published by Bischoff *et al.* [4].

4. DISCUSSION AND CONCLUSIONS

The expected heterozygosity values of *L. dugesii* ($H = 0.13$) averaged over populations was higher than those previously reported for lizard island populations but similar or even higher than those reported for mainland populations [5, 7, 11, 14, 20]. *Podarcis muralis* and *P. oxycephala* from the islets of Lake Skadar have higher heterozygosity values relative to mainland populations [11]. However, populations of *Lacerta melisellensis* in the Adriatic islands have lower heterozygosity values in more remote islands than in mainland populations, a fact attributed to recent isolation of the islands [15]. Heterozygosity values of *Lacerta dugesii* populations suggest that none had been subjected to a strong genetic bottleneck. This is supported by the fact that the highest value obtained (0.223) refer to a small island from the Desertas group. Of course, one cannot rule out the possibility that migrations exist among the islands. The high polymorphism level and the G_{ST} -values found for each archipelago could easily be transformed into $Nm > 1$, thus suggesting that gene flow is

actually taking place. The lack of fixed allele differences among populations also supports a recent colonization by *L. dugesii* although it is impossible to infer the time of colonization of each island from these data. Moreover the most likely explanation for the heterozygote deficiencies found is to admit that populations are structured on a microspatial scale, in other words, a Wahlund effect.

The different *GST*-values for each locus among populations is a good indicator that selection may be acting differently on some loci or, as Taylor *et al.* [31] pointed out, gene flow is sufficiently strong to homogenize unselected loci. The data do not suggest that the amount of gene flow is the same among populations; this is not surprising given the different distances separating the various groups of islands. The lowest value of *Nm* is found among the three populations from Madeira Island, which are submitted to more diversified environmental conditions, ultimately more efficiently favouring their isolation.

Population pairwise tests for genotype differentiation either on Madeira Island or between populations on different islands reject the null hypothesis of no genotypic differentiation. The AMOVA indicates that most of the genetic variation of *L. dugesii* is found within populations, with much less variation found among populations. Apparently, isolation by distance and oceanic barriers has not lead to effective isolation and differentiation. The significant overall *GST*-value of 0.19 suggests that some genetic structure exists, with the *GST*-value for groups of populations being high in Madeira Island and low in the Selvagens. It is population MA2 that contributes most to the differentiation among the Madeira island populations, while the two populations from Selvagens were not differentiated from each other (*GST* = 0.03).

Lacerta dugesii populations appear genetically distinct from each other but do not show a clear pattern of genetic structuring compatible with their geographic locations, as seen in the MDS plot based on the electrophoretic data. The plot shows that the three samples from Desertas and sample MA3 from Madeira are relatively close which is not surprising, since Madeira Island and the Desertas were certainly linked during the last glaciation periods around 18000 BP, and population MA3 inhabits an environment similar to the Desertas. On the small Desertas Islands, the three populations are genetically similar whereas they do not cluster together morphologically. This suggests that selection may be operating even in small areas on apparently similar environmental conditions. Conversely, the three samples from Madeira Island appear to be more different from one another than do samples from different islands. For example, MA2 has been reported as having low lizard density with no gene flow [3]. In fact, lizards in this region exist in high-density groups separated by long distances. This area is environmentally very different from MA1 and MA3, and its lizard population presents marked allelic differences from the other two. The fact that MA2 does not appear close to the other two from the

same island in the plot of Figure 2, left, could indicate that some of the loci are under strong selection.

The overall weak correlation between genetic and geographic distances indicates that genetic divergence among the islands is neither a function nor the result of isolation by distance. In fact, our data suggest that *L. dugesii* populations have a relatively recent dispersion history. Slatkin's [28] model of rapid colonization or population expansion, where a single ancestral population gives rise to extant populations, could explain the observed pattern of genetic divergence in *L. dugesii*, a case where the isolation-by-distance effect would not be apparent if the "radiations" were recent.

A major conclusion is that the electrophoretic and morphological data reveal different clustering of populations that could be explained by rapid morphological adaptation to different habitats involving drastic changes in morphology but not necessarily in allele frequencies. Others have reported similar findings on lizards inhabiting ecologically different habitats [23,32] and in sticklebacks [25]. Our hypothesis to explain the morphological clustering of populations from different islands is that there is convergence of some characters in similar environments, a fact already found in other lizard populations [19]. Although there is some gene flow among the nine populations of *L. dugesii*, it is not sufficient to override the morphological differences observed, which may be driven by ecological selection and adaptation to the particular environments prevailing in each habitat. Overall, our data point to a weak phylogeographical structure of *L. dugesii* populations, which is not in agreement with the morphological classification of these populations as subspecies.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the Parque Natural da Madeira for providing many of the specimens used, Christian Biémont, Jean David and Paul Chippindale for critical comments on the manuscript. José Jesus was a recipient of a post-graduate scholarship from Fundação para a Ciência e Tecnologia, program PRAXIS XXI. Part of this research was supported by JNICT contract [PBIC/P/CEN/1096/92](#) to Luis Vicente. The Centre of Biological and Geological Sciences is supported by Fundação para a Ciência e Tecnologia through program PRAXIS XXI.

REFERENCES

- [1] Arnold E., Towards a phylogeny and biogeography of the Lacertidae: relationships within an old-world family of lizards derived from morphology, *Bull. Br. Mus. Nat. Hist. (Zool.)* 55 (1989) 209–257.

- [2] Baez M., Observaciones de colorido y diseño de *Podarcis dugesii* en la isla de Madeira (Sauria, Lacertidae), *Vieraea* 18 (1990) 197–203.
- [3] Baez M., Brown R., Testing multivariate patterns of within-island differentiation in *Podarcis dugesii* from Madeira, *J. Evol. Biol.* 10 (1997) 575–587.
- [4] Bischoff W., Osenegg K., Mayer W., Untersuchungen zur subspezifischen Gliederung der Madeira-Mauereidechse, *Podarcis dugesii* (Milne-Edwards, 1829), *Salamandra* 25 (1989) 237–259.
- [5] Bobyn M., Darevsky I., Kupriyanova L., MacCulloch R., Upton D., Danielyan F., Murphy R., Allozyme variation in populations of *Lacerta raddei* and *Lacerta nairensis* (Sauria: Lacertidae) from Armenia, *Amphibia-Reptilia* 17 (1996) 233–246.
- [6] Cavalli-Sforza L., Edwards A., Phylogenetic analysis: models and estimation procedures, *Evol.* 21 (1967) 550–570.
- [7] Cirer A., Guillaume C., Electrophoretic analysis of the Pityusic islands lizard, in: Rocek Z. (Ed.), *Studies in Herpetology*, Prague, 1996.
- [8] Cockerham C., Weir B., Estimation of gene flow from *F*-statistics, *Evol.* 47 (1993) 855–863.
- [9] Cook L.M., Variation in the Madeira lizard *Lacerta dugesii*, *J. Zool. (Lond.)* 187 (1979) 327–340.
- [10] Crisp M., Cook L., Hereward F., Color and heat balance in the lizard *Lacerta dugesii*, *Copeia* 2 (1979) 250–258.
- [11] Crnobrnja-Isailovic J., Dzukic G., Aleksic I., Vujicic L., Avramov S., *Podarcis muralis* and *Lacerta oxycephala* (Reptilia: Lacertidae) on the islands of Skadar Lake: Distribution and genetic relationships of populations, in: Llorente G., Montori A., Santos X., Carretero M.A. (Eds.), *Scientia Herpetologica*, Asociación Herpetológica Española, Barcelona, 1995, pp. 71–80.
- [12] Excoffier L., Smouse P.E., Quattro J.M., Analysis of molecular variance inferred from metric distances among haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data, *Genet.* 131 (1992) 479–491.
- [13] Goudet J., FSTAT v.1.2: A computer program to calculate *F*-statistics, *J. Hered.* 86 (1995) 485–486.
- [14] Gorman G., Soule M., Yang S., Nevo E., Evolutionary genetics of insular adriatic lizards, *Evol.* 29 (1975) 52–71.
- [15] Gorman G., Buth D., Soule M., Yang S., The relationships of the *Anolis cristatellus* species group: electrophoretic analysis, *J. Herpet.* 14 (1980) 269–278.
- [16] Guo S.W., Thompson E.A., Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportions for multiple alleles, *Biometrics* 48 (1992) 361–372.
- [17] Harris D.J., Arnold E.N., Thomas, R.H., Relationships of lacertid lizards (Reptilia: Lacertidae) estimated from mitochondrial DNA sequences and morphology, *Proc. Roy. Soc. London Ser. B* 265 (1998) 1939–1948.
- [18] Lessa E., Multidimensional analysis of geographic genetic structure, *Syst. Zool.* 39 (1990) 242–252.
- [19] Losos J.B., Jackman T.R., Larson A., Queiroz K., Rodríguez-Schettino L., Contingency and determinism in replicated adaptative radiations of island lizards, *Science* 279 (1998) 2115–2118.
- [20] MacCulloch R., Fu J., Darevsky I., Danielyan F., Murphy R., Allozyme variation in three closely related species of Caucasian rock lizards (*Lacerta*), *Amphibia-Reptilia* 16 (1995) 331–340.

- [21] Murphy R., Sites J., Buth D., Haufler C., Proteins I: Isozyme electrophoresis, in: Hillis D., Moritz C. (Eds.), *Molecular Systematics*, Sinauer Associates, Sunderland, MA, 1990, pp. 45–126.
- [22] Nei M., F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations, *Ann. Hum. Genet.* 41 (1977) 225–233.
- [23] Orr M., Smith TH., Ecology and Speciation, *TREE* 13 (1998) 502–506.
- [24] Raymond M., Rousset F., GENEPOP (v.1.2): a population genetics software for exact test and ecuniscism, *J. Hered.* 95 (1995) 248–249.
- [25] Rundle H., Nagel L., Baughman J., Schluter D., Natural selection and parallel speciation in sympatric sticklebacks, *Science* 287 (2000) 306–308.
- [26] Rohlf F., NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Exeter Software, New York, 1990.
- [27] Schneider S., Kueffer J-M., Roessli D., Excoffier L., Arlequin ver. 1.1: A software for population genetic data analysis, Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, 1997.
- [28] Slatkin M., Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations, *Evol.* 47 (1993) 264–279.
- [29] Slatkin M., Maddison, W., Detecting isolation by distance using phylogenies of genes, *Genet.* 117 (1990) 149–153.
- [30] Sokal R.R., Jacquez G.M., Wooten M.C., Spatial autocorrelation analysis of migration and selection, *Genet.* 121 (1989) 845–855.
- [31] Taylor M.F., Shen Y., Kreitman M.E., A population genetic test of selection at the molecular level, *Science* 270 (1995) 1497–1499.
- [32] Vitt L., Caldwell J., Zani P., Titus T., The role of habitat shift in the evolution of lizard morphology: Evidence from tropical *Tropidurus*, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 94 (1997) 3828–3832.
- [33] Weir B., Cockerham C., Estimating F-statistics for the analysis of population structure, *Evol.* 38 (1984) 1358–1370.
- [34] Wright S., The genetical structure of populations, *Ann. Eugen.* 15 (1951) 323–354.
- [35] Wright S., *Evolution and Genetics of Populations*, Vol. 4: Variability within and among Natural Populations, UCP, Chicago, 1978.

APPENDIX

Table IV. Allele frequencies per locus, in *Lacerta dugesii* populations. *N*, is the number of individuals sampled. Codes of populations are as in Figure 1. (*continued on next pages*)

Loci	Populations								
	SE1	SE2	MA1	MA2	MA3	PS	DE1	DE2	DE3
1.ADH									
(<i>N</i>)	20	19	24	18	15	24	23	14	24
1	0.97	1.0	1.0	0.69	1.0	1.0	0.67	1.0	0.98
2	0.02	0.00	0.00	0.30	0.00	0.00	0.33	0.00	0.02
2.G3PDH									
(<i>N</i>)	18	17	50	18	15	24	50	14	24
1	0.78	0.76	0.96	0.64	1.0	0.58	0.87	1.0	0.63
2	0.11	0.12	0.04	0.36	0.00	0.42	0.13	0.00	0.37
3	0.11	0.12	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3.EST									
(<i>N</i>)	20	19	24	18	20	24	24	14	24
1	0.93	0.87	0.98	0.94	1.0	0.81	0.65	0.36	0.48
2	0.06	0.13	0.02	0.03	0.00	0.17	0.35	0.43	0.29
3	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00
4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.21	0.23
4.AAT									
(<i>N</i>)	20	17	24	18	15	24	23	14	15
1	0.67	0.62	1.0	0.72	0.93	0.71	0.59	0.82	0.93
2	0.10	0.35	0.00	0.28	0.07	0.29	0.41	0.18	0.07
3	0.23	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5.G6PDH									
(<i>N</i>)	20	19	24	18	20	24	24	14	24
1	0.92	0.84	0.94	0.92	0.90	0.96	0.83	0.89	0.92
2	0.03	0.00	0.06	0.08	0.10	0.04	0.17	0.11	0.08
3	0.05	0.16	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6.IDH									
(<i>N</i>)	20	19	24	13	15	24	24	14	24
1	0.90	0.87	0.60	1.0	1.0	0.98	0.92	0.93	0.87
2	0.10	0.13	0.40	0.00	0.00	0.02	0.08	0.07	0.13
7.LAP									
(<i>N</i>)	24	26	26	28	24	24	26	10	7
1	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.83	1.0	0.95	1.0
2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.17	0.00	0.05	0.00
8.LDH-1									
(<i>N</i>)	20	19	24	18	20	24	23	14	24
1	1.0	0.95	1.0	0.97	0.95	0.85	0.91	0.86	1.0
2	0.00	0.05	0.00	0.03	0.05	0.15	0.09	0.14	0.00

Table IV. *continued.*

Loci	Populations								
	SE1	SE2	MA1	MA2	MA3	PS	DE1	DE2	DE3
9.LDH-2									
(N)	20	19	24	18	20	24	24	14	25
1	1.0	0.79	0.96	0.92	1.0	1.0	0.96	0.82	0.80
2	0.00	0.21	0.04	0.08	0.00	0.00	0.00	0.18	0.18
3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.02
10.MDH									
(N)	26	26	32	41	35	24	26	9	6
1	0.86	0.96	0.22	0.00	0.38	0.00	0.38	0.22	0.17
2	0.04	0.00	0.37	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3	0.00	0.04	0.41	0.91	0.56	0.67	0.62	0.78	0.83
4	0.10	0.00	0.00	0.00	0.06	0.04	0.00	0.00	0.00
5	0.00	0.00	0.00	0.09	0.00	0.12	0.00	0.00	0.00
6	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.17	0.00	0.00	0.00
11.ME-1									
(N)	26	26	40	47	38	24	26	9	8
1	0.98	0.94	0.99	0.95	0.87	0.98	0.88	0.94	0.81
2	0.02	0.06	0.00	0.02	0.08	0.02	0.06	0.06	0.00
3	0.00	0.00	0.01	0.03	0.05	0.00	0.06	0.00	0.19
12.ME-3									
(N)	46	46	38	65	52	48	50	14	24
1	0.40	0.36	0.80	0.93	0.34	0.87	0.60	0.93	0.92
2	0.59	0.64	0.13	0.01	0.53	0.07	0.33	0.00	0.08
3	0.01	0.00	0.07	0.06	0.13	0.06	0.07	0.07	0.00
13.PEP-1									
(N)	23	26	64	47	35	24	26	8	7
1	0.96	1.0	0.72	0.94	0.90	0.83	0.69	0.94	1.0
2	0.00	0.00	0.16	0.00	0.01	0.13	0.04	0.00	0.00
3	0.04	0.00	0.12	0.06	0.09	0.00	0.27	0.06	0.00
4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00
14.PEP-2									
(N)	20	26	34	42	38	24	26	9	8
1	0.98	0.94	0.90	1.0	0.91	1.0	0.89	1.0	1.0
2	0.02	0.06	0.06	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00
3	0.00	0.00	0.04	0.00	0.09	0.00	0.09	0.00	0.00
15.PEP-3									
(N)	42	42	64	65	38	23	50	14	18
1	0.76	0.97	0.96	0.82	0.91	0.24	0.87	0.93	0.67
2	0.00	0.00	0.00	0.01	0.03	0.00	0.02	0.00	0.00
3	0.24	0.03	0.04	0.17	0.06	0.67	0.11	0.07	0.33
4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.09	0.00	0.00	0.00

Table IV. *continued.*

Loci	Populations								
	SE1	SE2	MA1	MA2	MA3	PS	DE1	DE2	DE3
16.PEP-4									
(N)	25	26	36	42	38	24	26	9	8
1	0.96	1.0	0.82	0.99	0.77	0.94	1.0	1.0	1.0
2	0.04	0.00	0.11	0.00	0.21	0.00	0.00	0.00	0.00
3	0.00	0.00	0.07	0.01	0.02	0.06	0.00	0.00	0.00
17.PGM-1									
(N)	24	26	26	28	24	24	26	10	7
1	1.0	1.0	0.98	0.63	1.0	1.0	0.96	1.0	1.0
2	0.00	0.00	0.02	0.37	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00
18.PGM-2									
(N)	23	26	26	28	24	24	26	10	7
1	1.0	1.0	0.96	0.98	1.0	1.0	0.98	0.95	1.0
2	0.00	0.00	0.04	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.05	0.00
19.XDH									
(N)	20	19	24	18	15	24	24	14	24
1	1.0	1.0	0.96	0.94	1.0	0.94	1.0	1.0	1.0
2	0.00	0.00	0.04	0.06	0.00	0.06	0.00	0.00	0.00
20.MPI									
(N)	20	19	24	18	16	24	22	14	16
1	0.97	1.0	0.96	1.0	0.97	1.0	0.78	0.96	0.94
2	0.03	0.00	0.04	0.00	0.03	0.00	0.22	0.04	0.06
Mean of number of alleles	2.0	1.7	2.0	2.0	1.9	2.0	2.1	1.8	1.7
Percentage of polymorphic loci	0.70	0.60	0.80	0.80	0.55	0.70	0.85	0.70	0.60
Mean of observed heterozygosity (<i>H</i>)	0.108	0.098	0.102	0.142	0.094	0.135	0.223	0.115	0.133
(ST. error)	(0.031)	(0.030)	(0.025)	(0.040)	(0.024)	(0.038)	(0.043)	(0.030)	(0.038)
Expected Heterozygosity	0.141	0.145	0.157	0.163	0.137	0.187	0.246	0.151	0.169
(ST. error)	(0.038)	(0.038)	(0.042)	(0.037)	(0.040)	(0.042)	(0.041)	(0.037)	(0.044)
HWE ^(a)	*	*	*	NS	*	*	*	NS	NS
estimates									
FIS ^(b)	*	*	*	NS	*	*	NS	*	NS

Adenylate kinase (AK) 2.7.4.3; Alcohol Dehydrogenase (ADH) 1.1.1.1; Aspartate aminotransferase (AAT) 2.6.1.1; Esterase (EST) 3.1.1.-; Glucose-6-phosphate Dehydrogenase (G6PDH) 1.1.1.49; Glycerol-3-phosphate Dehydrogenase (G3PDH) 1.1.1.8; Isocitrate Dehydrogenase (IDH) 1.1.1.42; L-Lactate Dehydrogenase (LDH-1, LDH-2) 1.1.1.27; Leucine Aminopeptidase (LAP) 3.4.11.-; Malate Dehydrogenase NAD (MDH) 1.1.1.37; Malate Dehydrogenase NADP (ME-1, ME-2) 1.1.1.40; Manose-6-phosphate Isomerase (MPI) 5.3.1.8; Peptidase (PEP-1, PEP-3) 3.4.-.-; Peptidase (PEP-2, PEP-4) 3.4.-.-; Phosphoglucose Isomerase (PGI) 5.3.1.9; Phosphoglucomutase (PGM -1, PGM-2) 5.4.2.2; Superoxide Dismutase (SOD) 1.15.1.1; Xanthine Dehydrogenase (XDH) 1.1.1.204.

* $P < 0.0025$; ^(a) Unbiased estimate of P -values using the Markov chain method; ^(b) P -values of FP within samples, with 1 000 randomisations.

Structure and Evolution of the Mitochondrial DNA Complete Control Region in the Lizard *Lacerta dugesii* (Lacertidae, Sauria)

António Brehm,¹ D. James Harris,² Cíntia Alves,³ José Jesus,¹ Fabienne Thomarat,⁴ Luís Vicente⁵¹ Center of Macaronesian Studies, University of Madeira, Campus da Penteada, 9000 Funchal, Portugal² Centro de Estudos de Ciência Animal (CECA), ICETA-UP, Campus Agrário de Vairão, 4485-661 Vila do Conde, Portugal³ IPATIMUP, University of Porto, Rua Dr. Roberto Frias, 4000 Porto, Portugal⁴ Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, UMR CNRS 5558, Université Lyon I, 69622 Villeurbanne, France⁵ Centre of Environmental Biology, Department of Zoology and Anthropology, Science, Faculty of Lisbon, University of Lisbon, C2 Campo Grande, 1700 Lisbon, Portugal

Received: 12 December 2001 / Accepted: 11 July 2002

Abstract. We sequenced the complete control region (CR) and adjacent tRNAs, partial 12S rRNA, and cytochrome *b* (over 3100 bp) from eight individuals of Madeiran wall lizards, *Lacerta dugesii*, from four distinct island populations. The tRNAs exhibit a high degree of intraspecific polymorphisms compared to other vertebrates. All CR sequences include a mini-satellite that varies in length between populations but is apparently fixed within them. Variation in mini-satellite length appears between populations separated by apparently very short evolutionary time spans. Many motifs identified in the CR of other vertebrates are not highly conserved, although conserved blocks are identifiable between the few published reptile CR sequences. Overall there are extensive differences in the internal organization of the reptile CR compared to the more widely studied mammals and birds. Variability in the CR is lower than in cytochrome *b*, but higher than in 12S rRNA. Phylogenetic analysis of these sequences produces a well-resolved estimate of relationships between populations.

Key words: *Lacerta dugesii* Control region
D-Loop Structure Madeira tRNA^{Thr}
tRNA^{Pro} tRNA^{Phe}

Introduction

In vertebrates, the mitochondrial control region (CR), is the major noncoding fragment of the molecule. The CR spans between the *tRNA^{Phe}* and the *tRNA^{Pro}* genes and includes the transcription initiation sites for both strands (Attardi 1985; Clayton 1982; Saccone et al. 1987). Because the CR lacks typical coding constraints, it accumulates base substitutions, indels, and a variable number of tandem repeats which are responsible for the extensive size variation found in the mtDNA molecule (Hoelzel et al. 1994; Sbisà et al. 1997). The CR is usually thought to be the fastest-evolving region of the genome (Brown et al. 1979), and for that reason it is broadly used to perform intra- and interspecific phylogenetic studies. However, only a few CR sequences have been published for reptiles (e.g., Sites et al. 1996; Kumazawa and Nishida 1999; Janke et al. 2001), so little is known concerning its comparative structure or phylogenetic utility within this group. Our aim was to address this by sequencing the CR for several individuals of the lacertid lizard *Lacerta dugesii*.

Lacerta dugesii is an endemic lizard from Madeira, the Desertas Islands, Porto Santo, and the Selvagens and was recently introduced to the Azores. Because of the well-known geological history of these islands (Geldmacher et al. 2000) and the high population densities of the lizards, it is a model organism for

Correspondence to: António Brehm; email: brehm@uma.pt

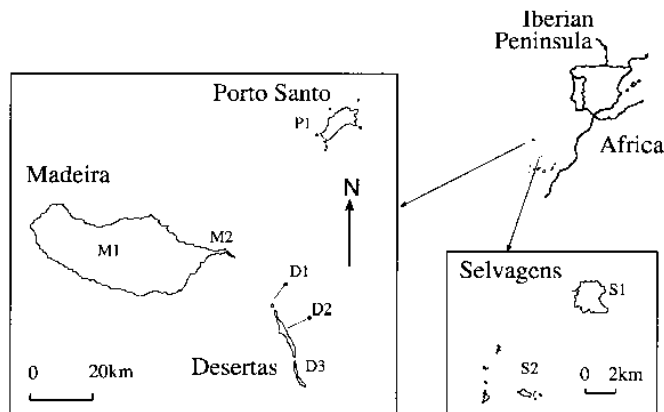


Fig. 1. Geographic location of the eight *Lacerta dugesii* specimens used in the present study. M, Madeira Island; D, Desertas Islands; P, Porto Santo Island; S, Selvagens. M1, Curral das Freiras; M2, Ponta de São Lourenço; D1, Bugio; D2, Deserta Grande; D3, Ilhéu Chão; S1, Selvagem Grande; S2, Selvagem Pequena.

studying genetic variation across a fragmented habitat. Eight CR sequences from *Lacerta dugesii* individuals were compared interspecifically and with other published reptile sequences. We use this to address relative rates of evolution between CR, cytochrome *b*, and 12S rRNA sequences. Within the CR we also investigate the evolutionary rate in putatively conserved regions and within the arrays of tandem repeats that commonly occur in both extremities of the CR (e.g., Savolainen et al. 2000).

Materials and Methods

Laboratory Methods

Eight specimens of *Lacerta dugesii* covering the species distribution range were sequenced for the entire CR (D-loop). The precise localities and code names of the specimens captured are shown in Fig. 1 and are as follows: two animals from Madeira Island (M1 and M2), three from the Desertas archipelago (D1, D2, and D3), one from Porto Santo Island (P1), and two from the Selvagens archipelago (S1 and S2). Total DNA was extracted from tail tips from each individual, followed by a phenol chloroform standard procedure. The entire CR including three tRNAs and partial 12S and cytochrome *b* gene sequences were amplified in a single step using two primers, cBL (5'-CTGCATCTACCTCCACATCGGACG-3') and 12L (5'-AAGTTTTTCACTTGTTAGTTCTCTG GCGG-3') and *TaqPlus* Long from Stratagene, following the manufacturer's instructions. PCR cycle conditions were 30 s at 94°C, 30 s at 60°C, and 2 min at 70°C, for 35 cycles. Primers cBL and 12L were designed to anneal to conserved regions in the cytochrome *b* and 12S rRNA genes, respectively. Following the amplification of this fragment, nine primers were successively designed to amplify and sequence consecutive segments using the initial fragment as a template, until sequences from both extremities overlapped. Primer sequences and their relative locations and amplification conditions are described on the web page: www.unma.pt/bioarticles.

Amplified fragments were always sequenced three times and in both directions, on a 377 Applied Biosystem DNA Sequencing Apparatus, with the same set of primers used for amplification. One primer pair was specifically designed to amplify the region containing a repeat motif. We amplified this fragment in 10 individuals from each site and examined variation of the number of repeats within populations through differences in the length of

PCR products visualized in an agarose gel stained with ethidium bromide.

The existence of nuclear copies of mitochondrial sequences in a variety of organisms is well known [Numts according to Lopez et al. (1994)] and these may obscure inferences on mtDNA evolution (Bensasson et al. 2001; Woicnik and Moraes 2002). The sequences initially appear to be mtDNA and not nuclear copies for several reasons. The strong bias against guanines in the third positions of the cytochrome *b* gene is typical in reptiles (Harris 2002). Also, part of the cytochrome *b* and 12S rRNA sequences overlap with previously published sequences of *L. dugesii* for these regions, and differ from them by less than 1% (Oliveiro et al. 2000; Harris et al. 1998). Further, the free energy of the secondary structure of the 12S rRNA is similar to that of other lacertid species (data not shown; see Harris 2001), although this method does not always clearly identify numts (Olsen and Yoder 2002). To be completely sure that we had not amplified a nuclear copy we followed the same strategy as Bensch and Härlid (2000) and Saunders and Edwards (2000) and purified mitochondria from a fresh liver sample of *L. dugesii* in a CsCl ethidium bromide density gradient. A fragment was then amplified using the same set of primers and mtDNA extract as the template. Sequences obtained were identical to those obtained when using PCR products amplified from total DNA.

Structural and Sequence Analysis

The eight sequences were aligned using SEAVIEW (Galtier et al. 1996) and sequence similarities were checked by visual inspection. The sequences reported here are available in GenBank, accession numbers AY147872 AY147879. Analyses of codon positions and variable informative sites were done using PHYLO_WIN (Galtier et al. 1996). Search for possible sequence motifs repetitions in the CR and comparison with other taxa were done using BLASTN v.2.2.1 (Altschul et al. 1997). The MFOLD program (Zuker et al. 1999) was employed to identify the three tRNAs' secondary structures. The search for potential promoter sequences was done with PROSCAN v1.7 and NNPP, available at the BCM web site. We have searched for potential secondary structures around conserved segments or segments identified as highly conserved across several organisms using MFOLD and RNAdraw (Matzura and Wennborg 1996). Sequences were phylogenetically analyzed using PAUP' 4.0.b3a (Swofford 2001).

When estimating phylogenetic relationships among sequences, one assumes a model of evolution regardless of the optimality criteria employed. Here we used the approach suggested by Huelssenbeck and Crandall (1997) to test 56 alternative models of evo-

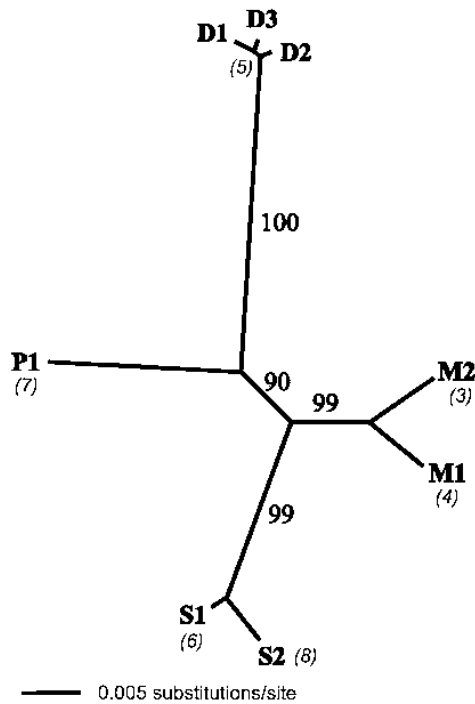


Fig. 2. Phylogenetic tree based on the complete sequences of eight *Lacerta dugesii* specimens. Abbreviations are as in Fig. 1. Numbers on branches are bootstrap values (see text). In parentheses are the numbers of 37-bp repeats in the control region.

lution, using MODELTEST v.3 (Posada and Crandall 1998), described in detail by Harris and Crandall (2000). The chosen model of evolution was used to estimate a tree using maximum likelihood (Felsenstein 1981), with confidence in resulting nodes assessed using the bootstrap technique (Felsenstein 1985) with 1000 pseudoreplicates.

Phylogenetic Analysis

The three major regions sequenced (12S rRNA, cytochrome *b*, and CR) were analyzed separately and combined. For the combined

analysis the most appropriate model of evolution was the TVM, with an estimated proportion of invariable sites (0.1) and a discrete approximation of the Γ distribution (0.001). A heuristic search with 100 replicates with this model found a single most likely tree of $-\ln 6385$ (Fig. 2).

Results

Structure of the Amplified Region

The CR and adjacent gene sequences were obtained from eight *Lacerta dugesii* individuals. The aligned sequences varied in length from 3112 to 3311 bp and included 851 bp of the cytochrome *b* gene, the complete *tRNA^{Thr}* (69 bp) and *tRNA^{Pro}* genes (varying between 69 and 70 bp), the whole CR, the complete *tRNA^{Phe}* gene (which varied in length from 75 bp in five individuals to 74 bp in three others), and a partial sequence from the 12S rRNA gene which varied from 478 bp (in D1, D2, and D3) to 480 bp (M1, M2, S1, and S2) to 481 bp (P1). *tRNA^{Thr}* is separated from the cytochrome *b* gene by a sequence of six nucleotides. Table 1 lists the nucleotide frequencies of the cytochrome *b* gene, the CR, the 12S rRNA gene, and the three tRNAs together. The transition/transversion ratio (T_s/T_v) of the *cyt b* sequence is 9.5, with a clear bias toward C \leftrightarrow T ($AG/CT = 0.44$), most of the substitutions being at the third codon position. The same applies to the 12S rRNA sequence ($T_s/T_v = 3.43$; $AG/CT = 0.85$). Table 1 compares the number of variable sites of the four regions surveyed with those that are phylogenetically informative.

Transfer RNA Genes

The base content of the three tRNAs of *L. dugesii* is similar to values found in other organisms (Table 1). The T_s/T_v ratio observed in the three tRNAs is 12: only 1 transversion found, versus 12 transitions ($AG/CT = 1$). *Lacerta dugesii* tRNAs appear to be functional, encoding apparently stable secondary struc-

Table 1. Number of sites found in *Cyt b*, the CR, the repeat region in the 5' left CR strand (CR minisatellite), 12S rRNA, and three tRNAs^a

Region	Codon position	NS	% A	% C	% G	% T	NVS (%)	NIS (%)
<i>Cyt b</i>	1	283	25.0	30.2	22.4	22.3	16 (5.7)	8 (2.8)
	2	284	20.3	24.0	12.1	43.6	5 (1.8)	3 (1.1)
	3	284	33.7	41.4	4.3	20.7	85 (29.9)	61 (21.5)
	Total	851	26.4	31.9	12.9	28.9	106 (12.5)	72 (8.5)
CR	Total	1408	32.8	22.1	9.7	35.5	97 (6.9)	67 (4.8)
CR minisatellite		36 ^b	12.5	42.5	16.7	28.1		
		39 ^c	19.5	44.0	15.9	28.1		
12S rRNA	Total	478	34.4	23.0	18.4	24.2	31 (6.5)	22 (4.6)
tRNAs	Total	212	33.4	26.1	18.1	22.3	13 (6.1)	6 (2.8)

^a Nucleotide frequencies in the four regions are given, as well as the number of variable sites (NVS), and, of these, the number that are phylogenetically informative (NIS). CR values do not include the repeats. NS, number of sites.

^b Number of sites in each repeat without gaps.

^c Number of sites in each repeat with gaps.

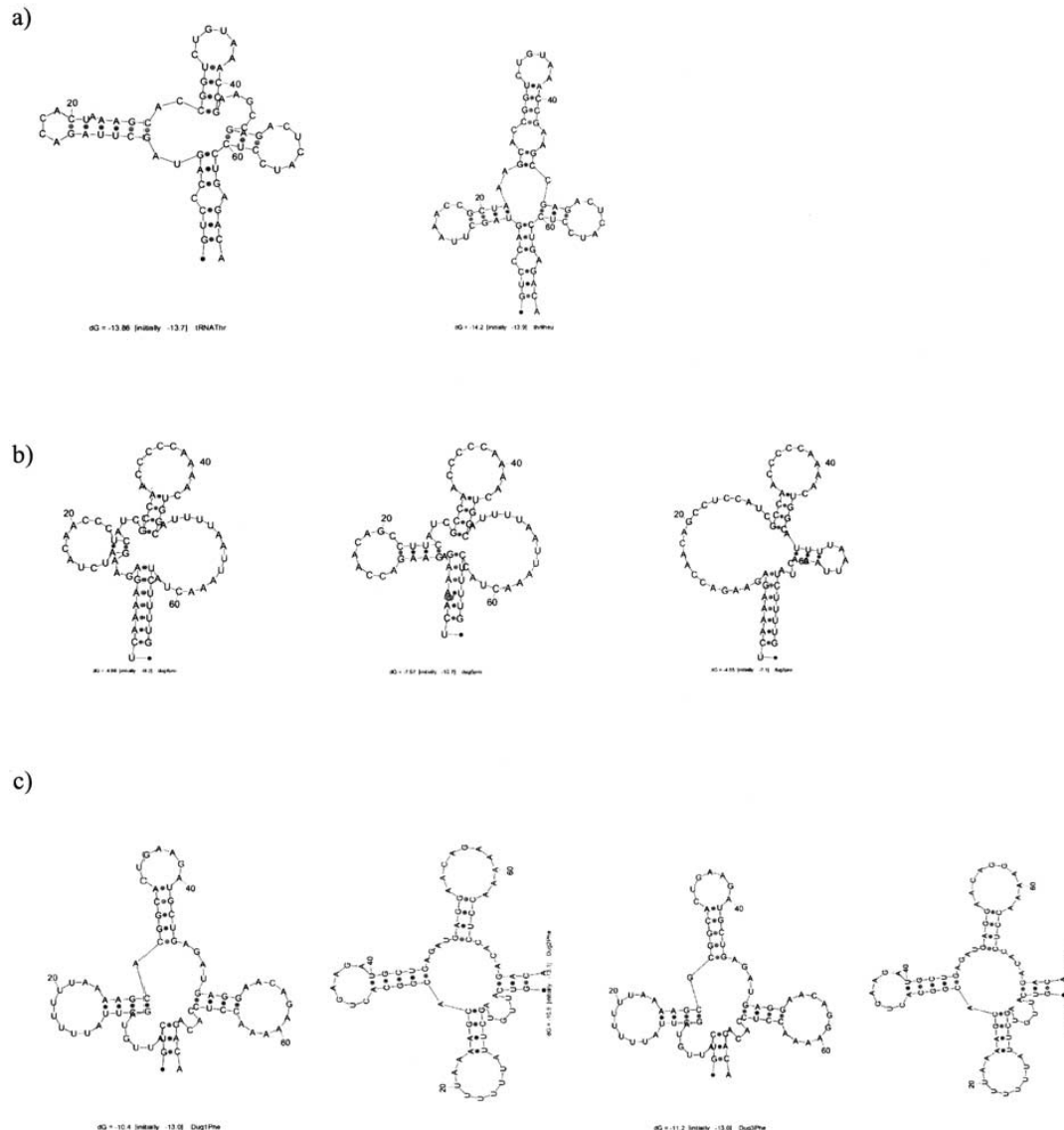


Fig. 3. Secondary structures of the presumably functional $tRNA^{Thr}$ (a), $tRNA^{Pro}$ (b), and $tRNA^{Phe}$ (c) genes.

tures usually present in mitochondrial tRNAs (Kumazawa and Nishida 1993). Due to an intraspecific polymorphism the $tRNA^{Thr}$ gene may assume two different stable secondary structures (Fig. 3a) with perfect cloverleaf topologies. The $tRNA^{Pro}$ gene is much more variable (Fig. 3b). The eight *L. dugesii* individuals gave six $tRNA^{Pro}$ sequences (Fig. 3c). This is not an unusual feature of this tRNA (Kumazawa and Nishida 1995), but the extent of intraspecific polymorphism in this species is extremely high. The fact that no duplicate forms of the $tRNA^{Pro}$ gene were

found allows us to assume that all are functional structures, although it easily accumulates indels or base substitutions.

The Control Region (CR)

The *Lacerta dugesii* CR is depicted schematically in Fig. 4. The CR base composition is characterized by a low G content (9.7%), as is typical in vertebrates. The base content GC versus AT is irregular across the entire region and we did not attempt to divide the

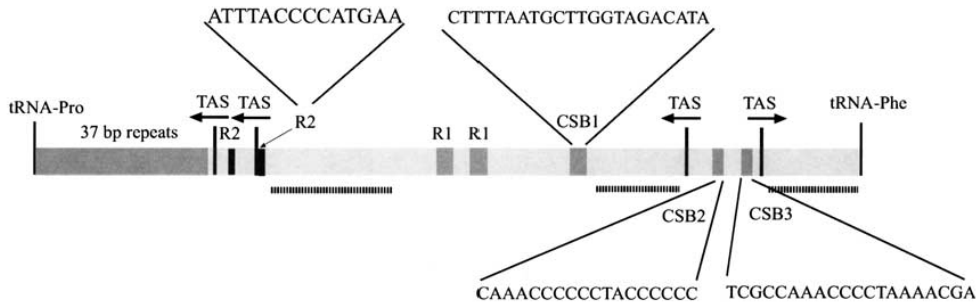


Fig. 4. General structure of the control region in *Lacerta dugesii*. R1 and R2 are 31- and 14-bp perfect repeats. The dark gray region adjacent to *tRNA^{Pro}* represents the variable number of tandem 37-bp repeats. The dotted bars below the gray bar show the localizations of highly variable CR regions.

segment into domains because it is not comparable between different species. The overall T_c/T_v ratio in the CR is 3.43 (21 transversions and 72 transitions; $AG/CT=0.5$). Figure 4 illustrates the distribution of repeat and variable sites as well as three CSB (conserved sequence blocks) and TAS (termination-associated sequence) elements. The *Lacerta dugesii* CR structure does not present the typical domains described for mammals (Randi and Lucchini 1998). The CR presents two well-conserved central domains (about 130 bp each) with no variable sites, flanked by variable domains. The sequence between the two central conserved segments (about 260 bp) is also variable. The extreme left domain (the 5' terminus of the nascent H-strand) contains tandem repeats consisting of four to nine 37-bp repeats responsible for the variable length observed in the mtDNA CR. The base composition of this minisatellite is very different from that of the total CR (Table 1), with a striking increase in cytosines and deficit of adenines. The number of these repeats was found to be constant in 10 individuals screened from each population. Figure 4 also illustrates how conserved blocks are interspaced with more variable sections. Two repeats of 34 bp were found in a conserved region, separated by 28 bp (R1 in Fig. 4). Four motifs matching the TAS element (5'...AATTACA...3') reported by Saccone et al. (1987), as well as the more expanded sequence denominated ETAS (Sbisà et al. 1997), are evident (Fig. 4), but three of them are in an inverted direction from that of Saccone et al. (1987). The conservative nature of these sequences and the flanking regions provides additional evidence that they may be of importance for mitochondrial transcription and regulation in the D-loop-containing region (Brown et al. 1986; Saccone et al. 1987; Sbisà et al. 1997). The four TAS elements do not seem to be randomly distributed in the CR since they are found in the extremities and in conserved regions. Brown et al. (1986) reported the existence of four TAS motifs in rodent,

cow, and human mtDNAs, all located in the 3' end of the D-loop region. Three CSB elements (CSB-1, -2, and -3 in Fig. 4) are highly conserved among the eight *L. dugesii* specimens. TATATA repeats, the most common motif for transcription by RNA polymerase II, are randomly dispersed across the whole CR. Also, the motif CCAATC (probably with a function identical to that of the TATA boxes) was found in the conserved segment between R1 and CSB1 and also near the 3' end, next to *tRNA^{Phe}*. A common modular element for most promoters, the ATATAA box, is also present between the R2 repeats. Three GYRCAT motifs ($Y=C/T$; $R=A/G$) are evident, two of them included in the already-mentioned TAS boxes. These motifs are quite widespread in Domain I of mammals and birds (Randi and Lucchini 1998), but they are also part of the more general TAS (also called ETAS) motifs. We have searched for possible open reading frames (ORFs) but no potential promoters were recognized in the CR with the search tools used. Two TCCC motifs exist in the *Lacerta dugesii* CR, which have been linked to termination of H strands in mammalian and bird D-loops (Douzery and Randi 1997; Randi and Lucchini 1998) but neither are linked to putative cloverleaf secondary structures.

Phylogenetic Value of the CR

Our analysis of the combined sequences produces a single well-resolved estimate of phylogeny. Individuals from each of the island groups are strongly supported as clades—three individuals from the Desertas (100% bootstrap support), two from Madeira (99%), and two from the Selvagens (100%). The individuals from the Selvagens and Madeira form a clade relative to those from the Desertas and Porto Santo (90%) (Fig. 2). In the separate analysis of 12S rRNA, cytochrome *b*, and CR sequences, all of these clades are similarly recovered (data not shown).

Discussion

Structure and Comparative Analysis of the CR

We did not attempt to divide the *Lacerta dugesii* CR into domains according to degree of variability or base content, as this division would be arbitrary in this species. The *Lacerta dugesii* CR shows a strong bias against guanine on the light strand ($G = 9.7\%$), slightly lower than the values found in other reptiles (Macey et al. 1997a). The *tRNA^{Pro}* gene appears to be under relaxed selection to accumulate a considerable number of indels and base substitutions, even within a species. The presence of tandem repeats near the 3' end of the CR is not uncommon in vertebrates, although their putative function and origin are unknown. Repeats of variable number and length have been found in various organisms, but not always localized in the same domains (Moritz and Brown 1986; Lunt et al. 1998; Savolainen et al. 2000): turtles (Zardoya and Meyer 1998; Kumazawa and Nishida 1999), bears (Matsuhashi et al. 1999), snakes and skinks (Kumazawa et al. 1998; Kumazawa and Nishida 1999), and iguanas (Janke et al. 2001). The several types of repeats found in *L. dugesii* do not follow the general pattern described by Hoelzel et al. (1994) and Savolainen et al. (2000) for vertebrates in general. It is interesting to observe that the sequence CAACAAA also appears twice in *L. dugesii*, once in the middle and in the left domains of the CR light strand. In *Iguana iguana*, the same sequence appears three times consecutively (as in gulls), in the left domain of the CR, immediately before the CSB-2 sequence. Macey et al. (1997b) have found repeats between tandemly duplicated pairs of the *tRNA^{Pro}* gene of several species. It is thus plausible that the 5' TTTTG3' present in each repeat following the *L. dugesii tRNA^{Pro}* may in fact be reminiscent of imperfect duplications of this tRNA. TAS elements have been associated with stop sites for DNA synthesis (Doda et al. 1981) and have been found near the 3' terminus of the D-loop strand. The ones reported in this work perfectly match those reported in snakes [in both sequence and direction (Kumazawa et al. 1998)] and are identical, but inverted, to the ones reported by Saccone et al. (1987) for vertebrates in general. The *Lacerta dugesii* CR has two TAS sequences in both the 3' and the 5' CR extremities, contrary to their clustering only in the 3' extremity of rodents (Brown et al. 1986) and Galliformes (Randi and Lucchini 1988 and references therein). Another TAS motif is the sequence GYRCAT, which was found to be highly conserved in birds as well as mammals. The same sequence exists in *L. dugesii* in the CR left region, first as GTACAT and then as the more common GTGCAT. The segment can form a structure with four hairpins and loops with $\Delta G =$

-23 kcal. In *I. iguana* this motif is repeated five times, three of them in the first 215 CR bases.

Another common feature associated with the CR of all organisms reported so far is the existence of CSBs associated with start sites for DNA synthesis. In the eight sequences of *Lacerta dugesii* the three CSB blocks are found in conserved regions (Fig. 4). CBS-2 has a motif identical in *L. dugesii*, *I. iguana* (Janke et al. 2001), and *Eumeces egregius* (Kumazawa and Nishida 1999). Interestingly, while similarities between reptile and mammal CSB-2 are high, we could not identify correlated sequences from any of the CR sequences of birds. CBS-3 is also quite similar across reptiles, with only a few differences in the *I. iguana* sequence. Again, there is evident homology among reptiles, mammals, and birds. The least conserved block among the published reptile species is CSB-1, although the sequences are still quite similar. It is evident that among these reptile species, CSB boxes are highly conserved, supporting the view that the asymmetrical replication mechanisms proposed for mammalian mtDNAs are the same for reptiles (Kumazawa and Nishida 1999). Although some motif sequences can be found in all vertebrates included in the comparison, it is hard to find CSB-1 homologies among mammals, birds, and reptiles. This is not surprising since Crochet and Desmarais (2000) had already reported strong differences in this sequence and related secondary structure within gulls. It seems that CSB-1 is not so highly conserved across vertebrates. In *L. dugesii* the CSB-1 block and the preceding 100 bp are nonvariable and are able to form a stable secondary structure. It has been hypothesized that conserved sequences like CSBs or conserved CR domains can form stable secondary structures (Brown et al. 1986; Crochet and Desmarais 2000). However, except for CBS-1, the other two CSBs do not form stable secondary structures. We failed to identify a sequence that encompasses H-strand initiation in *L. dugesii* or the transcriptional promoter, unless this sequence is the poly(C) of the CSB-2 motif, just a few bases downstream from a TATA box. The CSB-1 motif also presents a conserved AGACAT motif, similar to the putative GGACAT apparently linked to mitochondrial LSP/HSP (Randi and Lucchini 1998). The presence of two STOP signals following these motifs could be used to abort transcription of the H-strand. In this regard *L. dugesii* CR organization finds parallels in mammals and birds (Clayton 1982; Sbisà et al. 1997; Randi and Lucchini 1998). Overall, however, we observe strong differences in the internal organization of the reptile CR compared with the mammals and birds studied so far. It should be interesting to screen the CR of more reptile families to see if the extent of variation is a particular feature of this group of vertebrates, which would have important evolutionary implications.

Evolutionary Implications of the L. dugesii CR

From our estimate of phylogenetic relationships it is clear that the number of repeat sequences has changed multiple times in different lineages. The two populations in Madeira differ (three or four repeats), as do the populations in the Selvagens (six or eight repeats). These populations are strongly supported as single lineages (100% bootstrap support), indicating that changes in repeat number occurred after these clades separated from the other populations. To obtain a rough estimate of timing of cladogenic events within the phylogeny, we used a likelihood ratio test to assess whether the sequences were evolving in a clocklike fashion. We included only the 12S rRNA and cytochrome *b* sequences, since there is a well-calibrated estimate of 1.96% sequence divergence per million years for lacertid lizards, *Gallotia*, from the Canary Islands for these regions (Carranza et al. 2000). The tree constructed under a molecular clock assumption is not significantly different from the ML tree (analysis not shown). Therefore we can estimate that the populations within the Desertas and within the Selvagens separated from each other about 100,000 years ago. The two Madeiran populations diverged approximately 900,000 years ago. From this we deduce that changes in repeat numbers, and their apparent fixation in populations, can occur in a short evolutionary time scale.

The CR has not been used much in phylogenetic studies in reptiles, probably because of the presence of repeat units and the lack of universal primers. Our study suggests that it can be highly informative for resolving intraspecific phylogenies. Moreover, our identification of conserved structures between divergent reptile groups should facilitate primer design within the CR. For closely related taxa variation in the number of repeats in the CR could also be a phylogenetically useful character.

Acknowledgments. The authors are grateful to Parque Natural da Madeira for providing some of the specimens used in the study. We acknowledge Professor António Amorim of IPATIMUP (Porto, Portugal) for support and the facilities provided. Thanks are also due to Dr. Ana Tenreiro, Sciences Faculty of Lisbon University, for the isolation of mitochondria. This investigation was partially funded by Grant PBIC/P/CEN/1096/92 from Fundação da Ciência e Tecnologia (Lisbon) to L.V.

References

- Altschul SF, Madden TL, Schäffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W, Lipman D (1997) Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res* 25:3389–3402
- Attardi G (1985) Animal mitochondrial DNA: An extreme example of genetic economy. *Int Rev Cytol* 93:93–148
- Bensasson D, Zhang DX, Hartl D, Hewitt GM (2001) Mitochondrial pseudogenes: Evolution's misplaced witnesses. *TEE* 16 (<http://tree.trends.com> 0169-5347/01/8)
- Bensch A, Härlid A (2000) Mitochondrial genomic rearrangements in songbirds. *Mol Biol Evol* 17:107–113
- Brown G, Gadaleta G, Pepe G, Saccone C, Sbisà E (1986) Structural conservation and variation in the D-loop-containing region of vertebrate mitochondrial DNA. *J Mol Biol* 192:503–511
- Brown WM, George M Jr, Wilson AC (1979) Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 76:1967–1971
- Carranza S, Arnold EN, Mateo JA, Lopez-Jurado LF (2000) Long-distance colonization and radiation in gekkonid lizards, *Tarentola* (Reptilia: Gekkonidae), revealed by mitochondrial DNA sequences. *Proc R Soc Lond B* 267:637–649
- Clayton DA (1982) Replication of animal mitochondrial DNA. *Cell* 28:693–705
- Crochet PA, Desmarais E (2000) Slow rate of evolution in the mitochondrial control region of gulls (Aves: Laridae). *Mol Biol Evol* 17:1797–1806
- Doda DA, Wright CT, Clayton DA (1981) Elongation of displacement-loop strands in human and mouse mitochondrial DNA is arrested near specific template sequences. *Proc Natl Acad Sci USA* 78:6116–6120
- Douzery E, Randi E (1997) The mitochondrial control region of Cervidae: Evolutionary patterns and phylogenetic contents. *Mol Biol Evol* 14:1154–1166
- Felsenstein J (1981) Evolutionary trees from DNA sequences: A maximum likelihood approach. *J Mol Evol* 17:368–376
- Felsenstein J (1985) Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39:783–791
- Galtier N, Gouy M, Gautier C (1996) SEAVIEW and PHYLO-WIN: Two graphic tools for sequence alignment and molecular phylogeny. *Comput Appl Biosci* 12:543–548
- Geldmacher J, Bogaard P, Hoernle K, Schniecke HU (2000) The ⁴⁰Ar/³⁹K age dating of the Madeira Archipelago and hotspot track (eastern North Atlantic). *Geochem Geophys Geosyst* 1: <http://g-cubed.org>
- Harris DJ (2001) Re-evaluation of 16S ribosomal RNA variation in *Bufo* (Amura: Amphibia). *Mol Phylogenet Evol* 19:326–329
- Harris DJ (2002) Reassessment of comparative genetic distance in reptiles from the mitochondrial cytochrome *b* gene. *Herpetol J* (in press)
- Harris DJ, Crandall KA (2000) Intra-genomic variation within ITS1 and ITS2 of freshwater crayfishes (Decapoda: Cambaridae): Implications for phylogenetic and microsatellite studies. *Mol Biol Evol* 17:284–291
- Harris DJ, Arnold EN, Thomas RH (1998) Relationships of lacertid lizards (Reptilia: lacertidae) estimated from mitochondrial DNA sequences and morphology. *Proc R Soc Lond B* 265:1939–1948
- Hoelzel AR, Lopez JV, Dover GA, O'Brien SJ (1994) Rapid evolution of a heteroplasmic repetitive sequence in the mitochondrial DNA control region of carnivores. *J Mol Evol* 39:191–199
- Hulsenbeck JP, Crandall KA (1997) Phylogenetic estimation and hypothesis testing using maximum likelihood. *Annu Rev Ecol Syst* 28:437–466
- Janke A, Erpenbeck D, Nilsson M, Arnason U (2001) The mitochondrial genomes of the iguana (*Iguana iguana*) and the caiman (*Caiman crocodylus*): Implications for amniote phylogeny. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 268:623–631
- Kumazawa Y, Nishida M (1993) Sequence evolution of mitochondrial tRNA genes and deep-branch animal phylogenetics. *J Mol Evol* 37:380–398

- Kumazawa Y, Nishida M (1995) Variations in mitochondrial tRNA gene organization of reptiles as phylogenetic markers. *Mol Biol Evol* 12:759-772
- Kumazawa Y, Nishida M (1999) Complete mitochondrial DNA sequences of the green turtle and blue-tailed skink: Statistical evidence for archosaurian affinity of turtles. *Mol Biol Evol* 16:784-792
- Kumazawa Y, Ota H, Nishida M, Ozawa T (1998) The complete nucleotide sequence of a snake (*Dinodon semicarinatus*) mitochondrial genome with two identical control regions. *Genetics* 150:313-329
- Lopez JV, Yuhki N, Masuda R, Modi W, O'Brien SJ (1994) Numt, a recent transfer and tandem amplification of mitochondrial DNA to the nuclear genome of the domestic cat. *J Mol Evol* 39:174-190
- Lunt DH, Whipple LE, Hyman BC (1998) Mitochondrial DNA variable number of tandem repeats (VNTRs): utility and problems in molecular ecology. *Mol Ecol* 7:1441-1455
- Macey JR, Larson A, Ananjeva NB, Fang Z, Papenfuss T (1997a) Two novel gene orders and the role of light-strand replication in rearrangement of the vertebrate mitochondrial genome. *Mol Biol Evol* 14:91-104
- Macey JR, Larson A, Ananjeva NB, Papenfuss T (1997b) Replication slippage may cause parallel evolution in the secondary structures of mitochondrial transfer RNAs. *Mol Bio Evol* 14:30-39
- Matsuhashi T, Masuda R, Mano T, Yoshida MC (1999) Microevolution of the mitochondrial DNA control region in the Japanese brown bear (*Ursus arctos*) population. *Mol Biol Evol* 16:676-684
- Matzura O, Wennborg A (1996) RNA draw: an integrated program for RNA secondary structure calculation and analysis under 32-bit Microsoft Windows. *Comput Appl Biosci* 12:247-249
- Moritz C, Brown WM (1986) Tandem duplications of D-loop and ribosomal RNA sequences in lizard mitochondrial DNA. *Science* 233:1425-1427
- Oliverio M, Bologna MA, Mariottini P (2001) Molecular biogeography of the Mediterranean genera *Podarcis* and *Teira* (Reptilia, Lacertidae). *J Biogeogr* 27:1403-1420
- Olson LE, Yoder AD (2002) Using secondary structure to identify ribosomal Numts: Cautionary examples from the human genome. *Mol Biol Evol* 19:93-100
- Posada D, Crandall KA (1998) MODELTEST: Testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14:817-818
- Randi E, Lucchini V (1998) Organization and evolution of the mitochondrial DNA control region in the avian genus *Alectoris*. *J Mol Evol* 47:449-462
- Saccone C, Attimonelli MA, Sbisà E (1987) Structural elements highly preserved during the evolution of the D-Loop containing region in vertebrate mitochondrial DNA. *J Mol Evol* 26:205-211
- Saunders MA, Edwards SV (2000) Dynamics and phylogenetic implications of mtDNA control region sequences in New World jays (Aves: Corvidae). *J Mol Evol* 51:97-109
- Savolainen P, Arvestad L, Lundeberg J (2000) mtDNA tandem repeats in domestic dogs and wolves: Mutation mechanism studied by analysis of the sequence of imperfect repeats. *Mol Biol Evol* 17:474-488
- Sbisà E, Tanzariello F, Reyes A, Pesole G, Saccone C (1997) Mammalian mitochondrial D-loop region structural analysis: Identification of new conserved sequences and their functional and evolutionary implications. *Gene* 205:125-140
- Sites JL Jr, Davis S, Guerra T, Iverson J, Snell H (1996) Character congruence and phylogenetic signal in molecular and morphological data sets: A case study in the living iguanas (Squamata, Iguanidae). *Mol Biol Evol* 13:1087-1105
- Swofford DL (2001) PAUP*4.0.b3a: Phylogenetic analysis using parsimony (and other methods). Sinauer Associates, Sunderland, MA
- Woischnik M, Moraes CT (2002) Pattern of organization of human mitochondrial pseudogenes in the nuclear genome. *Genome Res* 12:885-893
- Zardoya R, Meyer A (1998) Complete mitochondrial genome suggests diapsid affinities of turtles. *Proc Nat Acad Sci USA* 95:14226-14231
- Zuker M, Mathews DH, Turner DH (1999) Algorithms and thermodynamics for RNA secondary structure prediction: A practical guide. In: Barciszewski J, Clark BFC (eds) RNA biochemistry and biotechnology NATO ASI Series. Kluwer Academic, Dordrecht, pp 11-43

6.4. ARTIGO. IV

PEPTIDASE-3 POLYMORPHISM IN POPULATIONS OF THE MADEIRAN LIZARD *LACERTA DUGESII*, FROM PORTO SANTO ISLAND

M. KHADEM^{1,3}, J. A. JESUS^{2,3}, A. BREHM^{1,3,*}

With 2 figures and 2 tables

ABSTRACT. All populations of Madeira lizard, *Lacerta dugesii*, have two alleles for peptidase-3 enzyme system. However, the same locus has a third allele in some populations from Porto Santo Island. The relative frequencies of the three alleles were surveyed in 13 populations from this Islands. Using UPGMA method, with one exception, populations can be classified into two groups: group 1, includes populations from the north of the island that represents high altitude; group 2, includes central and southern populations that represents low altitude. The exceptional population is the one from Tanque that although belongs to the central and southern parts, shows a revers allelic frequencies. The possible action of human is discussed.

RESUMO. As populações da lagartixa da madeira, *Lacerta dugesii*, apresentam geralmente dois alelos no sistema enzimático da Pectidase-3. No entanto, algumas das populações da ilha de Porto Santo apresentam um terceiro, raro alelo. Foi efectuado o levantamento das frequências relativas dos alelos deste sistema, nas populações desta ilha.

O método do UPGMA para construção de fenogramas foi aplicado aos dados obtidos, permitindo a distinção das diversas populações em dois grupos, com uma excepção. Um dos grupos compreende as populações da parte norte da ilha representando zonas de maior altitude. O outro representa as populações centrais e do sul, de mais baixa altitude. A excepção é a população de tanque a qual, fazendo parte do segundo grupo possuía frequências alélicas distintas e invertidas.

KEY WORDS: *Lacerta dugesii*, enzymatic polymorphism, population genetics.

¹ Unit of Cytogenetics and Molecular Biology, Department of Biology, University of Madeira, Colégio dos Jesuítas, 9000 Funchal, Portugal

² Unit of Ecology and Systematics, Department of Biology, University of Madeira, Colégio dos Jesuítas, 9000 Funchal, Portugal

³ Centro de Ciências Biológicas e Geológicas da Universidade da Madeira

* Corresponding author: email brehm@dragoeiro.uma.pt

INTRODUCTION

The archipelago of Madeira is composed of four groups of islands: Madeira itself, the nearby Porto Santo, Desertas and the Selvagens, this last one located midway between Madeira and Canary islands. The geological history of the first three groups in relation with the Selvagens is not clearly known. According to TEIXEIRA (1949) and RIBEIRO *et al.* (1980) the Desertas group was united to Madeira itself, but how they were linked to Porto Santo is still a matter of discussion.

Lacerta dugesii MILNE-EDWARDS, 1829 (SAURIA: LACERTIDAE) is an endemic lizard of the archipelagos of Madeira. Its african or european origin remains unknown, which makes the species an interesting subject of biogeographic study.

BISCHOFF *et al.* (1989) studied the differentiation of *L. dugesii* on basis of morphological characters, as well as (very few) enzymatic systems. According to those authors, the species is subdivided into three subspecies, one from Porto Santo and the others from Madeira and Selvagens. We had undertake a large survey on th enzymatic polymorphism of this species (KHADEM *et al.* 1996) which is also in agreement with the distinctiveness of the lizards from Porto Santo. From all *loci* analyzed, one which contributes to the differentiation of this population is the peptidase-3 system.

We found that all populations of *L. dugesii* from the Archipelago of Madeira, have two alleles at the peptidase-3 locus, a slower and more common allele (designated as a) and a faster one (b). The population of Porto Santo we have used in our survey had a third and rare allele (designated as c). This allele was not found in other populations of the archipelago. For this reason we made a full survey of the peptidase-3 system in Porto Santo to determine its existence and frequencies in different populations of lizards collected from different parts of the island.

Materials and Methods

Samples of specimens were collected during the summer of 1995 in 13 localities, covering the whole area of the island of Porto Santo (Fig. 1). Tails of lizards were cut into small slides (<2mm) and manually smashed with a few drops of distilled water. After the homogenates were centrifuged 30 minutes at 10000 g the supernatant was collected and used in the subsequent electrophoretic analysis. The electrophoretic data were resolved using standard methods of horizontal starch gel electrophoresis and histochemical staining procedures (SELANDER *et al.* 1971). The buffer system used to detect Peptidase-3 activity was Tris-EDTA Borate pH 8,6 (0,18M Tris, 0,1M Boric Acid, 0,004M 2Na-EDTA).

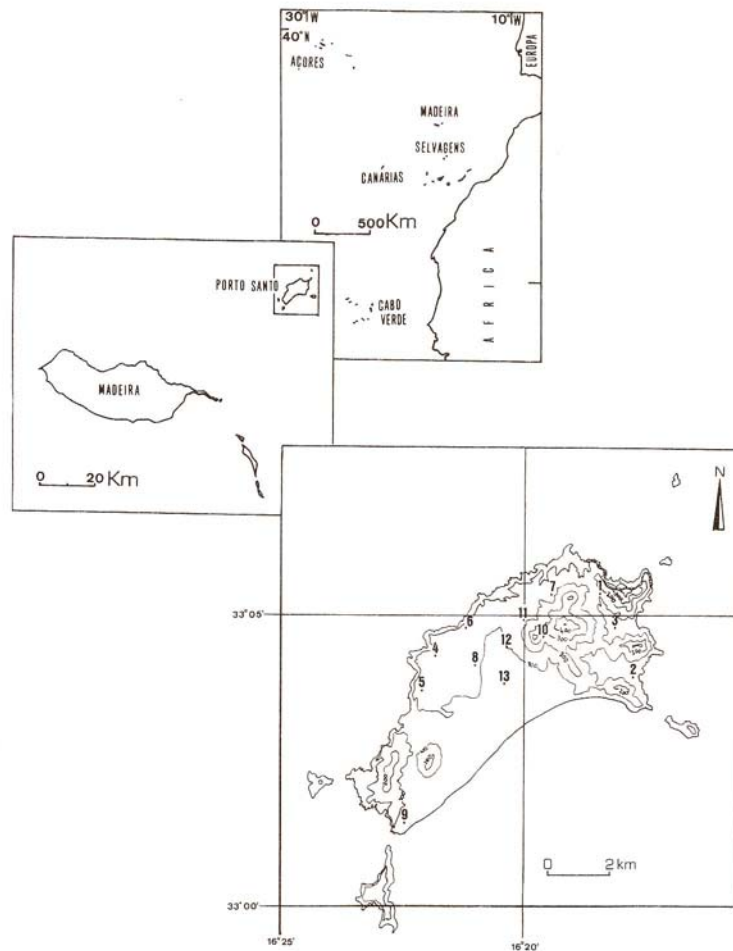


Fig. 1 - Collection localities of *L. dugesii* in Porto Santo island. Numbers represent the following sites: 1- Pico da Cabrita, altitude 265 meters; 2- Serra de Fora, alt 50 m; 3- Serra de Dentro, alt 50 m; 4- Barbara Gomes, alt 200 m; 5- Eiras, alt 160 m; 6- Fonte da Areia, alt 120 m; 7- Pedregal, alt 180 m; 8- Assoprões, alt 80 m; 9- Calheta, alt 20 m; 10- Pico do Castelo, alt 200 m; 11- Camacha, alt 160 m; 12- Farrobo, alt 80 m; 13- Tanque, alt 60 m.

Allelic frequencies were used to compute genetic distances between the populations, using Biosys-1 (SWOFFORD & SELANDER 1981). Genetic similarity between populations was estimated with the CAVALLI-SFORZA and EDWARDS (1967) chord distance algorithm, which was applied to produce a dendrogram with the unweighted pair group method using arithmetic average (UPGMA; SNEATH & SOKAL, 1973). For each population, the mean heterozygosity estimate was calculated as the ratio of observed

heterozygotic genotypes with the total number of individuals sampled.

Results and Discussion

Table 1 shows the allelic frequencies in the 13 populations sampled as well as their levels of heterozygosity. In all populations, Pep-3 was found to be polymorphic, i.e., at least two alleles were present. A general pattern that can be seen from the analysis of allele frequencies, is that adjacent populations tend to have similar values (populations 8, 10, 11 and 12). Five populations included in this study do not conform to the Hardy-Weinberg equilibrium (populations 2 to 5 and 13) with P values ranging from .002 (population of Tanque, χ^2 14.560; df3) to .024 - Barbara Gomes, χ^2 9.479; df3). All the others fall into P values varying from .288 (population 1) to .868 (population 12). Heterozygosity estimates are extremely variable with values as low as .100 (population 12) up to .937 (population 2). In this respect the ratio between observed homozygotes and heterozygotes and their expected values, follow normal values according to Hardy-Weinberg (P between .90 and .20), except for population 2 which is less than .01 and shows an excess of heterozygotes.

TABLE 1 - Allele frequencies, expressed as percentage in 13 populations of *Lacerta dugesii* for the Peptidase-3 system, and mean heterozygosity (H). Coefficients of CAVALLI-SFORZA and EDWARDS (1967) chord distances were calculated for all pairs of populations examined (Table 2).

Locus and alleles	Population												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
(N)	8	16	11	9	11	41	16	17	10	10	8	10	14
Pep-3													
allele a	.625	.531	.773	.772	.545	.768	.531	.824	.700	.850	.938	.950	.143
allele b	.188	.375	.136	.111	.182	.207	.406	.176	.300	.150	.063	.050	.714
allele c	.188	.094	.091	.167	.273	.024	.063	.000	.000	.000	.000	.000	.143
H	.500	.937	.272	.333	.545	.414	.437	.235	.400	.300	.125	.100	.285

The values depicted in Table 2 should be read simply as comparative measures of the peptidase-3 system among the populations surveyed. Caution should be taken when one tries to extrapolate these values to effective phylogenetic distances. The analysis of the data allowed us to detect the existence of two groups of populations (group I comprising populations 1 to 5 and population 7, group II comprising populations 6 and 8 to 12). Mean distances (D) within group I is similar to that of group II (.136 versus .121), but the

distance separating group I from group II is the double ($D = .270$). The lowest distance found is .017 between Farrobo and Camacha (population 11 and 12) and the highest is .599 between Farrobo and Tanque (population 12 and 13).

TABLE 2 - CAVALLI-SFORZA and EDWARDS (1967) chord distances for all 13 populations of *L. dugesii*. The population number key is the same given in Figure 1.

	Population												
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
1	.145	.109	.075	.066	.185	.179	.286	.289	.290	.320	.328	.373	
2	****	.182	.204	.182	.187	.039	.257	.211	.271	.338	.352	.272	
3		****	.074	.170	.108	.198	.195	.225	.194	.214	.222	.443	
4			****	.117	.179	.231	.268	.294	.266	.276	.281	.444	
5				****	.250	.219	.349	.347	.353	.380	.387	.364	
6					****	.161	.104	.118	.112	.174	.189	.427	
7						****	.240	.182	.256	.331	.345	.272	
8							****	.093	.023	.115	.132	.495	
9								****	.116	.207	.224	.423	
10									****	.092	.109	.513	
11										****	.017	.585	
12											****	.599	

A second feature that can be seen from data of Table 2 is the clear separation of population 13 (Tanque) from all the others. This is the only site where allele b is in higher frequency than allele a. Apart from this grouping, one can say that the peptidase-3 system do not present any clear geographic cline in Porto Santo. It is interesting however, to note that group I includes northern peripheral populations, namely the ones from the highest points in the island. Group II represent central and south populations all with a strong influence of human activities.

Fig. 2 represent the topology constructed from data of Table 2 and applying UPGMA. The existence of the two groups of populations already detected from the analysis of the genetic distances is evident. Population 13 (Tanque) appears quite separated from the others due, in part, to the fact it is the only site where allele b is present in higher frequency than allele a. The explanation for the existence of these frequencies is not obvious. Human activities may be responsible for the displacement by chance of some individuals, which led to the distribution we see today.

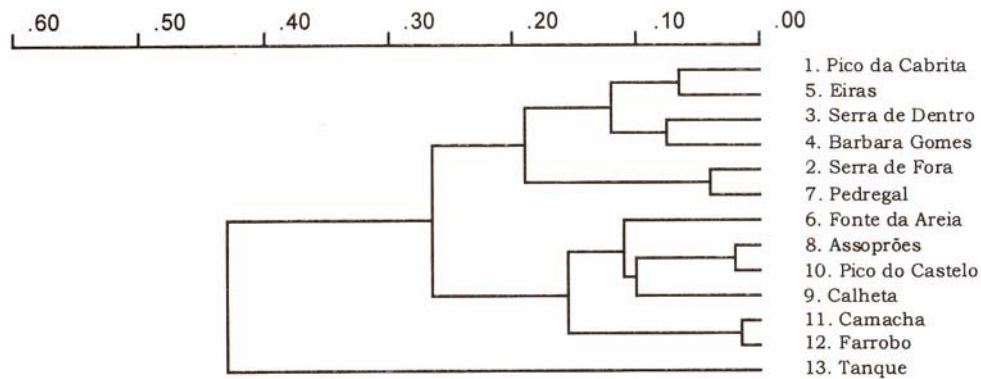


Fig. 2 - Cluster analysis using the UPGMA method, and the Cavalli-Sforza and EDWARDS (1967) chord distances. (Cophenetic correlation = .859).

It is also interesting to note that the rare allele *c*, is present, apart from Tanque and Fonte da Areia (populations 13 and 6), only in populations belonging to group I. Fonte da Areia, is a peripheric population, near the main waste deposit of the island. It is well possible that lizards belonging to other places have been introduced together with the deposit of waste.

The biochemical information gathered from this survey allowed us to detect a rare allele, which is present in just one island of the archipelagos of Madeira. Even within the island, this rare allele is not widespread but confined to the populations occupying sites with less human activity, namely the ones of higher altitude. The question to be asked is, what factors are contributing to the confinement of the rare allele to some localities. A further survey on the population dynamics of *L. dugesii* especially in what concerns its rate of dispersion and behaviour may provide an answer to this question.

REFERENCES

- BISCHOFF, W.; OSENEGG, K. & MAYER, W.:
1989. Untersuchungen zur subspezifischen Gliederung der Madeira - Mauereidechse, *Podarcis dugesii* (MILNE-EDWARDS, 1829). *Salamandra* 25 (3/4): 237-259.
- CAVALLI-SFORZA, L. & EDWARDS, A.:
1967. Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. *Evolution* 32: 550-570.
- KHADEM, M.; BREHM, A.; JESUS, J. & VICENTE, L.:
1997. Genetic variation of the endemic madeiran lizard *Lacerta dugesii* Milne-Edwards 1829 (Lacertidae). Submitted.
- RIBEIRO, A.; ANTUNES, M.; FERREIRA, P.; ROCHA, R.; SOARES, A.; ZBYSZEWSKI, G.; MONTEIRO DE ALMEIDA, F.; CARVALHO, A. & MONTEIRO, J.:
1980. Introduction à la géologie générale du Portugal. Serviços Geológicos de Portugal, Lisboa, 144 pp.
- SELANDER, R.; SMITH, M.; YANG, S.; JOHNSON, W. & GENTRY, J.:
1971. Biochemical polymorphism and systematics in the genus *Peromyscus*. I. Variation in the old-field mouse (*Peromyscus polionotus*). *Stud. Genet. VI Univ. Texas Publ.*, 7103: 49-90.
- SNEATH, P. & SOKAL, R.:
1973. Numerical Taxonomy. The principles and practice of numerical classification. W. H. Freeman and Company, San Francisco, 573 pp.
- SWOFFORD, D. & SELANDER, R.:
1981. Biosys-1: a FORTRAN program for the comprehensive analysis for electrophoretic data in population genetics and systematics. *J. Hered.* 72: 281-283.
- TEIXEIRA, C.:
1949. Notas sobre a Geologia das Ilhas Atlântidas. Faculdade de Ciências de Lisboa.

Date Received: 15-3-96.

Relationships of Scincid Lizards (*Mabuya* spp; Reptilia: Scincidae) from the Cape Verde Islands Based on Mitochondrial and Nuclear DNA Sequences

A. Brehm,* J. Jesus,* M. Pinheiro,† and D. J. Harris‡¹

*Centro de Ciências Biológicas e Geológicas, University of Madeira, Penteada, 9000 Funchal, Portugal; †Centro de Zoologia, Instituto de Investigação Científica Tropical, Ministério da Ciência e Tecnologia, Lisbon, Portugal; and ‡Centro de Estudos de Ciência Animal (CECA), ICETA-U.P., Campus Agrário de Vairão, 4485-661 Vila do Conde, Portugal

Received October 24, 2000; revised January 25, 2001

Partial DNA sequences from two mitochondrial (mt) and one nuclear gene (cytochrome *b*, 12S rRNA, and *C-mos*) were used to estimate the phylogenetic relationships among the six extant species of skinks endemic to the Cape Verde Archipelago. The species form a monophyletic unit, indicating a single colonization of the islands, probably from West Africa. *Mabuya vaillanti* and *M. delalandii* are sister taxa, as indicated by morphological characters. *Mabuya fogensis* and *M. stangeri* are closely related, but the former is probably paraphyletic. *Mabuya spinalis* and *M. salensis* are also probably paraphyletic. Within species, samples from separate islands always form monophyletic groups. Some colonization events can be hypothesized, which are in line with the age of the islands. *C-mos* variation is concordant with the topology derived from mtDNA. © 2001 Academic Press

Key Words: *Mabuya*; Cape Verde; cytochrome *b*; 12S rRNA; *C-mos* phylogeny; colonization.

INTRODUCTION

Studies of among-island variation have been fundamental in evolutionary theory. Nonvolant tetrapod groups, such as lizards, have become model organisms for the study of colonization and dispersal patterns, especially in the mid-Atlantic islands which have well-known geological histories (e.g., Thorpe *et al.*, 1994; Brown and Pestano, 1998; Carranza *et al.*, 2000). Initial colonization of these archipelagos has often been followed by invasion of nearby islands and rapid speciation (Carranza *et al.*, 2000). Reconstruction of such events can be assessed with DNA sequence data. Given the limited range of these island endemic species and that island populations have a higher risk of extinction

(Frankham, 1997), assessment of variation is also critical for conservation efforts.

The Cape Verde Archipelago lies 450 km from the West African Coast and comprises 10 islands and 3 islets of volcanic origin which have never been connected to the mainland (Mitchell-Thomé, 1983). The set configuration is of an arch (Fig. 1), the oldest islands being Maio, Sal, and Boavista and the youngest being Santo Antão and Brava, the tips of the "arch." Because the sea depth between islands varies from a few meters to more than 3 km it is probable that some of them were linked due to sea level fluctuations during the Pleistocene or even more recently. During these periods some of the northwestern group of islands were most likely linked—São Vicente, Santa Luçia, Branco, and Raso, and possibly also Boavista and Maio from the "central" group of islands. Apart from these cases the water channels are very deep (>1000 m) so it is highly improbable that these islands were ever linked by land connections.

The genus *Mabuya* comprises species of skinks of moderate to large size, with cylindrical bodies (Hoogmoed, 1974). They have a worldwide distribution in tropical and subtropical areas with approximately 101 described species. In the Cape Verde islands the genus is represented by 6 recognized species, the only diurnal lizards present, all of which are endemic to the archipelago (Table 1). The giant scincid *Macrosclincus coctei* was another endemic species but it is believed to have been extinct from the beginning of the twentieth century (Schleich, 1982). The taxonomic status of some of these 6 species remains controversial especially at the subspecific level (e.g., Mertens, 1955; Schleich, 1987; Joger, 1993). Based on morphological characters, the two sympatric species *M. delalandii* and *M. vaillanti* are considered to form a closely related group (Greer, 1976; Pinheiro, 1989; Joger, 1993). They possess fused interparietals and parietals (unique in skinks) and retain 26 presacral vertebrae, which is typical in *Mabuya* (Greer *et al.*, 2000). The remaining species in the Cape Verde islands usually have 27 presacral vertebrae. *M.*

¹ To whom correspondence should be addressed. Fax: +351 252 661780. E-mail: james@mail.icav.up.pt.



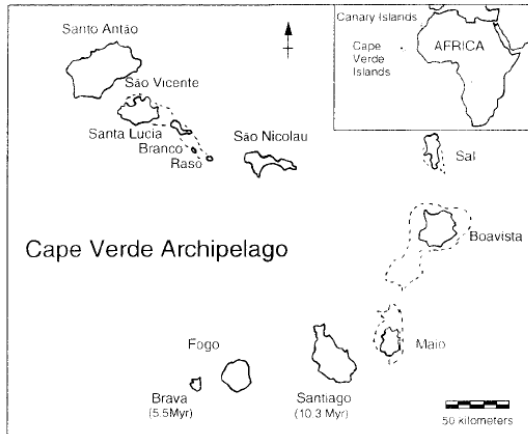


FIG. 1. Map of the Cape Verde islands. Localities of specimens used in this study are given in Table 1. Shallow water areas, which were probably above sea level in the geologically recent past, are marked with dashed lines.

delalandii and *M. vaillanti* are restricted to the leeward islands of the Archipelago; Brava, Fogo, and Santiago. *M. fogoensis* is distributed on the windward islands of Santo Antão and São Nicolau and is divided into two endemic subspecies, *M. f. antaoensis* and *M. f. nicolauensis* (Schleich, 1987). The remaining 3 species, *M. stangeri*, *M. salensis*, and *M. spinalis*, share several morphological characteristics and have been the center of most of the taxonomic controversy (Angel, 1935; Mertens, 1955; Schleich, 1987; Joger, 1993). Based on morphological characters Joger (1993) proposed that all Scincidae from the Cape Verde islands, including the extinct giant skink *M. coctei*, are a monophyletic group presumably from the nearby West African coast. However, recent molecular analyses of the Cape Verde island geckos *Tarentola* (Carranza *et al.*, 2000) and *Hemidactylus* (Jesus *et al.*, 2001) infer multiple colonizations in *Hemidactylus* and a direct colonization from the more distant Canary Islands in the case of *Tarentola*. Mitochondrial DNA evidence suggests that *Mabuya* may have colonized Madagascar more than once (Mausfield *et al.*, 2000). Therefore, the monophyletic status of *Mabuya* in the islands and its probable origin require further investigation.

Here we examine *Mabuya* from the Cape Verde Archipelago, covering almost the entire distribution of the extant species. On the basis of mitochondrial and nuclear DNA sequences, we elucidate the phylogenetic relationships among species and address historical dispersal processes that may have shaped their present distribution pattern.

MATERIALS AND METHODS

The geographic locations of the specimens used in this study, voucher codes, and number of specimens used are given in Table 1. All specimens belong to the collections of the University of Madeira. Total genomic DNA was extracted from small pieces of tail by use of standard methods. Polymerase chain reaction (PCR) primers used in both amplification and sequencing were cytochrome *b*1 and 2 and 12Sa and 12Sb from Kocher *et al.* (1989) and G73 and G74 for *C-mos* from Saint *et al.* (1998). Amplification conditions were the same as those described by Harris *et al.* (1998, 1999). Amplified fragments were sequenced from both strands on a 373 Applied Biosystem DNA Sequencing Apparatus. Sequences from the cytochrome *b* and 12S rRNA belonging to the same individual were merged in the subsequent analysis. These and the *C-mos* sequences were aligned with Clustal W (Thompson *et al.*, 1994). Cytochrome *b*, 12SrRNA, and *C-mos* sequences were, respectively, 280, 333, and 375 bp long. Three species of *Mabuya* from the Africa/Madagascar group, *M. affinis*, *M. elegans*, and *M. quinquetaeniata* (Mausfield *et al.*, 2000), and *Chalcides ocellatus* and *C. viridis* from the Canary Islands (Brown and Pestano, 1998) were included in the analysis of the mtDNA sequences. The mtDNA sequences were aligned with Clustal W (Thompson *et al.*, 1994). The cytochrome *b* sequences contained no indels. The data were then imported into PAUP* 4.0b3a (Swofford, 2000) for phylogenetic analysis. When estimating phylogenetic relationships among sequences, one assumes a model of evolution. Determining which model is most appropriate for a given data set is a statistical problem (Goldman, 1993). We used the approach outlined by Huelsenbeck and Crandall (1997) to test 56 alternative models of evolution, employing PAUP* 4.0b3a and Modeltest (Posada and Crandall, 1998). A starting tree was obtained with neighbor-joining. With this tree, likelihood scores were calculated for various models of evolution and then compared statistically with a χ^2 test with degrees of freedom equal to the difference in free parameters between the models being tested. The null hypotheses tested in this way included (1) nucleotide frequencies are equal, (2) transition rates are equal to transversion rates, (3) there is only one transition rate, (4) there are only two transversion rates, (5) there is rate homogeneity among sites, and (6) there is no significant proportion of invariable sites. Once a model of evolution was chosen, it was used to estimate a tree with the minimum-evolution (ME) optimality criteria (Rzhetsky and Nei, 1992). Support for nodes was estimated using the bootstrap (Felsenstein, 1985) technique, with 1000 replicates. A maximum-parsimony (MP) analysis was also carried out (100 replicate heuristic search), and support for nodes was estimated with decay analysis (Bremner, 1988) and bootstrapping with 1000 repli-

TABLE 1

List of Specimens and Locations Used in This Study

Species (number included for mtDNA)	Voucher code	Island locality
<i>M. fogoensis</i> (O'Shaughnessy, 1874) ¹ (6)	R34, 35, 36, 80, 100, cv133	Santo Antão
<i>M. fogoensis</i> (O'Shaughnessy, 1874) ¹ (3)	R01, 72, 93	São Nicolau
<i>M. stangeri</i> (Gray, 1845) ² (1)	R78	São Vicente
<i>M. stangeri</i> (Gray, 1845) ² (2)	R76, 86	Ilhéu Raso
<i>M. s. maioensis</i> Mertens, 1955 ³ (2)	R66, 67, 69	Maio
<i>M. spinalis</i> Boulenger, 1906 ⁴ (2)	R61, 62	Fogo
<i>M. spinalis</i> Boulenger, 1906 ⁴ (2)	R60, cv58	Santiago
<i>M. salensis</i> Angel 1935 ⁵ (1)	R03	Boavista
<i>M. salensis</i> Angel, 1935 ⁵ (2)	R79, 82	Sal
<i>M. vaillanti</i> Boulenger, 1887 (2)	R92, 94, 96	Fogo
<i>M. vaillanti</i> Boulenger, 1887 (2)	R98, 00, rvst999	Santiago
<i>M. delalandii</i> (Dumeril & Bibron, 1839) ⁶ (1)	R55	Brava
<i>M. delalandii</i> (Dumeril & Bibron, 1839) ⁶ (3)	R43, 49, 51	Santiago
<i>M. delalandii</i> (Dumeril & Bibron, 1839) ⁶ (3)	R52, 98, 99	Fogo

¹ Formerly attributed to the genus *Euprepes* but renamed by Boulenger, 1887 as *Mabuya fogoensis*; Schleich (1987) created two new subspecies for Santo Antão and São Nicolau, respectively, *M. f. antaensis* and *M. f. nicolauensis*.

² Formerly attributed to the genus *Euprepes* but renamed by Boulenger, 1887 as *Mabuya stangeri*.

³ Renamed *M. spinalis maioensis* by Joger (1993).

⁴ Considered a synonym of *M. stangeri* by Schleich (1987), but Joger (1993) reassigned it as *M. spinalis* subspecies *spinalis*.

⁵ Initially designated *M. salensis* by Angel (1935) and then changed to *M. stangeri* (Dekeyser and Villiers, 1951). Mertens (1955) and Schleich (1982) created a subspecies *M. stangeri salensis* with the *terra typica* in the island of Sal. Joger (1993) refers *M. spinalis salensis* Angel, 1935 to the specimens from Boavista and Sal islands and *M. spinalis maioensis* Mertens, 1955 to the specimens from Maio island.

⁶ First attributed to the genus *Euprepes* but renamed by Boulenger, 1887.

cates. Assessment of saturation in the third positions of the cytochrome *b* by the plotting of numbers of transitions and transversions against uncorrected distances indicated that these position were not saturated (not shown). Therefore, all positions were included in the analysis.

RESULTS

We obtained 613 bp of aligned sequences from the combined 12S rRNA and cytochrome *b* genes for 32 taxa. GenBank Accession Nos. are AF335016–AF335088. With the included published data this gave 35 representatives of *Mabuya* and 2 *Chalcides*, which were designated outgroups. Using Modeltest (Posada and Crandall, 1998) under the Akaike information criteria, we concluded that the GTR model (Rodríguez *et al.*, 1990), with a gamma-distributed rate heterogeneity model (four rate categories, $\Gamma = 0.85$; Yang, 1994) and an estimated proportion of invariant sites (0.56) was the most appropriate model of evolution for this data. A 10-replicate heuristic search with this model produced a single tree with a minimum-evolution score of 1.4 (Fig. 2). Maximum-parsimony analysis found two trees of 515 steps which were similar to the ME tree (Fig. 2); 158 characters were parsimony informative. For the nuclear gene *C-mos*, nine sequences of 375 bp were analyzed. Eleven positions were variable, and 6 positions were parsimony informative. There were no insertions or deletions. Since there was no homoplasy in the data set, the sequences were joined in a most

parsimonious network. As all the synapomorphies were in agreement with the topology derived from mtDNA data, they were simply mapped onto the ME tree (Fig. 2). Inclusion in the analysis of *C-mos* sequences (from Saint *et al.*, 1998) of other skinks from the same subfamily Lygosominae (Greer, 1970; Honda *et al.*, 2000) did not alter this topology.

DISCUSSION

With the available outgroups, the mitochondrial DNA sequences suggest that the *Mabuya* from the Cape Verde islands are a monophyletic clade. Within the islands, they can be separated into two groups. One is constituted by *M. vaillanti* from Fogo and Santiago and the sympatric *M. delalandii*, which also occurs in the island of Brava. The separation of these species from the others is in accordance with morphological characters. Both of these species are monophyletic, with 99–100% bootstrap support from the mtDNA analysis and a single synapomorphy in the *C-mos* sequence data. In *M. delalandii* low variation was found in individuals from different islands, and no variation was found within islands. In the distance analysis *M. vaillanti* samples are separated according to their island of origin, but with MP the two individuals from Santiago were successive branches to the two from Fogo.

The other main branch comprises all remaining species studied. This branch can also be subdivided into two groups. One contains *M. fogoensis* from Santo

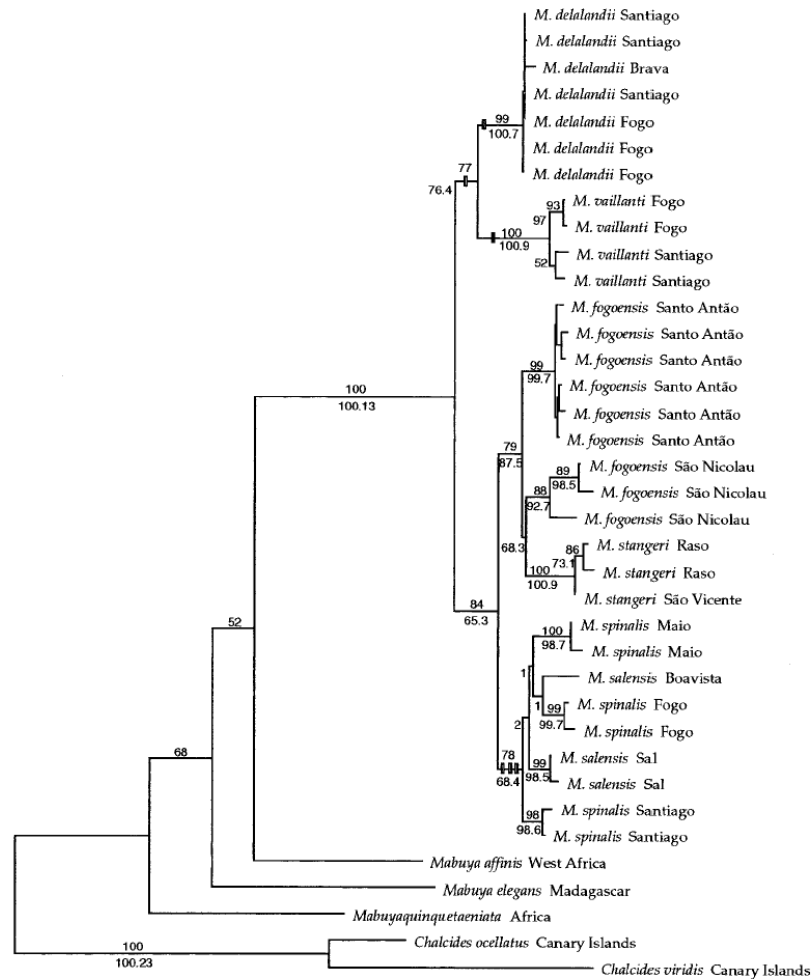


FIG. 2. Tree derived from a minimum-evolution (ME) search using the model described in the text. Maximum-parsimony (MP) trees differed in that *M. vaillanti* from Santiago was not a monophyletic group and that the three *Mabuya* outgroup taxa were joined as a clade (61% bootstrap support). Bootstrap values (>50%) for ME and MP are given above and below nodes, respectively. Decay indices for the MP analysis are given below the nodes. The tree was rooted with the *Chalcides* sequences. Six synapomorphies derived from *C-mos* sequences are mapped onto the tree (open rectangles).

Antão and São Nicolau and *M. stangeri* from São Vicente and the islet of Raso. The population from São Nicolau has been regarded by some as a separate subspecies from *M. fogoensis* of Santo Antão with the name *M. fogoensis nicolauensis* (e.g., Schleich, 1987). In our ME analysis *M. fogoensis* is paraphyletic, with *M. stangeri* more closely related to *M. fogoensis* from Santo Antão. When we constrained *M. fogoensis* to be monophyletic and compared this against the ME tree

with the same model of evolution with the likelihood variance (KH) test of Kishino and Hasegawa (1989), the hypothesis could not be refuted (differences in $-ln l = 0.35$, $P = 0.7$). Whereas the use of the KH test has recently been questioned, in this case, since we reject the null hypothesis with a $P/2 > 0.05$, our results would be the same using the alternative Shimodaira and Hasegawa test (see Goldman *et al.*, 2000). Therefore, we cannot reject the possibility that *M. fogoensis*

is monophyletic. However, the samples from the two islands are clearly morphologically and genetically distinct. *M. stangeri* from São Vicente and Raso are closely related (100% bootstrap support), which is not surprising if one takes into consideration that the islands were probably united during recent glacial periods. This scenario agrees with Greer's (1976) hypothesis of evolution of the extinct giant skink *M. coctei*, which was known from the islands of Raso and Branco and regarded by this author as derived from either *M. fogoensis* or *M. stangeri*.

The third group of species includes *M. salensis* (from Sal and Boavista islands), *M. spinalis* from Santiago and Fogo, and samples from Maio that have been referred to either *M. stangeri* or *M. spinalis*. Both mtDNA (78% bootstrap) and three synapomorphies from the *C-mos* sequences support this clade. Within the group all the islands that were sampled form monophyletic units (98–100% support from mtDNA), but relationships between the islands are very poorly supported. In the ME tree the two species do not form monophyletic units, but this possibility cannot be significantly rejected using the KH test. Based upon our analysis, the samples from Maio should be considered *M. spinalis maioensis* rather than *M. stangeri*, supporting Joger (1993).

Due to the lack of support for relationships within the *M. spinalis/M. salensis* clade, little can be hypothesized about colonization patterns for these species. However, the possible radiation in other species can be predicted. *M. delalandii* and *M. vaillanti* may have originated and speciated on Santiago, which is the oldest of the islands on which they are found and the closest to Africa. Separate colonizations of Fogo, and in the case of *M. delalandii*, Brava, would then have occurred. If one assumes a molecular clock of 1.9% per million years (after Carranza *et al.*, 2000), the two speciated approximately 3 mya, with *M. vaillanti* colonizing Fogo 1 mya and *M. delalandii* even more recently. These dates are much more recent than the origin of the islands. In the *M. fogoensis/M. stangeri* clade, higher genetic variation is found within *M. f. nicolauensis*, on the older more eastern island of São Nicolau, and from here the lizards could have successively colonized the newer more western islands of São Vicente and Santo Antão.

CONCLUSIONS

Analysis of mtDNA sequence variation resolves many of the relationships within *Mabuya* from the Cape Verde islands, and the limited *C-mos* variation is in concordance with these. Variation within *Mabuya* is lower than that found among geckos on the islands (Carranza *et al.*, 2000; Jesus *et al.*, 2001), implying a more recent colonization. Intra-island colonization events also appear to be fewer. This is not surprising,

as geckos generally are more successful transmarine colonizers, as indicated by their presence on more oceanic islands, than skinks. Further, some geckos may have been moved between islands anthropogenically (Jesus *et al.*, 2001).

Mitochondrial DNA still reveals considerable variation between islands, which helps the understanding of the systematics of the group and is essential knowledge for their future conservation. Many taxa have very restricted ranges, and, given that *M. coctei* has probably already gone extinct in the last century, more work will be needed to ensure their continuing existence.

ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to L. Carvalho of the Secretaria Executiva para o Ambiente from the Cape Verde government and ICCTI of Lisbon for assistance in funding surveys in the Cape Verde Islands. Thanks go to three reviewers whose constructive comments improved the manuscript.

REFERENCES

- Angel, F. (1935). Sur la faune herpétologique de l'Archipel du Cap Vert. *XII Congr. Int. Zool.* IX: 1693–1700.
- Bremmer, K. (1988). The limits of amino acid sequence data in angiosperm phylogenetic reconstruction. *Evolution* 42: 795–803.
- Brown, R. P., and Pestano, J. (1998). Phylogeography of skinks (*Chalcides*) in the Canary Islands inferred from mitochondrial DNA sequences. *Mol. Ecol.* 7: 1183–1191.
- Carranza, S., Arnold, E. N., Mateo, J. A., and Lopez-Jurado, L. F. (2000). Long-distance colonization and radiation in gekkonid lizards, *Tarentola* (Reptilia: Gekkonidae), revealed by mitochondrial DNA sequences. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 267: 637–649.
- Dekeyser, P. L., and Villiers, A. (1951). Mission J. Cadernat aux Iles du Cap Vert. *Bull. Inst. Français d'Afriques Noir* 13: 1152–1158.
- Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783–791.
- Frankham, R. (1997). Do island populations have less genetic variation than mainland populations? *Heredity* 78: 311–327.
- Goldman, N. (1993). Simple diagnostic statistical tests of models of DNA substitution. *J. Mol. Evol.* 37: 650–651.
- Goldman, N., Anderson, J. P., and Rodrigo, A. G. (2000). Likelihood-based tests of topologies in phylogenetics. *Syst. Biol.* 49: 652–670.
- Greer, A. E. (1970). A subfamilial classification of scincid lizards. *Bull. Mus. Comp. Zool.* 139: 151–183.
- Greer, A. (1976). On the evolution of the giant Cape Verde scincid lizard *Macrosclincus coctei*. *J. Nat. Hist.* 10: 691–712.
- Greer, A. E., Arnold, C., and Arnold, E. N. (2000). The systematic significance of the number of presacral vertebrae in the scincid lizard genus *Mabuya*. *Amphibia-Reptilia* 21: 121–126.
- Harris, D. J., Arnold, E. N., and Thomas, R. H. (1998). Rapid speciation, morphological evolution and adaptation to extreme environments in Sand Lizards (*Meroles*) as revealed by mitochondrial gene sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* 10: 37–48.
- Harris, D. J., Sinclair, E. A., Mercader, N. L., Marshall, J. C., and Crandall, K. A. (1999). Squamate relationships based on *C-mos* nuclear sequences. *Herpetol. J.* 9: 147–151.
- Honda, M., Ota, H., Kobayahi, M., Nabhitabhata, J., Yong, H.-S., and Hikida, T. (2000). Phylogenetic relationships, character evolution, and biogeography of the subfamily Lygosominae (Reptilia: Scinci-

- dae) inferred from mitochondrial DNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* **15**: 452–461.
- Hoogmoed, M. S. (1974). Ghanese lizards of the genus *Mabuya* (Scincidae, Sauria, Reptilia). *Zool. Verhand.* **138**: 3–61.
- Hulslenbeck, J. P., and Crandall, K. A. (1997). Phylogeny estimation and hypothesis testing using maximum likelihood. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **28**: 437–466.
- Jesus, J., Brehm, A., Pinheiro, M., and Harris, D. J. (2001). Relationships of *Hemidactylus* (Reptilia: Gekkonidae) from the Cape Verde Islands: What mitochondrial DNA data indicate. *J. Herpetol.*, in press.
- Joger, U. (1993). On two collections of reptiles and amphibians from the Cape Verde Islands, with descriptions of three new taxa. *Courier Forsch. Inst. Senckenberg* **159**: 437–444.
- Kishino, H., and Hasegawa, M. (1989). Evaluation of the maximum likelihood estimate of the evolutionary tree topologies from DNA sequence data, and the branching order in Hominoidea. *J. Mol. Evol.* **29**: 170–179.
- Kocher, T. D., Thomas, W. K., Meyer, A., Edwards, S. V., Pääbo, S., Villablanca, F. X., and Wilson, A. C. (1989). Dynamics of mitochondrial evolution in animals: Amplification and sequencing with conserved primers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **86**: 6196–6200.
- Mausfeld, P., Vences, M., Schmitz, A., and Veith, M. (2000). First data on the molecular phylogeography of the scincid lizards of the genus *Mabuya*. *Mol. Phylogenet. Evol.* **17**: 11–14.
- Mertens, R. (1955). Die Eidechsen der Kapverden. *Soc. Sci. Feb. Comment. Biol.* **15**: 1–16.
- Mitchell-Thome, R. C. (1983). Radiometric studies in Macronesia. *Bol. Mus. Mun. Funchal.* **37**: 52–85.
- Pinheiro, M. (1989). *Mabuya delalandii* (Dum. & Bibr.) e *Mabuya vaillanti* Blgr. (Sauria, Scincidae) do arquipélago de Cabo Verde. *Garcia de Orta Sér. Zool.* **13**: 49–55.
- Posada, D., and Crandall, K. A. (1998). Modeltest: Testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* **14**: 817–818.
- Rodríguez, F., Oliver, J. F., Marín, A., and Medina, J. R. (1990). The general stochastic model of nucleotide substitutions. *J. Theor. Biol.* **142**, 485–501.
- Rzhetsky, A., and Nei, M. (1992). A simple method for estimating minimum evolution trees. *Mol. Biol. Evol.* **9**: 945–967.
- Saint, K. M., Austin, C. C., Donnellan, S. C., and Hutchinson, M. N. (1998). *C-mos*, a nuclear marker useful for squamate phylogenetic analysis. *Mol. Phylogenet. Evol.* **10**: 259–263.
- Schleich, V. (1982). Vorläufige Mitteilungen zu Herpetofauna der Kapverden. *CFS - Courier* **52**: 245–248.
- Schleich, V. (1987). Herpetofauna Caboverdiana. *Spixiana* **12**: 1–75.
- Swofford, D. L. (2000). PAUP*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (and other methods) 4.0.b3a. Sinauer, Sunderland, MA.
- Thompson, J. D., Higgins, D. G., and Gibson, T. J. (1994). Clustal W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acid. Res.* **22**: 4673–4680.
- Thorpe, R. S., McGregor, D. P., Cumming, A. M., and Jordan, W. C. (1994). DNA evolution and colonization sequence of island lizards in relation to geological history: mtDNA RFLP, cytochrome *b*, cytochrome oxidase I, 12S rRNA sequence and nuclear RAPD analysis. *Evolution* **48**: 230–240.
- Yang, Z. (1994). Maximum likelihood phylogenetic estimation from DNA sequences with variable rates over sites: Approximate methods. *J. Mol. Evol.* **39**: 306–314.

Relationships of *Tarentola* (Reptilia: Gekkonidae) from the Cape Verde Islands estimated from DNA sequence data

José Jesus¹, António Brehm¹, D. James Harris²

¹ Centro de Ciências Biológicas e Geológicas, University of Madeira, Penteada, 9000 Funchal, Portugal

² Centro de Estudos de Ciência Animal (CECA), ICETA-U.P., Campus Agrário de Vairão, 4485-661 Vila do Conde, Portugal

e-mail: james@mail.icav.up.pt

Abstract. Thirteen specimens of *Tarentola* from the Cape Verde islands were sequenced for 695 base pairs of 12S rRNA and cytochrome *b* mitochondrial genes, and analysed with published sequences. Our results support many of the relationships previously proposed. We report the presence of *Tarentola gigas* Bocage, 1875 on São Nicolau and *Tarentola caboverdiana nicolauensis* Schleich, 1984 on São Vicente. This increases the number of genetically distinct forms on these islands; hence community structure appears to be more complex than previously understood. We also sequenced seven individuals for 375 base pairs of the nuclear gene, *C-mos*. Two sites were variable, much less than expected given the high levels of differentiation based on mitochondrial DNA sequences.

Introduction

The Cape Verde archipelago, approximately 400 km from the West African coast, comprises ten islands and a number of islets of volcanic origin (Mitchell-Thomé, 1983). The islands form an arch (fig. 1), the oldest islands being Maio, Sal and Boavista, and the youngest Santo Antão and Brava, the tips of the “arch”. During sea level fluctuations in the Pleistocene some of the northwestern group of islands were most likely linked — São Vicente, Santa Luzia, Branco and Raso, and possibly also Boavista and Maio from the “central” group of islands. Otherwise the water channels are very deep (>1000 meters) and so it is highly improbable that these islands were ever linked by land connections. DNA sequence data have recently been used to estimate colonization patterns of reptiles within the Cape Verde islands (Brehm et al., 2001; Carranza et al., 2001; Jesus et al., 2001). In the case of *Tarentola* a species of the subgenus *Makariogecko* appears to have colonized the Cape Verde islands from Gomera or Tenerife in the Western Canaries (Joger, 1984;

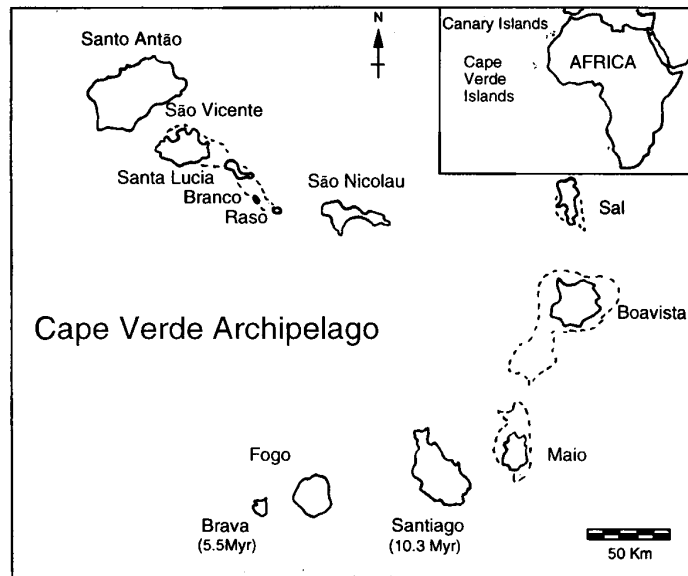


Figure 1. Map of the Cape Verde islands. Localities of specimens used in this study are given in table 1. Shallow water areas, which were probably above sea level in the geologically recent past, are marked with dashed lines.

Carranza et al., 2000). Nine genetically distinct units were defined from the Cape Verde islands on the basis of partial 12S rRNA and cytochrome *b* mitochondrial DNA (mtDNA) sequences (Carranza et al., 2000). Here we combine data from the same genes for 13 additional individual *Tarentola* from the islands, and also sequences from the nuclear gene *C-mos* to compare with the mtDNA data. Inclusion of our new data does not alter many of the taxonomic conclusions of Carranza et al. (2000). Carranza et al. (2000), however, reported only a single species of *Tarentola* from each of the northern islands except São Nicolau and the islets of Branco and Raso. We found additional species on the larger islands in the northern group. Although *Tarentola* show higher levels of mtDNA variation within the Cape Verde islands compared to *Mabuya* skinks (Brehm et al., 2001; Carranza et al., 2001), they show lower levels of variation in the nuclear gene *C-mos*. Despite the extensive sampling of Carranza et al. (2000) the genetic variation of *Tarentola* within the Cape Verde islands is more complex than previously described.

Methods

Additional specimens examined are shown in table 1. Specimens collected in the field were identified following Joger (1993) and Schleich (1987), and released after tail tips were taken. Tissues are preserved in the collections of CCBG (University of Madeira). The sample from *T. c. raziana* Schleich, 1984 (from Raso island) comes from the collection of the Center of Zoology (IICT, Lisbon). Total genomic DNA was extracted from small pieces

Table 1. Specimens included in the mtDNA analysis with locality and specimen voucher number.

Specimen	Island (locality)	Voucher
<i>T. caboverdiana nicolauensis</i>	São Nicolau (Ponta Cachorro)	T23848
<i>T. caboverdiana nicolauensis</i>	São Nicolau (Ribeira Brava)	T23849*
<i>T. caboverdiana nicolauensis</i>	São Nicolau (Ribeira Brava)	T23847
<i>T. caboverdiana nicolauensis</i>	São Vicente (Mindelo)	T23850*
<i>T. caboverdiana nicolauensis</i>	São Vicente (Mindelo)	T23851
<i>T. caboverdiana caboverdiana</i>	Santo Antão (Porto Novo)	T23839
<i>T. caboverdiana caboverdiana</i>	Santo Antão (Ponta do Sol)	T23855
<i>T. caboverdiana substituta</i>	São Vicente (Madeiral)	T23891
<i>T. caboverdiana substituta</i>	São Vicente (Madeiral)	T23892
<i>T. caboverdiana raziana</i>	Razo	ICT317*
<i>T. gigas</i>	São Nicolau (Ponta Cachorro)	T23893*
<i>T. darwini</i>	Santiago (Tarrafal)	T23894
<i>T. darwini</i>	Fogo (São Filipe)	T23895

* Indicate the partial *C-mos* region was also sequenced. Three other specimens were also sequenced for *C-mos* (*T. rudis* and two *T. darwini*, all from Santiago, codes T23882, T23897 and T23898 respectively).

of tail using standard methods. Polymerase Chain Reaction primers used in both amplification and sequencing were cytochrome *b1* and *b2* and 12Sa and 12Sb from Kocher et al. (1989) and G73 and G74 for *C-mos* from Saint et al. (1998). Amplification conditions were the same as described by Harris et al. (1998) and Saint et al. (1998). Amplified fragments were sequenced from both strands on a 373 Applied Biosystem DNA Sequencing Apparatus.

Sequence analysis. Sequences from the Cytochrome *b* and 12S rRNA belonging to the same individual were merged for the analysis. These and the *C-mos* sequences were aligned using Clustal W (Thompson et al., 1994) with the previously published data (Carranza et al., 2000; Harris et al., 2001). Three samples of *Tarentola gomerensis* Joger and Bischoff, 1983 were designated as outgroup taxon. Cytochrome *b*, 12S rRNA and *C-mos* sequences were respectively 303, 392 and 375 base pairs long. GenBank accession numbers are AF468790 to AF468815. The cytochrome *b* and *C-mos* sequences contained no indels.

The data were imported into PAUP* 4.0b5 (Swofford, 2001) for phylogenetic analysis. We used the approach outlined by Huelsenbeck and Crandall (1997) to test 56 alternative models of evolution, employing PAUP* 4.0b3a and Modeltest (Posada and Crandall, 1998) discussed in detail in Harris and Crandall (2000). Once a model of evolution was chosen, it was used to estimate a tree using neighbor joining. Support for nodes was estimated using the bootstrap technique (Felsenstein, 1985), with 1000 replicates. A maximum parsimony analysis was also carried out (100 replicate heuristic search), and support for nodes estimated by bootstrapping with 1000 replicates.

Results

Including the three outgroups 57 sequences were analyzed for the mtDNA data set. Aligned sequences of the combined gene regions were 695 bps long. The data appear to be mitochondrial DNA sequences and not nuclear integrated copies (see Nielson and Arctander, 2001) for several reasons. The protein coding gene, cytochrome *b*, contains no introns or stop codons, and the free energy of the secondary structure of the 12S rRNA is similar to the previously published sequences (data not shown; see Harris, 2001a). The extreme strand bias in the third position of the cytochrome *b* gene is also typical in reptiles

(A 30% C 53% G 04% T 12%, compared to average in geckos of A 36% C 44% G 05% T 15%; Harris, 2001b). We concluded that the HKY model (base frequencies A 0.30, C 0.32, G 0.17, T 0.21, transition/transversion ratio 5.63), with a gamma distributed rate heterogeneity model (4 rate categories, $G = 0.175$) was the most appropriate model of evolution for these data (fig. 2). Maximum parsimony analysis found 56 trees of 298 steps that were similar to the NJ trees (fig. 2). One hundred and forty five characters were parsimony informative. For the *C-mos* partial gene region, seven individuals were sequenced from five of the major mtDNA groups identified in this study and by Carranza et al. (2000). These were compared to the sequence of *Tarentola boettgeri* Steindachner, 1891 from Gran Canaria (Harris et al., 2001). A single synapomorphy united the specimens from the Cape Verde islands. One site is autapomorphic for *T. gigas*, and the other synapomorphic for *T. gigas* and *T. rudis rudis* Boulenger, 1906.

Discussion

Our results support many of the conclusions of Carranza et al. (2000). We have however included some additional taxa that were not included in the previous analysis, and which slightly alter the conclusions.

Tarentola caboverdiana

Carranza et al. (2000) included three subspecies of *Tarentola caboverdiana* in their analysis. Individuals of *T. c. nicolauensis* from São Nicolau were clearly a genetically distinct group, while *T. c. raziana* and *T. c. substituta* Joger, 1984 were reciprocally monophyletic and formed a closely related group. We included five additional specimens of *T. c. nicolauensis*, all of which form a monophyletic group with the previously published samples of this subspecies (98% support). However, two of these came from the island of São Vicente (T23850 and T23851). Previously only *T. c. substituta* has been recorded from this island (Joger, 1993). We also included two samples of *T. c. caboverdiana* Schleich, 1984 from Santo Antão. These formed a distinct clade (73% support) that is sister taxon to both *T. c. raziana* and *T. c. substituta* (73% support). However, with the addition of two sequences of *T. c. substituta* and one of *T. c. raziana*, these two subspecies are no longer monophyletic with respect to each other. Therefore, within this species only three genetically distinct groups can be identified: *T. c. nicolauensis* which is not closely related to the other members of this species, *T. c. caboverdiana* and a closely related group of both *T. c. raziana* and *T. c. substituta*. It is not surprising that *T. c. raziana* and *T. c. substituta* are not genetically well differentiated, since they occur on islands that were probably connected during periods of lower sea levels during the last glacial periods.

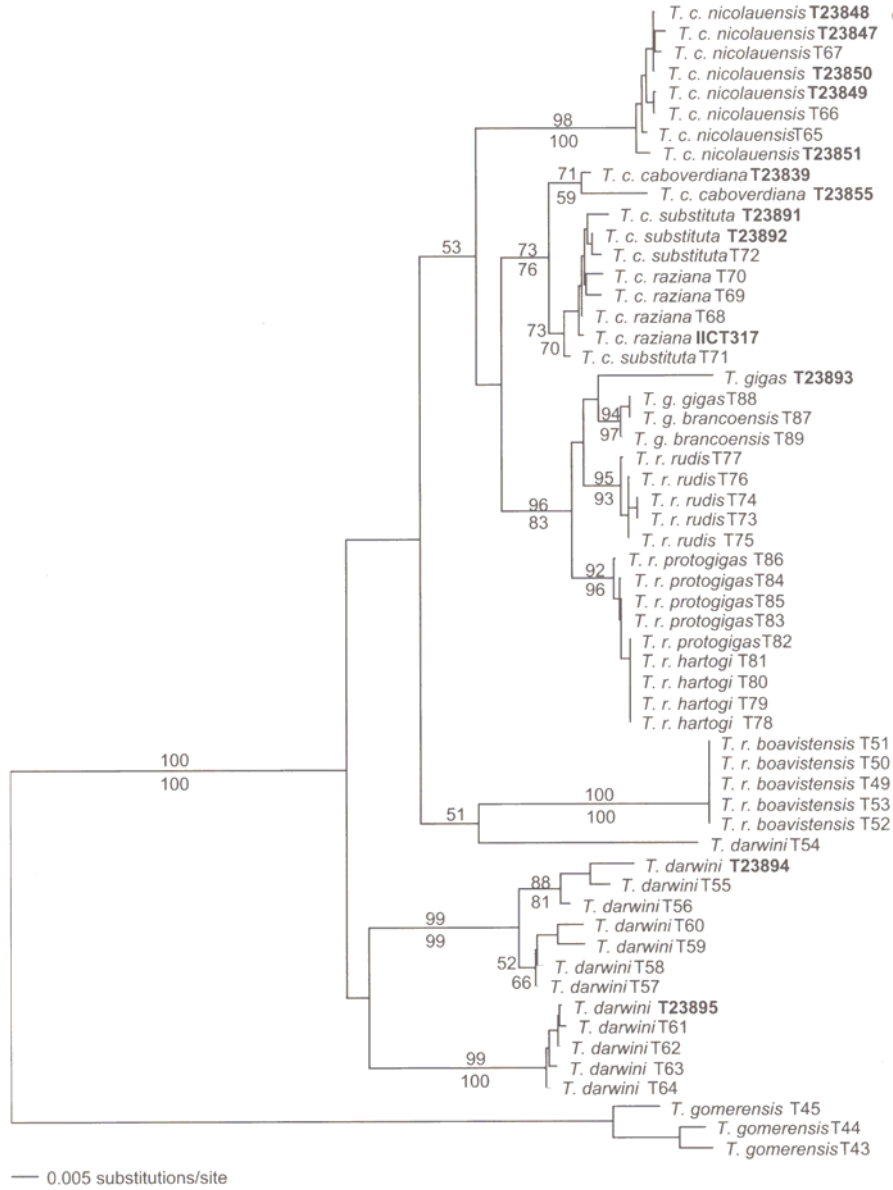


Figure 2. Tree derived from a neighbor joining analysis using the model described in the text. Bootstrap values for NJ and MP are given above and below nodes respectively. The strict consensus of the MP trees differed only in being less well resolved. Specimens new to this study have codes in bold. Others are from Carranza et al. (2000).

Tarentola gigas

Two subspecies are currently recognised within *Tarentola gigas*, *T. g. gigas* from Raso and *T. g. brancoensis* Schleich, 1984 from Branco (Joger, 1993). These forms were not differentiated using mtDNA (Carranza et al., 2000). The species was reported to be confined to these small islands, although recent fossils show it was more widely distributed in the past (Carranza et al., 2000). We have included a sample from an individual of *T. gigas* from São Nicolau. Given that this species has not been reported from this island before, and that the sample shows considerable genetic differentiation from other *T. gigas* (3.3–3.6% sequence divergence with the cytochrome *b* region) it could well represent a new subspecies. Additional sampling and detailed morphological analysis will be needed to confirm this.

Phylogenetic relationships of major genetic clades

Carranza et al. (2000) identified nine major genetic groups within *Tarentola* from the Cape Verde islands. Our analysis is congruent with this. Supported as a clade is a group of *T. gigas*, *T. rudis rudis*, *T. r. hartogi* Joger, 1993 and *T. r. protogigas* (96% support). Most closely related to this group is a clade of *T. caboverdiana caboverdiana*, *T. c. substituta* and *T. c. raziana*. *Tarentola c. nicolauensis* is the sister taxon to this whole group (53% support). These relationships are essentially the same as those found by Carranza et al. (2000). Bootstrap supports are lower, probably because we included a shorter region of the cytochrome *b* gene in our analysis. A single *C-mos* synapomorphy links *T. gigas* with *T. rudis rudis*. This is in accordance with our phylogeny estimated from mtDNA sequences.

The other taxa from the Cape Verde islands formed a separate clade in the analysis of Carranza et al. (2000), although bootstrap support was low (46% in the NJ analysis). In our analysis *T. darwini* Joger, 1984 from São Nicolau and *T. r. boavistensis* Joger, 1993 are sister taxa, with *T. darwini* from Fogo and Santiago as the most basal taxa. Bootstrap support for these relationships is low, so our analysis of the available data does not resolve relationships between these groups.

Community Structure

Our analysis suggests that genetically distinct forms of *Tarentola* exist on more of the islands than has been previously reported. São Vicente has both *T. caboverdiana substituta* and the genetically distinct *T. c. nicolauensis*. São Nicolau is inhabited by *T. gigas* as well as *T. darwini* and *T. c. nicolauensis*. It seems likely that more extensive surveying will uncover additional forms on other islands. Additional data are also needed to determine if these taxa are found in sympatry on the islands.

Variation in *C-mos* compared to mtDNA sequences

If both *C-mos* and mtDNA sequences evolve according to a molecular clock, then the relative ratio of genetic divergences between taxa will be equal in different groups. *C-mos* substitutions accumulate at a rate similar to that of transversion substitutions in mitochondrial protein-coding genes in passerine birds (Lovette and Bermingham, 2000). In *Mabuya* skinks from the Cape Verde islands, taxa show considerably lower levels of mtDNA substitutions than geckos, but eleven *C-mos* substitutions were detected (Brehm et al., 2001), as opposed to two within *Tarentola* from the islands in this study. Geckos on average have higher levels of mtDNA divergence between species than other lizards (Harris, 2001a). This could be an artifact of taxonomy, for example geckos could simply be morphologically more conservative so that some species have been overlooked. However, if *C-mos* variation is low between gecko species, this implies they may have a higher rate of mtDNA divergence than other lizards, which would affect molecular clock calibrations currently used. Additional sampling of taxa for both mtDNA and *C-mos* will be needed to study this possibility further.

Conclusions

Despite the extensive sampling of Carranza et al. (2000) we have uncovered genetically distinct forms on islands where they have not previously been recorded. This knowledge is essential for future conservation of these unique geckos. Our study suggests that even more sampling will be necessary to fully understand the evolutionary history of the group and their systematics.

Acknowledgements. We are grateful to L. Carvalho of the Secretaria Executiva para o Ambiente from the Cape Verde government and ICCTI of Lisbon for assistance in funding surveys in the Cape Verde Islands, and to Dr Margarida Pinheiro (Center of Zoology, IICT, Lisbon) for providing the sample from Raso. Thanks also to G. Gollmann and two anonymous reviewers who gave constructive criticisms on an earlier draft of this manuscript.

References

- Brehm, A., Jesus, J., Pinheiro, M., Harris, D.J. (2001): Relationships of Scincid lizards *Mabuya* (Reptilia: Scincidae) from the Cape Verde Islands based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* **19**: 311-316.
- Carranza, S., Arnold, E.N., Mateo, J.A., Lopez-Jurado, L.F. (2000): Long-distance colonization and radiation in gekkonid lizards, *Tarentola* (Reptilia: Gekkonidae), revealed by mitochondrial DNA sequences. *Proc. Roy. Soc. Lond. B* **267**: 637-649.
- Carranza, S., Arnold, E.N., Mateo, J.A., Lopez-Jurado, L.F. (2001): Parallel gigantism and complex colonization patterns in the Cape Verde scincid lizards *Mabuya* and *Macrosцинus* (Reptilia: Scincidae) revealed by mitochondrial DNA sequences. *Proc. Roy. Soc. Lond. B* **268**: 1595-1603.
- Felsenstein, J. (1985): Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* **39**: 783-791.

- Harris, D.J. (2001a): Re-evaluation of 16S Ribosomal RNA variation in *Bufo* (Anura: Amphibia). *Mol. Phylogenet. Evol.* **19**: 326-329.
- Harris, D.J. (2001b): Reassessment of comparative genetic distance in reptiles from the mitochondrial cytochrome *b* gene. *Herpetol. J.* in press.
- Harris, D.J., Arnold, E.N., Thomas, R.H. (1998): Relationships of the lacertid lizards (Reptilia: Lacertidae) estimated from mitochondrial DNA sequences and morphology. *Proc. R. Soc. London B* **265**: 1939-1948.
- Harris, D.J., Crandall, K.A. (2000): Intra-genomic variation within ITS1 and ITS2 of crayfish (Decapoda, Cambaridae): implications for phylogenetic and microsatellite studies. *Mol. Biol. Evol.* **17**: 284-291.
- Harris, D.J., Marshall, J.C., Crandall, K.A. (2001): Squamate relationships based on *C-mos* nuclear DNA sequences: increased taxon sampling improves bootstrap support. *Amphibia-Reptilia* **22**: 235-242.
- Huelsenbeck, J.P., Crandall, K.A. (1997): Phylogeny estimation and hypothesis testing using maximum likelihood. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* **28**: 437-466.
- Jesus, J., Brehm, A., Pinheiro, M., Harris, D.J. (2001): Relationships of *Hemidactylus* (Reptilia: Gekkonidae) from the Cape Verde Islands: what mitochondrial DNA data indicate. *J. Herpetology*, in press.
- Joger, U. (1984): Die Radiation der Gattung *Tarentola* in Makaronesien. *Courier Forsch.-Inst. Senckenberg* **71**: 91-111.
- Joger, U. (1993): On two collections of reptiles and amphibians from the Cape Verde Islands, with descriptions of three new taxa. *Courier Forsch.-Inst. Senckenberg* **159**: 437-444.
- Kocher, T.D., Thomas, W.K., Meyer, A., Edwards, S.V., Pääbo, S., Villablanca, F.X., Wilson, A.C. (1989): Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **86**: 6196-6200.
- Lovette, I.J., Bermingham, E. (2000): *C-mos* variation in Songbirds: molecular evolution, phylogenetic implications and comparisons with mitochondrial differentiation. *Mol. Biol. Evol.* **17**: 1569-1577.
- Mitchell-Thomé, R.C. (1983): Radiometric studies in Macronesia. *Bol. Mus. Mun. Funchal* **37**: 52-85.
- Nielsen, K.K., Arctander, P. (2001): Recombination among multiple mitochondrial pseudogenes from a passerine genus. *Mol. Phylogenet. Evol.* **18**: 362-369.
- Posada, D., Crandall, K.A. (1998): Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* **14**: 817-818.
- Saint, K.M., Austin, C.C., Donnellan, S.C., Hutchinson, M.N. (1998): *C-mos*, a nuclear marker useful for squamate phylogenetic analysis. *Mol. Phylogenet. Evol.* **10**: 259-263.
- Schleich, V. (1987): Herpetofauna Caboverdiana. *Spixiana* **12**: 1-75.
- Swofford, D.L. (2001): PAUP*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (and other methods) 4.0.b5. Sunderland, Massachusetts, USA, Sinauer Associates.
- Thompson, J.D., Higgins, D.G., Gibson, T.J. (1994): Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucl. Acid. Res.* **22**: 4673-4680.

Received: May 11, 2001. Accepted: July 30, 2001.

6.7. ARTIGO. VII

Journal of Herpetology, Vol. 35, No. 4, pp. 672-675, 2001
Copyright 2001 Society for the Study of Amphibians and Reptiles

Relationships of *Hemidactylus* (Reptilia: Gekkonidae) from the Cape Verde Islands: What Mitochondrial DNA Data Indicate

JOSÉ JESUS,¹ ANTÓNIO BREHM,¹ MARGARIDA PINHEIRO,²
AND D. JAMES HARRIS^{3,4}

¹*Centro de Ciências Biológicas e Geológicas, University of Madeira, Penteada, 9000 Funchal, Portugal*

²*Centro de Zoologia, Instituto de Investigação Científica Tropical, Ministério da Ciência e Tecnologia, Lisbon, Portugal*

³*Centro de Estudos de Ciência Animal (CECA), ICETA-LLP, Campus Agrário de Vairão, 4485-661 Vila do Conde, Portugal; E-mail: james@mail.icav.up.pt*

Colonizers in archipelagos frequently invade nearby islands and often show high genetic diversity between islands (Castilla et al., 1998). Because island populations have a higher risk of extinction than mainland populations (Frankham, 1997), investigation and protection of intransland forms is particularly important. Because geckos are frequently introduced anthropogenically, we examined gekkonids of the genus *Hemidactylus* in the Cape Verde islands. The Cape Verde archipelago (Fig. 1) lies between 380 and 460 km from the coast of Africa and consists of volcanic islands, which have never been connected to the continent (Mitchell-Thome, 1983). Two species of *Hemidactylus* have been reported from the islands; *Hemidactylus bouvieri* is endemic to the islands, whereas *Hemidactylus brooki* is extremely widespread, found in subsaharan Africa, India, Indonesia, Mexico, and elsewhere (Mertens, 1955; Joger, 1993; Powell et al., 1998).

Six *H. brooki* (CV36, CV122, Hb37, Hb38, Hb42, Hb43) and four *H. bouvieri* (CV38, CV125, CV165 and HBV1) from the Cape Verde islands were taken from the collections of the University of Madeira and Centro de Zoologia, ICT, Lisbon. One juvenile specimen that could not be adequately identified using morphological characters was also included (BichoA), as was one sample of *H. brooki* from Guinea, Africa (HbG1). Total genomic DNA was extracted from tail pieces using standard methods. Polymerase Chain Reaction (PCR) primers used in amplification and sequencing were cytochrome b1 and b2, and 12Sa and 12Sb (Kocher et al., 1989). PCR conditions were as those used by Harris et al. (1998), and successful PCR products were sequenced from both strands on an Applied Biosystems DNA Sequencing System.

Sequences were aligned using Clustal W (Thompson et al., 1994). The cytochrome *b* sequences were 317 base pairs long, and contained no indels. The codon reading frame was inferred by comparison with published sequences of *Tarentola mauritanica* and *Tarentola delalandii* (Nogales et al., 1998), which were included as outgroups. Cytochrome *b* sequences from *Hemidactylus turcicus* (Nogales et al., 1998) and *Hemidactylus*

⁴ Corresponding Author. E-mail: james@mail.icav.up.pt

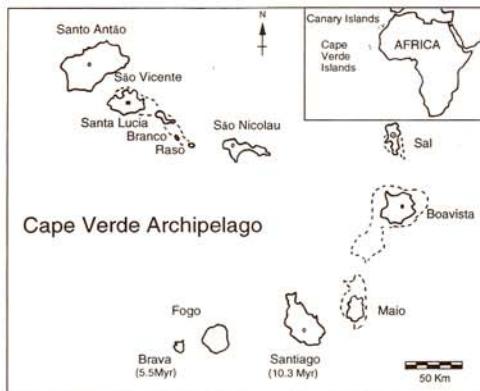


FIG. 1. Island localities for the *Hemidactylus* used in this study. Open circle: *Hemidactylus brooki*; closed circle *Hemidactylus bouvieri*; closed square *Hemidactylus mabouia*. *Hemidactylus brooki* was also sampled from continental Africa. Shallow water areas, which were probably above sea level in the geological recent past, are shown with dashed lines. Ages of islands where known are given.

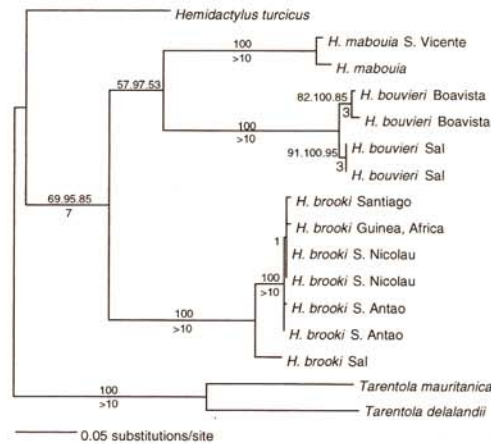


FIG. 2. Single ML tree of relationships among sampled taxa, rooted using the *Tarentola* species. Numbers above nodes indicate support derived from MP bootstraps, ML bootstraps and MP quartet puzzling, respectively. Where all three levels of support are identical, only one number is given. Numbers below nodes indicate decay values derived from the MP analysis.

mabouia (U69833, B. N. Campbell, unpubl. data) were included from Genbank. Aligned 12S sequences were 390 base pairs long after minor adjustments to alignment were made by eye with reference to the secondary structure (Hickson et al., 1996). The *T. mauritanica*, *T. delalandii* and *H. turcicus* 12S rRNA sequences were included (Nogales et al., 1998), but these were not available for *H. mabouia*.

Data were analyzed using PAUP* 4.0b3a (Swofford, 2000). Initially a maximum parsimony analysis was performed (10 replicate random addition heuristic searches) and support for nodes estimated using decay analysis (Bremner, 1988) and by bootstrapping (Felsenstein, 1985) and quartet puzzling (Strimmer and von Haesler, 1996) with 1000 pseudoreplicates. Because assessment of saturation in the third positions of the cytochrome *b* indicated that these positions were likely to be saturated with respect to the outgroup (not shown), analyses were also run with these sites excluded. We also estimated a tree using maximum likelihood (Felsenstein, 1981). We used the approach outlined by Huelsenbeck and Crandall (1997) to test 56 alternative models of evolution, employing PAUP* 4.0b3a and Modeltest (Posada and Crandall, 1998). Once a model of evolution was chosen, it was used to estimate a tree using 10 random addition replicate heuristic searches. Support for nodes was estimated using the bootstrap technique with 1000 pseudoreplicates.

We obtained 717 bps of aligned sequences from the combined 12S rRNA and cytochrome *b* genes for 12 taxa. Genbank accession numbers are AF324793 to AF324812. Including the published data, this provided 14 representatives of *Hemidactylus* (four species), and two of *Tarentola* (two species), which were designated as outgroups. There were 115 and 112 parsimoniously informative sites in the cytochrome *b* and 12S rRNA partial gene regions examined, and our maximum

parsimony analysis found 39 trees of 531 steps (Fig. 2). In our maximum likelihood analysis, we concluded that the TVM model (Rodríguez et al., 1990), with a gamma distributed rate heterogeneity model (four rate categories; Yang, 1994), was the most appropriate model of evolution for these data, and our heuristic search with this model produced a single maximum likelihood tree of score $-\ln 3224.65$ (Fig. 2). A maximum parsimony analysis with third position sites excluded also produced the same estimates of relationships.

The four individuals of *H. bouvieri* received 100% support as a monophyletic group in all analyses. Two samples each from Boavista and Sal form separate clades with high support, and the two clades show approximately 2% genetic divergence from each other; both are typically assigned to the same subspecies, *H. b. boavistensis*. Joger (1993) indicated some morphological difference between specimens from these two islands and suggested that this difference might justify subspecific status. Assuming a typical molecular clock rate used for these gene regions in other lizards (1.96% per million years; Carranza et al., 2000), these two forms would have last shared reproductive contact about 1 million years ago.

The six specimens of *H. brooki* likewise are strongly supported (100%) as a clade. Within this clade, five of the samples, those from mainland Guinea, S. Antao, S. Nicolau, and Santiago, are genetically very similar to each other (approximately 0.5% genetic diversity). The individual from the island of Sal, however, is quite different (5%). All *H. brooki* on the islands are at present assigned to *H. b. angulatus* and show very little morphological variation between islands (Joger, 1993). The high genetic differentiation between the sample from Sal and samples from the other islands could indicate lack of reproductive contact between popu-

lations for nearly 2.5 million years. What is perhaps more surprising is that the genetically similar forms are found on both northern and southern islands, islands separated by very deep channels, which have probably never been connected to each other (Mitchell-Thome, 1983). One possible explanation is that these geckos have been moved between islands anthropogenically; they are nearly identical to the mainland specimen and could also have been introduced to the Cape Verde islands. If this is the case, the specimen from Sal would have had to have reached the islands independently.

The juvenile sample from S. Vicente, which could not be easily identified using morphological characters, is genetically very similar to the *H. mabouia* specimen from GenBank (100% support) and is probably this species. *Hemidactylus mabouia* has a wide ranging distribution across subsaharan Africa, Madagascar, the Seychelles, and South America, and has been introduced to Florida (Powell et al., 1998). *Hemidactylus mabouia* has never been reported from the Cape Verde islands before, and the most likely explanation of its occurrence is recent introduction. Its possible threat to the native species should not be underestimated; in the Mascarene islands endemic geckos of the genus *Nactus* have probably been eliminated from some islands by introduced *H. frenatus* (Arnold, 2000). It is imperative to determine how common and widespread *H. mabouia* is on the islands.

All analyses cluster *H. mabouia* with *H. bouvieri* and present *H. brooki* and *H. turcicus* as successive branches, indicating that the two species from the Cape Verde islands colonized the islands independently. *Hemidactylus* is a speciose genus (about 80 species), there is no comprehensive estimate of its phylogeny available, and without sampling additional species these relationships are only tentative. Sequence divergence between both the *Hemidactylus* and *Tarentola* samples is extremely high. In a recent analysis of all reptile genera for which data are on GenBank these two had the highest congeneric variation for cytochrome *b* (average uncorrected distances over 20%; DJH, unpubl. data). Additional data reported here confirm this finding, and recent work on *Pachydactylus* also reports very high congeneric variation (Lamb and Bauer, 2000). It will be interesting to see whether other gecko genera show similarly high levels of genetic divergence both within and between species.

The endemic *H. bouvieri* shows some genetic differentiation between the two island populations from which we sampled. This species has been recorded from almost every island in the Cape Verde Archipelago (e.g., Mertens, 1955; Schleich, 1987), but recent surveys have found it on only two—Sal and Boavista (M. Pinheiro, J. Jesus, and A. Brehm, unpubl. data). Although it still exists in low densities on the other islands (S. Carranza, Natural History Museum, London, pers. comm.), it appears to be much rarer than in previous surveys, and, combined with a threat from introduced competitors, it almost certainly warrants official listing as an endangered species.

Acknowledgments.—We are grateful to L. Carvalho of the Secretaria Executiva para o Ambiente from the Cape Verde government and ICCTI of Lisbon for assistance in funding the surveys in the Cape Verde Islands. Thanks to S. D. Busack and two anonymous

reviewers for constructive comments on an earlier version of this manuscript.

LITERATURE CITED

- ARNOLD, E. N. 2000. Using fossils and phylogenies to understand evolution of reptile communities on islands. In G. Rheinwald (ed.) *Isolated vertebrate communities in the tropics*. Proc. 4th Int. Symp. Bonn, Bonn. Zool. Monogr. 46:309–323.
- BREMMER, K. 1988. The limits of amino acid sequence data in angiosperm phylogenetic reconstruction. *Evolution* 42:795–803.
- CARRANZA S., E. N. ARNOLD, J. A. MATEO, AND L. F. LOPEZ-JURADO. 2000. Long-distance colonization and radiation in gekkonid lizards, *Tarentola* (Reptilia: Gekkonidae), revealed by mitochondrial DNA sequences. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 267:637–649.
- CASTILLA, A. M., V. FERNANDEZ-PEDROSA, D. J. HARRIS, A. GONZALEZ, A. LATORRE, AND A. MOYA. 1998. Mitochondrial DNA divergence suggests that *Podarcis hispanica atrata* (Squamata: Lacertidae) from the Columbrenes Islands merits specific distinction. *Copeia* 1998:1037–1040.
- FELSENSTEIN, J. 1981. Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach. *J. Mol. Evol.* 17:368–376.
- . 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39:783–791.
- FRANKHAM, R. 1997. Do island populations have less genetic variation than mainland populations? *Hereditas* 78:311–327.
- HARRIS, D. J., E. N. ARNOLD, AND R. H. THOMAS. 1998. Rapid speciation, morphological evolution and adaptation to extreme environments in Sand Lizards (*Merules*) as revealed by mitochondrial gene sequences. *Mol. Phyl. Evol.* 10:37–48.
- HICKSON, R. E., C. SIMON, A. COOPER, G. S. SPICER, J. SULLIVAN., AND D. PENNY. 1996. Conserved sequence motifs, alignment and secondary structure for the third domain of animal 12S rRNA. *Mol. Biol. Evol.* 13:150–169.
- HULSENBECK, J. P., AND K. A. CRANDALL. 1997. Phylogeny estimation and hypothesis testing using maximum likelihood. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 28:437–466.
- JÖGER, U. 1993. On two collections of reptiles and amphibians from the Cape Verde Islands, with descriptions of three new taxa. *Courier Forsch.-Inst. Senckenberg* 71:91–111.
- KOCHER, T. D., W. K. THOMAS, A. MEYER, S. V. EDWARDS, S. PÄÄBO, F. X. VILLABLANCA, AND A. C. WILSON. 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proc. Nat. Acad. Sci., USA* 86:6196–6200.
- LAMB, T., AND A. M. BAUER. 2000. Relationships of the *Pachydactylus rugosus* group of geckos (Reptilia: Squamata: Gekkonidae). *Afr. Zool.* 35:55–67.
- MERTENS, R. 1955. Die Eidechsen der Kapverden. *Commentat. Biol.* 15:1–16.
- MITCHELL-THOME, R. C. 1983. Radiometric studies in Macronesia. *Bol. Mus. Mun. Funchal.* 37:52–85.
- NOGALES M., M. LOPEZ, J. JIMENEZ-ASENSIO, J. M. LARRUGA, M. HERNANDEZ AND P. GONZALEZ. 1998.

- Evolution and biogeography of the genus *Tarentola* (Sauria: Gekkonidae) in the Canary Islands, inferred from mitochondrial DNA sequences. *J. Evol. Biol.* 11:481–494.
- POSADA, D., AND K. A. CRANDALL. 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14:817–818.
- POWELL, R., R. I. CROMBIE, AND H. E. A. BOOS. 1998. *Hemidactylus mabouia*. *Cat. Am. Amphib. Reptiles* 674.1–674.11.
- RODRÍGUEZ, F., J. F. OLIVER, A. MARÍN, AND J. R. MEDINA. 1990. The general stochastic model of nucleotide substitutions. *J. Theor. Biol.* 142:485–501.
- SCHLEICH, H. H. 1987. Herpetofauna Caboverdiana. *Spixiana* 12:1–75.
- STRIMMER, K., AND A. VON HAESLER. 1996. Quartet puzzling: a quartet maximum-likelihood method for reconstructing tree topologies. *Mol. Biol. Evol.* 13:964–969.
- SWOFFORD, D. L. 2000. PAUP*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (and Other Methods). 4.0.b3a. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- THOMPSON, J. D., D. G. HIGGINS, AND T. J. GIBSON. 1994. Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucl. Acid. Res.* 22: 4673–4680.
- YANG, Z. 1994. Maximum likelihood phylogenetic estimation from DNA sequences with variable rates over sites: approximate methods. *J. Mol. Evol.* 39: 306–314.

Accepted: 23 January 2001.

6.8.ARTIGO.VIII Submitted

**Phylogeography of *Mabuya maculilabris* (Reptilia) from São Tomé Island (Gulf of Guinea)
inferred from mtDNA sequences**

José Jesus¹, D. James Harris² and António Brehm^{1*}

1 University of Madeira, Campus of Penteada, 9000-390 Funchal, Portugal

2 Centro de Investigação em Biodiversidade e Recursos Genéticos (CIBIO\UP), ICETA, Campus Agrario de Vairão, 4485-661 Vila do Conde, Portugal

* Corresponding author: António Brehm, fax +351291705380, email brehm@uma.pt

Running title: *Mabuya maculilabris* from the Gulf of Guinea

Keywords: *Mabuya maculilabris*, São Tomé Island, Gulf of Guinea, mtDNA, phylogeography

Abstract

The pattern of genetic variation of the lizard *Mabuya maculilabris* from São Tomé Island (Gulf of Guinea) was investigated using a combination of 3 mitochondrial DNA gene fragments. Forty-eight haplotypes were recovered among 66 individuals covering the whole island. The genealogy inferred from the most parsimonious network of haplotypes allows us to detect two main and long branches departing from the putative group of oldest haplotypes. The tip of these branches exhibits star-like phylogenies which may be indicative of recently expanded populations, most probably from a small number of founders. A nested clade analysis suggests a complex pattern of past events that gave rise to the extant geographical pattern found in the haplotype distribution: past and allopatric fragmentation, range expansion, restricted gene flow and long distance dispersal. These results are consistent with the complex geological history of the island where important volcanic activity with extensive lava flows has occurred during several periods. Mismatch distribution analysis and AMOVA also support these conclusions. Substantial genetic structuring among these lizards was detected as well as high levels of differentiation between the southern edge populations (particularly those from the Rolas Islet) and the remaining ones. However, variation is low relative to the geological age of the island. Our results indicate that patterns of variation observed in reptiles in other oceanic islands are not indicative of those observed in the islands of the Gulf of Guinea.

Introduction

The genus *Mabuya* (sensu Greer, 1977) is the only lizard genus with a circumtropical distribution. More than 100 species are known from Asia, Africa and the Neotropics (Greer *et al.*, 2000). Some species are also very widespread, for example *Mabuya maculilabris* has been reported from São Tomé and Príncipe Islands in the Gulf of Guinea (Bocage, 1903, 1904-5), from across Central Africa, and on islands in the Indian Ocean (e.g. Zanzibar and the Comores). Based on mtDNA sequence data, a recent review of taxa from São Tomé and Príncipe islands showed that populations from Príncipe are well differentiated from those of São Tomé, probably constituting a distinct taxon (Jesus *et al.*, 2005a), and that both are well differentiated from continental *M. maculilabris*. However, pending taxonomic reform, we continue to refer to the species as “*M. maculilabris*”.

The island of São Tomé is situated in the Gulf of Guinea, 275 km west of Gabon. This volcanic island is part of an extension of the 1600 km long “Cameroon Volcanic Line” (Deruelle *et al.*, 1991; Caldeira and Munhá, 2002, Figure 1) and has never been connected to the mainland or neighbouring islands. São Tomé is made of basaltic lavas lying in Cretaceous sandstones that reach 2024 m above sea level. The oldest dated volcanic rocks are 15.7 million years (My) old (Deruelle *et al.* 1991) but most of it are basaltic lavas less than 1 My old (Munhá *et al.*, 2001); well preserved recent (<0.4 My; Munhá *et al.*, 2001) pyroclastic cones are frequent in the northeast as well as in the south extreme of the island (Caldeira and Munhá, 2002, see their Figure 1). The south and southeast part of the island exposes an older volcanic period (3-8 My, Caldeira and Munhá, 2002). The southern edge of the island as well as the Rolas Islet is mainly composed of pyroclastic and lava cones less than 0.4 My. The sea depth between the main island of São Tomé and the Rolas islet is less than 100 meters and it is supposed that both complexes were connected by land mass recently during the last glaciation period. In other volcanic islands with similar geologically-complex histories, such as Tenerife in the Canary Islands, phylogeographic analyses have revealed extensive genetic variability within reptile species, coinciding with geologically distinct regions (Gubitz *et al.*, 2000, 2005; Pestano and Brown, 1999; Thorpe *et al.*, 1994). However, other than *Hemidactylus* geckos (Jesus *et al.*, 2005b) there are no phylogeographic studies on reptiles from the islands of the Gulf of Guinea. We use phylogeographic methods to examine geographic structuring of extant lineages of *M. maculilabris*, and to clarify its evolutionary history relative to the known geology of the island. We can then compare this to other reptile species from volcanic islands, especially the Canary Islands and Cape Verde Islands.

Materials and Methods

Samples and sequencing of DNA

Sixty-six specimens of *Mabuya maculilabris* were collected from 12 localities in São Tomé Island (Figure 1). All individuals used in this study are deposited in the reptile collection of the University of Madeira under voucher numbers identified by locality-haplotype numbers, i.e. *M. maculilabris* 6-1. Genomic DNA from each individual was extracted by phenol-chloroform standard protocols. PCR primers used in both amplification and sequencing were 12Sa and b, 16SL and 16SH and cytb1 and cytb3 from Kocher *et al.* (1989), Simon *et al.* (1991) and Palumbi *et al.* (1991) respectively, following conditions given in Harris *et al.* (1998). PCR fragments were sequenced in an ABI 310 sequencer. Sequences were aligned using Clustal X (Thompson *et al.*, 1994) and minor adjustments were made by eye. Alignment was facile as only single base pair insertions or deletions were required. In order to detect possible different phylogenetic signals among different gene regions of the mtDNA genome we use a partition homogeneity test which revealed no significant incongruence between the three regions, thus validating their use combined as a single haplotype. Sequences from three individuals have been previously published (Jesus *et al.*, 2005a).

All 66 individuals were amplified for all the three gene fragments and these sequences were merged in individual haplotypes. Variable positions of the entire sequences excluding indels are shown in Table 1. The complete 66 fragments from each gene are deposited in GenBank under accession numbers xxxxxxxx-xxxxxxx.

Data analysis

Analysis of the phylogeographic structure of *Mabuya maculilabris* mtDNA haplotypes was performed using nested clade analysis (NCA). A statistical parsimony algorithm (Templeton *et al.*, 1992) with nesting rules extended in Crandall (1996) was performed in TCS (Clement *et al.*, 2000). The estimated maximum number of differences among haplotypes as a result of single substitutions with a 95% confidence level allowed all the haplotypes to be joined in a single network. The program TCS was also used to reconstruct an unrooted haplotype genealogy, and to estimate the most ancestral haplotype. Ambiguities of the nesting design were resolved following Crandall and Templeton (1993) and Crandall *et al.* (1994). The nesting design was constructed following Templeton *et al.* (1987). Associations between this nesting topology and geographical distances among populations were tested with GEODIS (Posada *et al.*, 2000). This program estimates two distances: clade distance (D_c) as a

measure of the geographical range of clades at each hierarchical level, and nested clade distance (D_n) which measures the geographic position of a clade relative to sister-clades. Both distances are used to calculate the average interior (ancestral) clade distance minus the average tip clade distances $(I-T)_c$ and $(I-T)_n$. The hypothesis that dispersion distances of clades are not significantly greater or less than expected at random was tested comparing D_c and D_n values with those obtained after 10000 random permutations of clades against sampling locations. The statistics were then used to infer biological explanations of the results under a null hypothesis of no association between haplotype topology and geographical distribution. The biological interpretations of the results follow the inference key of Templeton (2004).

An analysis of molecular variance (AMOVA, Excoffier *et al.*, 1992) was performed based on Euclidean distances between haplotypes using Arlequin (Schneider *et al.*, 2000). The total genetic variation was partitioned among 3 groups of populations: the ones from more recent lava (populations 1-2), those from intermediate aged lava flows (5-10) and the ones from older lava flows (3-4, 11-12) (Figure 1). Another AMOVA was performed based on a geographical clustering of populations: Rolas Isl. (1), southern edge of S. Tomé Isl. (2-3), East coast (9-12) and West coast (4-8). These were chosen to try to assess if geological history or current geography better explain genetic variability with *Mabuya maculilabris*.

To further test for demographic signatures of population expansions within the island of São Tomé, we used the mismatch distribution analysis (Rogers and Harpending, 1992) and compared the observed distribution with the expected under the assumption of an expansion model by calculating the raggedness index (Rogers and Harpending, 1992). We also calculated Fu's F_s (Fu, 1997) as a test of neutrality using Arlequin v.2.000 (Schneider *et al.*, 2000). Under infinite site model large values of F_s provides evidence for population expansion.

Results and Discussion

A total of 48 haplotypes were identified in the 66 individuals included in this study (Table 1). Most of these haplotypes were unique but haplotype 6 was found in 8 specimens from 3 different localities.

All haplotypes can be connected by less than 9 mutational steps and following Templeton *et al.* (1992) have a probability of >95% of being parsimoniously connected. Figure 2 shows the maximum parsimony network of 48 haplotypes and the nested clade design. Haplotype 6 (H6) is

considered the most probable ancestral haplotype. Homogeneity testing revealed significant non-random association of clades and sampling locations, indicating that a phylogeographic structure exists especially at higher hierarchical clade levels. Table 2 presents the interpretations of the nested clade analysis of geographical distances according to the latest key of Templeton (2004). A significant geographical association has been detected under our nested design, in four clades at different hierarchical levels and at the total cladogram level: 2-1 (due to interior clade 1-1), 2-16 (due to a low D_c of clade 1-43), 3-4 (due to a low D_c of clade 2-11), clade 4-1 (that presented statistically significant D_c and D_n values at clades 3-1 and 3-2) and finally the entire cladogram (with all nested clades presenting either statistically small or large values for D_c and D_n). Except in two instances the network is fully resolved (Figure 2). The geographical distance analysis showed significant differences at different clade levels (either clade- D_c or nested clade D_n distances) which with one exception allows drawing of demographic inferences according to the key of Templeton (2004, Table 2).

The entire cladogram points to restricted gene flow or dispersal but with some long distance dispersal (see Table 2). *Mabuya maculilabris* in São Tomé is characterized by a closely related group of haplotypes (clades 3-1 and 3-2) which are spread over almost the entire island (except Rolas) independent of lava ages. From the statistical parsimony network, two long and well separated branches emerge clearly from H17, which is linked to the putative oldest haplotype by only 2 mutational steps. One of these branches is mainly concentrated in the southern edge of S. Tomé. These include the 8 haplotypes from Rolas Islet representing the extreme tip of this branch and none of these are found elsewhere, forming a distinct cluster. The characteristic “star-like” topology of haplotypes from Rolas is indicative of a demographic expansion (Slatkin and Hudson, 1991). The expansion is probably a recent dispersal from the closest haplotypes in the south of the nearby main island (populations 2 and 3). The NCA indicates that the haplotype distribution within clade 3-4 is significantly associated with geography, probably as the result of past fragmentation. Haplotypes from Rolas Islet were not found in the main island but the most closely related haplotypes are those from populations 2 and 3. If one assumes a molecular clock of $\approx 1.96\%$ per million years (my) calibrated from *Mabuya* of Cape Verde islands (Carranza *et al.*, 2001) and a sequence divergence between Rolas and both populations from the southern edge of São Tomé of 0.28%, the separation of the former population took place at least $\approx 150,000$ years ago. This age agrees well with the geological data, which gives important volcanic activity in the area around 0.4my that probably extended for another 100,000 years (Munhá, pers. comm.). The lack of haplotypes in Rolas, the southern coast of São Tomé is also evidence that gene flow among the two regions is low or nonexistent. The most ancestral haplotype (H6) of São Tomé, although not detected in Rolas, is quite widespread along the southeast part of the island. The data

allows us to infer that this region was probably the first to be colonized by *M. maculilabris*. From this region the populations spread in two distinct lineages: a widely distributed one ending in the islet of Rolas and other more concentrated in the central and western part of the island (clades 3-5 to 3-7). Most of the haplotypes from São Tomé are private haplotypes, only four are shared by more than one population, indicating that the whole population may have experienced a past fragmentation history. Although lack of sampling density could also explain this result, *Mabuya* are large, mobile animals, and our sampled populations are spread throughout the island making this explanation less likely. The second longest branch in the topology contains most of its diversity in the northwest coast of the island. The whole clade 2-16 has a sequence divergence to the ancestral type of 0.51% which results in a divergence time of approximately 260,000 years. Although the haplotype distribution and distances are significantly associated, a strict interpretation of the inference key of Templeton results in an inconclusive biological inference. Nevertheless the estimated coalescence date of clade 4-2 regarding clade 2-1 which includes the putative ancestral haplotype as well as derived ones (some also existing in the southern edge of the island), puts the origin of all extant lineages around 800,000 ya. This is surprising given the age of the island, and given the high genetic differentiation between populations from São Tomé and Príncipe, its presumed sister-taxon (Jesus *et al.*, 2005a). Although error rates of molecular clocks are substantial, especially when comparing closely related populations, this age is very different from the ≈ 5 my separating populations from São Tomé and Príncipe using the same rate estimate (Jesus *et al.*, 2005a). It thus highlights the problems of using island ages to calibrate molecular clocks – coalescent dates for haplotypes within islands are often substantially less than the age of the islands, as seen here and in the case of *Lacerta dugesii* in Madeira (Brehm *et al.*, 2003).

The AMOVA analysis further confirms that São Tomé *M. maculilabris* populations are structured. The clustering of populations according to geography (3 groups, southern edge of São Tomé, east and west coasts) yields an F_{ST} value of 0.54 with 25% of the variation attributed to differences among the 3 groups and 28% attributed to differences among populations within groups ($P < .0001$). The clustering of populations according to age lava flows gave values of 11% of variation attributed to differences among groups and 40% due to among populations within groups (F_{ST} of 0.52). Thus the geographic separation better explained genetic variation than separation based on age of lava. Pairwise mismatch analysis (Figure 3) clearly shows a bimodal distribution of pairwise differences, which is expected when populations are geographically subdivided (Marjoram and Donnelly, 1994). Such clear bimodal data (with peaks clearly separated) further suggests that the initial population size was high and coupled with a probably low migration rate. This is also consistent with the geological history of São Tomé with constant lava flows through complex chains of valleys around the volcano

(Caldeira and Munhá, 2002). Further evidence that *M. maculilabris* in São Tomé is experiencing a population expansion is also suggested by the large value of F_S for the whole population (Fu, 1997) as well as the parameters of mismatch distribution obtained (Figure 3).

In conclusion all analysis show a degree of population substructuring within *Mabuya maculilabris*, that is consistent with the known geology of the island but that also shows strong geographic structuring. In this respect the results are similar to those obtained from reptiles from other geologically-complex islands such as Tenerife. However the level of variation within *M. maculilabris* is low compared to reptiles from Tenerife, which is surprising given that São Tomé is geologically older (15my vs. 11my for Tenerife). Variation is also very low given the age of the island within *Lacerta dugesii* from Madeira (Brehm *et al.*, 2003). However this latter result can be explained by the greater degree of geographical isolation of Madeira. Our results indicate that more studies are needed from more volcanic island archipelagos before comparative phylogeographic conclusions can be drawn.

3. Acknowledgments

This work was financed under contract POCTI/41906/BSE/2001 from Fundação para a Ciência e Tecnologia (Lisbon, Portugal). The authors are indebted to the Government of São Tomé e Príncipe for permissions to perform field work and AMI-Assistência Médica Internacional for local support. Thanks to the handling editor and two anonymous reviewers for their constructive comments on an earlier draft of this manuscript.

4. References

Bocage, J.V.B. 1903. Contribution a la faune des quatre îles du Golfe de Guinée. *Jornal de Sciencias Mathematicas Physicas e Naturais*, 2ª Série VII (25), 25-59.

Bocage, J.V.B. 1904-1905. Contribution a la faune des quatre îles du Golfe de Guinée. *Jornal de Sciencias Mathematicas Physicas e Naturais*, 2ª Série VII (26), 65-96.

Brehm, A., Jesus, J., Spínola, H., Alves, C., Vicente, L., Harris, D.J. 2003. Phylogeography of the Madeiran endemic lizard *Lacerta dugesii* inferred from mtDNA sequences. *Mol Phylogenet. Evol.* 26, 222-230.

- Caldeira, R., Munhá, J.M. 2002. Petrology of ultramafic nodules from São Tomé Island, Cameroon Volcanic Line (oceanic sector). *J. Afr. Earth Sci.* 34, 231-246.
- Carranza, S., Arnold, E.N., Mateo, J.A., López-Jurad, L.F. 2001. Parallel gigantism and complex colonization patterns in the Cape Verde scincid lizards *Mabuya* and *Macroscoincus* (Reptilia: Scincidae) revealed by mitochondrial DNA sequences. *Proc. R. Soc. Lond. B*: 268, 1595-1603.
- Clement, M., Posada, D., Crandall, K.A. 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Mol Ecol.* 9, 1657-1659.
- Crandall, K.A. 1996. Multiple interspecies transmissions of human and simian T-cell leukemia/lymphoma virus Type I sequences. *Mol. Biol. Evol.* 13, 115-131.
- Crandall, K.A., Templeton, A.R. 1993. Empirical tests of some predictions from coalescent theory with applications to intraspecific phylogeny reconstruction. *Genetics* 134, 959-69.
- Crandall, K.A., Templeton, A.R., Sing, C.F. 1994. Intraspecific phylogenetics, problems and solutions. In: *Phylogeny reconstruction* (eds. Scotland, R.W.L., Siebert, D.J., Williams, D.M., pp. 81-99. Oxford University Press, Oxford.
- Deruelle, B., Moreau, C., Nkoumbou, C., Kambou, R., Lissom, J., Njongfang, E., Ghogomu, R.T., Nono, A., 1991. The Cameroon Line: a review. In: Kampunzu AB and RT Lubala (eds.) *Magmatism in extensional structural settings*. Springer Verlag, Berlin, Germany: 274-327.
- Excoffier, L., Smouse, P., Quattro, J.M. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131, 479-491.
- Fu, Y.X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics* 147, 915-925.
- Greer, A.E. 1977. The systematics and evolutionary relationships of the scincid lizard genus *Lygosoma*. *J. Nat. Hist.* 11, 515-540.

- Greer, A. E., Arnold, C., Arnold, E.N. 2000. The systematic significance of the number of presacral vertebrae in the scincid lizard genus *Mabuya*. *Amphibia-Reptilia* 21, 121-126.
- Gubitz, T., Thorpe, R.S., Malhotra, A. 2000. Phylogeography and natural selection in the Tenerife gecko *Tarentola delalandii*: testing historical and adapting hypothesis. *Mol. Ecol.* 9, 1213-1221.
- Gubitz, T., Thorpe, R.S., Malhotra, A. 2005. The dynamics of genetic and morphological variation on volcanic islands. *Proc. R. Soc. Lond. B.* (in press).
- Jesus, J., Brehm, A., Harris, D.J. 2005a. Relationships of scincid lizards (*Mabuya* spp.) from the islands of the Gulf of Guinea based on mtDNA sequence data. *Amphibia-Reptilia* (in press).
- Jesus, J., Brehm, A., Harris, D.J. 2005b. Phylogenetic relationships of Hemidactylus geckos from the Gulf of Guinea islands: patterns of natural colonizations and anthropogenic introductions estimated from mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* 34, 480-485.
- Kocher, T.D., Thomas, W.K., Meyer, A., Edwards, S.V., Pääbo, S., Villablanca, F.X., Wilson, A.C. 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86, 6196-6200.
- Marjoram, P., Donnelly, P. J. 1994. Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in subdivided populations and implications for early human evolution. *Genetics* 136, 673-683.
- Munhá, J., Afonso, R., Caldeira, R., Mata, J. 2002. Estudo geológico preliminar da região nordeste da Ilha de S. Tomé (Folha nº 2, Ana Chaves). *Garcia de Horta (Lisboa)* 18, 1-8.
- Palumbi, S. R., Martin, A., Romano, S., McMillan, W. O., Stice, L., Grabowski, G. 1991. *The Simple Fool's Guide to PCR*. Kewalo Marine Laboratory and Univ. of Hawaii.
- Pestano, J., Brown, R.P. 1999. Geographical structuring of mtDNA in *Chalcides sexlineatus* within the island of Gran Canaria. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 266, 815-823.
- Posada, D., Crandall, K.A., Templeton, A.R. 2000. GeoDis: a program for the cladistic nested analysis of the geographical distribution of genetic haplotypes. *Mol. Ecol.* 9, 487-488.

Rogers, A.R., Harpending, I.I. 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Mol. Biol. Evol.* 9, 552-569.

Schneider, S., Kueffer J.-M., Roessli D., Excoffier L. 2000. Arlequin: a software for population genetics data analysis. Version 2.0, Genetics and Biometry Lab, Dept. of Anthropology, University of Geneva.

Simon C., Franke A., Martin, A. 1991. The polymerase chain reaction: DNA extraction and amplification Pp. 329–356 in G. M. Hewitt, A. W. B. Johnston, and J. P. W. Young, eds. *Molecular techniques in taxonomy*. NATO ASI series, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.

Slatkin, M., Hudson, R.R. 1991. Pairwise comparisons of mitochondrial sequences in stable and exponentially growing populations. *Genetics* 129, 555-562.

Templeton, A.R., Boerwinkle, E., Sing, C.F. 1987. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping. I. Basic theory and an analysis of alcohol dehydrogenase activity in *Drosophila*. *Genetics* 117, 343–351.

Templeton, A.R., Crandall, K.A., Sing, C.F. 1992. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. Cladogram estimation. *Genetics* 132, 619-33.

Templeton, A.R., Routman, E., Phillips, C.A. 1995. Separating population structure from population history: a cladistic analysis of the geographic distribution of mitochondrial DNA haplotypes in the Tiger Salamander, *Ambystoma tigrinum*. *Genetics* 140, 767–782.

Templeton, A. R., 2004. Statistical phylogeography: methods of evaluating and minimizing errors. *Mol. Ecol.* 13, 789-809.

Templeton, A.R., Sing, C.F. 1993. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping. IV. Nested analysis with cladogram uncertainty and recombination. *Genetics* 134, 659-669.

Thompson, J. D., Higgins, D.G., Gibson, T.J. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucl. Acids Res.* 22, 4673-4680.

Thorpe, R.S., McGregor, D.P., Cumming, A.M., Jordan, W.C., 1994. DNA evolution and colonization sequence of island lizards in relation to geological history- mtDNA RFLP, cytochrome-b, cytochrome-oxidase, 12S ribosomal-RNA sequences and nuclear RAPD analysis. *Evolution* 48, 230-240.

Table 1. Variable sites of the 12S rRNA, cytochrome b and 16S rRNA gene sequences, in 66 individuals of *Mabuya maculilabris* (indels were disregarded). Hpl is the haplotype number, numbers 1-12 are the sites of collection (see Figure 1). Following the haplotype is the number of individuals bearing the same sequence. Digits at the top of the Table indicate nucleotide positions relative to the beginning of sequences deposited in Genbank. Dots represent identical bases to the first haplotype.

Hpl	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	12222224	4444455556	6667777777	8888888999	9999999001	122222334
H1						1						1	CGAGTCCAC	CCAACCGCT	GTAGGATGC	ACCCCTATC	CGCCCTGCC	ACTGGGCC
H2											1		T..A.....	..A.....	..T.....	..TT.....	..TT.....	
H3											2		T..A.....	..A.....	..T.....	..TT.....	G.....	
H4											1		T..A.....	..G.....	..AA.....	..T.....	..TT.....	
H5											1		T..A.....	..C.....	..A.....	..T.....	..TT.....	
H6		6	1								1		T..A.....	..A.....	..T.....	..TT.....	..TT.....	
H7											1		T..A.....	..G.....	..A.....	..T.....	..TT.....	
H8											1		T..A.....	..A.....	..G.....	..T.....	..TT.....	
H9						2						C.....TGT.....	
H10						3						G.....	
H11											1		..A..T.....C.....	..A.....	G.....	..T.TGT.....	
H12						1							..A.....A.....	..T.....	A.....	
H13							1						..A.....	
H14			1										..A..T.....	T.G.TT..CC	A..A..CA..C.....	..T.....	
H15		1											T..A.....C.....	..A.....	..T.....	..TT.....	
H16		1											T..A.....	T.G.TT..CC	A..A..CA..C.....	..T.....	
H17											1	1	T..A.....C.....	..A.....	..T.....	..TT.....	
H18		2											..A..T.....	T.G.TT..CC	A..A..CA..C.....	..T.....	
H19		1											..A.....	T.G.TT..CC	A..A..CA..C.....	..T.....	
H20							1	1				A.....	
H21								2					..A.....TGT.....	
H22								1					T..A.....A.G.....TT.....	
H23		2											..A..T.....	T.G.TT..CC	A..A..CA..C.....	..T.....	
H24		2											..A..T.....	T.G.TT..CC	A..A..CAI..C.....	..T.....	
H25		1											..A..T.....	T.G.TT..CC	A.GA..CA..C.....	..T.....	
H26							1						
H27					1							G..G.....	
H28											1		T..A.....CA.....TT.....	
H29		1											..A..T.....	T.G.TT..CC	A..A..CA..C.....	..T.....	
H30											1		T..A.....	G.....A.....	..TTTGT.....	
H31											1		T..A.....CA.....TTTGT.....	
H32						1							T..A.....A.....TT.....	

H33		1								..G.A..T.. T.G.TT..CC A..A..CA.. ..T....C ..T.....
H34				1					
H35					1					T..A..... ..A..... ..T.F..... ..T.....
H36		1								T..A..T.. T.G.TT..CC A..A..CA.. ..T....C A.T.....
H37	1									T..A..... ..T.G.TT..CC A..A..CA.. ..T....C ..TTGG..
H38		1								...A..T.. T.G.TT..CC A..A..CA.. ..TC.C ..T....
H39							1		1	...A..T.. ..C ..A..... ..T....C ..T....TGE..
H40								1		T..A..... ..A..... ..T....T ..T....TGE..
H41			1							..T..C..... ..G..... ..T....T ..T....TGE..
H42						1				T..A..... ..A.C..... ..T....T ..T....TCT..A
H43						1				T..A..... ..A..... ..T....T ..TT.....A
H44						1				T..A.....T ..A..... ..T....T ..TT.....T
H45									1	...A..T.. ..C ..A..... ..T....AT.....
H46	1									...A..T.. T.G.TT..CC A..A..C... ..T....C ..T.....A
H47	1									...A..T.. T.G.TT..CC A..A.GCA.. ..T....C ..T.....A
H48	1									...A..T.. TTG.TT..CC A..A..CA.. ..T....C ..T.....A

Table 2. Interpretation of the results of Fig. 2 using the key of inference of Templeton (2004).

Clade	Chain of inference	Demographic event inferred
2-1	1-2-11-12-13-YES	Past fragmentation followed by range expansion
2-16*	1-19-20-2-11-17-NO	Inconclusive outcome
3-4**	1-19-20-2-3-4-9-NO	Allopatric fragmentation
4-1	1-2-3-5-6-7-8-NO	Unable to discriminate between isolation by distance and long distance movements
TC***	1-2-3-5-6-7-YES	Restricted gene flow / Dispersal but with some long distance dispersal

TC, Total Cladogram; * Permutational χ^2 statistic=11.0 (P<.005) ** χ^2 statistic=16.0 (P<.0001)

*** χ^2 statistic=33.79 (P<.005)

Figure 1. Sampling sites of *Mabuya maculilabris* specimens from the island of São Tomé, used in this study. Numbers are as follows: 1. Rolas Islet, 2. Porto Alegre, 3. Monte Mário, 4. Ponta Furada, 5. Santa Catarina, 6. Neves, 7. Ribeira Funda, 8. Lagoa Azul, 9. São Tomé, 10. São Nicolau, 11. Santana, 12. São João dos Angolares. The map show altitude contours. Shaded areas show the geography of lava flows from different ages (see text).



Figure 2. Maximum parsimony network of *Mabuya maculilabris* haplotypes (labelled as in Table 1) and nested clade design. Missing haplotypes are indicated by black circles. Haplotype 6 has the highest outgroup probability. The clades are identified using the two numbers system where the first refers to the nesting hierarchy and the second is an arbitrary individual clade identifier. Each line represents a single mutational step between two haplotypes. Oval shapes are not proportional to haplotype frequency. Two ambiguous connections linking H32 to the unknown haplotype from clade 1-5, and H21-H13 were removed following the procedures outlined by Templeton and Sing (1993).

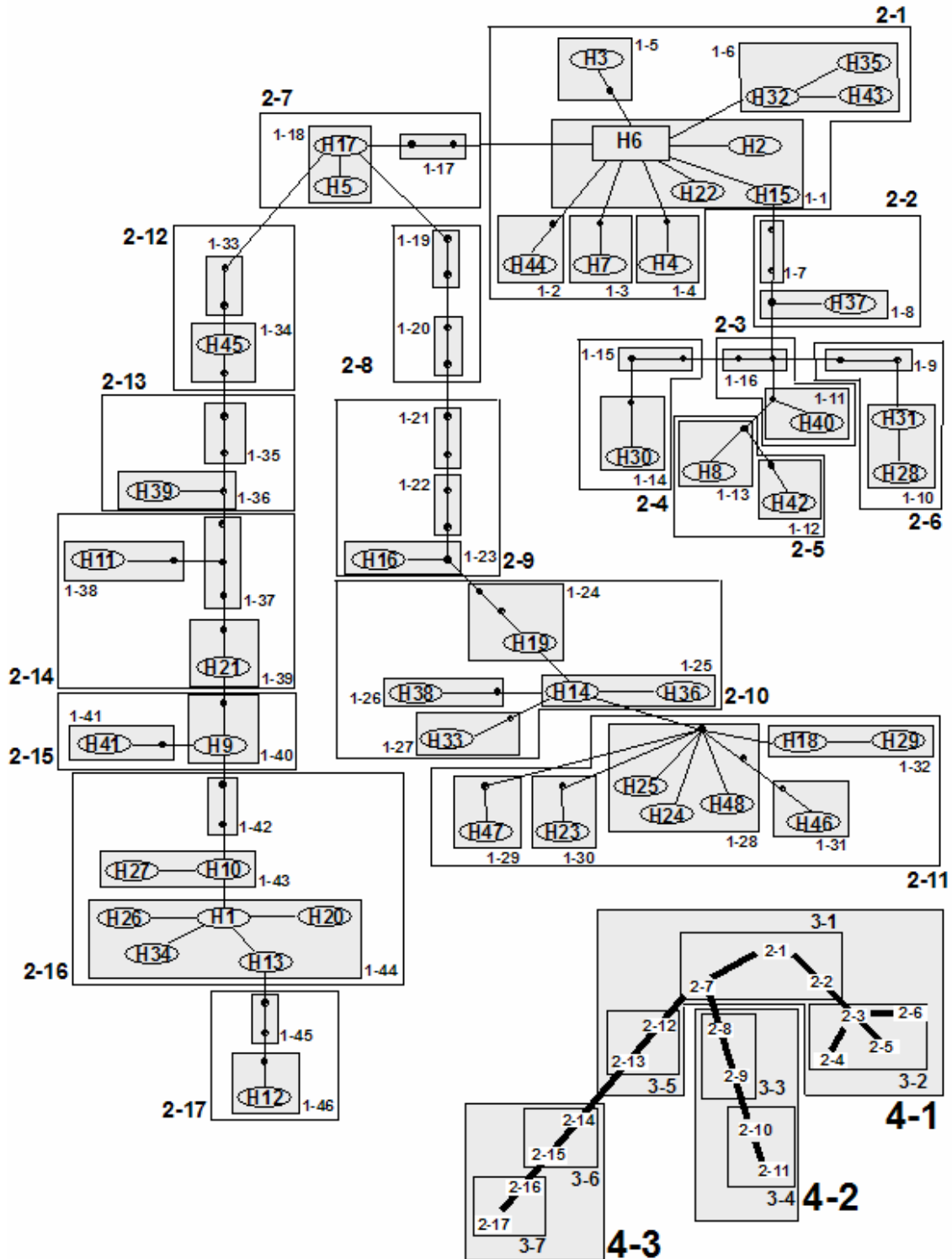
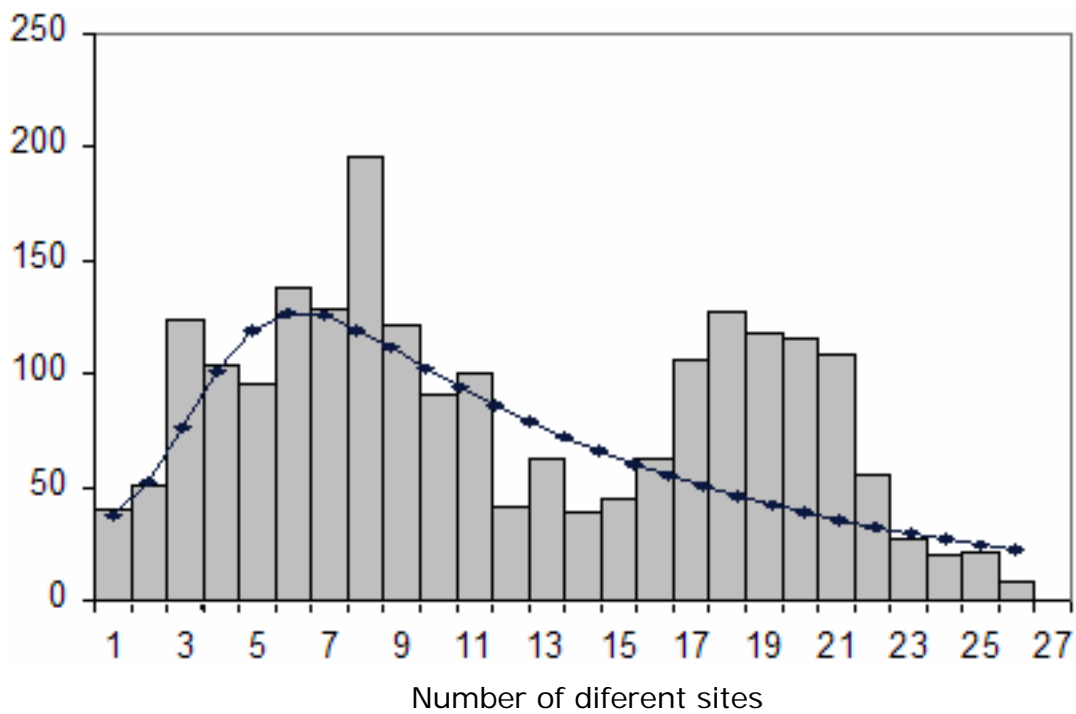


Figure 3. Mismatch distribution analysis of *Mabuya maculilabris* mtDNA haplotype sequences from São Tomé Island. A simulated Poisson distribution is indicated by a dotted line. The group fits a wave characteristic of an episode involving population growth, although the bimodal shape clearly indicates that population fragmentation is also involved. Fu's F_s test of selective neutrality yielded a value of $F_s = -24.457$, a $P_F < 0.0001$ (probability that simulated F_s under 1000 bootstraps is less or equal to the observed F_s), $\square = 3.841$, $\square_0 = 11.012$ and $\square_1 = 44.297$, and the Harpending's (1988) raggedness index, which measures the "smoothness" of the mismatch distribution is = 0.00462.

Number of comparisons



Relationships of scincid lizards (*Mabuya* spp.) from the islands of the Gulf of Guinea based on mtDNA sequence data

José Jesus¹, António Brehm¹, D.J. Harris²

Abstract. Relationships of *Mabuya* lizards from the islands of the Gulf of Guinea were estimated using partial 12S rRNA, 16S rRNA and cytochrome *b* mitochondrial gene sequences. *Mabuya maculilabris* from São Tomé and Príncipe are discrete monophyletic units, highly divergent from each other and from mainland populations, indicating *M. maculilabris* may be a species complex. *Mabuya affinis* from Príncipe is similarly distinct from mainland populations of this species. The relationships of *Mabuya ozorii* from Annobon are unclear, but the three species in the Gulf of Guinea islands are not closely related, indicating multiple independent colonization events. The recent proposal to partition *Mabuya* into four genera is premature, since at least five distinct genetic lineages can be identified.

Introduction

The genus *Mabuya* (sensu Greer 1977) is the only lizard genus with a circumtropical distribution. More than 100 species are known from Asia, Africa and the Neotropics (Greer et al., 2000). The genus is also widespread on islands, including the Seychelles, Comores, the Cape Verde islands, Fernando de Noronha, and the islands of the Gulf of Guinea. While colonisation patterns of the Cape Verde islands (Brehm et al., 2001; Carranza et al., 2001) and across the Atlantic (Carranza and Arnold, 2003; Mausfeld et al., 2002) have been well studied, little information is known regarding the species from the islands of the Gulf of Guinea, despite the fact that these islands are part of one of the worlds biodiversity hotspots (Myers et al., 2000).

The oldest island in the Gulf of Guinea, and the closest to Africa, is Bioko (figure 1). More geographically isolated are São Tomé and Príncipe (1001 km² combined) that include a number of small islets, and 160 km southwest of São Tomé, Annobon (17 km²). While São Tomé, Príncipe and Annobon have never been connected, Bioko (formerly Fernando Poo) was

connected to Africa during sea level fluctuations and thus has an essentially continental herpetofauna, including representatives of families such as Lacertidae and Chamaeleonidae that are not present on the other islands. Oldest geological dates for Príncipe, São Tomé and Annobon are 31 my, 14my and 4.8 my respectively (Lee et al., 1994). Three species have been reported from these islands — the endemic *Mabuya ozorii* from Annobon (Bocage, 1893) and two widespread species, *Mabuya maculilabris* from São Tomé and Príncipe, and *Mabuya affinis* on Príncipe. Our analysis of *Hemidactylus* geckos from these islands showed that, in this group, widespread species were anthropogenically introduced (Jesus et al., 2005). Our aim was to use mitochondrial DNA sequence data to determine the relationships of the species from the islands relative to the many published species (Carranza and Arnold, 2003; Carranza et al., 2001; Mausfeld et al., 2000, 2002). This should answer many questions regarding how the islands were colonised, and if the current taxonomy accurately reflects the evolutionary history of the species. At the same time we use the data to critically assess the recent proposal to partition the genus *Mabuya* into four genera (Mausfeld et al., 2002).

1 - Centro de Estudos da Macaronésia, University of Madeira, Penteada, 9000-390 Funchal, Portugal

2 - Centro de Investigação em Biodiversidade e Recursos Genéticos (CIBIO\UP), ICETA, Campus Agrário de Vairão, 4485-661 Vila do Conde, Portugal
e-mail: james@mail.icav.up.pt

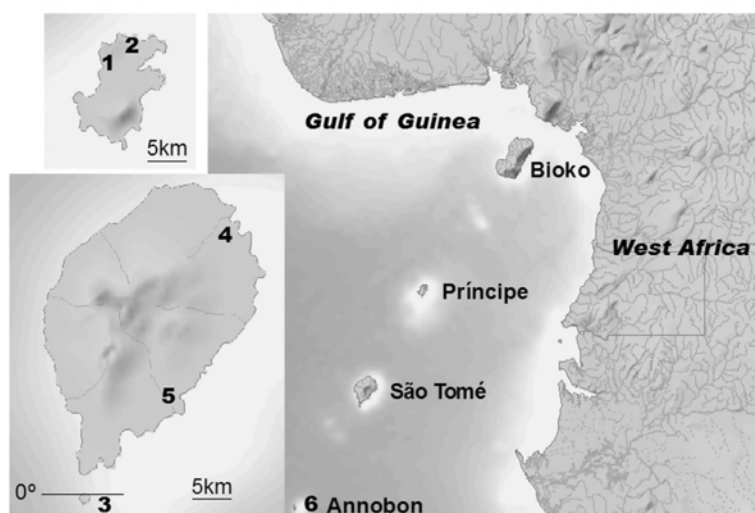


Figure 1. Map showing sampling localities of *Mabuya* sequenced in this study. Codes for samples are given in table 1.

Table 1. Specimens sequenced for this analysis with locality and voucher code.

Species	Locality	Island	Map locality and Code
<i>Mabuya affinis</i>	Montalegre	Príncipe	1 602
<i>Mabuya affinis</i>	Montalegre	Príncipe	1 603
<i>Mabuya affinis</i>	Terra Velha	Príncipe	2 635
<i>Mabuya maculilabris</i>	Rolas	São Tomé	3 502
<i>Mabuya maculilabris</i>	São Tomé	São Tomé	4 503
<i>Mabuya maculilabris</i>	S.J. Angolares	São Tomé	5 505
<i>Mabuya maculilabris</i>	Terra Velha	Príncipe	2 595
<i>Mabuya maculilabris</i>	Terra Velha	Príncipe	2 599
<i>Mabuya maculilabris</i>	Montalegre	Príncipe	1 749
<i>Mabuya ozorii</i>	Annobon	Annobon	6 623
<i>Mabuya ozorii</i>	Annobon	Annobon	6 625
<i>Mabuya ozorii</i>	Annobon	Annobon	6 627

Methods

Specimens were identified in the field from Príncipe, São Tomé and Annobon, and tail tips were collected (table 1). Voucher specimens are housed in the collection of the University of Madeira. Total genomic DNA was extracted from these small pieces of tail using standard methods, following Harris et al. (1998). Polymerase Chain Reaction primers used in both amplification and sequencing were 12Sa and 12Sb, 16SL and 16SH, and cytochrome *b1* and cytochrome *b3* from Kocher et al. (1989), Simon et al. (1990) and Palumbi et al. (1991). These were the most commonly sequenced regions in earlier studies, and were chosen so that this published data could be combined with

the new sequences. Amplified fragments were sequenced on a 310 Applied Biosystem DNA Sequencing Apparatus.

Mitochondrial DNA sequences were aligned using Clustal W (Thompson et al., 1994). Previously published sequences of *Mabuya* included all species available for all three genes were included in the analysis, with three out-group species, *Amphiglossus igneocaudatus*, *Pamelaescincus gardineri* and *Tiliqua gigas*. A total of 40 taxa were analysed. Aligned sequences for 12S, 16S and cytochrome *b* were 355, 519 and 400 base pairs long (1274 in total), although several of the sequences from GenBank were slightly shorter than the others. Thirty-three base pairs of 16S rRNA sequence were excluded due to ambiguous align-

ment. The alignment is available on request from the corresponding author.

The data were imported into PAUP* 4.0b10 (Swofford, 2002) for phylogenetic analysis. For the phylogenetic analysis of the mtDNA data we used maximum likelihood (ML), maximum parsimony (MP) and Bayesian inference. We followed the approach outlined by Huelsenbeck and Crandall (1997) to test 56 alternative models of evolution, employing PAUP* 4.0b10 and Modeltest (Posada and Crandall, 1998). Once a model of evolution was chosen, it was used to estimate a tree using ML, and support for nodes estimated by bootstrapping with 500 replicates (Felsenstein, 1985) using the "fast" option. A MP analysis was carried out (100 replicate heuristic search, TBR branch-swapping) with gaps treated as missing data, and support for nodes estimated by bootstrapping with 1000 replicates. The Bayesian analysis was implemented using MrBayes (Huelsenbeck and Ronquist, 2001). Bayesian analyses were conducted with random starting trees, run 0.5×10^6 generations, and sampled every 1000 generations using a general-time-reversible model of evolution with a gamma model of among site rate variation. In both searches stationarity of the Markov Chain was determined as the point when sampled log likelihood values plotted against generation time reached a stable mean equilibrium value; "burn-in" data sampled from generations preceding this point were discarded. All data collected at stationarity were used to estimate posterior nodal probabilities and a summary phylogeny. Two independent replicates were conducted and inspected for consistency to check for local optima (Huelsenbeck and Bollback, 2001).

Results and discussion

Including outgroups, 40 combined mtDNA sequences were analyzed. We concluded that the GTR model (with a gamma distributed rate heterogeneity model (4 rate categories, $G = 0.698$) and an estimated proportion of invariable sites (0.53) was the most appropriate model of evolution for these data. A ten replicate heuristic search incorporating this model found one tree of $-\ln 10671$. Maximum parsimony analysis of 392 informative characters found 8 trees of 2205 steps, the 50% bootstrap consensus of which was identical to the ML analysis, but less well resolved (fig. 2). The estimate of phylogeny obtained using Bayesian analyses was similar to the ML tree, although with much higher levels of support (fig. 2).

Genetic variation within Mabuya maculilabris

Mabuya maculilabris as presently accepted has a huge range across sub-saharan Africa, includ-

ing islands off both the East and West coasts. Our analysis suggests extremely high genetic divergence between populations from São Tomé and Príncipe — 10.8% based on cytochrome *b* sequences, which is in the range typically found between species (Harris 2002). Several more sequences were available from GenBank for the 12S gene region of *Mabuya maculilabris*. Therefore we also produced an estimate of relationships within this species based only on 12S sequences (fig. 3). Again, using these sequences genetic diversity is very high — up to 8.5%. Five distinct groups are supported; samples from Cameroon, from São Tomé, from Príncipe, *M. m. casuarine* from Mozambique with *M. comorensis*, and *T. m. maculilabris* from Mozambique. Given that *M. comorensis* clusters within *M. maculilabris*, and given the high genetic distances observed *M. maculilabris* should be considered a species complex. However greater sampling across the range will be needed to delimit the different genetic groups within this complex.

Genetic variation within Mabuya affinis

Mabuya affinis is widespread in West Africa, from Angola to Senegal. The specimens from Príncipe show a relatively high degree of differentiation from the single sample included from GenBank, from Guinea-Bissau (15%). Again further investigations will be needed to determine if this is also a species complex.

Genetic affinities of Mabuya ozorii

Mabuya ozorii is a poorly-studied species endemic to the tiny island of Annobon. Our analysis suggests that it is unrelated to the other species on the islands of the Gulf of Guinea, and thus probably colonised Annobon directly from the Continent, rather than "island-hopping" via São Tomé and Príncipe. The degree of divergence from the closest other species sampled is very high (10.8% for cytochrome *b*), especially given that Annobon is only 4.8 million years old. This confirms the distinctive-

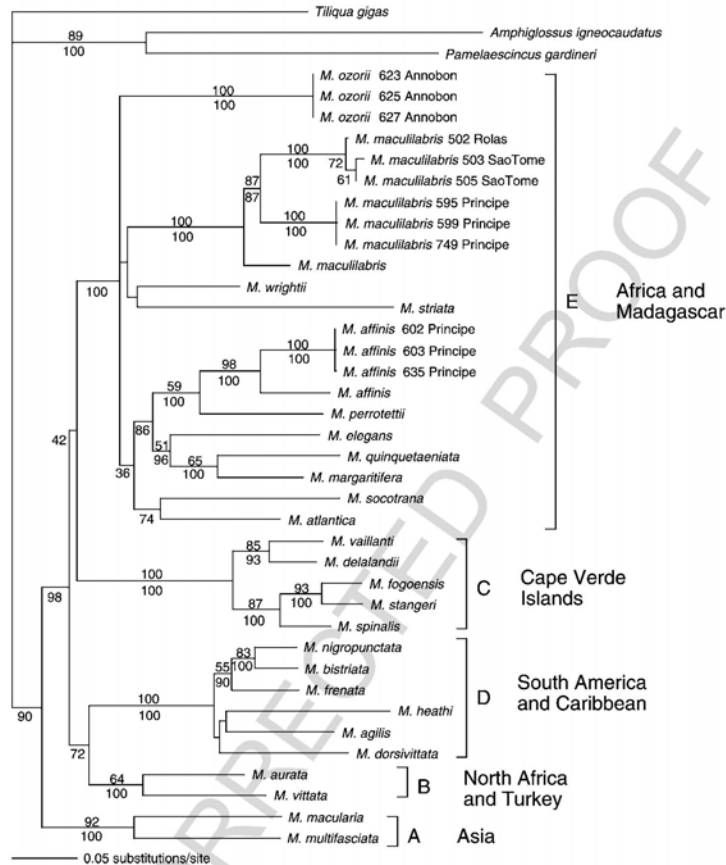


Figure 2. Single tree derived from a ML analysis using the model described in the text. All analyses produced similar estimates of relationships to the one shown. Posterior node probabilities from the Bayesian analyses are indicated below nodes and bootstrap values for MP are given above nodes.

ness of *M. ozorii*, and indicates Annobon may have been colonized soon after its emergence. As expected, *M. ozorii* belongs to the African-Malagasy group of *Mabuya*.

Phylogenetic divisions within *Mabuya*

Five major lineages within *Mabuya* that have some biogeographical coherency can be ascertained using our data. The species from tropical

Asia, *Mabuya macularia* and *Mabuya multifasciata* are sister taxa to the remaining *Mabuya* and are well supported as a clade (clade A, fig. 2). The other major groups are species from North Africa and Turkey (clade B), those from the Cape Verde islands (C), South America and the Caribbean (D), and Africa and Madagascar (E). Bootstrap support for these groups varies from quite weak (clade E) to strong (clades C and D — 100%), although all clades have high

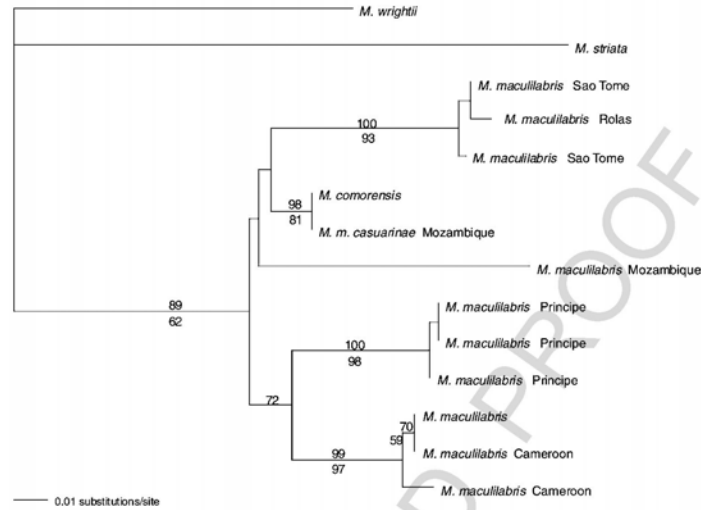


Figure 3. Single tree derived from a ML analysis based only on 12S rRNA sequences, following the same procedure used in fig. 2. *Mabuya wrightii* and *M. striata* were used to root the tree, following fig. 2. Bootstrap values for MP and ML are given above and below the nodes respectively.

Bayesian posterior node probabilities. Relationships between clades B-E are all weakly supported. The same major clades were found by Carranza and Arnold (2003), although the estimate of relationships between clades B-E differed in this study. Similarly Mausfeld et al. (2002) recovered four of these clades, the fifth (B) not having been sampled. They also obtained different estimates of relationships between the major clades. Our sampling overall is too limited to draw many conclusions concerning relationships within these clades. However, for the species from the Cape Verde islands we recover the same estimate of relationships as previous studies with more extensive sampling (Brehm et al., 2001; Carranza et al., 2001).

Taxonomic revision of *Mabuya*

Mausfeld et al. (2002), on the basis of sampling 21 species (circa 20% of known *Mabuya*) recommended a taxonomic partitioning of *Mabuya* into four new genera, *Eutropis*, *Chioninia*, *Mabuya* and *Euprepis* for clades A, C, D and

E respectively. Bauer (2003) has since reported that *Euprepis* is a junior synonym of *Mabuya*, and that *Trachylepis* is the appropriate name for the African-Malagasy group (Clade E). Our data indicates that this original separation was premature, since species from North Africa and Turkey clearly do not belong to any of the four new genera. Furthermore, bootstrap support that these groups are monophyletic has decreased with increased species sampling. Thus these clades may well need to be split further when more species are added. We suggest taxonomic instability can be avoided by referring to these clades as subgenera, pending further studies. Clade B would then need to be formally described as an additional subgenus. Use of subgenera to avoid taxonomic instability has been suggested before (Arnold, 2000; Harris and Carretero, 2003). It has also been criticised, as genera are considered "simply as operational units and is contra productive to modern efforts for a new less arbitrary generic concept" (Böhme and Köhler in press). However, Mausfeld et al.

(2002) recommend splitting *Mabuya* based on high genetic distances found between groups. This is equally arbitrary since the genetic distance chosen as a cut-off point at which new taxonomic units are named has nothing to do with biological reality. More important is the need for extensive sampling before taxonomic changes are made. Since *Mabuya* is probably paraphyletic (Honda et al., 1999) taxonomic changes are needed. However, with a high degree of uncertainty regarding taxonomic relationships, and with few species sequenced, we suggest further work is required before these changes are made.

Conclusions

Four genetically distinct entities of *Mabuya* are reported from the islands of the Gulf of Guinea — *Mabuya ozorii* from Annobon, *M. maculilabris* from São Tomé, *M. maculilabris* from Príncipe and *M. affinis* from Príncipe. *Mabuya maulilabris* appears to be a species complex. Since none of these four entities are sister taxa, each is the product of a separate colonization event. Thus while *Mabuya* colonised the Cape Verde islands only once (Brehm et al., 2001; Carranza et al., 2001), the islands of the Gulf of Guinea were colonized at least four times. The recently proposed taxonomic split of *Mabuya* into four genera is inappropriate, since at least five deep genetic lineages exist.

Acknowledgements. This project was supported by grants from Fundação para a Ciência e Tecnologia POCTI/41906/BSE/2001 and SFRH/BPD/5702/2001. Fieldwork was also supported by the Instituto Gulbenkian de Ciência (to DJH).

References

- Arnold, E.N. (2000): The gender of *Podarcis* and the virtues of stability, a reply to W. Böhme. *Bonn. Zool. Beitr.* **49**: 56-58.
- Bauer, A.M. (2003): On the identity of *Lacerta punctata* Linnaeus 1758, the type species of the genus *Euprepis* Wagler 1830, and the generic assignment of Afro-Malagasy skinks. *Afr. J. Herp.* **52**: 1-7.
- Bocage, J.V.B. (1893): Diagnoses de deux nouveaux reptiles de l'île de Anno-Bom. *Jornal de Sciencias Mathematicas Physicas e Naturais 2ª Série.* **III**(9): 47-48.
- Böhme, W., Köhler, J. (in press): Do endings of adjective flectible species names affect stability? A final note on the gender of *Podarcis* Wagler, 1830 (Reptilia, Lacertidae). *Bonn. zool. Beitr.*
- Brehm, A., Jesus, J., Pinheiro, M., Harris, D.J. (2001): Relationships of scincid lizards (*Mabuya* spp: Reptilia: Scincidae) from the Cape Verde islands based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* **19**: 311-316.
- Carranza, S., Arnold, E.N. (2003): Investigating the origin of transoceanic distributions: mtDNA shows *Mabuya* lizards (Reptilia: Scincidae) crossed the Atlantic twice. *Systematics and Biodiversity* **1**: 275-282.
- Carranza, S., Arnold, E.N., Mateo, J.A., López-Jurado, L.F. (2001): Parallel gigantism and complex colonization patterns in the Cape Verde scincid lizards *Mabuya* and *Macrosincus* (Reptilia: Scincidae) revealed by mitochondrial DNA sequences. *Proc. R. Soc. Lond. B* **268**: 1595-1603.
- Felsenstein, J. (1985): Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* **39**: 783-791.
- Greer, A.E. (1977): The systematics and evolutionary relationships of the scincid lizard genus *Lygosoma*. *J. Nat. Hist.* **11**: 515-540.
- Greer, A.E., Arnold, C., Arnold, E.N. (2000): The systematic significance of the number of presacral vertebrae in the scincid lizard genus *Mabuya*. *Amphibia-Reptilia* **21**: 121-126.
- Harris, D.J. (2002): Reassessment of comparative genetic distance in reptiles from the mitochondrial cytochrome *b* gene. *Herp. J.* **12**: 85-86.
- Harris, D.J., Carretero, M.A. (2003): Comments on the taxonomic value of (sub)genera within the family Lacertidae (Reptilia). *Amphibia-Reptilia* **24**: 119-122.
- Harris, D.J., Arnold, E.N., Thomas R.H. (1998): Relationships of the lacertid lizards (Reptilia: Lacertidae) estimated from mitochondrial DNA sequences and morphology. *Proc. R. Soc. Lond. B* **265**: 1939-1948.
- Honda, M., Ota, H., Kobayahi, M., Nabhitabhata, J., Yong, H.-S., Hikida, T. (1999): Evolution of Asian and African lygosomine skinks of the *Mabuya* group (Reptilia: Scincidae): A molecular perspective. *Zool. Sci.* **16**: 979-984.
- Huelsenback, J.P., Bollback, J.P. (2001): Empirical and hierarchical Bayesian estimation of ancestral states. *Syst. Biol.* **50**: 351-366.
- Huelsenbeck, J.P., Crandall, K.A. (1997): Phylogeny estimation and hypothesis testing using maximum likelihood. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* **28**: 437-466.
- Huelsenback, J.P., Ronquist, F. (2001): MR-BAYES: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics* **17**: 754-755.
- Jesus, J., Brehm, A., Harris, D.J. (2003): The herpetofauna of Annobon island, Gulf of Guinea, West Africa. *Br. Herp. Soc. Bulletin* **86**: 20-22.
- Jesus, J., Brehm, A., Harris, D.J. (2005): Phylogenetic relationships of *Hemidactylus* geckos from the Gulf of

- Guinea islands: patterns of natural colonizations and anthropogenic introductions estimated from mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* in press.
- Kocher, T.D., Thomas, W.K., Meyer, A., Edwards, S.V., Pääbo, S., Villablanca, F.X., Wilson, A.C. (1989): Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **86**: 6196-6200.
- Lee, D.C., Halliday, A., Fitton, J., Poli, G. (1994): Isotopic variations with distances and time in the volcanic islands of the Cameroon line: evidence for a mantle plume origin. *Earth Planet Sci. Lett.* **123**: 119-138.
- Mausfeld, P., Vences, M., Schmitz, A., Veith, M. (2000): First data on the molecular phylogeography of the scincid lizards of the genus *Mabuya*. *Mol. Phylogenet. Evol.* **17**: 11-14.
- Mausfeld, P., Schmitz, A., Böhme, W., Misof, B., Vrcibradic, D., Rocha, C.F.D. (2002): Phylogenetic affinities of *Mabuya atlantica* Schmidt, 1945, endemic to the Atlantic Ocean archipelago of Fernando de Noronha (Brazil): Necessity of partitioning the genus *Mabuya* Fitzinger, 1826 (Scincidae: Lygosominae). *Zool. Anz.* **241**: 281-293.
- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., da Fonseca, G.A.B., Kent, J. (2000): Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* **403**: 853-858.
- Palumbi, S., Martin, A., Romano, S., McMillan, W., Stick, L., Grabowski, G. (1991): The single tools guide to PCR. Version 2, Honolulu, Hawaii.
- Posada, D., Crandall, K.A. (1998): Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* **14**: 817-818.
- Simon, C., Franke, A., Martin, A. (1990): The polymerase chain reaction: DNA extraction and amplification. In: *Molecular techniques in taxonomy*. NATO ASI Series, Vol. H57, pp. 329-357. Hewitt, G., Johnston, A., Young, Y., Eds, Springer Verlag, Berlin.
- Swofford, D.L. (2002): PAUP*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (and other methods) 4.0.b10. Sunderland, Massachusetts, USA, Sinauer Associates.
- Thompson, J.D., Higgins, D.G., Gibson, T.J. (1994): Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucl. Acid. Res.* **22**: 4673-4680.

Received: September 1, 2004. Accepted: October 20, 2004.

UNCORRECTED



Phylogenetic relationships of *Hemidactylus* geckos from the Gulf of Guinea islands: patterns of natural colonizations and anthropogenic introductions estimated from mitochondrial and nuclear DNA sequences

José Jesus^a, Antonio Brehm^a, D. James Harris^{b,*}

^a Centre of Macaronesian Studies, University of Madeira, Penteada 9000 Funchal, Portugal

^b Centro de Investigação em Biodiversidade e Recursos Genéticos (CIBICRUP), ICETA, Campus Agrário de Vairão, 4485-651 Vila do Conde, Portugal

Received 26 February 2004; revised 16 September 2004

Available online 1 January 2005

Abstract

Mitochondrial DNA (12S rRNA, 16S rRNA, and cytochrome *b*) sequences and nuclear sequences (*C-mos* and α -Enolase) were analyzed within all known *Hemidactylus* species from all three volcanic islands in the Gulf of Guinea that have never been connected to the continent. These comprise both endemic and widespread species. Our aim was to determine if the widespread species was introduced anthropogenically, to determine the number of distinct genetic lineages within the islands, and to determine if the endemic forms constituted a monophyletic group. Our results suggest that a previously undescribed species on São Tomé is the sister taxon to *Hemidactylus newtoni*, endemic to Annobon. Genetic variation between populations of *Hemidactylus greeffii* from São Tomé and Príncipe is very high based on mtDNA sequences, but the forms cannot be distinguished using the nuclear DNA sequences. *Hemidactylus mabouia* appears to have been anthropogenically introduced to all three islands. The island endemics do not form a monophyletic group, suggesting multiple independent colonizations of the islands.

© 2004 Elsevier Inc. All rights reserved.

Keywords: 12S rRNA; 16S rRNA; *C-mos*; Enolase; *Hemidactylus*; São Tomé; Príncipe; Annobon

1. Introduction

The forests of West Africa, including the islands of the Gulf of Guinea (Fig. 1) comprise one of the world's biodiversity hotspots (Myers et al., 2000). The volcanic chain was formed during the middle to late Tertiary. Bioko (formerly Fernando Po) is the largest and closest to Africa, only about 32 km from Cameroon. Smaller and more geographically isolated are São Tomé and Príncipe (1001 km² combined), that include a number of

small islets, and 160 km southwest of São Tomé, Annobon (17 km²). While Bioko was connected to the continent during sea-level fluctuations in the last glacial periods, the other islands have never been connected and are separated by deep-sea trenches. Thus while the herpetofauna of Bioko is essentially continental in nature, the remaining islands harbor far fewer species but far more endemics. Oldest geological dates for Príncipe, São Tomé, and Annobon are 31, 14, and 4.8 my, respectively (Lee et al., 1994).

Although many phylogenetic studies have been performed on the herpetofauna of the more northern Atlantic volcanic islands, such as the Cape Verdes (Carranza et al., 2001; Jesus et al., 2001, 2002a), Canary

* Corresponding author. Fax: +351 252 661 780.

E-mail address: james@mail.icav.up.pt (D.J. Harris).

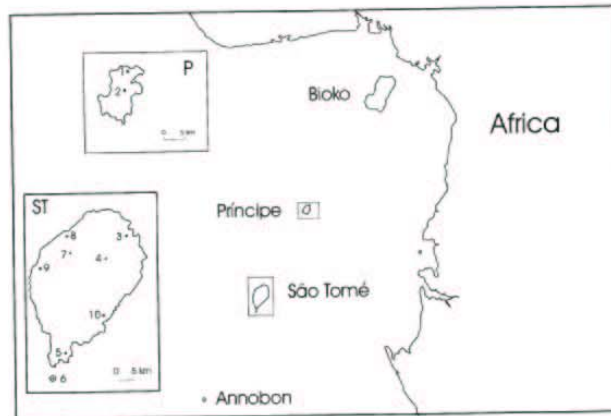


Fig. 1. Map showing the sampling localities of *Hemidactylus* from the Gulf of Guinea. The Cape Verde islands are also located off the West Coast of Africa, but over 2000 km to the North. Localities of *H. bowleri* and *H. brooki*, for which 12S rRNA sequences were already published but additional sequences were generated, are given in Jesus et al. (2001).

Islands (Carranza et al., 2000; Thrope et al., 1994), and Madeiran archipelago (Brehm et al., 2003), very little is known about the herpetofauna of the islands of the Gulf of Guinea. This is especially true of the geckos *Hemidactylus*, a genus of over 80 morphologically similar species found across Africa, Asia, and South America. Often commensal, they have been repeatedly translocated by humans, as shown by the recent report of an introduced population of *Hemidactylus mabouta* on Madeira (Jesus et al., 2002b). An extensive revision of *Hemidactylus* from Madagascar and the Indian Ocean islands indicated a complex pattern of anthropogenic introductions and natural colonizations (Vences et al., 2004). These introductions have serious conservation implications—in the Mascarene islands *Nactus* geckos have possibly been eliminated from some islands by introduced *Hemidactylus frenatus* (Arnold, 2000). However, no broad-scale phylogeny for *Hemidactylus* is available. In this paper, we attempt to unravel relationships of *Hemidactylus* from the Gulf of Guinea islands, including both endemic (*Hemidactylus newtoni* and *Hemidactylus greeffii*) and the widespread species (*H. mabouta*). Using both mitochondrial and nuclear DNA sequences we aim to (a) distinguish natural island colonizations from recent anthropogenic introductions, (b) determine the number of genetically distinct lineages on the islands, and (c) determine the relationship of all known island species to other *Hemidactylus* species.

2. Materials and methods

The number and geographic locations of the specimens used in this study are given in Table 1 and Fig. 1.

Total genomic DNA was extracted from small pieces of tail using standard methods (Sambrook et al., 1989). Primers used in both amplification and sequencing of mitochondrial DNA were 16SL and 16SH, 12Sa and 12Sb, and cytochrome *b1* and 3 from Kocher et al. (1989). Amplification conditions were the same as described by Harris et al. (1998). Primers used to amplify a fragment of the nuclear gene *C-mos* were G73 and G74, and were used following the conditions given in Saint et al. (1998). *C-mos* sequences have been widely used to infer relationships at many levels within geckos (e.g. Austin et al., 2004; Carranza et al., 2002; Harris et al., 2004a,b). α -Enolase is an enzyme involved in glycolysis. The primers used (Enol L731 and H912; Friesen et al., 1997) amplify intron eight, and small parts of exons eight and nine. In a recent study this region was more variable than *C-mos* within skinks, and within a single genus, *Scelotes* (Whiting et al., 2003). Amplified fragments were sequenced on a 310 Applied Biosystem DNA Sequencing Apparatus. Sequences were aligned using Clustal W (Thompson et al., 1994). Two loop regions of the 16S rRNA fragment (totaling 53 bp) could not be unambiguously aligned, and were excluded from further analyses. Initially we sequenced all 53 *Hemidactylus* samples from the Gulf of Guinea for the fragment of 12S rRNA and compared this to eight published sequences—*H. frenatus* (Whiting et al., 2003), *H. mabouta* from Madeira (Jesus et al., 2002b) and the Cape Verdes (Jesus et al., 2001), *H. brooki* from Guinea and the Cape Verdes (Jesus et al., 2001), and three *H. bowleri* from the Cape Verdes (Jesus et al., 2001). All *H. mabouta* were identical for this marker. To confirm that the *H. mabouta* showed very low genetic variation we sequenced three individuals from each island for 700 bp of the faster evolving gene cytochrome *b*. We then

Table 1
Specimens used in this study

Species	Locality	Code
<i>Hemidactylus mabouia</i>	São Nicolau—ST4	726
<i>Hemidactylus mabouia</i>	São Nicolau—ST4	554
<i>Hemidactylus mabouia</i>	São Nicolau—ST4	555
<i>Hemidactylus mabouia</i>	São Nicolau—ST4	556
<i>Hemidactylus mabouia</i>	São Nicolau—ST4	728
<i>Hemidactylus mabouia</i>	São Nicolau—ST4	732
<i>Hemidactylus mabouia</i>	São Nicolau—ST4	737
<i>Hemidactylus mabouia</i>	São Nicolau—ST4	739
<i>Hemidactylus mabouia</i>	São Nicolau—ST4	740
<i>Hemidactylus mabouia</i>	São Nicolau—ST4	741
<i>Hemidactylus mabouia</i>	São Nicolau—ST4	742
<i>Hemidactylus mabouia</i>	São Nicolau—ST4	743
<i>Hemidactylus mabouia</i>	São Nicolau—ST4	744
<i>Hemidactylus mabouia</i>	São Nicolau—ST4	745
<i>Hemidactylus mabouia</i>	São Nicolau—ST4	746
<i>Hemidactylus mabouia</i>	São Nicolau—ST4	748
<i>Hemidactylus mabouia</i>	Santa Catarina—ST9	747
<i>Hemidactylus mabouia</i>	Monte Mário—ST5	533
<i>Hemidactylus mabouia</i>	Monte Mário—ST5	534
<i>Hemidactylus mabouia</i>	Monte Mário—ST5	735
<i>Hemidactylus mabouia</i>	Neves—ST8	549
<i>Hemidactylus mabouia</i>	Neves—ST8	550
<i>Hemidactylus mabouia</i>	Neves—ST8	551
<i>Hemidactylus mabouia</i>	Neves—ST8	544
<i>Hemidactylus mabouia</i>	Neves—ST8	545
<i>Hemidactylus mabouia</i>	Cavalete—ST10	709
<i>Hemidactylus mabouia</i>	Cavalete—ST10	773
<i>Hemidactylus mabouia</i>	São Tomé—ST3	723
<i>Hemidactylus mabouia</i>	São Tomé—ST3	730
<i>Hemidactylus mabouia</i>	Ilhéu das Rolas—ST6	557
<i>Hemidactylus mabouia</i>	Ilhéu das Rolas—ST6	558
<i>Hemidactylus mabouia</i>	Ponta do Sol—P1	753
<i>Hemidactylus mabouia</i>	Ponta do Sol—P1	754
<i>Hemidactylus mabouia</i>	Ponta do Sol—P1	755
<i>Hemidactylus mabouia</i>	Annobon	668
<i>Hemidactylus mabouia</i>	Annobon	669
<i>Hemidactylus mabouia</i>	Annobon	670
<i>Hemidactylus newtoni</i>	Annobon	667
<i>Undescribed species</i>	São Nicolau—ST4	722
<i>Hemidactylus greeffii</i>	Vale do Contador—ST7	569
<i>Hemidactylus greeffii</i>	Vale do Contador—ST7	571
<i>Hemidactylus greeffii</i>	Nova Estrela—P2	590
<i>Hemidactylus greeffii</i>	Nova Estrela—P2	591
<i>Hemidactylus greeffii</i>	Nova Estrela—P2	597
<i>Hemidactylus greeffii</i>	Nova Estrela—P2	598
<i>Hemidactylus greeffii</i>	Nova Estrela—P2	701
<i>Hemidactylus greeffii</i>	Nova Estrela—P2	702
<i>Hemidactylus greeffii</i>	Nova Estrela—P2	703
<i>Hemidactylus greeffii</i>	Nova Estrela—P2	704
<i>Hemidactylus mabouia</i>	Nova Estrela—P2	705
<i>Hemidactylus greeffii</i>	Nova Estrela—P2	706
<i>Hemidactylus greeffii</i>	Nova Estrela—P2	717
<i>Hemidactylus greeffii</i>	Nova Estrela—P2	718
<i>Hemidactylus bowieri</i>	Boavista—Sal Rei— Cabo Verde Islands	CV125
<i>Hemidactylus bowieri</i>	Boavista—Sal Rei— Cabo Verde Islands	CV38
<i>Hemidactylus bowieri</i>	Sal—Cabo Verde	
<i>Hemidactylus brookii</i>	Bissau—Guiné	782
<i>Hemidactylus brookii</i>	Santo Antão— Cabo Verde	HB38

Localities refer to Fig. 1. Codes refer to voucher specimens and to Fig. 2.

sequenced all the endemic *Hemidactylus* species, five individuals from two outgroup species (*H. brookii* and *H. bowieri*) and at least three *H. mabouia* from each of the islands for a 500 bp fragment of the 16S rRNA. We used these combined 12S rRNA and 16S rRNA sequences for 37 taxa for our phylogenetic analyses. *C-mos* sequences were collected from specimens from all of the genetically distinct mtDNA lineages, five outgroups (two *H. brookii* and three *H. bowieri*), and aligned against a published sequence of *H. frenatus* (Whiting et al., 2003). In total 20 sequences of 338 bp were included in the analyses. Since the intron of α -Enolase has been shown to evolve faster than *C-mos* in many reptiles (Whiting et al., 2003) we also sequenced nine *H. greeffii* and seven *H. mabouia* for this marker. We failed to amplify *H. newtoni*.

Mitochondrial DNA sequences were imported into PAUP* 4.0b10 (Swofford, 2003) for phylogenetic analysis. For the phylogenetic analysis of the combined data, we used maximum likelihood (ML), maximum parsimony (MP), and Bayesian inference. When estimating phylogenetic relationships among sequences, one assumes a model of evolution. We used the approach outlined by Huelsenbeck and Crandall, 1997 to test 56 alternative models of evolution, employing PAUP* 4.0b10 and Modeltest (Posada and Crandall (1998) described in detail in Posada and Crandall (2001)). Once a model of evolution was chosen, it was used to estimate a tree using ML (Felsenstein, 1981) with random sequence addition (10 replicate heuristic search). The MP analysis was also performed with random sequence addition (100 replicate heuristic search), and support for nodes was estimated using the nonparametric bootstrap technique (Felsenstein, 1985) with 1000 replicates. The Bayesian analysis was implemented using MrBayes (Huelsenbeck and Ronquist, 2001), which calculates Bayesian posterior probabilities using a Metropolis-coupled, Markov chain Monte Carlo (MC-MCMC) sampling approach. Bayesian analyses were conducted with random starting trees, run 0.5×10^6 generations, and sampled every 100 generations using a general-time-reversible model of evolution with a gamma model of among-site rate variation. In both searches, stationarity of the Markov chain was determined as the point when sampled ln-likelihood values plotted against generation time reached a stable mean equilibrium value; "burn-in" data sampled from generations preceding this point were discarded. All data collected at stationarity were used to estimate posterior nodal probabilities and a summary phylogeny. Two independent replicates were conducted and inspected for consistency to check for local optima (Huelsenbeck and Bollback, 2001). New sequences from *C-mos* were aligned against *H. frenatus*. There were no indels. Because variation is low, the sequences were joined in a median network (Bandelt et al., 2000). Similarly for the sequences of α -Enolase, variation was low

within *Hemidactylus*, so sequences were joined in a network. A single base pair insertion was needed to align the sequences.

3. Results

For the combined 12S rRNA and 16S rRNA gene fragments, 37 taxa were included for a total of 930 base pairs; ML, MP, and Bayesian analyses gave identical estimates of relationships (Fig. 2). *H. frenatus* was used to root the trees. The most appropriate model for the combined data was the GTR model with an estimate of invariable sites (0.50) and a discreet approximation of the gamma distribution (0.70). The ML heuristic search using this model found a single tree of $-\ln 3151$. Bayesian analysis produced an identical estimate of relationships. For MP 201 characters were informative, and the MP search found one tree of 434 steps (Fig. 2). In all analyses five clades, all with 100% Bayesian support, can be identified. The species *H. bouvieri*, *H. brooki*, and *H. mabouia* are all monophyletic units. *H. bouvieri* shows differentiation between samples from the two Cape Verde islands,

Sal and Boavista. *H. greeffii* is monophyletic, and specimens from São Tomé and Príncipe are also reciprocally monophyletic. These two islands show a considerable degree of genetic distinctiveness, with an average of 3.3% genetic divergence between them. The single sample of *H. newtoni* from Annobon is very distinct from any other samples, but it is clearly the sister taxon of an individual from an undescribed form from São Tomé. This form was noticeably darker and more robust than other specimens from São Tomé (unpublished data), but unfortunately it was the only sample of this kind that we collected. In all analyses *H. greeffii* is the sister taxon to *H. bouvieri* from the Cape Verde islands and not to the other genetic lineages from the Gulf of Guinea islands.

In the combined analysis of 12S and 16S rRNA sequences, all *H. mabouia* from São Tomé (including the islet Rolas), Príncipe and Annobon are identical. Our sequences of 12S rRNA from additional samples of *H. mabouia* (Table 1) confirm that all of the samples from the islands had an identical haplotype that was also shared by individuals on Madeira and the Cape Verde islands. Sequences from the faster-evolving cytochrome *b* gene similarly showed no differences.

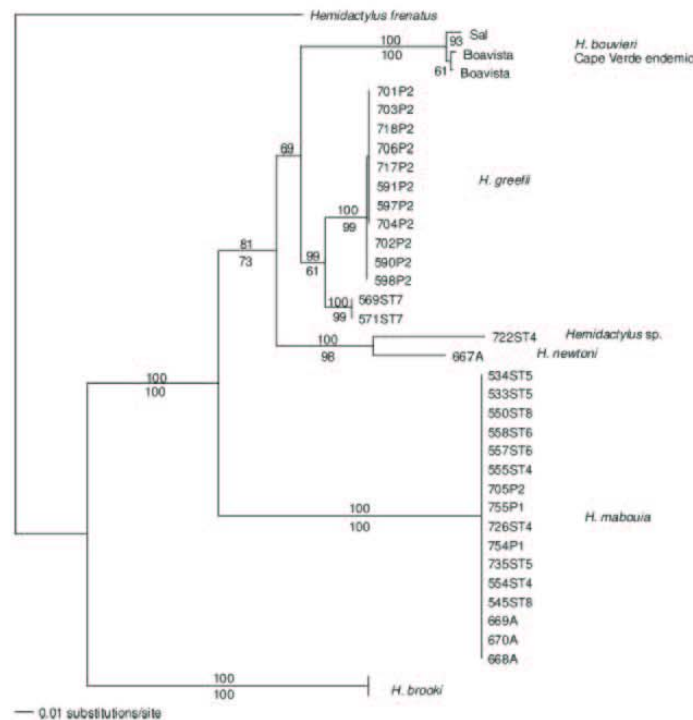


Fig. 2. Tree derived from a ML analysis of combined 12S and 16S rRNA fragments using the model described in the text. MP and Bayesian analyses gave identical estimates of relationships. Bootstrap values (>50%) for MP are given below the nodes, and Bayesian probabilities are given above the nodes. The tree was rooted using *H. frenatus*.

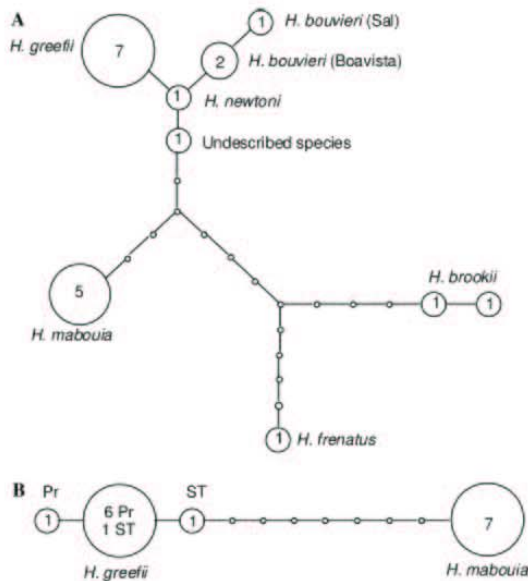


Fig. 3. Median networks showing relationships derived from partial sequences of *C-mos* (A) and α -Enolase (B).

Our analyses of variation in *C-mos* nuclear DNA sequences is quite similar to our estimate of relationships derived from mtDNA (Fig. 3). *H. greeffii*, *H. newtoni*, and the undescribed lineage from São Tomé all have unique haplotypes. *H. bouvieri* is closely related to these, while *H. mabouia*, *H. brooki*, and *H. frenatus* are more genetically differentiated. Despite the high mtDNA differentiation between *H. greeffii* populations from São Tomé and Príncipe, they all share a single haplotype for *C-mos*. A similar case has been shown in *Phelsuma* geckos in the Mascarene islands (Austin et al., 2004). This result could be due to the slowly evolving nature of this region of the *C-mos* gene. However, we obtained the same result with the faster evolving α -Enolase sequences (Fig. 3).

4. Discussion

Due to the known ease with which many *Hemidactylus* species are anthropogenically transported, it is often difficult to distinguish natural populations from introductions (Vences et al., 2004). The morphological conservatism of some widespread forms further challenges taxonomists, such that *H. brooki*, *H. mabouia*, and *H. frenatus* are often confused (Vences et al., 2004). The molecular data presented here clearly separate these forms. The complete lack of genetic variation with these markers within *H. mabouia* from islands as geographically separate as São Tomé, the Cape Verdes and

Madeira, however, strongly indicate a recent anthropogenic introduction to all these islands. This conclusion is reinforced by the considerable genetic diversity revealed within island endemics, such as *H. greeffii* and *H. bouvieri*.

Hemidactylus greeffii populations from Príncipe and São Tomé are apparently monophyletic groups with respect to the mtDNA sequences. Differentiation between them is higher than that reported between *Phelsuma* lineages that appear to be distinct species (Austin et al., 2004). However, since we did not obtain any differentiation in two nuclear genes, we recommend maintaining the current taxonomy pending a more detailed morphological analysis. Sequences from α -Enolase showed variation within *H. greeffii*, while those from *C-mos* did not. Unfortunately we could not amplify this part of α -Enolase for *H. newtoni*, so we could not use this marker in a more detailed phylogenetic analysis. Similarly Whiting et al. (2004) failed to amplify *H. frenatus*. However, it has been shown to be useful within *Sceloporus* skinks (Whiting et al., 2004), and it may be a useful nuclear marker at lower taxonomic levels where *C-mos* is often uninformative.

Hemidactylus newtoni from Annobon is clearly a distinct species, endemic to this tiny island. Its sister taxon appears to be an undescribed species from São Tomé, from which it can be distinguished by mtDNA and nuclear *C-mos* sequences. The degree of divergence between these groups (21% for the region of cytochrome *b* sequenced) far exceeds that typically observed between reptile species (Harris, 2002). Our observations on Annobon suggest that introduced *H. mabouia* is now much more common than *H. newtoni*, and that both species share similar habitats (Jesus et al., 2003). This situation deserves careful monitoring.

None of our analyses suggest that the endemic *Hemidactylus* from these islands form a monophyletic unit. This result implies that the islands were colonized independently at least twice. One lineage from São Tomé presumably then colonized Annobon to give rise to *H. newtoni*.

5. Conclusions

Our study again highlights the extraordinarily high genetic diversity revealed within morphologically conservative gecko species (e.g., Austin et al., 2004; Harris et al., 2004a,b). Similar, widespread species such as *H. brooki*, *H. frenatus*, and *H. mabouia*, which are often mistaken for each other in the field, can be clearly differentiated. *H. mabouia* has been introduced to all three islands of the Gulf of Guinea, which has important conservation implications. The island endemics *H. greeffii* and *H. newtoni* are genetically distinct lineages, suggesting a long evolutionary history on the islands. An additional undescribed species exists on São Tomé.

Acknowledgments

This project was supported by grants from Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT) POCTI/41906/BSE/2001 and SFRH/BPD/5702/2001 (to D.J.H.). Fieldwork was also supported by an award from the Gulbenkian society (to D.J.H.). Thanks to the handling editor and two anonymous reviewers for their useful comments on an earlier draft of this manuscript.

References

- Arnold, E.N., 2000. Using fossils and phylogenies to understand evolution of reptile communities on islands. In: Rheinwald, G. (Ed.), *Isolated Vertebrate Communities in the Tropics*. Bonn. Zoo. Monogr., vol. 46, pp. 309–323.
- Austin, J.J., Arnold, E.N., Jones, C.G., 2004. Reconstructing an island radiation using ancient and recent DNA: the extinct and living day geckos (*Phelsuma*) of the Mascarene islands. *Mol. Phylogenet. Evol.* 31, 109–122.
- Bandelt, H.-J., Macaulay, V., Richards, M.B., 2000. Median networks: speedy construction and greedy reduction, one simulation, and two case studies from human mtDNA. *Mol. Phylogenet. Evol.* 16, 8–28.
- Brehm, A., Jesus, J., Spinola, H., Alves, C., Vicente, L., Harris, D.J., 2003. Phylogeography of the Madeiran endemic lizard *Lacerta dugesii* inferred from mtDNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* 26, 222–230.
- Carranza, S., Arnold, E.N., Mateo, J.A., López-Jurado, L.F., 2000. Long-distance colonization and radiation in gekkonid lizards, *Tarentola* (Reptilia: Gekkonidae), revealed by mitochondrial DNA sequences. *Proc. R. Soc. Lond. B* 267, 637–649.
- Carranza, S., Arnold, E.N., Mateo, J.A., López-Jurado, L.F., 2001. Parallel gigantism and complex colonization patterns in the Cape Verde scincid lizards *Mabuya* and *Macroscoincus* (Reptilia: Scincidae) revealed by mitochondrial DNA sequences. *Proc. R. Soc. Lond. B* 268, 1595–1603.
- Carranza, S., Arnold, E.N., Mateo, J.A., Geniez, P., 2002. Relationships and evolution of the North African geckos *Gekkonina* and *Tarentola* (Reptilia: Gekkonidae), based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* 23, 244–256.
- Felsenstein, J., 1981. Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach. *J. Mol. Evol.* 17, 368–376.
- Felsenstein, J., 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39, 783–791.
- Friesen, V.L., Congdon, B.C., Walsh, H.E., Birt, T.P., 1997. Intron variation in marbled murrelets detected using analyses of single-stranded conformational polymorphisms. *Mol. Ecol.* 6, 1047–1058.
- Harris, D.J., 2002. Reassessment of comparative genetic distances in reptiles from the mitochondrial cytochrome *b* gene. *Herp. J.* 12, 85–86.
- Harris, D.J., Arnold, E.N., Thomas, R.H., 1998. Relationships of the laertid lizards (Reptilia: Laoertidae) estimated from mitochondrial DNA sequences and morphology. *Proc. R. Soc. London B* 265, 1939–1948.
- Harris, D.J., Batista, V., Lymberakis, P., Carretero, M.A., 2004a. Complex estimates of evolutionary relationships in *Tarentola mauritanica* (Reptilia: Gekkonidae) derived from mitochondrial DNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* 30, 855–859.
- Harris, D.J., Batista, V., Carretero, M.A., Ferrand, N., 2004b. Genetic variation in *Tarentola mauritanica* (Reptilia: Gekkonidae) across the Strait of Gibraltar derived from mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Amphibia-Reptilia* 25, 451–459.
- Huelsenbeck, J.P., Bollback, J.P., 2001. Empirical and hierarchical Bayesian estimation of ancestral states. *Syst. Biol.* 50, 351–366.
- Huelsenbeck, J.P., Crandall, K.A., 1997. Phylogeny estimation and hypothesis testing using maximum likelihood. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 28, 437–466.
- Huelsenbeck, J.P., Ronquist, F., 2001. MR-BAYES: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics* 17, 754–755.
- Jesus, J., Brehm, A., Harris, D.J., 2001. Relationships of *Hemidactylus* (Reptilia: Gekkonidae) from the Cape Verde islands: what mitochondrial DNA data indicate. *J. Herpetol.* 35, 672–675.
- Jesus, J., Brehm, A., Harris, D.J., 2002a. Relationships of *Tarentola* (Reptilia: Gekkonidae) from the Cape Verde Islands estimated from DNA sequence data. *Amphibia-Reptilia* 22, 235–242.
- Jesus, J., Freitas, A.L., Brehm, A., Harris, J., 2002b. An introduced population of *Hemidactylus mabouia* (Moreau de Jonnes, 1818) on Madeira island. *Herpetozoa* 15, 179–180.
- Jesus, J., Brehm, A., Harris, D.J., 2003. The herpetofauna of Annobon island, Gulf of Guinea, West Africa. *Br. Herp. Soc. Bull.* 86, 20–22.
- Kocher, T.D., Thomas, W.K., Meyer, A., Edwards, S.V., Paäbo, S., Villablanca, F.X., Wilson, A.C., 1989. Dynamics of mitochondrial evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 86, 6196–6200.
- Lee, D.C., Halliday, A., Fitton, J., Polj, G., 1994. Isotopic variations with distances and time in the volcanic islands of the Cameroon line: evidence for a mantle plume origin. *Earth Planet. Sci. Lett.* 123, 119–138.
- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., da Fonseca, G.A.B., Kent, J., 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403, 853–858.
- Posada, D., Crandall, K.A., 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14, 817–818.
- Posada, D., Crandall, K.A., 2001. Selecting models of nucleotide substitution: an application to human immunodeficiency virus 1 (HIV-1). *Mol. Biol. Evol.* 18, 897–906.
- Saint, K.M., Austin, C.C., Donnellan, S.C., Hutchinson, M.N., 1998. *C-mos*, a nuclear marker useful for squamate phylogenetic analysis. *Mol. Phylogenet. Evol.* 10, 259–263.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F., Maniatis, T., 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, second ed. Cold Spring Harbour Press, New York.
- Swofford, D.L., 2003. PAUP*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (and other methods) 4.0.b10. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, USA.
- Thompson, J.D., Higgins, D.G., Gibson, T.J., 1994. Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 22, 4673–4680.
- Thorpe, R.S., McGregor, D.P., Cumming, A.M., Jordan, W.C., 1994. DNA evolution and colonization sequence of island lizards in relation to geological history: mtDNA RFLP, cytochrome *b*, cytochrome oxidase I, 12S rRNA sequence and nuclear RAPD analysis. *Evolution* 48, 230–240.
- Vences, M., Wanke, S., Vietes, D.R., Branch, W.R., Glaw, F., Meyer, A., 2004. Natural colonization or introduction? Phylogeographic relationships and morphological differentiation of house geckos (*Hemidactylus*) from Madagascar. *Biol. J. Linn. Soc.* 83, 115–130.
- Whiting, A.S., Bauer, A.M., Sites Jr., J.W., 2003. Phylogenetic relationships and limb loss in sub-Saharan African scincine lizards (Squamata: Scincidae). *Mol. Phylogenet. Evol.* 29, 582–598.

The herpetofauna of Annobon island, Gulf of Guinea, West Africa

JOSÉ JESUS¹, ANTÓNIO BREHM¹ and D. JAMES HARRIS²

¹ Centre of Macaronesian Studies, University of Madeira, Campus da Penteada, 9000 Funchal, Portugal

² Centro de Investigação em Biodiversidade e Recursos Genéticos (CIBIO/UP), Campus Agrário de Vairão, 4485-661 Vila do Conde, Portugal. E-mail: james@mail.icav.up.pt [corresponding author]

COMPARED to the reptiles of other Atlantic volcanic islands such as the Cape Verde and Canary islands, there is surprisingly little known about the herpetofauna of Annobon. There are no reliable recent species lists for the island. Some species were described in the 19th century, often by Portuguese herpetologists, but have not been studied since. The following report is an account of the reptile fauna recorded during a three day expedition in August 2002 by the three authors specifically to examine the reptiles of this island. Voucher specimens of each species were taken, and are stored in the collection of the University of Madeira.

Discovered by Diego Ramirez Diaz, a Spanish sailor, in 1470 and named as Isla de San António, Annobon, or as it is named locally Pagalu, is about 160 km southwest of São Tomé and 350 km westsouthwest of Cabo Lopez (Fig. 1), at 01° 26' S and 05° 37' E. It is a small island governed by Equatorial Guinea of about 8 km from north to south and 3 km wide with a total land area of approximately 17 km². It is formed by three major peaks, Pico del Fuego (454 m) in the north, Pico del Centro, and in the south the Pico Surcado. The shallow Lake Apot, about 1 km in diameter, is situated in the crater of Pico del Centro at 270 m. With an estimated age of 4.8 million years (Lee et al. 1994) the island of Annobon is the last island of the Cameroon volcanic chain that consists also of Mount Cameroon, Bioko, São Tomé and Príncipe.

There is a single small village, San António, on the northern tip of the island. Local inhabitants are primarily fisherman, but there is also a garrison of soldiers from Equatorial Guinea. The climate is

wet tropical, although with 1000 mm of rain annually, Annobon is considerably drier than the other Gulf of Guinea islands. Mean monthly temperatures vary from 17–32°C. Lowland and submontane forests originally covered the whole island, but are now replaced in northern lowland regions by savanna grasslands and banana plantations. The woodlands are relatively dry, but with cloud forest over 500m. Introduced rats are extremely common throughout the island. There are many endemic plants, and a single endemic land bird, *Zosterops griseovirescens* Bocage 1893. There are no reports of amphibians from the island, and we did not find any evidence of them either.

In total we found seven species of reptiles. The most common and widespread reptile on this island is a medium-sized skink, *Mabuya ozorii* Bocage, 1893. It is difficult to find records of this skink in the literature, and it is not mentioned on the EMBL reptile database (www.embl-heidelberg.de/~uetz/livingreptiles) (Table 1). *Mabuya ozorii* was described by Barboza du Bocage in the 19th century, and since then very few references to this taxon have been made. Although widespread across the island, this species was not usually found in wet and shaded places such as the dense forest that covers the upper slopes of the island.

We also found another skink, *Panapis africana annobonensis* Fuhn, 1972. Compared with *Mabuya ozorii*, this small-sized endemic subspecies (total length less than 50 mm) has a more restricted distribution. This species was usually found among leaf-litter in the forest at relatively high densities. In drier places, especially near the coast, it was very difficult to find this species.

The family Gekkonidae is represented on the island by one widespread species, *Hemidactylus mabouia* Moreau de Jonnés, 1818 one endemic species, *Hemidactylus newtonii* Ferreira 1897 and one endemic subspecies, *Lygodactylus thomensis delicatus* Pasteur 1962. Near houses and in the village, the most common gecko seems to be *H. mabouia*. Based on molecular evidence we found that *H. mabouia* from distinct islands, like Madeira (Jesus et al., 2002), Cape Verde (Jesus et al., 2001), São Tomé and Príncipe and Annobon (unpublished data) are very similar, almost certainly indicating very recent introduction by humans. The situation in Annobon is surprising as there is no large airport or harbour to facilitate such introductions. The proportion of observed individuals of *Hemidactylus mabouia* to *H. newtonii* was about 3:1. All were found only around the village of San Antonio.

Lygodactylus thomensis (Peters 1881) is peculiar in being diurnally activity. It is endemic to Sao Tomé, Príncipe and Annobon. Unlike *Hemidactylus*, we found it only in the forest, climbing on small trees, during the day. It seemed to have a patchy distribution, being locally abundant but absent from other areas. We also found two species of snakes. The endemic species, *Philothamnus girardi* Bocage 1893, is a colubrid that is widespread on the island, mainly in large open spaces with shrubs and grasses, outside of the village. The blue specks on a light green background were quite different from the plain green coloration of the species of São Tomé, *Philothamnus thomensis* Bocage 1882. We also discovered three specimens of the Flower Pot Snake, *Ramphotyphlops braminus* (Daudin, 1803), under rocks on the outskirts of San Antonio. This tiny slender snake is originally from Asia but has been widely introduced; recent new reports include Egypt (Baha El Din, 1996), Mexico

Mabuza ozorii. Photograph ©James Harris.

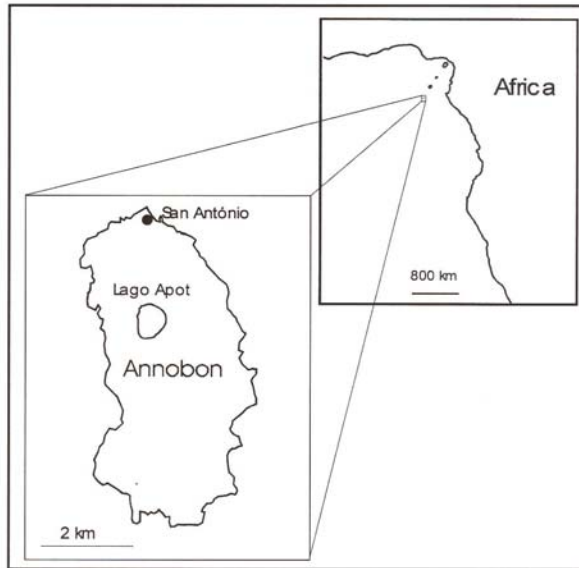
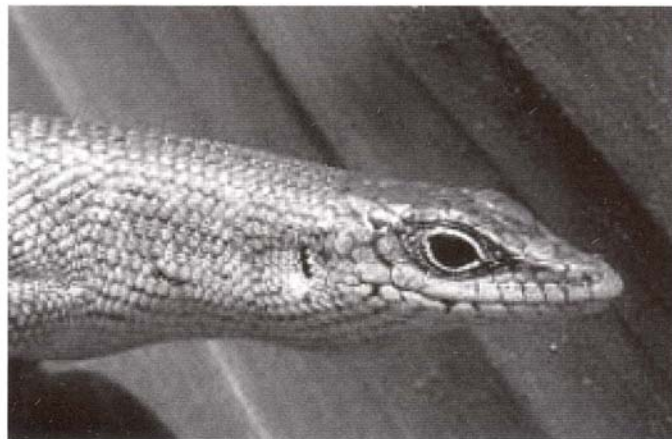


Figure 1. Map of Annobon Island

(Vázquez-Díaz & Quintero-Díaz, 2001) and the Cayman Islands (Echternacht & Burton, 2003) Its parthenogenetic reproductive strategy almost certainly has played a role in its extensive colonisation of islands.

The number of species of reptiles on this very small island is high when compared with the other two islands of the gulf of Guinea, São Tomé and Príncipe, yet Annobon is the youngest, smallest, and most geographically isolated. Of these seven



Species	Family	Our expedition	EMBL reptile database
<i>Mabuya ozorii</i>	Scincidae	+	
<i>Panaspis africana</i>	Scincidae	+	+
<i>Lygodactylus thomensis</i>	Gekkonidae	+	+
<i>Hemidactylus mabouia</i> *	Gekkonidae	+	
<i>Hemidactylus newtonii</i>	Gekkonidae	+	+
<i>Philothamnus girardi</i>	Colubridae	+	+
<i>Ramphotyphlops braminus</i> *	Typhlopidae	+	

Table 1. List of reptiles found in Annobon Island.

* Indicates first record of these species on the island.

species, two are introduced. All non-introduced taxa are endemic species or sub-species. High species density may be due to their different ecological requirements. The geckos have different periods of activity (one is active during the day, the other at night) and different distributions (one lives mainly in rocky habitats, the other on trees in the forest). The two skinks also have distinct habitat requirements. The introduction of *Hemidactylus mabouia* to the island could pose a serious threat to *H. newtonii* - in the Mascarene islands, *Nactus* geckos have probably been eliminated from some islands by introduced *H. frenatus* (Arnold, 2000). It is also unknown if these two species could hybridise. It is therefore important to determine the exact distribution and possible spread of *H. mabouia* on the island and its affect on or interaction with this endemic species.

ACKNOWLEDGEMENTS

Field work was supported by a grant from FCT (POCTI/41906/BSE/2001) and the Instituto Gulbenkian de ciência (both to DJH). Thanks to Dr R. Drewes and Dr V. Wallach for help in identifying the *Ramphotyphlops* specimens.

REFERENCES

- Arnold, E.N. (2000). Using fossils and phylogenies to understand evolution of reptile communities on islands. In *Isolated Vertebrate Communities in the Tropics*, pp. 309-323. Rheinwald, G. (Ed.). *Bonn. Zoo. Monogr.* **46**.
- Baha El Din, S. M. (1996). *Ramphotyphlops braminus* (Daudin 1803) a new addition to the Egyptian herpetofauna. *Cas. národ. Mus. Rada prirodovedná* **165**(1-4), 130.
- Echternacht, A. C. & Burton, F. J. (2003). *Ramphotyphlops braminus*. *Herpetol. Rev.* **34**(3), 266.
- Jesus, J., Brehm, A., Pinheiro, M. & Harris, D. J. (2001). Relationships of *Hemidactylus* (Reptilia: Gekkonidae) from the Cape Verde Islands: What mitochondrial DNA data indicate. *J. Herpetol.* **35**(4), 672-675.
- Jesus, J., Freitas, A., Brehm, A. & Harris, D. J. (2002). An introduced population of *Hemidactylus mabouia* (Moreau de Jonnés, 1818) on Madeira Island. *Herpetozoa* **15** (3/4), 179-180.
- Lee, D-C., Halliday, A. N., Fitton, J. G. & Poli, G. (1994). Isotopic variations with distance and time in the volcanic islands of the Cameroon line: evidence for a mantle plume origin. *Earth planet. Sci. Lett.* **123**, 119-138.
- Vázquez-Díaz, J. & Quintero-Díaz, G. (2001). *Ramphotyphlops braminus*. *Herpetol. Rev.* **32**(4), 279.

An introduced population of *Hemidactylus mabouia* (MOREAU DE JONNÉS, 1818) on Madeira Island

Madeira is a large volcanic island (circa 750 km²) lying about 700 km from the western coast of Africa. Despite its constant subaerial existence for 4.6 million years (GELDMACHER et al. 2000), it has a very depauperate native herpetofauna, probably due to its great geographical isolation from any continental source populations. The lizard *Lacerta dugesii* MILNE-EDWARDS, 1829 is the sole extant flightless vertebrate endemic to Madeira. Introduced *Tarentola mauritanica* (LINNAEUS, 1758) was first reported almost ten years ago (BAEZ & BISCOITO 1993) from Garajau, 7 km east of Funchal. To survey the spread of *T. mauritanica*, geckos were collected in the area around the capital, Funchal. However, one specimen from Achada in Funchal found in October 2001 was morphologically clearly not *Tarentola*, but a *Hemidactylus* (figs. 1-3). Further surveying in this region uncovered two more *Hemidactylus* more than 500 m from the first site, in Rua Carreira, Funchal. This leads us to believe that a larger population exists.

Hemidactylus is a specious genus of over 80 species, and identification to the species level is often difficult using morphological characters. To gain additional insight into the taxonomy of the *Hemidactylus* specimens found we sequenced parts of the cytochrome *b* and 12S rRNA mitochondrial genes from the three individuals to compare with data already available on GenBank.

Genomic DNA was extracted following standard phenol-chloroform protocols. For each individual, cytochrome *b* and 12S rRNA fragments were amplified by PCR using the primers published in KOCHER et al. (1989) and conditions described in HARRIS et al. (1998). Amplified products were sequenced on an automated sequencer (ABI® 310), in both directions. This resulted in unambiguous sequences of 299 base pairs of the cytochrome *b* gene and 370 base pairs of the 12S rRNA gene. New sequences were deposited on Genbank, accession numbers AY 156908 to AY 156909. All three individ-

uals observed are vouchers, housed in the collection at the University of Madeira (collection numbers 362, 364, 365).

Alignment by eye of the sequences from the three individuals showed them all to be identical. Comparison of these to sequences from GenBank shows they are also identical for both regions to one sequence of *Hemidactylus mabouia mabouia* (MOREAU DE JONNÉS, 1818) from São Vicente, Cape Verde islands (JESUS et al. 2001). Another individual of *H. mabouia* of unknown origin has been sequenced for the same region of cytochrome *b*, and differs by just six transition changes (CAMPBELL, B., unpublished data). Therefore we can be confident that the specimens found are introduced *H. mabouia*.

Hemidactylus mabouia is an extremely widespread species found across sub-Saharan Africa and many islands. It has been introduced to various Central and South American places (WERMUTH 1965) and Florida, USA (POWELL et al. 1998). Therefore we cannot say with any certainty where the lizards were introduced from without more comparable sequences from other localities.

In just ten years *T. mauritanica* has spread along a stretch of Madeiran coast of more than 7 km from Garajau to Funchal (FERRAND DE ALMEIDA et al. 2001). It is likely, given the success of other introduced populations that *H. mabouia* will also spread. This situation clearly deserves careful monitoring. It is worrying from a conservation point of view that only one extant lizard colonized the island of Madeira naturally in 4.6 million years, while at least two have been introduced in just over a decade. BISCHOFF (1997) also reported the existence of introduced *Gallotia* in Funchal, but extensive surveys done since that observation do not confirm it at all and we discard today the possibility of *Gallotia* being present in Madeira.

ACKNOWLEDGEMENTS: We thank the students who assisted in collecting geckos.

REFERENCES: BAEZ M. & BISCOITO M. (1993): First record of *Tarentola mauritanica mauritanica* from the island of Madeira (NE Atlantic).- 1st symp. fauna and flora of the Atlantic Islands. October 1993, Funchal, Madeira, abstracts p. 7. BISCHOFF, W. (1997): *Gallotia galloti* (OUDART, 1839) - Kanareneidechse; p. 296. In: BISCHOFF, W. (ed.): Handbuch der



Figs. 1-3: *Hemidactylus mabouia* (MOREAU DE JONNÉS, 1818) from Achada in Funchal, Madeira (Collection at the University of Madeira, vaucher number 362).

Reptilien und Amphibien Europas, vol. 6 - Die Reptilien der Kanarischen Inseln, der Selvagens-Inseln und des Madeira-Archipels; Wiesbaden (Aula), 449 pp. FERRAND DE ALMEIDA, N. & FERRAND DE ALMEIDA, P. & GONÇALVES, H. & SEQUEIRA, F. & TEIXEIRA, J. & FERRAND DE ALMEIDA, F. (2001): Anfíbios e Répteis de Portugal. Lisbon (Guias FAPAS). GELDMACHER, J. & VAN DER BOGAARD, P. & HOERNLE, K. & SCHMINCKE, H.-U. (2000): An age dating of the Madeira Archipelago and hotspot track (eastern North Atlantic).- *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*; electronic J.

earth sciences [<http://www.g-cubed.org/>]; 1. HARRIS, D. J. & ARNOLD, E. N. & THOMAS, R. H. (1998): Rapid speciation, morphological evolution and adaptation to extreme environments in Sand Lizards (*Meroles*) as revealed by mitochondrial gene sequences.- *Molecular Phylogenetics and Evolution*, San Diego; 10: 37-48. JESUS, J. & BREHM, A. & PINHEIRO, M. & HARRIS, D. J. (2001): Relationships of *Hemidactylus* (Reptilia: Gekkonidae) from Cape Verde Islands: What mitochondrial DNA data indicate.- *J. Herpetol.*, St. Louis; 35 (4): 672-675. KOCHER, T. D. & THOMAS, W.K. & MEYER, A. & EDWARDS, S.V. & PÄÄBO, S. & VILLABLANCA, F.X. & WILSON, A.C. (1989): Dynamics of mitochondrial evolution in animals: Amplification and sequencing with conserved primers.- *Proc. Natn. Acad. Sci. U.S.A.*, Washington; 86: 6196-6200. POWELL, R. & CROMBIE, R. I. & BOOS, H. E. A. (1998): *Hemidactylus mabouia*.- *Catalogue of American amphibians and reptiles*. St. Louis (Society for the study of amphibians and reptiles - SSAR) 674.1-674.11. WERMUTH, H. (1965): Gekkonidae, Pygopodidae, Xantusiidae; xxii + 246 pp. In: MERTENS, R. & HENNIG, W. (eds.): *Das Tierreich, Liste der rezenten Amphibien und Reptilien*, Lieferung 80. Berlin (W. de Gruyter & Co.).

KEY WORDS: Reptilia, Squamata, Sauria: *Hemidactylus mabouia*, introduced in Madeira Island, Portugal

SUBMITTED: September 10, 2002

AUTHORS: José JESUS; Ana I. FREITAS; Dr. Antonio BREHM, Centre of Macaronesian Studies, University of Madeira, Campus of Penteada, 9000 Funchal, Portugal <brehm@uma.pt>; Dr. James HARRIS, Centro de Investigação em Biodiversidade e Recursos Genéticos (CIBIO/UP), Instituto de Ciências e Tecnologias Agrárias e Agro-Alimentares (ICETA), Campus Agrário de Vairão, 4485-661 Vila do Conde, Portugal <james@mail.icav.up.pt>.

Records of *Trimeresurus insularis* KRAMER, 1977 from Bali, Indonesia

Trimeresurus insularis KRAMER, 1977, formerly known as *Trimeresurus albolabris* GRAY, 1842 or *T. albolabris insularis*, was elevated to species status by GIANNASI et al. (2001). The occurrence of this species in eastern Java and several of the Lesser Sunda islands east of Bali is well documented, but records from Bali were apparently lacking (KOPSTEIN 1938; REGENASS & KRAMER 1981; HOW et al. 1996; ISKANDAR & COLIJN 2001), and recent surveys failed to produce Balinese specimens (HOW & KITCHENER 1997). Molecular studies, however, have established that East Javan populations are very closely related to populations from the eastern Lesser Sunda islands (MALHOTRA & THORPE 1997, 2000), offering no reason to

@

J. JESUS & A. BREHM & D. J. HARRIS

variation within *C-mos*, and the degree of variation within species if it is used in phylogenetic studies. We examined these questions by sequencing *C-mos* from island populations of the lizard *Lacerta (Teira) dugesii* MILNE-EDWARDS, 1829 (following HARRIS & CARRETERO 2003). *Lacerta dugesii* is an endemic lizard from Madeira, the Desertas Islands, Porto Santo and the Selvagens and was recently introduced to the Azores.

Because of the well-known geological history of these islands (GELDMACHER et al. 2000) and the high population densities of the lizards it is a model organism for studying genetic variation across a fragmented habitat (BREHM et al. 2003a, 2003b). At the same time *C-mos* variation might give additional insights into colonization events that cannot be completely determined using the mtDNA sequence data.

MATERIALS AND METHODS

Twenty-nine specimens of *L. dugesii* were collected across the known range – nine from Madeira, eight from Desertas, five from Porto Santo and five from the Selvagens. These represented the four distinct monophyletic lineages previously identified using mitochondrial DNA sequences (BREHM et al. 2003a). In addition two individuals were included from the introduced populations on the Azores islands. Total genomic DNA was extracted from small pieces of tail using standard methods. Polymerase Chain Reaction primers used in both amplification and sequencing G73 and G74 from SAINT et al. (1998). Amplification conditions were the same as described by SAINT et al. (1998). Amplified fragments were sequenced from

both strands on a 373 Applied Biosystem DNA Sequencing Apparatus. We sequenced both strands and repeated any sequence that was not completely clean so that we could accurately identify heterozygotes, which showed single positions with two clear peaks in the electropherograms. Sequences were aligned by eye to two published sequences of *Podarcis* (HARRIS et al. 2001) which were included as a closely related outgroup. Since this is a coding region and there are no indels, alignment is facile. All analysed sequences were 375 base pairs long. GenBank accession numbers are ***** to *****@to be completed@. All sequences were translated to check for changes in the amino acid code.

RESULTS AND DISCUSSION

Three positions within the *C-mos* fragment analyzed vary within the *L. dugesii* included in this study. Frequencies of the identified haplotypes are shown in table 1. This can be compared to the five fixed differences between *L. dugesii* and *Podarcis*. All three involve transition changes and occurred in the first, second and third coding positions respectively. Despite the fact that each island group has monophyletic lineages for mtDNA, in general the *C-mos* variation is not fixed within each island. Eight of the twenty-nine individuals sequenced were heterozygous for one or other of the first two variable positions. The first two of the three variable positions caused amino acid replacements in some

individuals (GTA-ATA and ATT-ACT respectively).

Intra specific variation within *C-mos* has previously been demonstrated within *L. schreiberi*, and in this study in *L. dugesii*. While no variation was reported between subspecies of *Gallotia* (CARRANZA 2002) this could be due to sample size. This has important implications for the use of *C-mos* for phylogenetic studies between closely related organisms. Similarly heterozygotes can be expected when direct sequencing *C-mos* and this should be reported and taken into account in any analyses.

For *L. dugesii* variation with mtDNA within island groups is at most 1% (BREHM et al. 2003a). A rough molecular clock esti-

mate of 2% divergence per million years would thus imply that this section of mtDNA would require 0.5 MY years to coalesce. The major mtDNA lineages on Madeira, Desertas and Porto Santo differ from each other by 3-4%, while the Selvagens differ from the Madeira lineage by about half this, implying lizards have been separated for time periods longer than that required to reach coalescence; around 1.5-2 MY for most island groups, and 0.75-1 MY separating Madeiran lizards from those on the Selvagens. Thus, as would be predicted, the mtDNA lineages are monophyletic on each island group. The *C-mos* sequences have generally not coalesced, and thus studies using *C-mos* to determine patterns of relationships between forms that are separated by similar levels of mtDNA variation should examine intraspecific variation. However the *C-mos* data does give additional information regarding colonization patterns of these islands. In the estimate of relationships based on mtDNA sequences, the lineage leading to haplotypes on Porto Santo **Island** is sister **@?taxon** to all other *L. dugesii* lineages. This does not, however, mean that it is most parsimonious to predict that Porto Santo was the first island colonized (see EMERSON 2002). Using the *C-mos* data the Porto Santo population for mutation 1 is fixed for the ancestral state. If Porto Santo was colonized first, this mutation to the derived **state** could have occurred in the second colonizing population, either in Madeira or the Desertas. This therefore is evidence that Porto Santo was the first island colonized, and matches with its greater geological age than the other islands. Since the individuals from the

Azores have both states in the first mutation, this would rule out a recent introduction from either Porto Santo or the Selvagens (which is fixed for the derived state). As indicated by the mtDNA evidence, it thus seems likely that the source population for this introduction was Madeira.

In passerine birds, *C-mos* nucleotide substitutions accumulate at a rate similar to that of mitochondrial transversion substitutions (LOVETTE & BERMINGHAM 2000). Within *L. dugesii* the 0-3 variable positions within *C-mos* is the same as the number of transversions in the 12S rDNA sequences (also 0-3) but much less than the number of transversions in the combined 12S rDNA and cytochrome *b* sequence data. Previous phylogenetic analyses have indicated the possibility of a non-linear relationship of genetic divergence between *C-mos* and mtDNA across divergent taxa. *Tarentola* from the Cape Verde islands show lower levels of variation within *C-mos* between clades separated by high mtDNA divergence when compared to *Mabuya* (JESUS et al. 2002). Comparisons of cytochrome *b* to *C-mos* divergence also showed that the relative rates of divergence differed between snakes, teiids and lacertid lizards (HARRIS 2003).

In conclusion, *C-mos* sequence data can be an extremely valuable marker for phylogenetic studies, and also can clearly be used as a nuclear marker at the intraspecific levels. However, just as codon bias should be accounted for in phylogenetic studies at deeper taxonomic levels (HARRIS 2003), so intraspecific variation needs to be assessed when *C-mos* sequences are used at lower phylogenetic levels.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the Parque Natural da Madeira for providing some specimens. JJ was a recipient of a post graduate scholarship from Fundação para a Ciência e

Tecnologia, Program PRAXIS XXI (BD/2637/94). DJH is funded by FCT (SFRH/BPD/5702/2001).

REFERENCES

- BREHM, A. & JESUS, J. & PINHEIRO, M. & HARRIS, D. J. (2001): Relationships of scincid lizards *Mabuya* (Reptilia: Scincidae) from the Cape Verde Islands based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. - *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **@place name?@**: 19: 311-316.
- BREHM, A. & JESUS, J. & SPINOLA, H. & ALVES, C. & VICENTE, L. & HARRIS, D. J. (2003a): Phylogeography of the Madeiran endemic lizard *Lacerta dugesii* inferred from mtDNA sequences. - *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **@place name?@**: 26: 222-230.

C-mos variation in *Lacerta dugesii* MILNE-EDWARDS, 1829

@

Table 1: Proportion of each haplotype for the three variable positions in the *C-mos* fragment analysed. Ancestral states were predicted based on the sequences from *Podarcis*. Numbers in ~~brackets~~ parentheses indicate the number of individuals that were heterozygous. Positions 1 and 2 cause amino acid changes.

Tab. 1: Anteil der Haplotypen für die drei variablen Positionen im untersuchten *C-mos*-Fragment. Aussagen über den ursprünglichen Zustand (Ancestral State) erfolgten auf Grundlage von *Podarcis*-Sequenzen. Anzahl heterozygoter Individuen in Klammern. Die Positionen 1 und 2 bewirken Aminosäureaustausch.

	Position 1 (A/G)	Position 2 (T/C)	Position 3 (C/T)
Ancestral State	A	T	C
Madeira	6/12 (4)	12/6	4/14
Porto Santo	10/0	7/3 (1)	6/4
Desertas	2/14	9/7 (1)	2/14
Selvagens	0/10	1/9(1)	0/10
Azores	2/2	1/3(1)	0/4

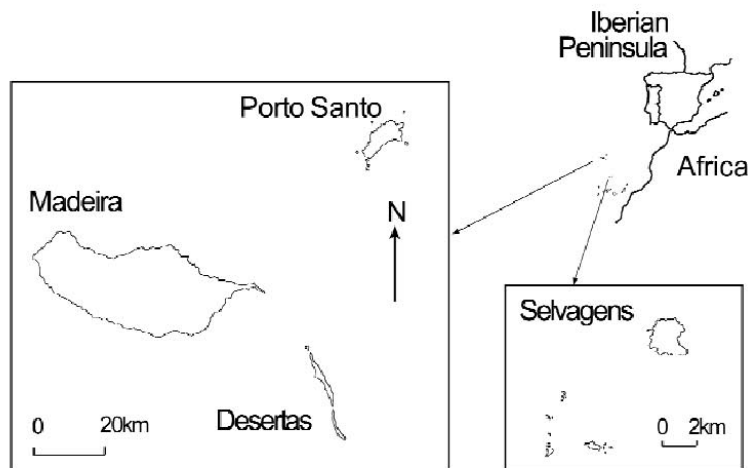


Figure 1. Map of the islands from which *Lacerta dugesii* MILNE-EDWARDS, 1829 was sampled.
 Abb. 1. Karte der Inseln, von denen die untersuchten *Lacerta dugesii* MILNE-EDWARDS, 1829 stammen.

Capítulo 7

7. DISCUSSÃO

7.1. A autenticação das sequências de DNA mitocondrial

Um dos aspectos mais importantes em estudos de genética molecular é a autenticação das sequências de DNA usadas na construção das hipóteses filogenéticas. Esta questão toma proporções muito particulares em relação ao DNA mitocondrial e está directamente relacionada com a qualidade das filogenias obtidas. Os investigadores que usam DNA mitocondrial devem estar cientes da possibilidade de poderem estar inadvertidamente a amplificar fragmentos pertencentes a cópias de pseudogenes do genoma mitocondrial (Bensasson *et al.*, 2000; Quinn 1997; Woischnik & Moraes 2002; Zhang & Hewitt 1996). Estes “Numts”, como são conhecidos, são genes mitocondriais que foram translocados para o genoma nuclear e portanto passam a ter uma taxa de mutação mais reduzida se comparada com a taxa de evolução do genoma mitocondrial.

Este problema foi detectado durante o nosso estudo sobre as relações filogenéticas de 8 indivíduos de *Lacerta dugesii* representantes de todas as ilhas do Arquipélago da Madeira, com base na estrutura e evolução da região controle completa do DNA mitocondrial (**Artigo III**). Neste caso, preferimos seguir a metodologia proposta por Bensch & Härlid (2000) e Saunders & Edwards (2000) e que consistiu na purificação de mitocôndrias de fígado de *L. dugesii* por centrifugação em colunas de gradiente de densidade de Cs-Cl. Foi amplificado um fragmento de tamanho variável entre 3112 e 3311 bp correspondente à região controle completa (D-Loop) incluindo os tRNA^{Thr}, tRNA^{Pro}, tRNA^{Phe} bem como parte dos genes citocromo b e 12S. As sequências obtidas mostraram ser perfeitamente idênticas às obtidas por PCR e amplificadas directamente a partir do DNA genómico. Para além desta prova, a presença de características tipicamente do DNA mitocondrial e referentes à composição em bases nucleotídicas bem como os motivos conservados do D-Loop propriamente dito e a homologia entre as regiões codificantes do citocromo b e do 12S, levam a supor que as nossas sequências foram obtidas de DNA mitocondrial e não de sequências nucleares homólogas.

A presença de desequilíbrios na composição nucleotídica, caracterizada pela falta de G's característica do DNA mitocondrial é outro dos argumentos que podem ajudar na

autenticação do DNA mitocondrial (Boon *et al.*, 2001; Honda *et al.*, 2000; Zhang & Hewitt, 1996).

Por estes motivos temos toda a confiança de que as sequências obtidas são genuínas do DNA mitocondrial e conseqüentemente, as inferências filogenéticas estão apropriadamente baseadas em genes ortólogos e não em genes parálogos.

7.2. Relações entre os grupos genéticos. Padrões de colonização dos taxa estudados.

Na lagartixa da Madeira (*Lacerta dugesii*) (**Artigo I**) verificamos que a espécie apresentava uma estrutura geográfica bem definida. Nenhum dos haplótipos encontrados eram comuns a dois ou mais grupos de ilhas (Madeira, Porto Santo, Desertas e Selvagens). A análise “pairwise mismatch” revelou distribuições unimodais para a Madeira e Porto Santo, o que parece revelar um crescimento exponencial numa população panmítica. Só tínhamos uma população amostrada do Porto Santo, daí não ser possível adiantar muito sobre o isolamento destas populações em particular. De acordo com os nossos resultados, entre as populações da Madeira e as populações das Desertas ocorre um fluxo genético apreciável. Nas Selvagens a “mismatch distribution” apresentava uma forma aproximadamente bimodal, o que deverá indicar populações subdivididas geograficamente (Marjoram & Donnelly, 1994; Rogers & Harpending, 1992). Quando a separação dos picos é grande, geralmente estamos perante um cenário de populações iniciais grandes e baixa taxa de migração. No caso estudado a proximidade dos picos é mais indicativa de populações iniciais pequenas e altas taxas de migração (Marjoram & Donnelly, 1994). De facto, as ilhas que compõem o arquipélago das Selvagens estão relativamente próximas e são muito pequenas (deverão suportar menos indivíduos). A subdivisão já referida pode ser também sinónimo de antiguidade das ilhas. No entanto esta questão é controversa pois alguns autores referem que sempre estiveram emersas (Geldmacher *et al.*, 2001), enquanto outros propõem que as ilhas estiveram emersas desde há relativamente pouco tempo (1,5 milhões de anos) até praticamente aos nossos dias (Bravo & Coello, 1978). Assumindo um relógio molecular de 1,96% de divergência por milhão de anos (Carranza *et al.*, 2000), as populações das Selvagens estão isoladas reprodutivamente há cerca de 2,5 milhões de anos. Assim, apesar da calibração dos relógios moleculares ser uma tarefa complexa e apesar das diferentes taxas de substituição consoante o grupo taxonómico e a porção do gene considerado, os nossos

resultados não parecem suportar a hipótese de Bravo & Coello (1978) sobre as ilhas Selvagens, mas antes a de Geldmacher *et al.* (2001).

As análises revelaram monofilia das populações das Selvagens, Porto Santo e Desertas (**Artigo I**). As populações das Selvagens encontram-se no mesmo grupo das da Madeira, mas as suas diferenças não permitiram que fossem agrupadas em redes tipo “networks”. Contudo, elas contêm todas as diferenças definidas para as populações da Madeira. Assim, em termos de análise filogenética, as populações da Madeira parecem ser parafiléticas. Isto poderá indicar a colonização das Selvagens a partir da Madeira e do ponto de vista prático mostra a vantagem de combinar a análise filogenética com as análises em rede (“networks”) (**Artigo I**). Resultados diferentes foram obtidos no estudo do polimorfismo enzimático em que as populações das Desertas aparecem mais próximas da amostra da Ponta de São Lourenço (Ilha da Madeira).

Era de esperar uma relação entre a idade geológica da ilha e a variabilidade genética das populações. No entanto tal não se verificou. Assim, por exemplo, não encontramos diferenças significativas entre o número de haplótipos entre o Porto Santo e as Ilhas Desertas, apesar do Porto Santo ser geologicamente quatro vezes mais antigo. Este facto pode ficar a dever-se a uma radiação recente da espécie. A maior diferença entre populações é cerca de 5,6 %. Este valor é semelhante entre os vários grupos o que subentende que o ancestral chegou a uma das ilhas e rapidamente dispersou para as outras. Tendo em conta este valor, se este ancestral apenas colonizou as ilhas há apenas 2,8 milhões de anos, todas as ilhas estavam formadas por essa altura. Estudos da herpetofauna das Canárias (Carranza *et al.*, 2000) e de Cabo Verde (**Artigos V, VI e VII**; Carranza *et al.*, 2001) indicam que estas ilhas foram mais rapidamente colonizadas após a emergência. A chegada mais tardia de *Lacerta dugesii* poderá estar relacionado com a maior distância da Madeira ao continente em relação às outras ilhas e com a menor capacidade de dispersão transoceânica (**Artigos I, VI e VII**; Carranza *et al.*, 2000; Thorpe *et al.*, 1994).

Independentemente de não existir uma relação entre variabilidade genética e idade das ilhas, é curioso que as populações de *Lacerta dugesii* apresentem valores de heterozigotia superiores a muitos valores registados para populações insulares de lagartos, mas similares ou mesmo maiores a valores registados para populações continentais (Bobyn *et al.*, 1996; Cirer & Guillaume, 1996; Crnobrnja-Isailovic *et al.*, 1995; Gorman *et al.*, 1975; MacCulloch *et al.*, 1995) (**Artigo II**). Os valores elevados sugerem que *Lacerta dugesii* não esteve sujeita a um forte efeito gargalo (**Artigo II**).

Poucos estudos existem sobre a diversidade genética da fauna e flora da Madeira. São necessários mais estudos para podermos ter uma ideia dos padrões de colonização que realmente terão existido, a exemplo do que foi e está a ser realizado nas Ilhas Canárias.

Como referimos, os nossos resultados revelaram a existência de quatro unidades genéticas distintas na espécie, a unidade das Desertas, a da Madeira, a do Porto Santo e a das Selvagens. A monofilia evidenciada pelas populações das Desertas deverá suportar a retoma da subespécie *Lacerta dugesii manli* (**Artigo I**). O fluxo genético é praticamente nulo ou inexistente entre estas unidades. Devido à acumulação de mutações únicas em cada grupo de ilhas, a colonização das ilhas deverá ter acontecido há já um tempo apreciável (2,8 milhões de anos) (**Artigo I**).

Os nossos dados não corroboram a introdução antropogénica da forma das Selvagens (**Artigo I**).

As espécies do género *Mabuya* do Arquipélago de Cabo Verde formam igualmente um grupo monofilético (**Artigo V**). Podemos considerar dois grupos, um formado por *Mabuya vaillanti* do Fogo e Santiago e por *Mabuya delalandii* que ocorre também na ilha Brava. O outro grupo é formado pelas restantes espécies que por sua vez pode ser dividido em dois subgrupos, ou seja, um contendo *Mabuya fogoensis* de Santo Antão e São Nicolau e *Mabuya stangeri* de São Vicente e Ilhéu Razo, e outro contendo a *Mabuya salensis* do Sal e Boavista e *Mabuya spinalis* de Santiago e Fogo.

As espécies do primeiro grupo são monofiléticas, com um suporte de 99-100% na análise do DNA mitocondrial e apenas se observa uma única sinapomorfia no *c-mos*. *Mabuya delalandii* apresenta baixa variação entre ilhas e praticamente não apresenta variação dentro de cada ilha. Consoante a análise os indivíduos de *M. vaillanti* agrupam-se de maneira distinta (**Artigo V**).

A população de *Mabuya fogoensis* de São Nicolau foi considerada como subespécie *M. f. nicolauensis* (Schleich, 1987). Na nossa análise ME a espécie *Mabuya fogoensis* é parafilética com *M. stangeri*, mais intimamente relacionada com *M. fogoensis* de Santo Antão. Contudo não podemos rejeitar a hipótese de monofilia em *Mabuya fogoensis*, no entanto as populações de *Mabuya fogoensis* de São Nicolau e Santo Antão são genética e morfologicamente distintas (2 subespécies?). *Mabuya stangeri* de São Vicente e Raso estão intimamente relacionadas e tal pode dever-se à união destas ilhas na última glaciação. O cenário está de acordo com a

hipótese evolutiva de Greer (1976) para *Macrosclincus coctei*, espécie extinta que ocorria nos Ilhéus Raso e Branco e que terá derivado quer de *Mabuya fogoensis* ou *Mabuya stangeri*.

O grupo de *Mabuya spinalis* e *M. salensis* é suportado tanto pelo DNA mitocondrial (78%) como por três sinapomorfias no *c-mos*. Dentro do grupo todas as ilhas formam unidades monofiléticas, mas as relações entre ilhas são mal suportadas. Baseado na nossa análise, os exemplares da Ilha do Maio não deverão ser considerados como *M. stangeri* (Joger, 1993), mas sim *M. spinalis maioensis*. Devido à falta de suporte das relações no interior do grupo *M. spinalis/M. salensis*, pouco se pode adiantar sobre o padrão de colonização das ilhas. Contudo uma possível radiação nas outras espécies de Cabo Verde pode ter ocorrido. *Mabuya delalandii* e *M. vaillanti* devem ter-se originado e especiado em Santiago que é a ilha mais velha e mais próxima de África onde as espécies ocorrem. Colonizações separadas poderão e deverão ter ocorrido nas várias ilhas em que se encontram. Em *Mabuya delalandii* podemos considerar ainda uma colonização da Ilha da Brava. Se assumirmos um relógio molecular de 1,9% por milhão de anos (Carranza *et al.*, 2000), as duas espécies divergiram há cerca de 3 milhões de anos, com *M. vaillanti* a colonizar o Fogo há apenas 1 milhão de anos e *Mabuya delalandii* ainda mais recentemente. No grupo *M. fogoensis/M. stangeri*, maior variabilidade genética é encontrada em *M. f. nicolauensis*, na ilha mais velha e mais oriental (São Nicolau) onde é encontrada, e a partir daqui deverão ter ocorrido colonizações para as ilhas mais ocidentais de São Vicente e Santo Antão (**Artigo V**).

A análise do DNA mitocondrial resolve muitas das relações dentro do género *Mabuya* em Cabo Verde. A pequena variação do *c-mos* está em concordância com a variação mitocondrial. A variação entre as espécies do género é menor do que a variação intragenérica entre as osgas deste arquipélago sugerindo uma colonização mais recente. O número de eventos de colonização entre ilhas também parece menor nas lagartixas do que nas osgas. Isto deve-se provavelmente à maior capacidade de colonização trans-marinha das osgas (Carranza *et al.*, 2000). Acresce ainda que as osgas podem ter dispersado sob um forte efeito ou associação antropogénica (**Artigo VII**).

A variação no DNA mitocondrial entre as espécies de osgas caboverdianas é maior quando comparamos com os répteis do género *Mabuya* do mesmo arquipélago (**Artigo V**), o que está de acordo com o que Carranza *et al.* (2000), Harris (2002) e Harris *et al.* (2004a) referem acerca da maior variação das osgas em relação aos outros lagartos.

Nas ilhas do Golfo da Guiné o número de espécies de *Mabuya* é mais reduzido do que em Cabo Verde. Nas ilhas do Golfo ocorre uma situação distinta, i.e., existe uma espécie,

a *Mabuya maculilabris*, com distribuição vasta continental subsahariana, ao contrário do que acontecia em Cabo Verde, onde todas as espécies são endêmicas do arquipélago. Este facto pode dever-se provavelmente à maior proximidade das ilhas do Golfo em relação ao continente. *Mabuya maculilabris* divide-se em dois grupos geneticamente distintos, um no Príncipe e outro em São Tomé (**Artigo IX**). Considerando apenas a forma da Ilha de São Tomé, reconhecem-se duas ramificações principais. A extremidade de um destes ramos apresenta uma filogenia em forma de estrela, o que deve ser indicativo de expansão recente, muito provavelmente por um pequeno número de fundadores (**Artigo VIII**). Uma “nested clade analysis” (NCA) parece revelar um padrão complexo de eventos passados e que contribuíram para o padrão de distribuição geográfica dos haplótipos, como a fragmentação alopátrica no passado, expansão da distribuição, fluxo genético restrito e dispersão a longa distância. Estes resultados parecem ser consistentes com a geografia e não com a história geológica da ilha. Diferenças substanciais foram encontradas na estrutura genética, com as formas do Sul e Ilhéu das Rolas (também a Sul) a serem distintas das restantes. Uma “nested clade analysis” revelou a existência de dois longos ramos a partir de um haplótipo que se encontra ligado ao ancestral hipotético por apenas dois passos mutacionais. Um destes ramos corresponde ao já mencionado grupo do Sul e que inclui 8 haplótipos exclusivos do Ilhéu das Rolas bem como os mais próximos, nomeadamente os encontrados nas populações de Porto Alegre e Monte Mário (Sul da Ilha de São Tomé). A metodologia aplicada revelou que quer os eventos históricos quer os contemporâneos moldaram o padrão da distribuição de haplótipos. A estrutura filogeográfica existe essencialmente a elevados níveis de agrupamento hierárquico da “nested clade analysis”. Todos os haplótipos encontrados podem ser ligados por menos de 9 eventos mutacionais. A espécie em São Tomé é caracterizada por possuir haplótipos muito relacionados entre si. O cladograma obtido aponta para um fluxo genético ou dispersão reduzidos. A filogenia em forma de estrela dos haplótipos presentes no Ilhéu das Rolas é característica duma expansão demográfica (Slatkin & Hudson, 1991), neste caso provavelmente uma dispersão recente dos haplótipos mais próximos do Sul (populações 2 e 3) pela ilha principal. A NCA indicou que a distribuição de haplótipos no interior do clado 3-4 estava significativamente associada com a geografia e seria resultante de fragmentação no passado. Os haplótipos das Rolas não aparecem em São Tomé, no entanto os haplótipos mais próximos encontram-se nas duas populações do Sul (mais próximas das Rolas) (**Artigo VIII**).

Se assumirmos um relógio molecular de 1,96 % (Carranza *et al.*, 2000) e uma divergência de 0,28 % entre as populações do Sul e do Ilhéu das Rolas, então a separação deve ter acontecido há cerca de 150000 anos. No entanto devemos ter em conta que o relógio molecular com este baixo nível de divergência pode ter uma componente estocástica elevada, de tal forma que o valor pode ser bem distinto da realidade. Apesar disto, é curioso que a idade encontrada coincida com a actividade vulcânica mais recente (Munhá, *com pess.*). O haplótipo mais antigo localiza-se pelo Sudeste de São Tomé, o que pode indicar que a espécie terá colonizado pela primeira vez esta área. A partir daqui, duas linhagens devem ter aparecido, uma terminando nas Rolas e outra mais concentrada no Centro e Ocidente da ilha de São Tomé. A maioria dos haplótipos de São Tomé são exclusivos, apenas quatro são partilhados por mais do que uma população, indicando que a população geral deverá ter sofrido um fenómeno de fragmentação algures no seu passado. Uma “pairwise mismatch distribution” mostra uma curva bimodal, o que mais uma vez vem confirmar a subdivisão geográfica da espécie (**Artigo VIII**).

A divergência genética encontrada entre as populações de São Tomé e as do Príncipe, no citocromo b encontra-se entre os encontrados entre espécies diferentes (Harris, 2002). No 12S rRNA encontramos também valores elevados de divergência genética, ou seja cerca de 8,5 %. Na análise efectuada, cinco grupos distintos são suportados, que são Camarões, São Tomé, Príncipe, *M. m. casuarine* de Moçambique e *M.comorensis* mais *M. m. maculilabris* de Moçambique. *Mabya comorensis* agrupa-se com *M. maculilabris* e dado as grandes distâncias genéticas, *Mabya maculilabris* deve ser considerada como um complexo de espécies (**Artigo IX**). Semelhante conclusão é postulada por Greer (1976) e Mausfeld *et al.* (2000). É no entanto fundamental aumentar a amostragem ao longo da área de distribuição da espécie. Como poderá corresponder a um complexo de espécies a sua identificação é um pouco difícil, exigindo desta forma cuidado nas várias descrições, na sua origem, etc. (**Artigo IX**).

Outra espécie encontrada nestas ilhas, mais precisamente no Príncipe, é *Mabya affinis*. Devido à falta de amostras na nossa colecção e à falta de sequências no GenBank das áreas circundantes, pouco é possível adiantar. No entanto, convém assinalar a grande diferenciação entre os organismos do Príncipe e o da Guiné-Bissau (GenBank) (**Artigo IX**). Mais investigação é igualmente necessária.

Mabya ozorii encontra-se apenas na Ilha de Annobon e é uma espécie muito pouco estudada. A análise das sequências de DNA revelou que esta espécie não está relacionada com as outras espécies do género *Mabya* do Golfo da Guiné. Isto poderá querer dizer que a

colonização da Ilha de Annobon pelo ancestral de *M. ozorii* se deu a partir do continente e não através das ilhas do Golfo, através do “salto” (“island hopping”) via Príncipe e/ou São Tomé. O grau de divergência mais baixo com as espécies consideradas continua a ser elevado para o citocromo b tendo em conta que a Ilha de Annobon tem apenas 4,8 milhões de anos. Assim, parece que o parente mais próximo desta espécie não corresponde a nenhuma das espécies consideradas ou amostradas. É assim necessário uma amostragem mais exaustiva da maioria das espécies do género *Mabuya*. Apesar disto podemos afirmar que esta espécie pertence ao grupo das *Mabuya* spp. de África-Madagáscar (**Artigo IX**).

Os nossos dados permitem reconhecer cinco linhagens principais de *Mabuya*. As espécies da Ásia tropical, *Mabuya macularia* e *Mabuya multifasciata* são *taxa* irmãos e em relação às outras espécies formam um grupo bem suportado (grupo A). O grupo B corresponde a espécies do Norte de África e Turquia. No grupo C estão incluídas as formas de Cabo Verde. O grupo D inclui formas da América do Sul e Caraíbas enquanto que o grupo E contém as espécies de África e Madagáscar. O suporte para estes grupos é no entanto muito variável. Assim temos valores baixos para o grupo E e valores elevados (100%) para o C e D. As relações entre o grupo B e o grupo E são mal suportadas. Os mesmos grupos principais foram encontrados por Carranza & Arnold (2003), apesar das relações entre os grupos B e E diferirem nesse estudo. Mausfeld *et al.* (2002) consideram quatro destes grupos, o quinto (B, segundo **artigo IX**), não foi simplesmente amostrado pelos autores. Obtiveram diferentes estimativas das relações entre os grupos principais. No geral a nossa amostragem é limitada para tirarmos muitas conclusões sobre a relação entre grupos. Contudo para as espécies de Cabo Verde obtivemos resultados semelhantes a trabalhos anteriores (Carranza *et al.*, 2001) (**Artigos V e IX**).

Com base na amostragem de 21 espécies do género *Mabuya*, Mausfeld *et al.* (2002) sugeriram a partição do género em quatro géneros, *Eutropis*, *Chioninia*, *Mabuya* e *Euprepis* para os nossos grupos A, C, D e E respectivamente. Bauer (2003) considerou que *Euprepis* era um sinónimo recente de *Mabuya*, enquanto que *Trachylepis* seria o nome apropriado para o grupo África-Madagáscar (grupo E). Os nossos resultados revelam que esta separação foi um pouco precipitada dado que as formas do Norte de África e Turquia não pertenciam a nenhum dos quatro novos géneros. Assim, segundo os nossos dados, há pelo menos cinco grandes grupos dentro de *Mabuya* (*sensu lato*). Estes grupos revelam monofilia, mas o suporte diminui com o aumento de *taxa* amostrados, o que pode sugerir a necessidade de dividir em mais grupos quando novas espécies são adicionadas. Sugere-se que a instabilidade taxonómica de *Mabuya*

(*sensu lato*) pode ser evitada se consideramos os vários grupos como subgéneros, mas com a necessidade de estudos posteriores. O grupo B teria assim de ser descrito como novo subgénero (**Artigo IX**). A utilização de subgéneros para evitar a instabilidade taxonómica foi sugerida noutros trabalhos (Arnold, 2000b; Harris & Carretero, 2003). Como vimos, Mausfeld *et al.* (2002) recomendaram a divisão de *Mabuya* baseando-se nas elevadas distâncias genéticas encontradas entre os grupos. No entanto a escolha das distâncias genéticas como critério de separação pode não ter nada a ver com a realidade biológica.

O que se nos afigura mais importante antes de reconhecermos novos grupos, ou eventuais alterações taxonómicas que provavelmente deverão ser feitas, será realizar novas e mais amostragens, sobretudo incluindo maior número de *taxa*. Provavelmente o género *Mabuya* (*sensu lato*) é parafilético (Honda *et al.*, 1999a,b), sendo que alterações ao nível da taxonomia serão necessárias num futuro próximo.

Nas ilhas do Golfo da Guiné foram identificados quatro grupos taxonómicos distintos em *Mabuya* (*sensu lato*): *Mabuya ozorii* de Annobon, *M. maculilabris* de São Tomé, *M. maculilabris* do Príncipe e *M. affinis* do Príncipe. É muito provável que *M. maculilabris* seja um complexo de espécies. Dado que nenhuma destas são *taxa* irmãos, cada um dos grupos deve ser resultante de evento de colonização separado. Assim, enquanto *Mabuya* deverá ter colonizado apenas uma vez as ilhas de Cabo Verde (espécies deste arquipélago formam um grupo distinto em relação às outras espécies do género) (**Artigo VI**; Carranza *et al.*, 2001), as ilhas do Golfo da Guiné (não contando com o Bioko) foram colonizadas quatro vezes (**Artigo IX**). A constatação de dois grupos distintos, associados provavelmente a dois eventos de colonização, de *Mabuya maculilabris* em São Tomé e Príncipe só foi possível com a utilização de vários “outgroups”. Daí que uma ilação a tirar deste trabalho é a necessidade de utilizar vários outgroups, o maior número possível, para podermos saber quantos eventos de colonização existiram e quantos grupos geneticamente distintos existem. Outra ilação é de que é necessário uma amostragem exaustiva do continente para sabermos realmente quantos eventos de colonização aconteceram.

Os nossos resultados suportam muitas das conclusões de Carranza *et al.* (2000). Em *Tarentola caboverdiana* consegue-se identificar três grupos geneticamente distintos. *Tarentola c. nicolauensis* que está mais distante, *T.c. raziana* e *T.c. substituta*. Estas duas últimas não estão geneticamente bem diferenciadas, provavelmente porque ocorrem em ilhas que no passado (períodos glaciais) estiveram ligadas. Incluímos na análise mais cinco indivíduos de *T.c. nicolauensis* e verificamos que formavam um grupo monofilético (98 % de suporte) com as

amostras entretanto publicadas. Contudo, duas destas eram oriundas de São Vicente quando antes, apenas a subespécie *T.c. substituta* era registada para São Vicente (Joger, 1993). Na mesma análise também foram incluídos duas amostras de *T. c caboverdiana*, de Santo Antão. Estas formaram um grupo distinto que é *taxon* irmão de *T.c. raziana* e *T.c. substituta* (73 % de suporte). Contudo com a adição de duas sequências de *T. c. substituta* e uma de *T. c. raziana*, estas duas subespécies deixam de ser monofiléticas. Sendo assim de acordo com os nossos resultados (**Artigo VI**), em *Tarentola caboverdiana* encontramos três grupos geneticamente distintos: *T.c. nicolauensis* é distinto e pouco relacionado com os outros; *T. c. caboverdiana*, e um grupo próximo do anterior que inclui *T. c. raziana* e *T. c. substituta*.

Quanto a *Tarentola gigas*, são reconhecidas actualmente duas subespécies, *T. g. gigas* do Ilhéu Raso e *T. g. brancoensis* SCHLEICH, 1984 do Ilhéu Branco (JAGER, 1993). Estas formas não foram diferenciadas com o DNA mitocondrial no trabalho de Carranza *et al.* (2000). Incluímos na análise uma amostra de São Nicolau. Tendo em conta que esta espécie não foi registada para esta ilha e dado que a amostra apresenta diferenciação genética apreciável em relação a outras formas de *T. gigas* (3,3 a 3,6 % de divergência no citocromo b), é provável que estejamos perante uma nova subespécie (**Artigo VI**). No futuro será necessário aumentar o tamanho das amostras e realizar uma análise morfológica detalhada para esclarecer a situação.

Carranza *et al.* (2000) identificaram nove grupos genéticos principais dentro das *Tarentola* de Cabo Verde. A nossa análise é congruente com esta conclusão (**Artigo VI**). Suportada como um grupo estão *Tarentola gigas*, *T. rudis rudis*, *T. r. bartogji* e *T.r. protogigas* (96% de suporte). Mais próximo deste grupo temos o grupo que inclui *T.caboverdiana caboverdiana*, *T.c. substituta* e *T. c. raziana*. *T. c. nicolauensis* surge como *taxon* irmão de todo o grupo anterior (53 % de suporte). Foi encontrada apenas uma sinapomorfia no *c-mos* que ligava *T. gigas* com *T. rudis rudis*, estando de acordo com a filogenia obtida com o DNA mitocondrial.

Os outros *taxa* de Cabo Verde formam um grupo separado na análise de Carranza *et al.* (2000) apesar do baixo valor de suporte (46% na análise NJ). *Tarentola darvini* Joger, 1984b de São Nicolau e *T. rudis boavistensis* JAGER, 1993 são *taxa* irmãos com *T. darvini* do Fogo e Santiago como o *taxa* mais basal. Os valores de “bootstrap” são baixos para esta relação, daí não podermos resolver as relações entre estes grupos. No essencial, estas relações são semelhantes às encontradas por Carranza *et al.* (2000), no entanto os valores de “Bootstrap” são inferiores no nosso trabalho, talvez devido ao facto de utilizarmos na análise uma região menor do citocromo b. O nosso estudo parece indicar que existem mais grupos de *Tarentola*

geneticamente distintos dentro das ilhas, do que havia sido registado anteriormente (Carranza *et al.*, 2000). São Vicente possui *T.c. caboverdiana* e *T. c. nicolauensis*. São Nicolau possui *T. gigas*, *T. darvini* e *T.c. nicolauensis*. Um estudo mais exaustivo cobrindo as ilhas, ao longo das áreas de distribuição de cada espécie poderá colocar a descoberto novas formas.

Quanto aos *Hemidactylus* spp. de Cabo Verde, os quatro indivíduos analisados de *Hemidactylus bouvieri* formam um grupo monofilético (100% de suporte). Destes, dois são da Boavista e dois são do Sal, formando assim dois grupos bem suportados e com uma divergência de cerca de 2%. Ambos pertencem à mesma subespécie, ou seja, *H. b. boavistensis*. Joger (1993) refere que existem diferenças morfológicas entre os espécimes das duas ilhas, e por isso o estatuto subespecífico diferente para as duas ilhas deveria ser considerado. Pressupondo um relógio molecular de 1,96 % por milhão de anos (Carranza *et al.*, 2000), estas duas formas estão separadas há cerca de 1 milhão de anos (**Artigo VII**).

Os 6 espécimes de *Hemidactylus brooki* formam um grupo bem suportado (100%). Dentro deste grupo, cinco amostras oriundas da Guiné, Santo Antão, São Nicolau e Santiago são muito similares (aproximadamente 0,5 % de divergência genética). O indivíduo do Sal é distinto destes cinco (aproximadamente 5 % de divergência genética). Todas as formas desta espécie são atribuídas a *H. b. angulatus* e mostram pouca variabilidade morfológica (Joger, 1993). A grande diferença entre a forma do Sal e as restantes pode indicar uma separação reprodutiva antiga com cerca de 2,5 milhões de anos. O que é mais surpreendente é encontrarmos formas similares em ilhas do Norte e do Sul, separadas por grande distância e grandes profundidades e que provavelmente nunca estiveram ligadas (Mitchell-Thomé, 1983). Uma explicação possível é que estas osgas foram transportadas pelos movimentos antropogénicos. E como também são muito semelhantes à forma da Guiné, é provável que esta espécie tenha sido introduzida em Cabo Verde. Se isto for verdade, então a forma do Sal deverá ter chegado às ilhas independentemente (**Artigo VII**).

As análises revelaram que *H. bouvieri* formava um grupo com *H. mabouia* e a este grupo estavam ligados sucessivamente *H. brooki* e *H. turcicus*. Isto indica que as duas espécies, *bouvieri* e *brooki* colonizaram as ilhas independentemente. *Hemidactylus* é um género com cerca de 80 espécies para o que não existe um trabalho sobre a filogenia de todo o grupo, pelo que sem um esforço de amostragem adequado, as relações interespecíficas são meramente especulativas.

Hemidactylus e *Tarentola* divergem significativamente nas sequências. Uma análise de sequências do citocromo b do GenBank mostrou que estes são os dois géneros de répteis

com maior variação congénica (distâncias médias não corrigidas acima de 20 %) (J. Harris, dados não publicados). Lamb & Bauer (2000) também encontraram em *Pachydactylus* spp. elevados níveis de variação. As osgas geralmente possuem elevada divergência genética, apesar das semelhanças morfológicas (Austin *et al.*, 2004; Harris *et al.*, 2004a,b), sendo este o cenário também encontrado em Cabo Verde e Ilhas do Golfo da Guiné (**Artigos VII e X**).

A espécie endémica *Hemidactylus bouvieri* mostra alguma diferenciação genética entre as duas ilhas com amostras desta espécie. Esta espécie foi referida para quase todas as ilhas do arquipélago (Mertens, 1955; Schleich, 1987), mas pesquisas recentes revelaram-nas apenas em duas ilhas (M. Pinheiro, J. Jesus & A. Brehm, dados não publicados). No entanto, apesar de poderem (?) existir em baixas densidades noutras ilhas (S. Carranza, *com. pess.*), parece mais rara do que nas pesquisas mais antigas. A morfologia semelhante dos *Hemidactylus brookei*, *Hemidactylus mabouia* e *Hemidactylus frenatus*, faz com que estas espécies sejam muitas vezes confundidas (Vences *et al.*, 2004). A análise de sequências de DNA mitocondrial e DNA nuclear separa claramente estas formas.

As espécies do género *Hemidactylus* nas ilhas do Golfo da Guiné não parecem formar uma unidade monofilética. Os resultados parecem indicar que as ilhas foram colonizadas independentemente pelo menos duas vezes. Uma linhagem provavelmente de São Tomé deverá ter então colonizado Annobon para dar origem a *H. newtonii*.

Os endemismos do Golfo da Guiné do género *Hemidactylus*, i.e. *H. greefii* e *H. newtoni*, formam linhagens geneticamente distintas, o que sugere uma longa história evolutiva no Arquipélago (**Artigo X**).

As populações de *H. greefii* do Príncipe e São Tomé são aparentemente grupos monofiléticos. A divergência entre estas populações, baseada no DNA mitocondrial, parece ser maior do que entre espécies diferentes de *Phelsuma* (Sauria: Gekkonidae) (Austin *et al.*, 2004). Contudo a diferenciação entre marcadores nucleares é inexistente e por isso deve ser mantido o *status* taxonómico actual. Serão necessários mais estudos para o esclarecimento da situação.

Hemidactylus newtoni é sem dúvida uma espécie distinta, endémica de Annobon. O *taxon* irmão parece ser o que encontramos em São Tomé e ao qual não atribuímos qualquer designação específica sendo por isso tratado como “espécie não descrita” (**Artigo X**).

O maior número de eventos de colonização nas espécies do género *Mabuya*, em relação às osgas, é contrário ao que se esperava tendo em conta a realidade de outros arquipélagos africanos localizados mais a norte, como Canárias e Cabo Verde (Carranza *et al.*,

2000; **Artigos V, VI, VII**). Isto pode dever-se à maior proximidade destas ilhas ao continente, principalmente durante as glaciações e não propriamente à menor capacidade de dispersão das osgas.

O modelo de “stepping-stone” de colonização das ilhas pode ser invocado principalmente quando as espécies têm uma baixa capacidade de dispersão. De acordo com este modelo, as espécies dispersam desde o continente para a ilha mais próxima e desta para outra mais próxima da primeira ilha, isto num sentido, estando cada ilha geralmente sujeita a um evento de colonização como acontece com *Gallotia* spp das Ilhas Canárias (Figura 23). Em espécies com maior capacidade de dispersão o modelo não é totalmente aplicável, pois estas espécies podem chegar às ilhas quer directamente sem passar pelas ilhas intermédias, ou saltar de uma ilha para outra sem passar pelas intermédias. Nestas espécies estão envolvidos geralmente vários eventos de colonização por ilha (Juan *et al.*, 2000; MacArthur & Wilson, 1967).

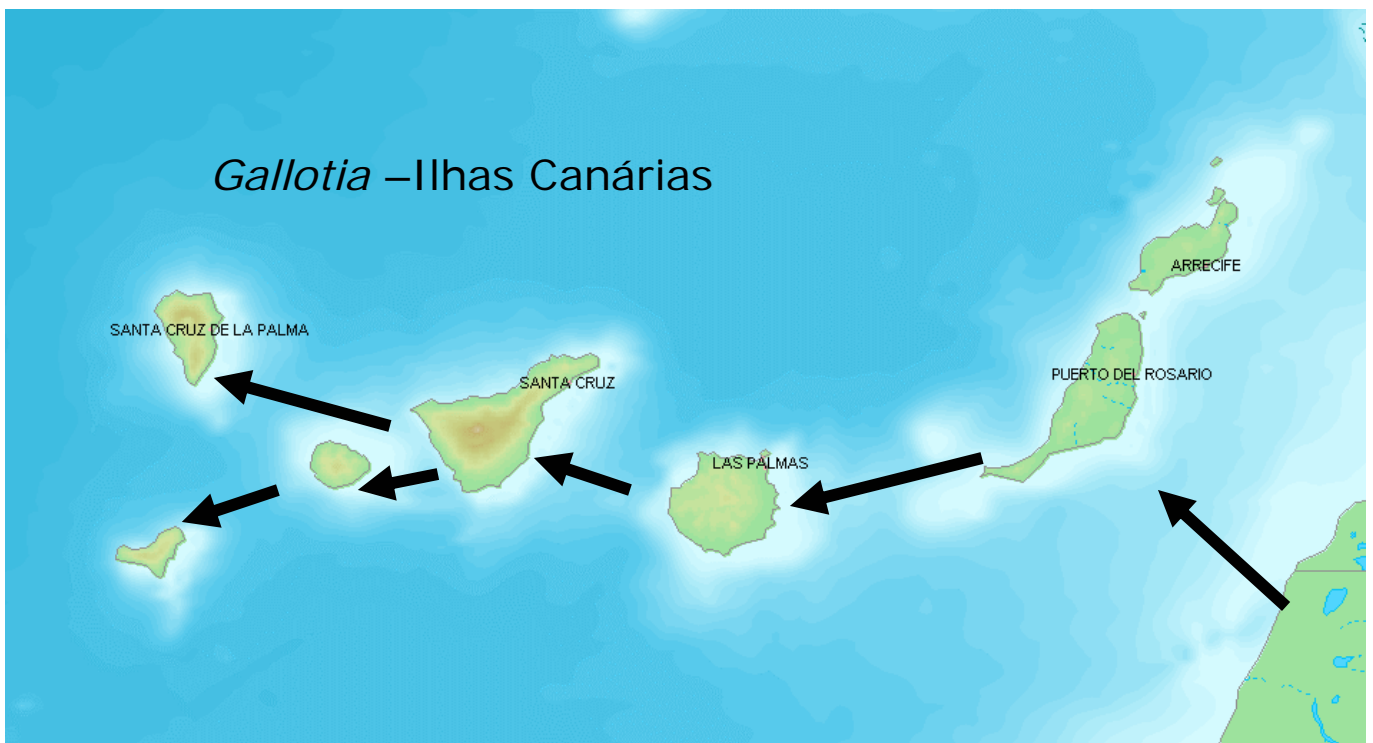


Figura 23. Provável padrão de colonização das ilhas Canárias por *Gallotia* spp.

Seria de esperar neste trabalho que a colonização das ilhas pelos lacertídeos e escincídeos pudesse seguir um modelo de “stepping-stone”, contrariamente ao observado nas osgas. Contudo estas previsões só seriam correctamente testadas se tivéssemos em todos

os grupos uma amostragem exaustiva de *taxa* relacionados nas áreas continentais e insulares vizinhas. Apesar de nalguns grupos não ter sido possível ter esta amostragem e assim não podermos traçar com certeza os padrões de colonização, podemos dizer que é provável que as osgas do género *Hemidactylus* em São Tomé não tenham colonizado as ilhas de acordo com o modelo de “stepping-stone” mas que se tenham registado colonizações independentes (**Artigo X**). Quanto à *Tarentola* spp. de Cabo Verde, apesar de não podermos inferir com certeza sobre o número de colonizações, é provável que se tenha assistido à chegada dos ancestrais seguida de radiação pelas ilhas do Arquipélago (**Artigo VI**) (Figura 24). Em *Mabuya* o fenómeno deve ter sido semelhante, mas com a radiação dum grupo para as ilhas de sotavento e a radiação de um grupo para barlavento (**Artigo V**), em cada um destes podendo ter acontecido um fenómeno de “stepping-stone”, (fenómeno menos provável em *Tarentola* spp.). Maior número de eventos de colonização interilhas parece ter ocorrido em *Tarentola*.

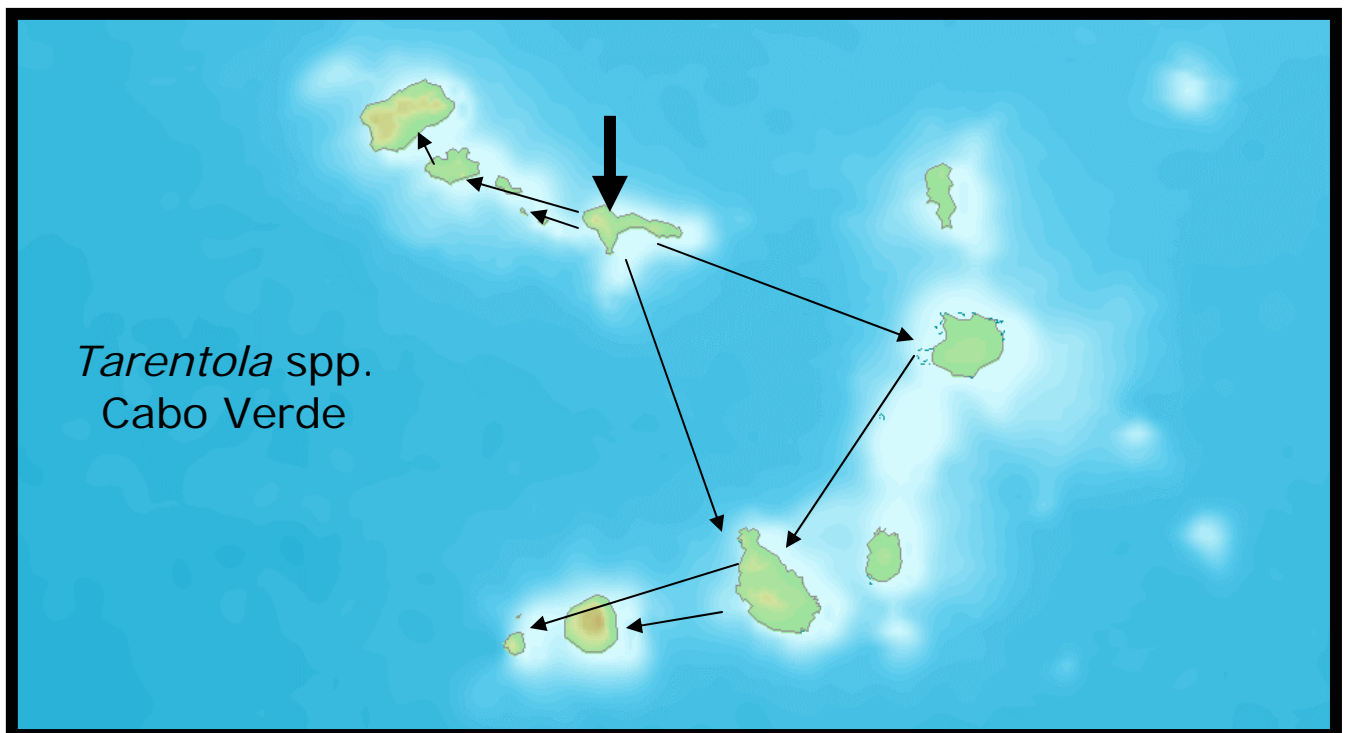


Figura 24. Padrões de colonização hipotéticos de *Tarentola* spp. em Cabo Verde

Quanto a *Hemidactylus* de Cabo Verde, parecem ter ocorrido colonizações independentes. Devido ao facto de não termos amostrado mais *Hemidactylus bouvieri* noutras ilhas além do Sal e da Boavista (talvez porque já se extinguiram) não podemos afirmar se espécie radiou, passando de ilha para ilha, sendo difícil definir o padrão de colonização neste

arquipélago por parte da espécie. *Hemidactylus mabonia* e *H. brooki* deverão ter sido introduzidos excepto *H. brooki* do Sal que deverá ter chegado às ilhas por meios naturais (**Artigo VII**).

Quanto a *Mabuya* no Golfo da Guiné, o mais provável é que não colonizaram as ilhas de acordo com um modelo de “stepping stone”, e foram alvo de mais do que um evento de colonização independente a partir do continente (**Artigo IX**) a exemplo do que deve acontecer com *Hemidactylus* destas ilhas (**Artigo X**).

É provável que as oscilações, ou os eventos pleistocénicos tenham tido uma importância relevante na colonização das ilhas do Golfo da Guiné, em particular do Bioko que se encontra na plataforma continental. Nas outras ilhas desta área, oceânicas por natureza, o seu isolamento e pequeno tamanho tiveram importância na diferenciação de muitas espécies de outras classes de vertebrados nomeadamente de morcegos da espécie *Rousettus egypticus* (Juste *et al.*, 1996). As distâncias e tamanhos das ilhas do golfo da Guiné devem ter variado imenso com os eventos pleistocénicos (Juste & Ibañez, 1994). As mudanças na Ilha do Príncipe devem ter sido em termos de área, na ordem dos 25 % de oscilação com os correspondentes aumentos e descidas do nível do mar (Juste *et al.*, 1996).

7.3. Congruência entre os dados morfológicos e moleculares

A correlação entre as mudanças ou variação morfológicas com o ambiente é muitas vezes tomada como evidência de selecção natural (Endler, 1977). Nalguns casos as variações morfológicas são maiores que as moleculares, subentendendo uma acção forte da selecção sobre a morfologia, tendo por isso a estrutura do ambiente importância fundamental neste fenómeno. Foi o que aconteceu com os lagartos do género *Tropidurus* na América do Sul, em que a selecção natural ajustou rapidamente a morfologia e ecologia, em resposta à exposição a diferentes habitats sem que tivesse existido uma tão forte diferenciação no DNA mitocondrial (Vitt *et al.*, 1997).

A utilização conjunta de dados morfológicos e moleculares pode ajudar a entender um modelo como o processo de evolução nas ilhas oceânicas. Devido aos dados moleculares serem em grande medida neutrais, permite uma utilização na construção de filogenias. Estas filogenias poderão ser comparadas com as que surgem dos dados morfológicos sobrepondo-a sobre a filogenia molecular. Isto permitirá estudar a evolução dos caracteres morfológicos e determinar se os mesmos caracteres se desenvolveram de forma independente ou como resultado da existência de forças selectivas similares em diferentes habitats. De acordo com

Puerto *et al.* (2001), é fundamental saber algo mais do que a filogeografia baseada no DNA mitocondrial na limitação de espécies, nomeadamente quando os grupos formados com o DNA mitocondrial se sobrepõem. Outros dados como por exemplo os morfológicos deverão ser igualmente usados. Segundo os mesmos autores é fundamental usar os mesmos espécimes como fonte de informação quer molecular quer morfológica.

Todavia em muitos casos, a possibilidade que esta correlação seja coincidente não é conseguida. Forte evidência de selecção natural acontece quando espécies próximas alopátricas mostram padrões semelhantes ao longo de gradientes ambientais similares (Brown *et al.*, 1991). Uma explicação óbvia para a discordância entre morfologia e DNA para a delimitação de grupos (espécies) tem a ver com o facto de muitas vezes as árvores génicas não coincidirem com as árvores de espécies. Mas esta poderá não ser a explicação em muitos casos (Wiens & Penkrot, 2002).

A distribuição geográfica de vertebrados dentro duma pequena ilha fornece-nos uma oportunidade única para detectar os mecanismos de selecção natural (Thorpe & Brown, 1989). Brown *et al.* (1991) verificaram que em Gran Canaria e Tenerife espécies do género *Chalcides* spp. (Reptilia: Scincidae) mostravam uma variação paralela Norte-Sul no padrão de coloração. Chegaram à conclusão que existe uma forte relação entre a selecção natural e o padrão encontrado.

Reeder *et al.* (2002) fez um trabalho semelhante ao nosso (**Artigo II**) em *Cnemidophorus* (Squamata: Teiidae), comparando as relações filogenéticas com base em dados moleculares, enzimáticos e morfológicos. Os dados moleculares basearam-se em sequências parciais do 12S rRNA e 16S rRNA e os dados aloenzimáticos em 31 *loci* filogeneticamente informativos. Os dados morfológicos basearam-se em 10 caracteres morfológicos. Não utilizaram outras espécies mais distantes na morfologia, ao contrário do que aconteceu por exemplo na análise dos dados moleculares devido ao fenómeno de falta de estabelecimento de homologia.

Sá-Sousa & Harris (2002) obtiveram concordância entre dados genéticos e morfológicos em *Podarcis carbonelli* e *P. bocagei* Harris & Arnold (2000) também parecem obter similaridades entre os dados moleculares (sequências do 12S rRNA e do 16S rRNA) e dados morfológicos (32 caracteres discretos, foliódicos, esqueléticos, hemipeniais, etc.), mas ao mesmo tempo também obtêm diferenças significativas. A análise combinada dos dados moleculares e morfológicos resultou numa árvore com a mesma topologia daquela obtida só com sequências de DNA.

A existência de uma estrutura geográfica na variabilidade morfológica e inexistência de diferenciação do DNA mitocondrial, deverá indicar uma expansão recente dos organismos e uma adaptação rápida às condições ambientais (Zink & Dittman, 1993). Tem sido considerado que as características quantificáveis, aquelas utilizadas geralmente em morfometria, são inapropriadas para a análise filogenética. A razão mais importante está relacionada com a homologia e com o critério da similaridade associado, sendo difícil definir a similaridade entre os “n” estados desses caracteres (Zelditch *et al.*, 1995). Contudo, Zelditch *et al.* (1995) adiantam uma forma de lidar com alguns (poucos) destes caracteres na análise filogenética.

Os dados electroforéticos e morfológicos de *Lacerta dugesii* revelam diferentes agrupamentos (**Artigo II**), o que pode ser explicado pela rápida adaptação morfológica a diferentes habitats, envolvendo mudanças drásticas na morfologia mas não necessariamente nas frequências alélicas. Resultados semelhantes em lagartos em habitats diferentes foram obtidos por Orr & Smith (1998) e Vitt *et al.* (1997). A nossa hipótese para explicar o agrupamento morfológico para as diferentes ilhas é a de que deve existir uma convergência dos mesmos caracteres em ambientes similares, um facto já encontrado noutros lagartos (Losos *et al.*, 1998).

Obtivemos resultados diferentes quando se utilizaram dados enzimáticos em contraposição aos obtidos com sequências de DNA. Com as enzimas parecia existir algum fluxo genético entre as populações. A ausência de alelos fixos nas populações sugere que a colonização e dispersão no Arquipélago é recente. O único alelo fixo numa população é o alelo aqui designado por c, do sistema enzimático peptidase-3, e encontrado nalgumas populações da Ilha do Porto Santo (**Artigo IV**) (aliás neste sistema observa-se uma estruturação geográfica no Porto Santo). O “deficit” em heterozigóticos encontrada nalguns casos sugere que a espécie pode apresentar uma estrutura espacial. Na generalidade dos casos, os resultados obtidos com as enzimas revelam que a variação intrapopulacional é maior do que a interpopulacional. Aparentemente, o isolamento pela distância e as barreiras oceânicas não parecem surtir em isolamento efectivo e diferenciação das populações. Estas parecem ser geneticamente distintas, mas não evidenciam uma estrutura genética compatível com a distribuição geográfica (**Artigo II**). A sua estrutura genética baseada nas enzimas parece mais relacionada com fenómenos de adaptação local. Assim, por exemplo, as amostras das Ilhas Desertas revelaram-se próximas das da Ponta de São Lourenço (Ilha da Madeira) genética e ambientalmente, subentendendo uma importância da pressão selectiva (**Artigo II**).

As diferenças entre os dados do polimorfismo enzimático (**Artigo II**) e os do DNA mitocondrial (**Artigo I**), poderão ser explicadas pelo facto da análise do DNA mitocondrial ser mais minuciosa e pelo facto das enzimas utilizadas serem determinadas por genes nucleares e por isso serem menos variáveis, não havendo tempo evolutivo para uma estruturação enzimática compatível com a geografia. Temos portanto duas aproximações diferentes às mesmas amostras, com diferentes níveis de resolução. A análise de sequências de DNA mitocondrial revela que não existe fluxo genético assinalável entre grupos principais de ilhas (ex: háplotipos exclusivos de cada grupo) e existe uma estrutura geográfica da variação genética e tal deverá ser a realidade. As enzimas revelaram algum fluxo genético. Mas como estes marcadores parecem ser menos neutros então deverão indicar a adaptação local das populações, reflectindo provavelmente um fenómeno de plasticidade fenotípica.

7.4. As “novas” e “velhas” referências de espécies

Na Ilha de São Nicolau (Cabo Verde) é possível que tenhamos encontrado um grupo genético que poderá ser uma nova subespécie de *Tarentola gigas* (**Artigo VI**). Análises mais detalhadas, nomeadamente morfológicas, são necessárias para confirmar este estatuto.

Em Annobon foram encontradas as espécies habitualmente atribuídas para esta ilha como *Panaspis africana*, *Lygodactylus thomensis*, *Hemidactylus newtonii*, *Phyllobremnus girardi* e *Mabuya ozorui* (espécie pouco referenciada na literatura). A estas há a considerar dois registos novos para a ciência e que são as espécies introduzidas *Ramphotyphlops braminus* e *Hemidactylus mabouia* (**Artigo XI**).

As ilhas não constituem apenas receptáculos de espécies exóticas, podem também desempenhar o papel de fonte de espécies exóticas para outras ilhas, como revelaram os nossos dados sobre o caso da introdução de *Lacerta dugesii* na Ilha dos Açores (**Artigo I**). Apesar de não possuímos as mesmas sequências, não incluímos as amostras dos Açores na análise filogenética. Uma análise simples “Neighbor Joining” parece indicar que esta espécie foi introduzida a partir da ilha da Madeira. A utilização de mais marcadores e o aumento do tamanho da amostra, poderá permitir saber de que local ou locais foram introduzidas e quantas vezes.

Devido à facilidade com que os *Hemidactylus* são transportados para as ilhas, muitas vezes é difícil distinguir populações naturais de introduções (Vences *et al.*, 2004).

Um caso de introduções entre ilhas poderá ser o caso de *Hemidactylus mabouia* (**Artigos VII, X, XII**). O facto de possuírem sequências iguais na Madeira, Cabo Verde, São

Tomé, Príncipe e Annobon (**Artigos VII, X, XII**) (Tabela 12) poderá indicar introduções recentes (mediadas pelo homem) a partir duma ilha ou então a partir dum único local do continente para os três conjuntos de ilhas, ou ainda constituir introduções muito recentes nas ilhas a partir de populações continentais recentemente expandidas.

Hemidactylus mabouia é mais comum actualmente na Ilha de Annobon do que *H. newtoni* (Tabela 12). Ambas parecem partilhar ambientes semelhantes. Isto parece implicar que será importante a implementação de medidas de monitorização para que a primeira não elimine a segunda (**Artigo X**) ou seja, para verificar qual o efeito de uma sobre a outra. Cenário semelhante pode ser verificado nas ilhas maiores do Príncipe e São Tomé. Aí também deve ser considerado seriamente a monitorização de *Hemidactylus mabouia* (**Artigo X**). O mesmo acontece na Ilha da Madeira, onde a introdução é recente e pela primeira vez assinalada por nós (**Artigo XII**), sendo também necessário monitorizar esta espécie nesta ilha. *Hemidactylus mabouia* apresenta uma distribuição vasta, sendo encontrada na África subsahariana e em muitas ilhas. Foi introduzida em vários locais da América Central e América do Sul e na Florida (Powell *et al.*, 1998), e por isso não podemos afirmar de que local foram introduzidos os exemplares estudados, sendo necessário uma amostragem exaustiva ao longo da área de distribuição da espécie.

O indivíduo juvenil do género *Hemidactylus* de São Vicente que não pode ser identificado usando caracteres morfológicos, é geneticamente muito similar a *Hemidactylus mabouia* do GenBank (100% de suporte) e é provavelmente desta espécie (**Artigo VII**), sendo o primeiro registo para Cabo Verde. Deve ter sido introduzido recentemente, pois nem nós nem Carranza capturámos outros indivíduos desta espécie. A ameaça para as espécies nativas não deve ser subestimada pois, por exemplo, nas ilhas Mascarenhas as osgas endémicas do género *Nactus* foram provavelmente eliminadas pela introdução de *Hemidactylus frenatus* (Arnold, 2000a). Esta razão justifica só por si um acompanhamento da dispersão da espécie pelas ilhas de Cabo Verde. Com a chegada de *H. mabouia* ao Arquipélago e dado que em relação a trabalhos antigos as populações de *H. bowieri* se tem vindo a reduzir, é de considerar *H. mabouia* como possível e provável ameaça à sobrevivência da espécie endémica (**Artigo VII**).

As espécies introduzidas apresentam distribuições vastas no continente e exceptuando *Ramphotyphlops braminus* (em Annobon) (**Artigo XI**) são essencialmente osgas (família gekkonidae) (**Artigos VII, X, XI, XII**), o que poderá querer dizer que, além do carácter antropófilo, este grupo apresenta maior capacidade de colonização das ilhas.

É provável que tenhamos encontrado uma nova espécie de *Hemidactylus* em São Tomé (Tabela 12). Apesar da proximidade, esta forma de São Tomé diferencia-se bem da de Annobon quer pelo DNA mitocondrial quer pelo DNA nuclear. A grande divergência entre estes grupos (21 % da região do citocromo b sequenciada) excede os valores observados para as espécies de répteis (Harris, 2002).

O DNA mitocondrial revelou uma considerável variação entre as ilhas de Cabo Verde o que nos ajudou a compreender a sistemática do grupo e a adquirir conhecimento essencial para a conservação das espécies (**Artigo V**). Muitos *taxa* ou grupos genéticos, têm áreas de distribuição muito restritas, alguns existem apenas numa ilha. E tendo em conta a extinção certamente mediada pelo homem de *Macrosclincus coctei*, uma forma restrita aos ilhéus Branco e Raso, é de ter cuidados redobrados no futuro para garantir a existência da diversidade de *taxa* ou dos grupos geneticamente distintos encontrados.

O DNA mitocondrial revelou-se portanto uma ferramenta importante na detecção de espécies introduzidas (**Artigos VII, X, XI, XII**).

É bem possível que o grau de endemidade dos répteis de Cabo Verde atinja os 100 % (excluindo as espécies introduzidas pelo homem) e não de 60 % conforme sugerido por García-Talavera (1998).

Tabela 12. Lista comentada de espécies consideradas nesta dissertação e identificadas nas nossas expedições. Os pontos de interrogação significam necessidade de vários estudos.

Espécie	Local	Referência	Comentários
	ARQUIPÉLAGOS DA MADEIRA E SELVAGENS		
<i>Lacerta dugesii</i>	Arquipélagos da Madeira e selvagens	Artigos I, II, III, IV e XIII	
<i>Lacerta dugesii mauii</i>	Arquipélago da Madeira: Desertas	Artigos I, II e III	Retoma da subespécie descrita por Mertens (1938) e abandonada por Bischoff <i>et al.</i> (1989)
<i>Lacerta dugesii jogeri</i>	Arquipélago da Madeira: Porto Santo	Artigos I, II e III	Dúvidas quanto ao estatuto taxonómico
<i>Lacerta dugesii selvagensis</i>	Selvagens	Artigos I, II e III	Dúvidas quanto ao estatuto taxonómico
<i>Lacerta dugesii dugesii</i>	Ilha da madeira	Artigos I, II e III	Dúvidas quanto ao estatuto taxonómico
<i>Hemidactylus mabouia</i>	Ilha da Madeira – Funchal	Artigo XII	Primeira citação para a Ilha da Madeira

Tabela 12 (continuação)

	CABO VERDE		
<i>Mabuya delalandii</i>	Arquipélago de Cabo Verde: Santiago, Fogo	Artigo V	
<i>Mabuya vaillanti</i>	Arquipélago de Cabo Verde: Santiago, Fogo	Artigo V	
<i>Mabuya fogoensis</i>	Arquipélago de Cabo Verde: Santo Antão; São Nicolau	Artigo V	Será a forma de São Nicolau um <i>taxon</i> distinto ao nível subespecífico ou específico ?
<i>Mabuya stangeri</i>	Arquipélago de Cabo Verde: São Vicente, Raso	Artigo V	
<i>Mabuya spinalis</i>	Arquipélago de Cabo Verde: Maio, Fogo, Santiago	Artigo V	Serão três <i>taxa</i> diferentes consoante a ilha ocupada ?
<i>Mabuya salensis</i>	Arquipélago de Cabo Verde: Sal, Boavista.	Artigo V	Será uma subespécie de <i>M. spinalis</i> ? Serão duas subespécies, a da Boavista e a do Sal ?
<i>Tarentola caboverdiana nicolanensis</i>	Arquipélago de Cabo Verde: São Nicolau, São Vicente	Artigo VI	Subespécie mais distinta de <i>T. caboverdiana</i>
<i>Tarentola caboverdiana caboverdiana</i>	Arquipélago de Cabo Verde: Santo Antão	Artigo VI	Deverá também constituir uma subespécie
<i>Tarentola caboverdiana substituta</i>	Arquipélago de Cabo Verde: São Vicente	Artigo VI	Será uma subespécie, ou será a mesma coisa do que <i>T.c. raziana</i>
<i>Tarentola caboverdiana raziana</i>	Arquipélago de Cabo Verde: Ilhéu Razo	Artigo VI	Será uma subespécie, ou será a mesma coisa do que <i>T.c. substituta</i>
<i>Tarentola gigas</i>	Arquipélago de Cabo Verde: São Nicolau	Artigo VI	Duas subespécies são reconhecidas actualmente: <i>T.g. gigas</i> (Razo) e <i>T. g brancoensis</i> (Branco). Nossos dados não parecem suportá-las. Um exemplar de São Nicolau deverá ser uma subespécie nova e a primeira citação para esta ilha
<i>Tarentola darvini</i>	Arquipélago de Cabo Verde: Santiago, Fogo, São Nicolau	Artigo VI	
<i>Tarentola rudis</i>	Arquipélago de Cabo Verde	Artigo VI	<i>Taxon</i> irmão de <i>Tarentola gigas</i> . Subespécies reconhecidas: <i>T. r. rudis</i> , <i>T. r. protogigas</i> , <i>T. r. bartogi</i> e <i>T. r. boavistensis</i> (muito distinta e que se agrupa com <i>T. darvini</i> de São Nicolau – Serão dois <i>taxa</i> distintos dos já conhecidos ?)
<i>Hemidactylus bouvieri</i>	Arquipélago de Cabo Verde: Boavista, Sal	Artigos VII e X	É provável que já tenha desaparecido das outras ilhas do arquipélago.
<i>Hemidactylus brooki</i>	Arquipélago de Cabo Verde: Santo Antão; Guiné-Bissau	Artigo VII	Provavelmente introduzida, excepto no Sal.
<i>Hemidactylus mabouia</i>	Arquipélago de Cabo Verde: São Vicente	Artigo VII	Primeira citação para o arquipélago

Tabela 12 (continuação)

	GOLFO DA GUINÉ		
<i>Mabuya ozorii</i>	Annobon	Artigos IX e XI	Não referida na “EMBL Reptile database”
<i>Mabuya affinis</i>	Príncipe	Artigo IX	
<i>Mabuya maculilabris</i>	São Tomé e Príncipe	Artigos VIII e IX	Provavelmente deverão ser <i>taxa</i> diferentes (espécies diferentes), constituintes dum complexo <i>Mabuya maculilabris</i> onde também se enquadra por exemplo <i>Mabuya comorensis</i> . A espécie não foi introduzida em São Tomé e Príncipe
<i>Panspis africana</i>	São Tomé, Príncipe e Annobon	Artigo XI; Dados não publicados	Dados recentes: forma de Annobon deverá ser pelo menos uma subespécie diferente. Deverá ser provavelmente <i>Panspis annobonensis</i> . Estes dados também parecem indicar pelo menos diferentes subespécies entre Príncipe e São Tomé (baseado em dados preliminares de sequências de DNA)
<i>Feylinia polylepis</i>	Príncipe	Dados não publicados	
<i>Hemidactylus mabouia</i>	São Tomé, Príncipe e Annobon	Artigos X e XI	Introduzida; primeiro registo para Annobon
<i>Hemidactylus newtonii</i>	Annobon	Artigo X e XI	
<i>Hemidactylus spp.</i>	São Tomé- São Nicolau	Artigo X	Espécie não descrita (?) e próxima de <i>H. newtonii</i>
<i>Hemidactylus greeffii</i>	São Tomé (Vale do Contador) e Príncipe	Artigo X	Serão dois <i>taxa</i> distintos (subespécies ou espécies distintas) ?
<i>Lygodactylus thomensis</i>	São Tomé, Príncipe e Annobon	Artigo XI; Dados não publicados	Provavelmente temos pelo menos 2 <i>taxa</i> diferentes (estatuto ?)
<i>Philothamnus girardi</i>	Annobon	Artigo XI	
<i>Philothamnus thomensis</i>	São Tomé e Príncipe	Dados não publicados	
<i>Lamprophis lineatus bedruigae</i>	São Tomé e Príncipe (?)	Dados insuficientes	
<i>Hapsidophrys smaragdina</i>	São Tomé (?)	Dados insuficientes	
<i>Naja melanoleuca melanoleuca</i>	São Tomé	Dados não publicados	
<i>Rhinotyphlops feae</i>	São Tomé e Príncipe (?)	Dados insuficientes	
<i>Rhinotyphlops newtoni</i>	São Tomé e Príncipe (?)	Dados insuficientes	
<i>Typhlops elegans</i>	Príncipe (?)	Dados insuficientes	
<i>Ramphotyphlops braminus</i>	Annobon	Artigo XI	Introduzida; primeiro registo para Annobon

Não tendo testado propriamente a relação entre o número de espécies e a área, a distância, a idade ou a latitude das ilhas, porque não adoptamos a metodologia adequada em estudos corológicos; podemos, no entanto, tecer alguns comentários sobre este tema. Assim, partindo do pressuposto que amostramos todas as linhagens possíveis porque as ilhas consideradas não eram muito grandes, podemos dizer que no geral:

- 1- De Norte para Sul, a diversidade taxonómica tende a aumentar como era esperado pela regra do aumento do número de espécies com a diminuição da latitude (Rosenzweig, 1985);
- 2- Contudo em Cabo Verde o número de espécies de *Mabuya* spp. e *Tarentola* spp. é maior do que o número de *Mabuya* spp. e *Hemidactylus* spp. das ilhas do Golfo da Guiné. Provavelmente isto dever-se-á ao facto de Cabo Verde ser um arquipélago com 10 ilhas e mais alguns ilhéus que contribuem para a existência de várias colonizações e diferenciações inter-ilhas e assim o aumento do número de *taxa* relacionados;
- 3- Nas ilhas do Golfo da Guiné, o número de espécies relacionadas é menor, ou seja existem por exemplo menos espécies do género *Mabuya*, mas por outro lado o número de grupos não relacionados ou grupos sujeitos a colonizações diferentes é claramente superior no Golfo da Guiné:
 - a) enquanto que nos outros arquipélagos da Madeira e Cabo Verde existem essencialmente 2 famílias de répteis terrestres, no Golfo da Guiné encontramos várias famílias nomeadamente, scincidae, gekkonidae, colubridae, typhlopidae e elapidae;
 - b) se considerarmos a família scincidae, embora em Cabo Verde se note a existência de mais espécies de *Mabuya* relacionadas, no Golfo da Guiné a mesma família possui 3 géneros distintos e bem afastados filogeneticamente, *Feylinia*, *Mabuya*, *Panaspis* (ou *Afroablepharus*), e por exemplo dentro de *Mabuya* spp., as espécies existentes são oriundas de 4 eventos de colonização independentes. Isto poderá dever-se à maior proximidade destas ilhas ao continente;
 - c) as diferenças também podem dever-se ao facto das ilhas estarem ou não em arquipélago, implicando estarem respectivamente menos sujeitas ou não a radiação inter-ilhas, e também ao facto das fontes de aprovisionamento de espécies continentais serem mais ricas.

- 4- No Golfo da Guiné parece não existir uma relação positiva e clara entre a idade da ilha e o número de espécies, apesar da mais nova apresentar menor número de espécies. No entanto sendo o Príncipe a mais velha seria de esperar maior número de espécies, no entanto o número é semelhante ao encontrado em São Tomé. A área da ilha parece também não apresentar uma relação positiva clara, já que São Tomé e Príncipe apresentam números semelhantes de espécies mas áreas bastante díspares. A distância ao continente deveria determinar uma maior riqueza específica no Príncipe e menor em Annobon. Se para a segunda é uma realidade para a primeira não é.
- 5- Se fizermos uma análise conjunta dos vários factores, o Príncipe apresenta um número de espécies por unidade de área maior em relação a São Tomé, podendo ser devido à maior idade e à maior proximidade ao continente.
- 6- Em Cabo Verde o panorama é mais complicado com ilhas (Razo) pequenas com várias espécies e com ilhas grandes (Santo Antão) com apenas 2 espécies nativas. Depois não parece existir relação entre proximidade ao continente e idade da ilha em relação ao número de espécies.”

7.5. *C-mos nos estudos filogenéticos*

Se o *c-mos* e o DNA mitocondrial evoluem de acordo com um relógio molecular, então a taxa relativa de divergência genética entre *taxa* deverá ser igual em diferentes grupos. As substituições no *c-mos* acumulam-se a uma taxa similar às transversões nos genes mitocondriais codificadores de proteínas nos pássaros (Lovette & Bermingham, 2000). Nas espécies do género *Mabuya* de Cabo Verde, os *taxa* apresentam níveis consideravelmente inferiores de taxas de substituição em relação às osgas, nas porções do DNA mitocondrial analisadas, mas apresentavam onze substituições no *c-mos* (**Artigo V**), ao contrário das osgas *Tarentola* que apenas apresentavam duas substituições neste gene (**Artigo VI**). As osgas têm geralmente maiores níveis de divergência no DNA mitocondrial entre espécies do que outro tipo de lagartos e lagartixas (Harris, 2001). Isto poderá resultar num artefacto em taxonomia ou seja, por exemplo, as osgas podem ser morfologicamente mais conservativas de tal forma que algumas espécies podem ter sido simplesmente negligenciadas ou não consideradas. Contudo se a variação do *c-mos* é baixa entre as espécies de osgas pode implicar que estas tenham maiores taxas de divergência do DNA mitocondrial do que os outros répteis terrestres do arquipélago, o que iria afectar as calibrações dos relógios moleculares usados.

Por iss será necessária uma maior amostragem quer de DNA mitocondrial quer de *c-mos* destes grupos de répteis.

Este proto-oncogene, regulador da maturação meiótica (Yew *et al.*, 1993), é actualmente um dos genes nucleares mais utilizados no estudo das relações entre espécies de répteis (**Artigos V, VI, X**; Carranza *et al.*, 2002; Donnellan *et al.*, 1999; Harris *et al.*, 1999b; Joger *et al.*, 2001; Pelegrino *et al.*, 2001; Saint *et al.*, 1998; Slowinski & Lawson, 2002). Nestes estudos não foram registados heterozigóticos, o que poderá indicar uma variabilidade intraespecífica muito baixa, apesar de ter sido registada alguma variação em *Lacerta schreiberi* (Domingues *et al.*, 2001) e osgas do género *Tarentola* (Harris *et al.*, 2004b).

A utilização de sequências de genes nucleares nos estudos filogenéticos não é tão linear e simples como a utilização de sequências de DNA mitocondrial. Existem argumentos teóricos que indicam que as árvores construídas a partir de genes nucleares poderão ser menos congruentes com as topologias das espécies do que quando se utiliza o DNA mitocondrial (Moore, 1995). O padrão de ramificação numa topologia génica deverá corresponder à topologia das espécies se ocorrer coalescência entre bifurcações ou eventos de especiação. A probabilidade de coalescência aumenta à medida que diminui o tamanho efectivo numa população. Assim, o DNA mitocondrial com um quarto do tamanho efectivo da população em relação ao DNA nuclear, apresenta maiores “capacidades” de obter uma topologia semelhante à das espécies.

Foram encontradas três posições variáveis num fragmento deste gene com cerca de 370 bp (**Artigo XIII**) em *Lacerta dugesii*. As modificações envolviam a primeira, a segunda e a terceira posição do codão. Apesar de cada conjunto de ilhas possuir linhagens monofiléticas para o DNA mitocondrial (**Artigo I**), o *c-mos* não apresenta este cenário, i.e., a variação do *c-mos* não está fixa dentro de cada ilha. Oito dos 29 animais sequenciados eram heterozigóticos para a primeira ou segunda posições do codão. Estas alterações acarretam a substituição dos aminoácidos (GTA-ATA e ATT-ACT respectivamente).

Em *Lacerta dugesii* as substituições no *c-mos* correspondem ao mesmo número de transversões no 12S, mas é muito menor do que o número de transversões observadas quando se combina o 12S com o citocromo b (**Artigo XIII**). Parece assim que a relação entre a variação do *c-mos* e a variação do DNA mitocondrial não é linear nos diferentes *taxa*. Desta forma *Tarentola* spp. de Cabo Verde mostra baixos níveis de divergência no *c-mos* em relação aos elevados valores de divergência no DNA mitocondrial, ao contrário de *Mabuya* que apresenta maior divergência no *c-mos* em relação à divergência no DNA mitocondrial

(**Artigo VI**). Outros trabalhos também mostraram que as taxas de divergência relativa diferiam entre colubrídeos, teídeos e lacertídeos (Harris, 2003).

Em *Lacerta dugesii* a variação do DNA mitocondrial dentro dos grupos das ilhas é cerca de 1% (**Artigo I**). Tendo em conta um relógio molecular de cerca de 2% de divergência por milhão de anos, esta porção de DNA mitocondrial necessitará de cerca de 0,5 milhões de anos para coalescer. As principais linhagens do DNA mitocondrial de *L. dugesii* são quatro e correspondem à Madeira, Porto Santo, Desertas, que diferem cerca de 3-4 % uma da outra; e às Selvagens que diferem em cerca de metade (1-2%) com a Madeira. Isto implica que a coalescência dos grupos de ilhas se deu há cerca de 1,5 – 2 milhões de anos, e 750.000 a 1 milhão de anos entre a Madeira e as Selvagens. As linhagens são monofiléticas em cada grupo insular (**Artigo I**). O *c-mos* geralmente não coalesceu, e assim estudos utilizando *c-mos* para determinar os padrões de relações entre as formas que estão separadas por níveis semelhantes de divergência no DNA mitocondrial deverá examinar a variação intraespecífica. Contudo o *c-mos* dá também informação adicional sobre os padrões de colonização (**Artigo XIII**).

O *c-mos* poderá ser valioso como marcador em estudos filogenéticos e pode ser usado como marcador nuclear em estudos ao nível intraespecífico (**Artigo, XIII**), mesmo tendo em conta o desequilíbrio em codões (Harris, 2003).

O facto de encontrarmos elevados níveis de variação no DNA mitocondrial e baixos níveis de variação do *c-mos* nas osgas (**Artigos VI e X**), contrariamente ao que acontece com os outros grupos (menor variação mitocondrial e maior variação no *c-mos*), deverá indicar que a taxa de mutação no DNA mitocondrial (será também para o *c-mos* ?) não é a mesma nos vários grupos de animais ou seja, os relógios moleculares são distintos.

Nos trabalhos mais recentes sequenciamos porções do DNA nuclear da α -enolase. Este marcador parece mostrar variação onde o *c-mos* é conservativo e não informativo, podendo ser utilizado a níveis taxonómicos mais inferiores do que o *c-mos* (**Artigo X**; Whiting *et al.*, 2003). No entanto parece que este fragmento oferece problemas adicionais de laboratório, nomeadamente na sua amplificação (**Artigo X**; Whiting *et al.*, 2003).

7.6. A região controle (“Control Region, CR”) e zonas adjacentes

Num dos nossos estudos sequenciamos cerca de 3000 pares de bases da região controle do DNA mitocondrial em oito indivíduos de *Lacerta dugesii* (**Artigo III**).

Esta região caracterizou-se por uma baixa percentagem de guaninas (9,7%), um valor inferior ao encontrado noutros répteis (Macey *et al.*, 1997a). O tRNA^{Pro} parece estar sobre

acção duma selecção não muito restritiva na medida em que há acumulação dum número considerável de “indels” e de substituições nucleotídicas mesmo dentro da mesma espécie. Verificamos que os tRNA’s apresentavam elevado grau de polimorfismo comparado com outros vertebrados. Todas as sequências apresentavam um minisatélite que variava em tamanho entre populações mas era aparentemente fixo dentro de cada população. As sequências repetitivas ocorrem essencialmente perto da extremidade 3’ e parecem ser comuns (embora nem sempre nos mesmos locais e domínios) em vários organismos (Lunt *et al.*, 1998; Moritz & Brown, 1986; Savolainen *et al.*, 2000): tartarugas (Kumazawa & Nishida, 1999; Zardoya & Meyer, 1998), ursos (Matsushashi *et al.*, 1999), cobras e escincídeos (Kumazawa *et al.*, 1998; Kumazawa & Nishida, 1999) e iguanas (Janke *et al.*, 2001).

Os vários tipos de repetições encontrados em *L. dugesii* não seguem o padrão geral descrito por Hoelzel *et al.* (1994) e Savolainen *et al.* (2000) para os vertebrados em geral. A sequência CAACAA aparece duas vezes nesta espécie, uma a meio e outra nos domínios à esquerda da cadeia leve (“light strand”, LS) da região controle. Em *Iguana iguana* aparece três vezes consecutivas (como nas gaivotas), no domínio da esquerda imediatamente antes da região conservada conhecida como CSB-2 (Crochet & Desmarais, 2000). Macey *et al.* (1997b) encontraram repetições entre os pares aleatoriamente duplicados do tRNA^{Pro} de várias espécies. É então viável pensar que a sequência 5’TTT*TG3’ presente em cada repetição que se segue a cada tRNA^{Pro}, deverá ser uma reminiscência de duplicações imperfeitas deste tRNA.

Os elementos TAS associados a sítios de STOP na síntese de DNA são encontrados no extremo 3’ do D-loop (Doda *et al.*, 1981). Estes mesmos elementos foram registados neste trabalho e coincidem na sequência e direcção com os encontrados nas cobras (Kumazawa *et al.*, 1998), mas estão invertidos em relação aos registados por Saccone *et al.* (1987) para os vertebrados em geral. A região controle de *Lacerta dugesii* possui dois TAS na extremidade 3’ e 5’, contrariamente ao que acontece com os roedores (Brown *et al.*, 1986) e galiformes (que só têm um na extremidade 3’, Randi & Lucchini, 1988). Uma sequência TAS é a GYRCAT que é considerada como conservadora nas aves e nos mamíferos. A mesma sequência existe em *Lacerta dugesii* na região esquerda da Região Controle, primeiro como GTACAT e depois, sob a forma mais comum GTGCAT.

Uma característica comum associada à Região Controle de muitos organismos é a existência de zonas conservadas (CSBs) associadas ao início da síntese de DNA. Em *Lacerta dugesii*, as três zonas estão em zonas conservadas. O CSB-2 possui um motivo idêntico em

Lacerta dugesii e *Iguana iguana* (Janke *et al.*, 2001) e *Eumeces egregius* (Kumazawa & Nishida, 1999). Enquanto as similitudes entre répteis e mamíferos são elevadas no CSB-2, o mesmo já não acontece com as aves (**Artigo III**). O CSB-3 é semelhante nos vários répteis com apenas algumas diferenças em *Iguana iguana*. Verifica-se também homologia entre répteis, mamíferos e aves para este domínio. O bloco menos conservador é o CSB-1, mesmo dentro dos répteis, sendo muito difícil encontrar homologias entre mamíferos, aves e répteis. Já Crochet & Desmarais (2000) tinham registado em gaivotas grandes diferenças neste bloco, com a existência de estruturas secundárias. Em *Lacerta dugesii* o CSB-1 e as 100 bases precedentes não são variáveis e podem formar estruturas secundárias estáveis (Brown *et al.*, 1986; Crochet & Desmarais, 2000). Contudo, e excepto para o CSB-1, os outros domínios não formam estruturas secundárias estáveis. O CSB-1 apresenta um motivo conservado, AGACAT, similar ao GGACAT e aparentemente ligado ao LSP/HSP mitocondrial (Randi & Lucchini, 1998). A presença de dois sinais de STOP a seguir a estes motivos pode ser utilizada para abortar a transcrição da cadeia H. Esta constatação encontra paralelo nos mamíferos e aves (Clayton, 1982; Sbisà *et al.*, 1997; Randi & Lucchini, 1998). No geral encontramos fortes diferenças na Região Controle dos répteis quando comparado com os mamíferos e aves.

Constatamos também a utilidade desta região no estudo filogenético. Os nossos dados parecem indicar que o número de sequências repetitivas tem mudado ao longo do tempo. De facto as duas populações na Madeira diferem em 3 ou 4 repetições, tal como as populações das Selvagens (6 ou 8 repetições). Estas populações estão filogeneticamente suportadas (99 % de suporte) indicando que as mudanças ocorreram depois destes grupos se terem separado.

A árvore construída sob o pressuposto dum relógio molecular (1,96 para o citocromo b, Carranza *et al.*, 2000) não é diferente da obtida com o ML. Podemos estimar que as populações das Selvagens se separaram entre si há cerca de 100000 anos, o mesmo acontecendo com as Desertas. As populações da Madeira diferem em 900000 anos. Destes dados podemos inferir que as alterações no número de sequências repetitivas podem ocorrer num curto intervalo de tempo.

A Região Controle não tem sido muito utilizada em estudos filogenéticos em répteis talvez devido à presença de unidades repetitivas e à falta de primers universais. Com efeito trata-se de uma região longa e que necessita do uso de primer internos para a respectiva sequenciação, não sendo sempre fácil o seu desenho devido à variabilidade das sequências. O nosso estudo revelou que, apesar da menor variabilidade do que outras regiões mais

populares (por exemplo o citocromo b), esta região é muito boa para a resolução de filogenias intraespecíficas. Poderá a descoberta de algumas zonas repetitivas ainda ajudar no desenho futuro de novos primers bem como pode sob certas premissas, permitir datações. Assim, o número de sequências repetitivas também poderá ser um caractere filogenético importante. A variabilidade na Região Controle foi menor do que a encontrada no citocromo b mas foi maior do que a encontrada no 12 S rRNA. A análise filogenética das sequências desta região produziu uma estimativa das relações entre populações bem suportada.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADSERSEN, H. (1995). Research on islands: recent, and prospective approaches. Introduction-why focus on islands ?. In: VITTOUSEK, P.; LOOPE, L. & ADSERSEN, H. (eds.). *Islands. Biological diversity and ecosystem function*. Ecological Studies 115. Springer-Verlag. Berlin. Heidelberg. Pp. 7-21.
- AKA, F.; KUSAKABE, M.; NAGAO, K. & TANYILEKE, G. (2001). Noble gas isotopic compositions and water/gas chemistry of soda springs from the islands of Bioko, São Tomé and Annobon, along with Cameroon Volcanic Line, West Africa. *Applied Geochemistry* **16**: 323-328.
- ALCOVER, J. & MAYOL, J. (1982). Espèces relictuelles d'amphibiens et de reptiles des îles baléares et Pityuses: une extension des résultats. *Bulletin de la Société Herpétologique de France* **22**: 69-73.
- ALMAÇA, C. (1981). Formas de especiação nos animais. *Arquipélago* (série C.N.), (2): 7-35.
- ALMAÇA, C. (2001). Portugal and the Mediterranean: Biogeographic and conservation approaches. In VICENTE, L. & CRESPO, E. (2001). *Mediterranean Basin Lacertid Lizards – A Biological Approach*. Instituto da Conservação da Natureza. ICN 2001. Pp 15-20.
- ALVES, C. & FORJAZ, V. (1991). L'Archipel de Madère: un aperçu volcanologique. *Açoreana* **7**: 235-245.
- ANDERSEN, N. (1998). Marine water striders (Heteroptera, Gerromorpha) of Indo-Pacific: Cladistic biogeography and Cenozoic paleogeography. In: HALL, R. & HOLLOWAY, J. *Biogeography and geological evolution of SE Asia*. Blackhuys Publishers. Leiden. The Netherlands. Pp. 341-354.
- ANDERSON, S. (1999). *The Lizards of Iran*. Society for the Study of Amphibians and Reptiles. New York.
- ANDREONE, F. (2000). Herpetological observations on Cape Verde: a tribute to the italian naturalist Leonardo Fea, with complementary notes on *Macrosцинus coctei* (Duméril & Bibron, 1839) (Squamata: Scincidae). *Herpetozoa* **13**: 15-26.
- ANDREONE, F. & GUARINO, F. (2003). Giant and long-lived? Age structure in *Macrosцинus coctei* an extinct skink from Cape Verde. *Amphibia-Reptilia* **24**: 459-470.
- ANDREONE, F.; VENCES, M.; VIEITES, D.; GLAW, F. & MEYER, A. (2005). Recurrent ecological adaptations revealed through a molecular analysis of the secretive cophyline frogs of Madagascar. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **34**: 315-322.
- ANDREWS, R. (1979). Evolution of life histories: a comparison of *Anolis* lizards from matched island and mainland habitats. *Breviora* **454**: 1-51.
- ANGEL, F. (1935). Sur la faune hérapétologique de L'Archipel du Cap Vert. Extrait des Comptes Rendus du XII^e Congrès International de Zoologie. Lisbonne. Pp. 1693-1700.
- ANGUITA, F. & HERNÁN, F. (2000). The Canary Islands origin: a unifying model. *Journal of Volcanology and Geothermal Research* **103**: 1-26.
- ANTÚNEZ, A. & MENDOZA, M. (1992). Factores que determinan el área de distribución geográfica de las especies: conceptos, modelo y métodos de análisis. In: VARGAS, J.; REAL, R.; ANTÚNEZ, A. (eds.). *Objetivos y métodos biogeográficos. Aplicaciones en herpetología*. Monografías de Herpetología. Vol. 2. Asociación Herpetológica Española. Pp 51-72.
- ARBOGAST, B. & KENAGY, G. (2001). Comparative phylogeography as an integrative approach to historical biogeography. *Journal of Biogeography* **28**: 819- 825.
- ARCTANDER, P. (1995). Comparison of a mitochondrial gene and a corresponding nuclear pseudogene. *Proceedings of the Royal Society of London B*. **262**: 13-19.
- ARNASON, U. & GULLBERG, A. (1993). Comparison between the complete mtDNA sequences of the blue and fin whale, two species that can hybridize in nature. *Journal of Molecular Evolution* **37**: 312-322.
- ARNASON, U.; GULLBERG, A.; GRETARSDOTTIR, S. & JANKE, A. (2000). The mitochondrial genome of the sperm whale and a new molecular reference for estimating eutherian divergence dates. *Journal of Molecular Evolution* **50**: 569-578.
- ARNOLD, E. (1973) Relationships of the palaearctic lizards assigned to the genera *Lacerta*, *Algyroides* and *Psammodromus* (Reptilia: Lacertidae). *Bulletin of British Museum (Natural History) Zoology* **29**: 289-366.
- ARNOLD, E. (1989). Towards a phylogeny and biogeography of the Lacertidae: relationships within an Old-World family of lizards derived from morphology. *Bulletin of British Museum (Natural History) Zoology* **55**: 209-257.
- ARNOLD, E. (1993). Phylogeny and the lacertidae. In: VALAKOS, E; BÖHME, W.; PÉREZ-MELLADO, V. & MARAGOU, P. (eds.). *Lacertids of Mediterranean Region*. Hellenic Zoological Society. Pp 1-16.
- ARNOLD, E. (2000a). Using fossils and phylogenies to understand evolution of reptile communities in islands. *Bonner zoologische Monographien* **46**: 309-323.
- ARNOLD, E. (2000b). The gender of *Podarcis* and the virtues of stability, a reply to W. Böhme. *Bonner zoologische Beiträge* **49**: 56-58.
- ASHLEY, M. (1989). Absence of differentiation in mitochondrial DNA of island and mainland Harvest mice, *Reithrodontomys megalotis*. *Journal of Mammalogy* **70**: 383-386.
- ASHTON, K. & De QUEIROZ, A. (2001). Molecular systematics of the western rattlesnakes, *Crotalus viridis* (Viperidae), with comments on the utility of the D-Loop in phylogenetic studies of snakes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **21**: 176-189.
- ATTARDI, G. (1985). Animal mitochondrial DNA: An extreme example of genetic economy. *International Review of Cytology* **93**: 93-145.
- AULIYA, M.; MAUSFELD, P.; SCHMITZ, A. & BÖHME, W. (2002). Review of the reticulated python (*Python reticulatus* Schneider, 1801) with the description of new species from Indonesia. *Naturwissenschaften* **89**: 201-213.
- AUSTIN, C. & ZUG, G. (1999). Molecular and morphological evolution in the south-central Pacific skink *Emoia tongana* (Reptilia: Squamata): uniformity and human mediated dispersal. *Australian Journal of Zoology* **47**: 425-437.
- AUSTIN, C.; ARNOLD, E. & JONES, C. (2004). Reconstructing an island radiation using ancient and recent DNA: the extinct and living day geckos

- (*Phelsuma*) on the Mascarene Islands. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **31**: 109-122.
- AVISE, J. (1989a). Gene trees and organismal histories: a phylogenetic approach to population biology. *Evolution* **43**: 1192-1208.
- AVISE, J. (1989b). Mitochondrial DNA and the evolutionary genetics of higher animals. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B* **312**: 325-342.
- AVISE, J. (1991). Ten unorthodox perspectives on evolution prompted by comparative population genetics findings on mitochondrial DNA. *Annual Review of Genetics* **25**: 45-69.
- AVISE, J. (1992). Molecular population structure and the biogeographic history of a regional fauna: a case history with lessons for conservation biology. *Oikos* **63**: 62-76.
- AVISE, J. (1994). *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. Chapman & Hall, New York, London.
- AVISE, J. (1998). The history and purview of phylogeography: a personal reflection. *Molecular Ecology* **7**: 371-379.
- AVISE, J. (2000). *Phylogeography: The history and formation of species*. Harvard University Press. Cambridge and London.
- AVISE, J. & WOLLENBERG, A. (1997). Phylogenetics and the origin of species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **94**: 7748-7755.
- AVISE, J.; ARNOLD, J.; BALL, R.; BERMINGHAM, E.; LAMB, T.; NEIGEL, J.; REEB, C. & SAUNDERS, N. (1987). Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics* **18**: 489-522.
- AVISE, J.; BROWN, B.; LAMB, T.; MEYLAN, A. & BERMINGHAM, E. (1992). Mitochondrial DNA evolution at a turtle's pace: evidence for low genetic variability and reduced microevolutionary rate in testudines. *Molecular Biology and Evolution* **9** (3): 457-473.
- AVISE, J.; NELSON, W. & SIBLEY, C. (1994). Why One-kilobase sequences from mitochondrial DNA fail to solve the hoatzin phylogenetic enigma. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **3**: 175-184.
- AVISE, J.; WALKER, D. & JOHNS, G. (1998). Speciation durations and Pleistocene effects on vertebrate phylogeography. *Proceedings of the Royal Society of London B* **265**: 1707-1712.
- BÁEZ, M. (1982a). Estudio biogeográfico de la superfamilia Muscoidea en la Macaronesia con especial referencia a las islas Canarias (Insecta, Díptera). *Boletim da Sociedade Portuguesa de Entomologia* **7** (Supl.A): 257-273.
- BÁEZ, M. (1982b). Consideraciones sobre las características zoogeográficas de la fauna de Canarias. *Instituto de Estudios Canarios. 50º Aniversario*. 23-70.
- BÁEZ, M. (1988). Análisis faunístico de los Dípteros de la Laurissilva de Tenerife, Islas Canarias (Insecta, Díptera). *Boletín de la Asociación Española de Entomología* **12**: 181-208.
- BÁEZ, M. (1990). Observaciones sobre colorido y diseño de *Podarhis dugesii* en la isla de Madeira. *Vieraea* **18**: 197-203.
- BÁEZ, M. (1993). Origins and affinities of the fauna of Madeira. *Boletim do Museu Municipal do Funchal*, Suppl. 2: 9-40.
- BÁEZ, M. & BISCOITTO, M. (1993). First record of *Tarentola mauritanica mauritanica* from the island of Madeira (NE Atlantic). *First Symposium of Fauna and Flora of the Atlantic Islands*. October, 1993, Funchal, Madeira. Abstracts. Pp. 7.
- BÁEZ, M. & BROWN, R. (1997). Testing multivariate patterns within-island differentiation in *Podarhis dugesii* from Madeira. *Journal of Evolutionary Biology* **10**: 575-587.
- BÁEZ, M. & SANCHEZ-PINTO (1983). *Islas de fuego y agua*. Edirca S.L.. Las Palmas.
- BAKER, A. (2000). Molecular ecology. In: BAKER, A. (ed.). *Molecular methods in ecology*. Blackwell Science Ltd. Pp. 1-6.
- BALLARD, J. & KREITMAN, M. (1995). Is mitochondrial DNA a strictly neutral marker?. *Trends in Ecology & Evolution*. **10**: 485-488.
- BALLARD, J. & WHITLOCK, M. (2004). The incomplete natural history of mitochondria. *Molecular Ecology* **13**: 729-744.
- BAPTESTE, E. & PHILIPPE, H. (2002). The potential value of indels as phylogenetic markers: position of Trichomonads as a case study. *Molecular Biology and Evolution* **19**: 972-977.
- BARBADILLO, L. (1987). *La guía de INCAFO de los anfibios y reptiles de la Península Iberica, Islas Baleares y Canarias*. INCAFO, S. A.. Madrid.
- BARBER, P. (1999). Phylogeography of the canyon treefrog, *Hyla arenicolor* (Cope) based on mitochondrial DNA sequence data. *Molecular Ecology* **8**: 547-562.
- BAROME, P.; MONNEROT, M & GAUTUN, J. (1998). Intraspecific phylogeny of *Acomys* (Rodentia, Muridae) using mitochondrial gene cytochrome b. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **9**: 560-566.
- BARTON, N. (1988). Speciation. In: MYERS, A. & GILLER, P. (eds.) (1988). *Analytical biogeography: An integrated approach to the study of animal and plant distributions*. Chapman & Hall.
- BARTON, N. (1998). Natural selection and random genetic drift as causes of evolution on islands. In: GRANT, P. (ed.). *Evolution on islands*. Oxford University Press. Pp. 102-123.
- BARTON, N. & HEWITT, G. (1989). Adaptation, speciation and hybrid zones. *Nature* **341**: 497-502.
- BAUER, A. (1992). Echsen. In: COGGER, H. & ZWEIFEL, R. (eds.). *Reptilien & Amphibien*. Jahr Verlag, Hamburg.
- BAUER, A. (2003). On the identity of *Lacerta punctata* Linnaeus 1758, the type species of genus *Euprepis* Wagler 1830, and the generic assignment of Afro-Malgasy skinks. *African Journal of Herpetology* **52**: 1-7.
- BAUER, A. & PAUWELS, O. (2002). A new forest-dwelling *Hemidactylus* (Squamata: Gekkonidae) from Gabon, West Africa. *African Journal of Herpetology* **51**: 1-8.
- BAUM, D. (1992). Phylogenetic species concepts. *Trends in Ecology & Evolution* **7**: 1-2.

- BAVERSTOCK, P. & DONNELAN, S. (1990). Molecular evolution in australian dragons and skinks: A progress report. *Memoirs of the Queensland Museum* **29**: 323-331.
- BEEBY, A. (1993). *Applying Ecology*. Chapman & Hall.
- BEHEREGARAY, L.; CIOFI, C.; CACCONE, A.; GIBBS, J. & POWELL, J. (2003). Genetic divergence, phylogeography and conservation units of giant tortoises from Santa Cruz and Pinzón, Galápagos Islands. *Conservation Genetics* **4**: 31-46.
- BELTRÁN, M.; JIGGINS, C.; BULL, V.; LINARES, M.; MALLET, J.; McMILLAN, W. & BERMINGHAM, E. (2002). Phylogenetic discordance at the species boundary: comparative gene genealogies among rapidly radiating *Heliconius* butterflies. *Molecular Biology and Evolution* **19**: 2176-2190.
- BENNETTS, R. Q.; GRADY, J.M.; ROHDE, F. C. & QUATTRO, J. M. (1999). Discordant patterns of morphological and molecular change in broadtail madtoms (genus *Noturus*). *Molecular Ecology* **8**: 1563-1569.
- BENSASSON, D.; ZHANG, D. & HEWITT, G. (2000). Frequent assimilation of mitochondrial DNA by grasshopper nuclear genomes. *Molecular Biology and Evolution* **17**: 406-415.
- BENSASSON, D.; ZHANG, D.; HARTL, D. & HEWITT, G. (2001). Mitochondrial pseudogenes: evolution's misplaced witness. *Trends in Ecology & Evolution* **16**: 314-321.
- BENSCH, S. & HÄRLID, A. (2000). Mitochondrial genomic rearrangements in song birds. *Molecular Biology and Evolution* **17**: 107-113.
- BENTON, M. (1998). Molecular and morphological phylogenies of mammals: congruence with stratigraphic data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **9**: 398-407.
- BERMINGHAM, E. & MORITZ, C. (1998). Comparative phylogeography: concepts and applications. *Molecular Ecology* **7**: 367-369.
- BERNATCHEZ, L. & OSINOV, A. (1995). Genetic diversity of trout (genus *Salmo*) from its most eastern native range based on mitochondrial DNA and nuclear gene variation. *Molecular Ecology* **4**: 285-297.
- BERNATCHEZ, L. & WILSON, C. (1998). Comparative phylogeography of Nearctic and Palearctic fishes. *Molecular Ecology* **7**: 431-452
- BERNSTRÖM, J. (1951). Checklist of the breeding birds of the Archipelago of Madeira. *Boletim do Museu Municipal do Funchal* **2**: 63-82.
- BERRY, J. (1986). Genetics of insular populations of mammals, with particular reference to differentiation and founder effects in british small mammals. *Biological Journal of the Linnean Society* **28**: 205-230.
- BERRY, R. (1989). Ecology: where genes and geographic meet. *Journal of Animal Ecology* **58**: 733-759.
- BERTIN, L. (1943). La faune herpetologique des îles Atlantiques dans ses rapports avec la paléogéographie de ces archipels. C.- R. *somm. Séances Soc. Biogéographie*.
- BERTIN, L. (1946). Le peuplement des îles Atlantides en vertébrés hétérothermes. In: Lechavalier, P. *Contribution à l'étude du peuplement des îles Atlantides. Société de Biogéographie. Mémoires*, 8: 87-107. Paris.
- BEYHL, F.; MIES, B. & OHM, P. (1995). Macronesia – A biogeographic puzzle. *Boletim do Museu Municipal do Funchal Sup. N°4*: 107-113.
- BIRT, T. & BAKER, A. (2000). Polymerase chain reaction. In: BAKER, A. (ed.). *Molecular methods in ecology*. Blackwell Science Ltd. Pp. 50-64.
- BIRT, T.; FRIESEN, V.; GREEN, J.; MONTEVECCHI, W. & DAVIDSON, W. (1992). Cytochrome b sequence variation among parrots. *Hereditas* **117**: 67-72.
- BISCHOFF, W. (1997). *Gallotia galloti* (OUDART, 1839) – Kanaren-eidechse. In: BISCHOFF, W. (ed.). *Handbuch der Reptilien und Amphibien Europas*. Vol. 6 – Die Reptilien der Kanarischen Inseln, der Selvagens-Inseln und des Madeira-Archipels. Wiesbaden (Aula).
- BISCHOFF, W. (1998). Die Reptilien der Kanarischen Inseln, der Selvagens-Inseln und des Madeira-Archipels. In: BÖHME, W. (1998). *Handbuch der Reptilien und Amphibien Europas*. AULA-Verlag Wiesbaden.
- BISCHOFF, W.; OSENEGG, K. & MAYER, W. (1989). Untersuchungen zur Subspezifischen Gliderung der Madeira-Mauereidechse, *Podarcis dugesii* (MILNE-EDWARDS, 1829). *Salamandra* **25**: 237-259.
- BISCOITO, M. & ZINO, F. (2002). *Aves do Arquipélago da Madeira*. Direcção Regional de Ambiente. Funchal.
- BLACKBURN, D. ; VITT, L. & BEUCHAT, C. (1984). Eutherian-like reproductive specializations in a viviparous reptile. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **81**: 4860-4863.
- BLANCHETTE, R. (2002). *Le problème de la classification en zoologie*. Thèse de Doctorat en Philosophie. Faculté de Philosophie. Université Laval.
- BLONDEL, J. (1979). *Biogéographie et Écologie*. Collection d'Écologie. N° 15. Masson. Paris.
- BLONDEL, J. (1985). Breeding strategies of the blue tit and coal tit (*Parus*) in mainland and island mediterranean habitats; a comparison. *Journal of Animal Ecology* **54**: 531-556.
- BLONDEL, J. (1986). *Biogéographie évolutive*. Masson. Paris.
- BLOOM, A. (1971). Glacial-eustatic and isostatic controls at sea level since the last glaciation. In: TUREKIAN, K. (ed.). *The late Cenozoic glacial ages: New Haven*. Conn. Yale University Press. Pp. 355-579.
- BOBYN, M.; DAREVSKY, I.; KUPRIYANOVA, L.; MacCULLOCH, R.; UPTON, D.; DANIELYAN, F. & MURPHY, R. (1996). Allozyme variation in populations of *Lacerta raddei* and *Lacerta nairensis* (Sauria: Lacertidae) from Armenia. *Amphibia-Reptilia* **17**: 233-246.
- BOCAGE, J. (1875). Sur deux reptiles nouveaux de l'Archipel du Cap-Vert. *Jornal de Sciencias Mathematicas Physicas e Naturais* **V** (18): 108-112.
- BOCAGE, J. (1886). Note additionnelle sur les reptiles de St. Thomé. *Jornal de Sciencias Mathematicas Physicas e Naturais* **XI** (42): 103-104.
- BOCAGE, J. (1890). Sur une espèce nouvelle à ajouter à la faune erpétologique de St. Thomé et Rolas. *Jornal de Sciencias Mathematicas Physicas e Naturais*, 2^a Série. **II** (5): 61-62.

- BOCAGE, J. (1892). Sur le «*Hemidactylus mabouia*», var. «Molleri», Bedriaga, de St. Thomé. *Jornal de Sciencias Mathematicas Physicas e Naturais*, 2ª Série. **II** (7): 221.
- BOCAGE, J. (1893a). Mammiferos, aves e reptis da Ilha de Anno-Bom. *Jornal de Sciencias Mathematicas Physicas e Naturais*, 2ª Série. **III** (9): 43-46.
- BOCAGE, J. (1893b). Diagnoses de deux nouveaux reptiles de l'Île de Anno-Bom. *Jornal de Sciencias Mathematicas Physicas e Naturais*, 2ª Série. **III** (9): 47-48.
- BOCAGE, J. (1903). Contribution a la faune des quatre Îles du Golfe de Guinée. *Jornal de Sciencias Mathematicas Physicas e Naturais*, 2ª Série. **VII** (25): 25-59.
- BOCAGE, J. (1904-1905). Contribution à la faune des quatres Îles du Golfe de Guinée. *Jornal de Sciencias Mathematicas Physicas e Naturais*, 2ª Série. **VII** (26): 65-96.
- BOGERT, C. (1940). Herpetological results of the vernay Angola expedition with notes on african reptiles in other collections. Part 1. Snakes, including an arrangement of african colubridae. *Bulletin of the American Museum of Natural History* **77**: 1-107.
- BÖHME, W. & CORTI, C. (1993). Zoogeography of the lacertid lizards of the western Mediterranean basin. In: VALAKOS, E; BÖHME, W.; PÉREZ-MELLADO, V. & MARAGOU, P. (eds.). *Lacertids of Mediterranean Region*. Hellenic Zoological Society. Pp 17-33.
- BOON, W; KEARVELL, J.; DAUGHERTY, C. & CHAMBERS, G. (2001). *Molecular systematics and conservation of KaKariiki (Cyanorhynchus spp.)*. Department of Conservation. Wellington, New Zealand.
- BORGES, P. (1992). Biogeography of the azorean coleoptera. *Boletim do Museu Municipal do Funchal* **44** (237): 5-76.
- BORGES, P. & OROMÍ, P. (1991). Cave-dwelling ground beetles of the Azores (Col.,Carabidae). *Mémoires de Biospéologie* **18**: 185-191.
- BOSCH, H.; ODIERNA, G.; APREA, G.; BARUCCA, M.; CANAPA, A.; CAPRIGLIONE, T. & OLMO, E. (2003). Kariological and genetic variation in middle eastern lacertid lizards, *Lacerta laevis* and *Lacerta kulzeri* complex: a case of chromosomal allopatric speciation. *Chromosome Research* **11**: 165-178.
- BOULENGER, G. (1887). *Catalogue of the lizards in the collection of the British Museum*. 2ªed.. The Trustees of the Bristish Museum. III: 1-575.
- BOWDEN, R. (1995). Biodiversity and ecosystem function: Using natural attributes of islands. In: VITTOUSEK, P.; LOOPE, L. & ADSERSEN, H. (eds.). *Islands. Biological diversity and ecosystem function*. Ecological Studies 115. Springer-Verlag. Berlin. Heidelberg. Pp. 221-226.
- BRAVO, T. & COELLO, J. (1978). Aportación a la geología y petrología de las Islas Salvages. In: *Contribución al estudio de la historia natural de las Islas Selvages*. Santa Cruz de Tenerife. Aulas de Cultura de Tenerife. Pp. 15-35.
- BREHM, A.; JESUS, J. ; PINHEIRO, M. & HARRIS, D. J. (2001a). Relationships of scincid lizards (*Mabuya* spp; Reptilia: Scincidae) from the Cape Verde Islands based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **19**: 311-316.
- BREHM, A.; KHADEM, M.; JESUS, J.; ANDRADE, P. & VICENTE, L. (2001b). Lack of congruence between morphometric evolution and genetic differentiation suggests a recent dispersal and local habitate adaptation of the madeiran lizard *Lacerta dugesii*. *Genetics Selection and Evolution* **33**: 671-685.
- BREHM, A.; HARRIS, D. J.; ALVES, C.; JESUS, J.; THOMARAT, F. & VICENTE, L. (2002). Structure and evolution of the mitochondrial DNA complete control region in the lizard *Lacerta dugesii* (Lacertidae, Sauria). *Journal of Molecular Evolution* **55**: 1-8.
- BREHM, A.; JESUS, J.; SPÍNOLA H.; ALVES, C.; VICENTE, L. & HARRIS, D. J. (2003). Phylogeography of the madeiran endemic lizard *Lacerta dugesii* inferred from mtDNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **26**: 222-230.
- BRINKMAN, F. & LEIPE, D. (2001). Phylogenetic analysis. In: BAXEVANIS, A. & OUELLETTE, B. (eds.). *Bioinformatics: A practical guide to the analysis of genes and proteins*. Wiley-Interscience. John Wiley & Sons, Inc.. Pp. 323-358.
- BROADLEY, D. (2000). A review of the genus *Mabuya* in Southeastern Africa (Sauria: Scincidae). *African Journal of Herpetology* **49**: 87-110.
- BRODERS, H.; MAHONEY, S.; MONTEVECCHI, W. & DAVIDSON, W. (1999). Population genetic structure and the effect of founder events on the genetic variability of moose, *Alces alces* in Canada. *Molecular Ecology* **8**: 1309-1315.
- BROOKS, D. (1981). Hennig's parasitological method: a proposed solution. *Systematic Zoology* **30**: 229-249.
- BROWER, A.; DeSALLE, R. & VOGLER, A. (1996). Gene trees, species trees and systematics: a cladistic perspective. *Annual Review of Ecology and Systematics* **27**: 423-450.
- BROWN, J. (1971). Mammals on mountaintops: non equilibrium insular biogeography. *The American Naturalist* **105**: 467-478.
- BROWN, W. (1985). The mitochondrial genome of animals. In MacINTYRE, R. (ed.). *Molecular Evolutionary Genetics*. Plenum Press. New York. Pp. 95-130.
- BROWN, T. (1994). *DNA sequencing. The basics*. IRL Press.
- BROWN, J. & GIBSON, A. (1983). *Biogeography*. The C.V. Mosby Company.
- BROWN, J. & KODRIC-BROWN, A. (1977). Turnover rates in insular biogeography: effect of immigration and extinction. *Ecology* **58**: 445-449.
- BROWN, J. & LOMOLINO, M. (2000). Concluding remarks: historical perspective and the future of island biogeography. *Global Ecology & Biogeography* **9**: 87-92.
- BROWN, R. & PESTANO, J. (1998). Phylogeography of skinks (*Chalcides*) in the Canary Islands inferred from mitochondrial DNA sequences. *Molecular Ecology* **7**: 1183-1191.
- BROWN, W.; GEORGE Jr. & WILSON, A. (1979). Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **76**: 1967-1971.

- BROWN, R.; THORPE, R & BÁEZ, M. (1991). Parallel within-island microevolution of lizards on neighbouring islands. *Nature* **352**: 60-62.
- BROWN, G.; GDALETA, G.; PEPE, G.; SACCONI, C. & SBISÁ, E. (1986). Structural conservation and variation in the D-loop-containing region of vertebrate mitochondrial DNA. *Journal of Molecular Biology* **192**: 503-511.
- BROWN, R.; CAMPOS-DELGADO, R. & PESTANO, J. (2000). Mitochondrial DNA evolution and population history of the Tenerife skink *Chalcides viridanus*. *Molecular Ecology* **9**: 1061-1067.
- BROWN, R.; SUÁREZ, N.; SMITH, A. & PESTANO, J. (2001). Phylogeography of Cape Verde Island skinks (*Mabuya*). *Molecular Ecology* **10**: 1593-1597.
- BROWN, R.; SUÁREZ, N. & PESTANO, J. (2002). The Atlas mountains as a biogeographical divide in North-West Africa: evidence from mtDNA evolution in the agamid lizard *Agama impalearis*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **24**: 324-332.
- BRUNA, E.; FISHER, R. & CASE, T. (1995). Cryptic species of Pacific skinks (*Emoia*): Further support from mitochondrial DNA sequences. *Copeia* **10**: 981-983.
- BRUNO, W. & HALPERN, A. (1999). Topological bias and inconsistency of maximum likelihood using wrong models. *Molecular Biology and Evolution* **16**: 564-566.
- BRYANT, H. & CANTINO, P. (2002). A review of criticisms of phylogenetic nomenclature: is taxonomic freedom the fundamental issue?. *Biological Reviews* **77**: 39-55.
- BRYGOO, E. (1981). Systématique des lézards scincidés de la région malgache. VIII. Les *Mabuya* des îles de l'Océan Indien occidental: Comores, Europa, Séchelles. *Bulletin de Le Musée Naturelle Histoire Naturelle, Paris* **3**: 911-930.
- BUDEN, D. (2000). The reptiles of Pohnpei, Federated States of Micronesia. *Micronesia* **32**: 155-180.
- BURNS, G. (1981). Population dynamics of island populations of subartic *Clethrionomys rutilus*. *Canadian Journal of Zoology* **59**: 2115-2122.
- BUSACK, S. (1988). Biochemical and morphological differentiation in spanish and moroccan populations of *Blanus* and the description of a new species from Northern Morocco (Reptilia, Amphisbaenia, Amphisbaenidae). *Copeia* **1**: 101-109.
- BUSACK, S. & MAXSON, L. (1987). Molecular relationships among iberian, moroccan and South Africa lacertid lizards (Reptilia: Lacertidae). *Amphibia-Reptilia* **8**: 383-392.
- BUSH, G. (1975). Modes of animal speciation. *Annual Review of Ecology and Systematics* **6**: 339-364.
- BUSSCHE, R.; BAKER, R.; HUELSENBECK, J. & HILLIS, D. (1998). Base compositional bias and phylogenetical analysis: A test of the "Flying DNA" hypothesis. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **13**: 408-416.
- BUSSCHE, R.; BAKER, R.; WICKMAN, H. & HAMILTON, M. (1993). Molecular phylogenetics of Stenodermatini bat genera: Congruence of data from nuclear and mitochondrial DNA. *Molecular Biology and Evolution* **10**: 944-959.
- CACCONI, A.; AMATO, G.; GRATRY, O.; BEHLER, J. & POWELL, J. (1999a). A molecular phylogeny of four endangered Madagascar tortoises based on mtDNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **12**: 1-9.
- CACCONI, A.; GIBBS, J.; KETMAIER, V.; SUATONI, E. & POWELL, J. (1999b). Origin and evolutionary relationships of giant Galápagos tortoises. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **96**: 13223-13228.
- CACCONI, A.; GENTILE, G.; BURNS, C.; SEZZI, E.; BERGMAN, W.; RUELLE, M.; SALTONSTALL & POWELL, J. (2004). Extreme difference in rate of mitochondrial and nuclear DNA evolution in a large ectotherm, Galápagos tortoises. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **31**: 794-798.
- CALDEIRA, R. & MUNHÁ, J.M. (2002). Petrology of ultramafic nodules from São Tomé Island, Cameroon Volcanic Line (oceanic sector). *Journal of African Earth Sciences* **34**: 231-246.
- CALSBECK, R. & SMITH, T. (2003). Ocean currents mediate evolution in island lizards. *Nature* **426**: 552-555.
- CANTATORE, P.; ROBERTI, M.; PESOLE, G.; LUDOVICO, A.; MILELLA, F.; GDALETA, M. & SACCONI, C. (1994). Evolutionary analysis of cytochrome b sequences in some perciformes: Evidence for a slower rate of evolution than in mammals. *Journal of Molecular Evolution* **36**: 589-597.
- CANCINO, C. & MELÉNDEZ, R. (2000). Comentarios sobre el seminario-taller. Sistemática filogenética y biogeografía de peces marinos de Chile. Comments on the Workshop on Phylogenetic Systematics and Biogeography of Chilean Marine Fishes. *Estud. Ocnol.* **19**: 137-141.
- CAPRIGLIONE, T. (1995). Satellite DNA and phylogeny of lacertid lizards. In LLORENTE, G.; MONTORI, A.; SANTOS, X. & CARRETERO, M. (eds.). *Scientia Herpetologica*. Asociación Herpetológica Española. Pp. 68-70.
- CARLQUIST, S. (1966). The biota of long-distance dispersal. I. Principles of dispersal and evolution. *The Quarterly Review of Biology* **41**: 247-270.
- CARLQUIST, S. (1974). *Island Biology*. Columbia University Press. New York.
- CARR, G.; ROBICHAUX, R.; WITTER, M. & KYHOS, D. (1989). Adaptive radiation of the hawaiian silversword alliance (Compositae-Madiinae): A comparison with hawaiian picture-winged *Drosophila*. In: GIDDINGS, L.; KANESHIRO, K. & ANDERSON, W. (eds.) *Genetics, speciation, and the founder principle*. Oxford University Press. Pp. 79-97.
- CARRACEDO, J. (1994). The canary islands: an example of structural control on the growth of large oceanic-island volcanoes. *Journal of Volcanology and Geothermal Research* **60**: 225-241.
- CARRANZA, S. & ARNOLD, E. (2003). Investigating the origin of transoceanic distributions: mtDNA shows *Mabuya* lizards (Reptilia, Scincidae) crossed the Atlantic twice. *Systematics and Biodiversity* **1**: 275-282.
- CARRANZA, S.; ARNOLD, D.; MATEO, J. & LOPÉZ-JURADO, L. (2000). Long distance colonization and

- radiation in gekkonid lizards, *Tarentola* (Reptilia: Gekkonidae), revealed by mtDNA sequences. *Proceedings of the Royal Society of London B*. **267**: 637-649.
- CARRANZA, S.; ARNOLD, D.; MATEO, J. & LOPEZ-JURADO, L. (2001). Parallel gigantism and complex colonization patterns in the Cape Verde scincid lizards *Mabuya* and *Macroscoincus* (Reptilia: Scincidae) revealed by mitochondrial DNA sequences. *Proceedings of the Royal Society of London B* **268**: 1595-1603.
- CARRANZA, S.; ARNOLD, D.; MATEO, J. & GENIEZ, P. (2002). Relationships and evolution of the North African geckos *Gekkonina* and *Tarentola*, based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **23**: 244-256.
- CARRANZA, S.; ARNOLD, E.; WADE, E. & FAHD, S. (2004). Phylogeography of false smooth snakes, *Macroprotodon* (Serpentes, Colubridae): mitochondrial DNA sequences show European populations arrived recently from Northwest Africa. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **33**: 523-532.
- CARSON, H. (1975). The genetics of speciation at the diploid level. *The American Naturalist* **109**: 83-92.
- CARSON, H. & TEMPLETON, A. (1984). Genetic revolutions in relation to speciation phenomena: The founding of new populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* **15**: 97-131.
- CARSON, H.; LOCKWOOD, J. & CRADDOCK, E. (1990). Extinction and recolonization of local-populations on a grow shield-volcano. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **87**: 7055-7057.
- CASE, T. (1975). Species numbers, density compensation and colonizing ability of lizards on islands in the Gulf of California. *Ecology* **56**: 3-18.
- CASE, T.; BOLGER, D. & PETREN, K. (1994). Invasions and competitive displacement among house geckos in the tropical Pacific. *Ecology* **75**: 464-477.
- CASTANHEIRA, A. & CARDOSO, G. (1994). Carta de Zonagem agro-ecológica e da vegetação de Cabo Verde: VIII Ilha de Santa Luzia. *Garcia de Orta, Série Botânica*, Lisboa 12: 69-100.
- CASTILLA, A.; FERNÁNDEZ-PEDROSA, V.; BACKELJAU, T.; GONZÁLEZ, A.; LATORRE, A. & MOYA, A. (1998). Conservation genetics of insular *Podarvis* lizards using partial cytochrome b sequences. *Molecular Ecology* **7**: 1407-1411.
- CASTRESANA, J. (2000). Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis. *Molecular Biology and Evolution* **17**: 540-552.
- CHANG, Y.; HUANG, F. & LO, T. (1994). The complete nucleotide sequence and gene organization of carp (*Cyprinus carpio*) mitochondrial genome. *Journal of Molecular Evolution* **38**: 138-155.
- CHIPPAUX, J. (2001). *Les serpents d'Afrique occidentale et centrale*. IRD Éditions. Paris.
- CHEYLAN, M. (1988). Variabilité phenotypique du lézard des murailles *Podarvis muralis* sur les îles de la cote Provençale, France. *Revue d'Ecologie (la Terre et la Vie)* **43**: 287-321.
- CHURCHILL, G.; Von HAESLER, A. & NAVIDI, W. (1992). Sample size for a phylogenetic inference. *Molecular Biology and Evolution* **9**: 753-769.
- CÍCERO, C. & JOHNSON, N. (1998). Molecular phylogeny and ecological diversification in a clade of New World songbirds (genus *Vireo*). *Molecular Ecology* **7**: 1359-1370.
- CIOFI, C. & BRUFORD, M. (1999). Genetic structure and gene flow among Komodo dragon populations inferred by microsatellite loci analysis. *Molecular Ecology* **8**: S17-S30.
- CIRER, A. (1981). *La lagartija ibicenca y su círculo de razas*. Conselleria d'Ecologia i medi ambient. Consell Insular d'Eivissa i Formentera.
- CIRER, A. & GUILLAUME, C. (1996). Electrophoretic analysis of the Pityusic Island lizard. In: ROCEK, Z. (ed.). *Studies in Herpetology*. Prague.
- CLARK, A.; BOWEN, B. & BRANCH, L. (1999). Effects of natural habitat fragmentation on an endemic scrub lizard (*Sceloporus woodi*): An historical perspective based on mitochondrial DNA gene genealogy. *Molecular Ecology* **8**: 1093-1104.
- CLAYTON, D. (1982). Replication of animal mitochondrial DNA. *Cell* **28**: 693-705.
- CLEMENT, M.; POSADA, D. & CRANDALL, K. (2000). TCS: A computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology* **9**: 1657-1660.
- CLOVER, (1979). Phenetic relationships among populations of *Podarvis sicula* and *Podarvis melisellensis* (Sauria: Lacertidae) from islands in the Adriatic Sea. *Systematic Zoology* **28**: 284-298.
- COCKBURN, A. (1991). *An introduction to evolutionary ecology*. Blackwell Scientific Publications.
- COLEMAN, B. MARES, M.; WILLIG, M. & HSIEH, Y. (1982). Randomness, area, and species richness. *Ecology* **63**: 1121-1133.
- COLINGE, S. (1998). Spatial arrangement of habitat patches and corridors: clues from ecological field experiments. *Landscape and Urban Planning* **42**: 157-168.
- CONNOR, E. & MCCOY, E. (1979). The statistics and biology of the species-area relationship. *The American Naturalist* **113**: 791-833.
- CONNOR, E.; COURTNEY, A. & YODER, J. (2000). Individuals-area relationships: the relationship between population density and area. *Ecology* **81**: 734-748.
- CONROY, C. & COOK, J. (2000). Phylogeography of a past-glacial colonizers *Microtus longicaudus* (Rodentia, Muridae). *Molecular Ecology* **9**: 165-175.
- COOK, L. (1979). Variation in the madeiran lizard *Lacerta dugesii*. *Journal of Zoology, London* **187**: 327-340.
- COOK, L. (1983). Density of lizards in Madeira. *Bocagiana* n° 66: 1-3.
- COOK, L. & YALDEN, D. (1980). Note on the diet of feral cats on Deserta Island. *Bocagiana* n° 52: 1-3
- COOK, C.; WANG, Y. & SENSABAUGH, G. (1999). A mitochondrial control region and cytochrome b phylogeny of sika deer (*Cervus nippon*) and report of tandem repeats in the control region. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **12**: 47-56.
- COOPE, G. (1986). The invasion and colonization of the North Atlantic islands: A palaeological solution to a

- biogeographic problem. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* **314**: 619-635.
- COOPER Jr., W. & WHITING, M. (2000). Islands in a sea of sand: use of *Acacia* trees by tree skinks in the Kalahari desert. *Journal of Arid Environments* **44**: 373-381.
- CORNELI, P. & WARD, R. (2000). Mitochondrial genes and mammalian phylogenies: increasing the reliability of branch length estimation. *Molecular Biology and Evolution* **17**: 224-234.
- CORREIA, E. & COSTA, F. (1996). Notas preliminares da missão de geografia física a Cabo Verde em 1993: Santo Antão, S. Vicente e Santiago. *Garcia de Orta, Série Geografia* **15**: 79-86
- COSTA, J. (1946). Lista fitológica do Porto Santo. *Boletim do Museu Municipal do Funchal* **2** (4):65-71.
- COSTA, F. (1996a). Processos erosivos actuais na bacia da Ribeira Seca (Santiago Oriental – Cabo Verde). *Garcia de Orta, Série Geografia* **15**: 29-34.
- COSTA, F. (1996b). Notas gerais de geografia física das ilhas rasas do Arquipélago de Cabo Verde. *Garcia de Orta, Série Geografia* **15**: 109-118.
- COSTA, F. (1998). Impactos geomorfológicos da erupção de Abril de 1995 na Ilha do Fogo (Cabo Verde). *Garcia de Orta, Série Geografia* **16**: 63-74.
- COX, T. & DURRET, R. (2002). The stepping stone model: new formulas expose old myths. *The Annals of Applied Probability* **12**: 1348-1377.
- COX, C. & MOORE, P. (1993). *Biogeography. An ecological and evolutionary approach*. 5ªed.. Blackwell Scientific Publications.
- COYNE, J. (1992). Genetics and speciation. *Nature* **355**: 511-515.
- COYNE, J. (1994). Ernst Mayr and the origin of species. *Evolution* **48**: 19-30.
- COYNE, J. & BARTON, N. (1988). What do we know about speciation?. *Nature* **33**: 485-486.
- CRACRAFT, J. (1989). Speciation and its ontology: the empirical consequences of alternative species concepts for understanding patterns and processes of differentiation. In OTTE, D. & ENDLER, J. (eds). *Speciation and its consequences*. Sinauer Associates. Sunderland, Mass. Pp.28-59.
- CREER, S.; MALHOTRA, A.; THORPE & CHOU, W. (2001). Multiple causation of phylogeographical pattern as revealed by nested clade analysis of the bamboo viper (*Trimeresurus stejnegeri*) within Taiwan. *Molecular Ecology* **10**: 1967-1981.
- CRISCI, J. (2001). The voice of historical biogeography. *Journal of Biogeography* **28**: 157-168.
- CRISP, M.; COOK, L. & HERWARD, F. (1979). Color and heat balance in the lizard *Lacerta dugesii*. *Copeia* **2**: 250-258.
- CRNOBRNJA-ISAILOVIC, J.; DZUKIC, G.; ALEKSIC, I.; VUJICIC & AVRAMOV, S. (1995). *Podarcis muralis* and *Lacerta oxycephala* (Reptilia, Lacertidae) on the islands of Skadar Lake: Distribution and genetic relationships of populations. In LLORENTE, G.; MONTORI, A.; SANTOS, X. e CARRETERO, M. (eds.). *Scientia Herpetologica*. Asociación Herpetológica Española. Pp. 71-80.
- CROCHET, P. & DESMARAIS, E. (2000). Slow rate of evolution in the mitochondrial control region of gulls (Aves: Laridae). *Molecular Biology and Evolution* **17**: 1797-1806.
- CROTHER, B & PRESCH, W. (1994). Xantusiid lizards, concern for analysis, and the search for a best estimate of phylogeny: Further comments. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **3**: 272-275.
- CROWELL, K. (1983). Islands-insight or artifacts: population dynamics and habitat utilization in insular rodents. *Oikos* **41**: 442-454.
- CUSHMAN, J. (1995). Ecosystem-level consequences of species additions and deletions on islands. In: VITOUSEK, P.; LOOPE, L. & ADSERSEN, H. (eds.). *Islands. Biological diversity and ecosystem function*. Ecological Studies 115. Springer-Verlag. Berlin. Heidelberg. Pp. 135-147.
- D'ANTÓNIO, C. & DUDLEY, T. (1995). Biological invasions as agents of change on islands versus mainlands. In: VITOUSEK, P.; LOOPE, L. & ADSERSEN, H. (eds.). *Islands. Biological diversity and ecosystem function*. Ecological Studies 115. Springer-Verlag. Berlin. Heidelberg. Pp. 103-121.
- Da SILVA, M. & PATTON, J. (1998). Molecular phylogeography and the evolution and conservation of amazonian mammals. *Molecular Ecology* **7**: 475-486.
- DANLEY, P. & KOCHER, T. (2001). Speciation in rapidly diverging systems: lessons from Lake Malawi. *Molecular Ecology* **10**: 1075-1086.
- DARLINGTON, P. (1957). *Zoogeography, the geographical distribution of animals*. Wiley and Sons. New York.
- DARST, C. & CANNATELLA, D. (2004). Novel relationships among hyloid frogs inferred from 12S and 16S mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **31**: 462-475.
- DARWIN, C. (1859). *On the origin of species*. John Murray. Albemarle Street. London.
- DAVENPORT, J. & DELLINGER, T. (1995). Melanism and foraging behaviour in an intertidal population of the madeiran lizard *Podarcis* (= *Lacerta*) *dugesii* (Milne-Edwards, 1829). *Herpetological Journal* **5**: 200-203.
- DAVIS, J. (1997). Evolution, evidence, and the role of species concepts in systematics. *Systematic Botany* **22**: 373-403.
- DAVIS, J. & NIXON, K. (1992). Populations, genetic variation, and the delimitation of phylogenetic species. *Systematic Biology* **41**: 421-435.
- De QUEIROZ, K. & DONOGHUE, M. (1990). Phylogenetic systematics or Nelson's version of cladistics?. *Cladistics* **6**: 61-75.
- De QUEIROZ, K. & GAUTHIER, J. (1992). Phylogenetic taxonomy. *Annual Review of Ecology and Systematics* **23**: 449-480.
- De QUEIROZ, K. & GAUTHIER, J. (1994). Toward a phylogenetic system of biological nomenclature. *Trends in Ecology & Evolution* **9**: 27-31.
- DELLINGER, T. (1997). *Podarcis dugesii* (Milne-Edwards, 1829). Lagartija de Madeira, Lagartixa da Madeira. In : PLEGUEZUELOS, J. (ed.). *Distribución y biogeografía de los anfibios y reptiles en España y Portugal*. Monografías

- de Herpetologia. Vol. 3. Universidad de Granada: Asociación Herpetológica Española. Pp. 415-417.
- DEMBOSKI, J. & COOK, J. (2001). Phylogeography of the dusky shrew, *Sorex monticolus* (Insectivora: Soricidae): insight into deep and shallow history in northwestern North America. *Molecular Ecology* **10**: 1227-1240.
- DEMELO, R. & HEBERT, P. (1994). Founder effects and geographical variation in the invading cladoceran *Bosmina* (*Eubosmina*) *coregoni* Baird 1857 in North America. *Heredity* **73**: 490-499.
- DENSMORE, L.; WRIGHT, J. & BROWN, W. (1985). Length variation and heteroplasmy are frequent in mitochondrial DNA from parthenogenetic and bisexual lizards (genus *Cnemidophorus*). *Genetics* **110**: 689-707.
- DÉRUELLE, B.; MOREAU, C.; NKOUMBOU, C.; KAMBOU, R.; LISSOM, J.; NJONGFANG, E.; GHOGOMU, R. & NONO, A. (1991). The cameroon line: a review. In: KAMPUNZU, A. & LUBALA, R. (eds). *Magmatism in extensional structural tectonic settings*. Springer Verlag, Berlin, Germany. Pp. 274-327.
- DESALLE, R. & TEMPLETON, A. (1988). Founder events and the rate of mitochondrial DNA evolution in hawaiian *Drosophila*. *Evolution* **42**: 1076-1084.
- DESJARDINS, P. & MORAIS, R. (1990). Sequence and gene organization of the chicken mitochondrial genome. *Journal of Molecular Biology* **212**: 599-634.
- DIAMOND, J. (1970). Ecological consequences of island colonization by Southwest Pacific birds. The effect of species diversity on total population density. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **67**: 1715-1721.
- DIAMOND, J. (1984). "Normal" extinction of isolated populations. In: NITECKI, M. (ed.). *Extinctions*. Chicago University Press. Chicago.
- DOBZHANSKY, T. (1935). A critique of the species concept in biology. *Philosophy of Science* **2**: 344-355.
- DOBZHANSKY, T.; AYALA, F.; STEBBINS, G. & VALENTINE, J. (1988). *Evolución*. Ediciones Omega SA. Barcelona.
- DODA, D.; WRIGHT, C. & CLAYTON, D. (1981). Elongation of displacement-loop strands in human and mouse mitochondrial DNA is arrested near specific template sequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **78**: 6116-6120.
- DOMINGUES, V.; GODINHO, R.; FERRAND, N. & CRESPO, E. (2001). SSCP of a partial fragment of the *C-mos* gene offers a useful nuclear marker in the phylogeographic study of the endemic Iberian Schreiber's green lizard *Lacerta schreiberi*. In: PÉREZ-MELLADO, V. (ed.). *Abstracts of the fourth Symposium on the Lacertids of the Mediterranean Basin*. Menorca.
- DONNELAN, S. (1991a). Chromosomes of australian lygosomine skinks (Lacertilia: Scincidae) I. The Egernia group: C-banding, silver staining, Hoechst 33258 condensation analysis. *Genetica* **83**: 207-222.
- DONNELAN, S. (1991b). Chromosomes of australian lygosomine skinks (Lacertilia: Scincidae) II. The genus *Lamprophis*. *Genetica* **83**: 223-234.
- DONNELLAN, S. & APLIN, K. (1989). Resolution of cryptic species in the New Guinean lizard, *Sphenomorphus jobiensis* (Scincidae) by electrophoresis. *Copeia* **1**: 81-88.
- DONNELAN, S.; HUTCHINSON, M. & SNAINT, K. (1999). Molecular evidence for the phylogeny of australian gekkonid lizards. *Biological Journal of the Linnean Society* **67**: 97-118.
- DONOGHUE, M. (1985). A critique of the biological species concept and recommendations of a phylogenetic alternative. *The Bryologist* **88**: 172-181.
- DONOGHUE, M. & MOORE, B. (2003). Towards an Integrative Historical Biogeography. *Integrative Comparative Biology* **43**: 261-270.
- DREWES, R. (2002). Islands at the center of the world. http://www.calacademy.org/calwild/spring2002/stories/sao_tome2.htm.
- DREWES, R. & WILKINSON, J. (2004). The California Academy of Sciences Gulf of Guinea Expedition (2001). I. The taxonomic status of the genus *Nesionixalus* Perret, 1976 (Anura: Hyperoliidae), treefrogs of São Tomé and Príncipe, with comments on the genus *Hyperolius*. *Proceedings of the California Academy of Sciences* **55**: 395-407.
- DUCROZ, J.; VOLOBOUEY, V. & GRANJON, L. (1998). A molecular perspective on the systematics and evolution of the genus *Arvicanthis* (Rodentia: Muridae): inferences from complete cytochrome b gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **10**: 104-117.
- DUESER, R. & BROWN, W. (1980). Ecological correlates of insular rodent diversity. *Ecology* **61**: 50-56.
- DUNGER, G. (1972). The snakes of Nigeria. Part 3: the harmless water and marsh snakes of Nigeria. *The Nigeria Field* **39**: 21-38.
- DUTY, T. (2000). *Broken symmetry and critical phenomena in population genetics: the stepping stone model*. PhD Thesis. Faculty of Graduate Studies. Department of Physics and Astronomy. University of British Columbia.
- EDWARDS, A. & CAVALLI-SFORZA, L. (1963). The reconstruction of evolution. *Annals of Human Genetics* **27**: 104-105.
- ELIASSON, U. (1995). Patterns of diversity in island plants. In: VITTOUSEK, P.; LOOPE, L. & ADSERSEN, H. (eds.). *Islands. Biological diversity and ecosystem function*. Ecological Studies 115. Springer-Verlag. Berlin. Heidelberg. Pp. 35-50.
- EMERSON, B. (2002). Evolution on oceanic islands: molecular phylogenetic approaches to understanding patterns and processes. *Molecular Ecology* **11**: 951-966.
- EMERSON, B.; OROMÍ, P. & HEWITT, G. (1999). MtDNA Phylogeography and recent intra-island diversification among Canary Islands *Calathus* Beetles. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **13**: 149-158.
- ENDLER, J. (1977). *Geographic variations, speciation and clines*. Princeton University Press. Monographs in population biology, 10. New Jersey.
- ERIXON, P.; SVENNBLAD, B.; BRITTON, T. & OXELMAN, B. (2003). Reliability of bayesian posterior probabilities and bootstrap frequencies in phylogenetics. *Systematic Biology* **52**: 665-673.

- ERLICH, H. & ARNHEIM, N. (1992). Genetic analysis using the polymerase chain reaction. *Annual Review of Genetics* **26**: 479-506.
- ERLICH, H.; GELFAND, D. & SNINSKY, J. (1991). Recent advances in the polymerase chain reaction. *Science* **252**: 1643-1651.
- ESTABROOK, G. (1984). Phylogenetic trees and character-state trees. In: DUNCAN, T. & STUESSY, T. (eds). *Cladistics: Perspectives on the reconstruction of evolutionary history*. Columbia University Press. New York. Pp 135-151.
- ESTES, R. (1983). *Handbuch der Palaeoherpetologie 10. Sauriaterrestria. Amphibia*. Gustav Fisher Verlag. New York.
- ESTES, R.; De QUEIROZ, K. & GAUTHIER, J. (1988). Phylogenetic relationships within squamata. In: ESTES, R. & PREGILL, G. (eds). *Phylogenetic relationships of the lizard families*. Stanford University Press, Stanford, California. Pp 119-281.
- ESTOUP, A. & CLEGG, M. (2003). Bayesian inferences on the recent island colonization history by the bird *Zosterops lateralis lateralis*. *Molecular Ecology* **12**: 657-674.
- EXELL, A. (1973). Angiosperms of the islands of the Gulf of Guinea (Fernando Po, Principe, S. Tomé, Annobon). *Bulletin of British Museum (Natural History), Botany*, **4**: 327-411.
- EWELL, J. & HÖGBERG, P. (1995). Experimental studies on islands. In: VITOUSEK, P.; LOOPE, L. & ADSERSEN, H. (eds.). *Islands. Biological diversity and ecosystem function*. Ecological Studies 115. Springer-Verlag. Berlin. Heidelberg. Pp. 227-232.
- FAIRBAIRN, J.; SHINE, R.; MORITZ, C. & FROMMER, M. (1998). Phylogenetic relationships between oviparous and viviparous populations of an Australian lizard (*Lerista bongainwillii*, Scincidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **10**: 95-103.
- FARIAS, I.; ORTÍ, G.; SAMPAIO, I.; SCHNEIDER, H. & MEYER, A. (2001). The cytochrome *b* gene as a phylogenetic marker: The limits of resolution for analyzing relationships among cichlid fishes. *Journal of Molecular Evolution* **53**: 89-103.
- FARRIS, J. (1967). The meaning of relationship and taxonomic procedure. *Systematic Zoology* **16**: 44-51.
- FARRIS, J. (1970). Methods for computing Wagner trees. *Systematic Zoology*. **19**: 83-92.
- FARRIS, J. (1972). Estimating phylogenetic trees from distance matrices. *The American Naturalist* **106**: 645-668.
- FARRIS, J. (1974). Formal definitions of paraphyly and polyphyly. *Systematic Zoology* **23**: 548-554.
- FARRIS, J. (1977). On the phenetic approach to vertebrate classification. In: HECHT, M.; GOODY, P. & HECHT, B. (eds.). *Major patterns in vertebrate evolution*. Plenum Press. New York. Pp 823-850.
- FARRIS, J. S. (1989). The retention index and the rescaled consistency index. *Cladistics* **5**: 417-419.
- FARRIS, J. S. (1990). The retention index and homoplasy excess. *Systematic Zoology* **38**: 406-407.
- FARRIS, J.; ALBERT, V.; KÄLLERSJÖ, M.; LIPSCOMB, D. & KLUGE, G. (1996). Parsimony jackknifing outperforms neighbor-joining. *Cladistics* **12**: 99-124.
- FELLERS, G. & DROST, C. (1991). Ecology of island night lizard *Xantusia riversiana*, on Santa Barbara Island California. *Herpetological Monographs* **5**: 28-78.
- FELSENSTEIN, J. (1973). Maximum likelihood and minimum-steps methods for estimating evolutionary trees from data on discrete characters. *Systematic Zoology* **22**: 240-249.
- FELSENSTEIN, J. (1981). Evolutionary trees from DNA sequences: A maximum likelihood approach. *Journal of Molecular Evolution* **17**: 368-376.
- FELSENSTEIN, J. (1984). The statistical approaches to inferring evolutionary trees and what it tells us about parsimony and Compatibility. In: DUNCAN, T. & STUESSY, T. (eds.). *Cladistics: Perspectives on the reconstruction of evolutionary history*. Columbia University Press. New York. Pp 169-191.
- FERREIRA, M. (1993). *Evolução geológica das Ilhas do Arquipélago da Madeira*. XIII Curso de Atualização de Geociências. Março de 1993. Funchal. Associação Portuguesa de Geólogos. Sindicato de Professores da Madeira.
- FIGUEIRA, A. (1964). Scientific expedition to the Salvages Islands, July 1963. II. The Salvages Islands: Some geographical, geological and historical notes. *Boletim do Museu Municipal do Funchal* **XVIII**: 132-139.
- FITCH, W. (1971). Toward defining the cause of evolution: minimum change for a specific tree topology. *Systematic Zoology* **20**: 406-416.
- FITCH, W. (1981). A non-sequential method for constructing trees and hierarchical classifications. *Journal of Molecular Evolution* **18**: 30-37.
- FITCH, W. & MARGOLISH, E. (1967). Construction of phylogenetic trees. *Science* **155**: 279-284.
- FITCH, H.; HENDERSON, R. & GUARISCO, H. (1989). Aspects of the ecology of an introduced anole: *Anolis cristatellus* in Dominican Republic. *Amphibia-Reptilia* **10**: 307-320.
- FOREY, P.; HUMPHRIES, C.; KITCHING, I.; SCOTLAND, R.; SIEBERT, D. & WILLIAMS, D. (1992). *Cladistics: A practical course in systematics*. Clarendon Press. Oxford.
- FRANKHAM, R. (1997). Do island populations have less genetic variability than mainland populations?. *Heredity* **78**: 311-327.
- FRANKHAM, R. (1998). Inbreeding and extinction: Island populations. *Conservation Biology* **12**: 665-675.
- FRANKHAM, R.; BALLOU, J.; BRISCOE, D. & McINNES, K. (2004). *A primer of conservation genetics*. Cambridge University Press. Cambridge.
- FRANCISCO-ORTEGA, J.; JANSEN, R. & SANTOS-GUERRA, A. (1996). Chloroplast DNA evidence of colonization, adaptive radiation, and hybridization in the evolution of the macaronesian flora. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **93**: 4085-4090.
- FREEMAN, S. & HERRON, J. (2004). *Evolutionary analysis*. 3^a ed.. Pearson Prentice Hall.
- FRIENSEN, V.; MONTEVECCHI, W.; BAKER, A.; BARRETT, R. & DAVIDSON, W. (1996). Population differentiation and evolution in the common guillemot *Uria algae*. *Molecular Ecology* **5**: 793-805

- FRIESEN, V.; CONGDON, B.; WALSH, H.; BIRT, T. (1997). Intron variation in marbled murrelets detected using analyses of single-stranded conformational polymorphisms. *Molecular Ecology* **6**: 1047-1058.
- FROUFE, E.; KNIZHIN, I. & WEISS, S. (2005). Phylogenetic analysis of the genus *Thymallus* (grayling) based on mtDNA control region and ATPase 6 genes, with inferences on control region constraints and broad-scale eurasian phylogeography. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **34**: 106-117.
- FU, J. (1998). Toward the phylogeny of the family lacertidae: Implications from mitochondrial DNA 12S and 16S gene sequences (Reptilia: Squamata). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **9**: 118-130.
- FU, J. (2000). Toward the phylogeny of the family lacertidae – Why 4708 base pairs of mtDNA sequences cannot draw a picture. *Biological Journal of the Linnean Society* **71**: 203-217.
- FUHN, I. (1970). Contribution à la systématique des lygosomines africains (Reptilia, Scincidae). I. Les espèces attribuées au genre *Ablepharus*. *Revue Roumaine de Biologie, Série Zoologie* **15**: 379-393.
- FUHN, I. (1972). Révision du phylum forestier du genre *Panaspis* Cope (Reptilia, Scincidae, Lygosominae). *Revue Roumaine de Biologie, Série Zoologie* **17**: 257-271.
- FUNK, V. & BROOKS, D. (1990). *Phylogenetic systematics as the basis of comparative biology*. Smithsonian Institution Press, Washington, London.
- FURON, R. (1969). *La distribución de los seres*. Editorial Labor, SA.. Barcelona
- FUTUYMA, D. (1986). *Evolutionary biology*. 2^a ed.. Sinauer Associates, Inc.
- GAGEL, C. (1969). *Estudo sobre a estrutura e as rochas da Madeira*. Faculdade de Ciências de Lisboa, Instituto de Alta Cultura, Lisboa.
- GALOPIM DE CARVALHO, A. & BRANDÃO, J. (1991). *Geologia do Arquipélago da Madeira*. Museu Nacional de História Natural (Mineralogia e Geologia) da Universidade de Lisboa.
- GARCÍA-BARROS, E.; GURREA, P.; LUCIÁÑEZ, M.; CANO, J.; MUNGIIRA, M.; MORENO, J.; SAINZ, H.; SANZ, M. & SIMÓN, J. (2002). Parsimony analysis of endemecity and its application to animal and Plant geographical distributions in the Ibero-Balearic region (Western Mediterranean). *Journal Biogeography* **29**: 109-124.
- GARCIA-PARIS, M.; GOOD, D. A; PARRA-OLEA, G. & WAKE, D. (2000). Biodiversity of Costa Rica salamanders: implications of high levels of genetic differentiation and phylogeographic structure for species formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **97**:1640-1647.
- GARCÍA-TALAVERA, F. (1998). La Macaronesia. Consideraciones geológicas, biogeográficas y paleoecológicas. In: FERNÁNDEZ-PALACIOS, J.; BACALLADO, J. & BELMONTE, J. (eds.). *Ecología y cultura en Canarias* Organismo Autónomo: Complejo Insular de Museos y Centros. Pp 39-63.
- GATESY, J.; DeSALLE, R. & WHEELER, W. (1993). Alignment-ambiguous nucleotide sites and the exclusion of systematic data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **2**: 152-157.
- GAUT, B. & WEIR, B. (1994). Detecting substitution-rate heterogeneity among regions of a nucleotide sequence. *Molecular Biology and Evolution* **11**: 620-629.
- GELDMACHER, J.; BOGAARD, P.; HOERNLE, K. & SCHMICKE, H. (2000). The ⁴⁰Ar/³⁹Ar age dating of the Madeira Archipelago and hotspot track (Eastern North Atlantic). *Geochemistry Geophysics Geosystems* **1**: Paper number 1999GC000018.
- GELDMACHER, J.; HOERNLE, K.; BOGAARD, P.; ZANKL, G. & GARBE-SCHÖNBERG, D. (2001). Earlier history of the Selvagen Archipelago and neighboring seamounts in the eastern North Atlantic. *Journal of Volcanology and Geothermal Research* **111**: 55-87.
- GELLER, J.; WALTON, E.; GROSHOLZ, E. & RUIZ, G. (1997). Cryptic invasions of the crab *Carcinus* detected by molecular phylogeography. *Molecular Ecology* **6**: 901-906.
- GEMMELL, N.; JANKE, A.; WESTERN, P.; WATSON, J.; PÄÄBO, S. & GRAVES, J. (1994). Cloning and characterization of the *Platypus* mitochondrial genome. *Journal of Molecular Evolution* **39**: 200-205.
- GENIEZ, P. (1997). *Tarentola (Makariogecko) bischoffi* Joger, 1984 perinquiné de las islas Salvages, Osga-das-Selvagens. In: PLEGUEZUELOS, J. (ed.). *Distribución y biogeografía de los anfibios y reptiles en España y Portugal*. Monografías de Herpetología. Vol. 3. Universidad de Granada: Asociación Herpetológica Española. Pp. 393-394.
- GERBER, A.; LOGGINS, R.; KUMAR, S. & DOWLING, T. (2001). Does nonneutral evolution shape observed patterns of DNA variation in animal mitochondrial genomes?. *Annual Review of Genetics* **35**: 539-566.
- GEYER, C.; RYDER, O.; CHEMNICK, L. & THOMPSON, E. (1993). Analysis of relatedness in the California condors from DNA fingerprints. *Molecular Biology and Evolution*. **10**: 571-589.
- GIANNASI, N. (1997). *Morphological, molecular and behavioural evolution of the *Anolis roquet* group*. PhD Dissertation. University of Wales. Bangor. UK.
- GIANNASI, N.; MALHORTA, A. & THORPE, R. S. (2001). Nuclear and mtDNA phylogenies of the *Trimeresurus* complex: Implications for the gene versus species tree debate. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **19**: 57-66.
- GIBBS, H.; PRIOR, K. & WEATHERHEAD, P. (1994). Genetic analysis of populations of threatened snake species using RAPD markers. *Molecular Ecology* **3**: 329-337.
- GIDDINGS, L.; KANESHIRO, K. & ANDERSON, W. (eds.) (1989). *Genetics speciation, and the founder principle*. Oxford University Press.
- GIFFORD, M.; POWELL, R.; LARSON, A. & GUTBERLET Jr., R. (2004). Population structure and history of a phenotypically variable teiid lizard (*Ameiva chrysolaelma*) from Hispaniola: the influence of geologically complex island. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **32**: 735-748.

- GILLESPIE, J. (1986a). Natural selection and the molecular clock. *Molecular Biology and Evolution* **3**: 138-155.
- GILLESPIE, J. (1986b). Variability of evolutionary rates. *Genetics* **113**: 1077-1091.
- GILLESPIE, J. (1991). *The causes of molecular evolution*. Oxford University Press.
- GIRIBET, G. & WHEELER, W. (1999). On gaps. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **13**: 132-143.
- GIVNISH, T. (1998). Adaptive plant evolution on islands: classical patterns, molecular data, new insights. In: GRANT, P. (ed.) (1998). *Evolution on islands*. Oxford University Press. Pp. 281-304.
- GLAW, F. & VENCES, M. (1994). *A Fieldguide to the amphibians and reptiles of Madagascar*. M. Vences & F. Glaw Verlags GbR. 2^a ed..
- GLENN, T.; STATON, J.; VU, A.; DAVIS, L.; BREMER, J.; RHODES, W.; BRISBIN Jr., I. & SAWYER, R. (2002). Low mitochondrial DNA variation among american alligators and a novel non-coding region in crocodilians. *Journal of Experimental Zoology (Molecular and Developmental Evolution)* **294**: 312-324.
- GOEBEL, A.; DONNELLY, J. & ATZ, M. (1999). PCR primers and amplification methods for 12S ribosomal DNA, the control region, cytochrome oxidase I, and cytochrome b in bufonids and other frogs, and an overview of primers which have amplified DNA in amphibians successfully. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **11**: 163-199.
- GOLDMAN, N. (1990). Maximum likelihood inference of phylogenetic trees with special reference to a poisson process model of DNA substitution and to parsimony analyses. *Systematic Biology* **39**: 345-361.
- GOLDMAN, N. (1993). Simple diagnostic statistical tests of models of DNA substitution. *Journal of Molecular Evolution* **37**: 650-651.
- GOLDMAN, N. & YANG, Z. (1994). A codon-biased model of nucleotide substitution for protein-coding DNA sequences. *Molecular Biology and Evolution* **11**: 725-736.
- GÓMEZ, A.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, S.; COLLADA, C.; CLIMENT, J & GIL, L. (2003). Complex population genetic structure in the endemic pine revealed using chloroplast microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics* **107**: 1123-1131.
- GONZÁLEZ, P.; FRANCISCO, P.; NOGALES, M.; JIMÉNEZ-ASENSIO, J.; HERNÁNDEZ, M. & CABRERA, V. (1996). Phylogenetic relationships of the Canary Islands endemic lizard genus *Gallotia* (Sauria: Lacertidae), inferred from mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **6**: 63-71.
- GORMAN, M. (1979). *Island ecology*. Chapman and Hall, London.
- GORMAN, G.; SOULÉ, M.; YANG, S. & NEVO, E. (1975). Evolutionary genetics of insular adriatic lizards. *Evolution* **28**: 52-71.
- GORMAN, G.; KIM, Y. & YANG, S. (1978). The genetics of colonization. Loss of variability among introduced populations of *Anolis* lizards (Reptilia. Lacertilia. Iguanidae). *Journal of Herpetology* **12**: 47-51.
- GOTELLI, N. & COLWELL, R. (2001). Quantifying biodiversity: procedures and pitfalls in the measurement and comparison of species richness. *Ecology Letters* **4**: 379-391.
- GOTOH, O. (1982). An improved algorithm for matching biological sequences. *Journal of Molecular Biology* **162**: 705-708.
- GRAF, D. & SPARKS, J. (2000). Sometimes too much is not enough: A comment on the use of mtDNA to recover ancient divergences. *Naïve Verificationist* **1**: 1-13.
- GRAFF, D. (1996). Sea turtle nesting and utilization surveying São Tome. *Marine Turtle Newsletter* N° 75: 8-12.
- GRANT, P. (1986). *Ecology and evolution of Darwin's finches*. Princeton University Press. Princeton.
- GRANT, P. (1998a). Patterns on islands and microevolution. In: GRANT, P. (ed.) (1998). *Evolution on islands*. Oxford University Press. Pp. 1-17.
- GRANT, P. (1998b). Speciation. In: GRANT, P. (ed.). *Evolution on islands*. Oxford University Press. Pp. 83-101.
- GRANT, P. (1998c). Radiations, communities, and biogeography. In: GRANT, P. (ed.). *Evolution on islands*. Oxford University Press. Pp. 196-209.
- GRAYBEAL, A. (1993). The phylogenetic utility of cytochrome b: lessons from bufonid frogs. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. **2**: 256-269.
- GRAYBEAL, A. (1994). Evaluating the phylogenetic utility of genes: A search for genes informative about deep divergences among vertebrates. *Systematic Biology* **43**: 174-193.
- GRECHKO, V.; KATAEV, M.; MEL'NIKOVA, M. & DAREVSKII, I. (1993). Relatedness of parthenogenetic lacertid lizards and their presumable parental bisexual species deduced from comparative data on amplification products obtained by single-primer polymerase chain reaction. *Molecular Biology* **27**: 891-897.
- GREER, A. (1970). A subfamilial classification of scincid lizards. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology* **139**: 151-184.
- GREER, A. (1974). The generic relationships of the scincid genus *Leiopisma* and its relatives. *Australian Journal of Zoology* Suppl. Ser. **31**: 1-67
- GREER, A. (1976). On the evolution of the giant Cape Verde scincid lizard *Macroscoincus coctei*. *Journal of Natural History*. **10**: 691-712.
- GREER, A. (1977). The systematics and evolutionary relationships of the scincid lizard genus *Lygosoma*. *Journal of Natural History* **11**: 515-540.
- GREER, A. (1979). A phylogeny subdivision of australian skinks. *Records of the Australian Museum* **32**: 339-371.
- GREER, A. (1985). The relationships of the lizard genera *Anehydropsis* and *Dibamus*. *Journal of Herpetology* **19**: 116-156.
- GREER, A. (1986). Lygosomyne (Scincidae) monophyly: A third corroborating character and a reply to critics. *Journal of Herpetology* **20**: 123-126.
- GREER, A. & BROADLEY, D. (2000). Six characters of systematic importance in the scincid lizard genus *Mabuya*. *Hamadryad* **25**: 1-12.

- GREER, A. & NUSSBAUM, R. (2000). New character usefull in the systematics of the scincid lizard genus *Mabuya*. *Copeia* 2: 615-618.
- GREER, A. & SHEA, G. (2000). A major new head scale character in non-lygosomine scincid lizards. *Journal of Herpetology* 34: 629-634.
- GREER, A.; ARNOLD, C. & ARNOLD, E. (2000). The systematic significance of the number of presacral vertebrae in the scincid lizard genus *Mabuya*. *Amphibia-Reptilia* 21: 121-126.
- GROSHOLZ; E. & RUIZ, G. (1996). Predicting the impact of introduced marine species: lessons from the multiple invasions of the european green crab. *Biological Conservation* 78: 59-66.
- GUBITZ, T.; THORPE, R. & MALHORTA, A. (2000). Phylogeography and natural selection in the Tenerife gecko *Tarentola delalandii*: testing historical and adaptive hypotheses. *Molecular Ecology* 9: 1213-1221.
- GUERRERO, J.; REAL, R. & VARGAS, J.(1997). Corología de los reptiles de la Macaronesia. In : PLEGUEZUELOS, J. (ed.). *Distribución y biogeografía de los anfibios y reptiles en España y Portugal*. Monografías de Herpetología. Vol. 3. Universidad de Granada: Asociación Herpetológica Española. Pp. 421-429.
- GUILLAUME, C. & BONS, J. (1983). Les reptiles insulaires, mise en place et évolution. Coll. Intern. C.N.R.S. (330): 281-287.
- GUILLAUME, C. & LANZA, B. (1982). Comparaison électrophorétique de quelques espèces lacertides Méditerranéens, Genera *Podarvis* et "*Archaolacerta*". *Amphibia-Reptilia* 4: 361-375.
- GYLLENSTEN, U. ; WHARTON, D. ; JOSEFSSON, A. & WILSON, A. (1991). Paternal inheritance of mitochondrial DNA in mice. *Nature* 352: 255-257.
- HAENEL, G. (1997). Mitochondrial DNA variation in populations of the tree lizard *Urosaurus ornatus*. *Copeia* 1: 174-178.
- HAILA, Y. (1983). Land birds on northern islands: a sampling metaphor for insular colonization. *Oikos* 41: 334-351.
- HALANYCH, K.; DEMBOSKI, J.; VUUREN, B.; KLEIN, D. & COOK, J. (1999). Cytochrome b phylogeny of north american hares and jackrabbits (*Lepus*, Lagomorpha) and the effects of saturation in outgroup taxa. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 11: 213-221.
- HALLOWELL, E. (1844). Description of new species of african reptiles. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia* 2: 58-62
- HALLOWELL, E. (1854). Description of new species of reptilia from Western Africa. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia* : 62-65.
- HALLOWELL, E. (1857). Notice of a collection of reptiles from Gaboon country, West Africa, recently presented to the Academy of Natural Sciences of Philadelphia, by Dr. Henry A. Ford. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia* 9: 48-72.
- HAMMOND, R. L.; MACASERO, W.; FLORES, B.; MOHAMMED, O.; WACHER, T. & BRUFORD, N. (2001). Phylogenetic reanalysis of the saudi gazelle and its implications for conservation. *Conservation Biology* 15: 1123-1133.
- HAMPSHIRE, R. (1984). A study of the vegetation of the Ponta de São Lourenço in Madeira, Ilhéu Chão and Deserta Grande. *Boletim do Museu Municipal do Funchal* 36 (164): 207-226.
- HÄRLID, A.; JANKE, A. & ARNASON, U. (1998). The complete mitochondrial genome of *Rhea americana* and early avian divergence. *Journal of Molecular Evolution* 46: 669-679.
- HARPENDING, H.; BATZER, M.; GURVEN, M.; JORDE, L.; ROGERS, A. & SHERRY, S (1998). Genetic traces of ancient demography. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95: 1961-1967.
- HARRIS, D. J. (1999). Molecular systematics and evolution of lacertid lizards. *Natura Croatica* 8: 161-180.
- HARRIS, D. J. (2001). Re-evaluation of 16S ribosomal RNA variation in *Byty* (Anura: Amphibia). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 19: 326-329.
- HARRIS, D. J. (2002). Reassessment of comparative genetic distance in reptiles from mitochondrial cytochrome b gene. *Herpetological Journal* 12: 85-86.
- HARRIS, D. J. (2003). Codon bias variation in *C-mos* between squamate families might distort phylogenetic inferences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 27: 540-544.
- HARRIS, D. J. & ARNOLD, E. (1999). Relationships of wall lizards, *Podarvis* (Reptilia: Lacertidae) based on mitochondrial DNA sequences. *Copeia* 3: 749-754.
- HARRIS, D. J. & ARNOLD, E. (2000). Elucidation of the relationships of spiny-footed lizards, *Acanthodactylus* spp. (reptilia: Lacertidae) using mitochondrial DNA sequence, with comments on their biogeography and evolution. *Journal of Zoology London* 252: 351-362.
- HARRIS, D. J. & CARRETERO, M. (2003). Comments on the taxonomic value of (sub)genera within the family lacertidae (Reptilia). *Amphibia-Reptilia* 24: 119-122.
- HARRIS, D. J. & SÁ-SOUSA, P. (2002). Molecular phylogenetics of iberian wall lizards (*Podarvis*): Is *Podarvis hispanica* a species complex. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 23: 75-81.
- HARRIS, D.J.; ARNOLD, E. & THOMAS, R. (1998a). Rapid speciation; morphological evolution, and adaptation to extreme environments in South African sand lizards (*Meroles*) as revealed by mitochondrial gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 10: 37-48.
- HARRIS, D. J.; ARNOLD, E. & THOMAS, R. (1998b). Relationships of lacertid lizards (reptilia: Lacertidae) estimated from mitochondrial DNA sequences and morphology. *Proceedings of the Royal Society of London B* 265: 1939-1948.
- HARRIS, D. J.; SINCLAIR, E.; MERCADER, N.; MARSHALL, J. & CRANDALL, K. (1999b). Squamate relationships based on *c-mos* nuclear DNA sequences. *Herpetological Journal* 9: 147-151.
- HARRIS, D.; ROGERS, D. & SULLIVAN, J. (2000). Phylogeography of *Peromyscus furrus* (Rodentia; Muridae)

- based on cytochrome b sequence data. *Molecular Ecology* **9**: 2129-2135.
- HARRIS, D.J.; MARSHALL, J. & CRANDALL, K. (2001). Squamate relationships based on *c-mos* nuclear DNA sequences: increased taxon sampling improves bootstrap support. *Amphibia-Reptilia* **22**: 235-242.
- HARRIS, D. J.; BATISTA, V.; CARRETERO, M.; PINHO, C. & SÁ-SOUSA, P. (2002a). Mitochondrial DNA sequence data confirms the presence of *Podarvis carbonelli*, PÉREZ-MELLADO, 1981 in southern Spain. *Herpetozoa* **15**: 188-190.
- HARRIS, D. J.; CARRANZA, S.; ARNOLD, E.; PINHO, C. & FERRAND, N. (2002b). Complex biogeographical distribution of genetic variation within *Podarvis* wall lizards across the strait of Gibraltar. *Journal of Biogeography* **29**: 1257-1262.
- HARRIS, D. J.; BATISTA, V.; LYMBERAKIS, P. & CARRETERO, M. (2004a). Complex estimates of evolutionary relationships in *Tarentola mauritanica* (Reptilia: Gekkonidae) derived from mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **30**: 855-859.
- HARRIS, D. J.; BATISTA, V.; CARRETERO, M. & FERRAND, N. (2004b). Genetic variation in *Tarentola mauritanica* (reptilian: Gekkonidae) across the Strait of Gibraltar derived from mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Amphibia-reptilian* **25**: 451-459.
- HARRISON, R. (1989). Animal mitochondrial DNA as a genetic marker in population and evolutionary biology. *Trends in Ecology & Evolution* **4**: 6-11.
- HARRISON, R. (1991). Molecular changes at speciation. *Annual Review of Ecology and Systematics* **22**: 281-308.
- HARVEY, P. & PAGEL, M. (1991). *The Comparative method in evolutionary biology*. Oxford University Press. Oxford.
- HASSANIN, A. & DOUZERY, E. (1999). The tribal radiation of the family bovidae (Artiodactyla) and the evolution of the mitochondrial cytochrome b gene. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **13**: 227-243.
- HASEGAWA, M. (2003). Ecological diversification of insular terrestrial reptiles: A review of the studies on the lizards and snakes of the Izu Islands. *Global Environmental Research* **7**: 59-67.
- HASEGAWA, M. & KISHINO, H. (1989). Heterogeneity in tempo and mode of mitochondrial DNA evolution among mammalian orders. *Japanese Journal of Genetics* **64**: 243-258.
- HASTINGS, A. & HARRISON, S. (1994). Metapopulation dynamics. *Annual Review of Ecology and Systematics* **25**: 259-267.
- HAUSCHILD, A. & GASSNER, P. (1995). *Skinke im Terrarium*. Hannover Landbuch
- HEDGES, S. (1994). Molecular evidence for the origin of birds. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **91**: 2621-2624.
- HEDGES, S. & BEZY, R. (1993). Phylogeny of xantusiid lizards: Concerns for data and analysis. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **2**: 76-87.
- HEDGES, S. & BEZY, R. (1994). Xantusiid Lizards and phylogenetic inference. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **3**: 275-278.
- HEDGES, S.; BEZY, R. & MAXSON, L. (1991). Phylogenetic relationships and biogeography of xantusiid lizards, inferred from mitochondrial DNA sequences. *Molecular Biology and Evolution* **8**: 767-780.
- HEDGES, S.; HASS, C. & MAXSON, L. (1993a). Relations of fish and tetrapods. *Nature* **363**: 501-502.
- HEDGES, S.; NUSSBAUM, R. & MAXSON, L. (1993b). Caecilian phylogeny and biogeography inferred from mitochondrial DNA sequences of the 12S rRNA and 16S rRNA genes (Amphibia: Gymnophiona). *Herpetological Monographs* **7**: 64-76.
- HEDRICK, P.; GUTIERREZ-ESPELETA, G. & LEE, R. (2001). Founder effect in an island population of bighorn sheep. *Molecular Ecology* **10**: 851-857.
- HEIN, J. & STØVLBAEK, J. (1994). Genomic alignment. *Journal of Molecular Evolution* **38**: 310-316.
- HEISE, P.; MAXSON, L.; DOWLING, H. & HEDGES, S. (1995). Higher-level snake phylogeny inferred from mitochondrial DNA sequences of 12S rRNA and 16S rRNA genes. *Molecular Biology and Evolution* **12**: 259-265.
- HELLBERG, M. (1994). Relationships between inferred levels of gene flow and geographic distance in a phylopatric coral *Balanophyllia elegans*. *Evolution* **48**: 1829-1854
- HENDERSON, R. & POWELL, R. (2001). Responses by west Indian herpetofauna to human-influenced resources. *Caribbean Journal of Science* **37**: 41-54.
- HENDRY, A.; TAYLOR, E. & McPHAIL, J. (2002). Adaptive divergence and the balance between selection and gene flow: Lake and stream stickleback in the misty system. *Evolution* **56**: 1199-1216.
- HENKEL, F. & SCHMIDT, W. (2000). *Amphibians and reptiles of Madagascar and Mascarene, Seychelles and Comoro Islands*. Krieger Publishing Company, Malabar, Florida.
- HENNIG, W. (1966). *Phylogenetic systematics*. University of Illinois Press. Urbana.
- HEWITT, G. (1999). Post-glacial re-coloniation of european Biota. *Biological Journal of the Linnean Society* **68**: 87-112.
- HEY, J. (1997). A reduction of "Species" resolves the species problem. <http://lifesci.rutgers.edu/~hey/lab/sconcept/introduction.html>.
- HICKSON, R.; SIMON, C. & PERREY, S. (2000). The performance of several multiple-sequence alignment programs in relation to secondary-structure features for an rRNA sequence. *Molecular Biology and Evolution* **17**: 530-539.
- HILDEBRAND, M. (1988). *Analysis of vertebrate structure*. 3rd ed.. John Wiley & Sons, Inc.
- HILLIS, D. (1991). Discriminating between phylogenetic signal and random noise in DNA sequences. In : MIYAMOTO, M. & CRACRAFT, J. (eds.). *Phylogenetic analysis of DNA sequences*. Oxford University Press. Pp. 278-294.
- HILLIS, D. & MORITZ, C. (eds.) (1990). *Molecular systematics*. Sinauer Associates Publishers, Sunderland.
- HILLIS, D. & WILCOX, T. (2005). Phylogeny of the new world true frogs (*Rana*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **34**: 299-314.
- HILLIS, D.; MABLE, B. & MORITZ, C. (1996a). Applications of molecular systematics: the state of the

- field and a look to the future. In : HILLIS, D.; MORITZ, C. & MABLE, B. (eds.). *Molecular Systematics*. Sinauer Associates, Sunderland. Pp. 515-543.
- HILLIS, D.; MABLE, B. & MORITZ, C. (1996b). *Molecular systematics*. Sinauer Associates Publishers, Sunderland.
- HODGES, W. & ZAMUDIO, K. (2004). Horned lizard (*Phrynosoma*) phylogeny inferred from mitochondrial genes and morphological characters: understanding conflicts using multiple approaches. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **31**: 961-971.
- HOEGG, S.; VENCES, M.; BRINKMANN, H. & MEYER, A. (2004). Phylogeny and comparative substitution rates of frogs inferred from sequences of three nuclear genes. *Molecular Biology and Evolution* **21**: 1188-1200.
- HOELZEL, A. & DOVER, G. (1991). *Molecular genetic ecology*. Oxford University Press. Oxford. 75 pp.
- HOELZEL, A.; LOPEZ, J.; DOVER, G. & O'BRIEN, S. (1994). Rapid evolution of a heteroplasmic repetitive sequence in the mitochondrial DNA control region of carnivores. *Journal of Molecular Evolution* **39**: 191-199.
- HOELZEL, A.; FLEISCHER, R.; CAMPAGNA, C.; LE BOEUF, B. & ALVORD, G. (2002). Impact of population bottleneck on symmetry and genetic diversity in the northern elephant seal. *Journal of Evolutionary Biology* **15**: 567-575.
- HOLDER, M. & LEWIS, P. (2003). Phylogeny estimation: traditional and bayesian approaches. *Nature Reviews Genetics* **4**: 275-284.
- HOLLOCHER, H. (1998). Island hopping in *Drosophila*: genetic patterns and speciation mechanisms. In: GRANT, P.(ed.). *Evolution on islands*. Oxford University Press. pp. 124-141.
- HOLMQUIST, R. (1983). Transitions and transversions in evolutionary descent: An approach to understanding. *Journal of Molecular Evolution* **19**: 134-144.
- HOLT, R. ; LAWTON, J.; POLIS, G. & MARTINEZ, N. (1999). Trophic rank and the species-area relationship. *Ecology* **80**: 1495-1504.
- HOLWAY, D. & SUAREZ, A. (1999). Animal behavior: and essential component of invasion biology. *Trends in Ecology & Evolution* **14**: 328-330.
- HONDA, M.; OTA, H.; KOBAYASHI, M. & HIKIDA, T. (1999a). Phylogenetic relationships of australian skinks of the *Mabuya* group (reptilian: Scincidae) inferred from mitochondrial DNA sequences. *Genes & Genetic Systems* **74**: 135-139.
- HONDA, M., OTA, H., KOBAYASHI, M., NABHITABHATA, J., YONG, H. & HIKIDA, T. (1999b): Evolution of asian and african lygosomine skinks of the *Mabuya* group (Reptilia: Skincidae): A molecular perspective. *Zoological Science* **16**: 979-984.
- HONDA, M.; OTA, H.; KOBAYASHI, M.; NABHITABHATA, J.; YOUNG, H. & HIKIDA, T. (2000). Phylogenetic relationships, character evolution, and biogeography of the subfamily Lygosominae (Reptilia: Scincidae) - Sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **15**: 452-461.
- HOOGMOED, M. S. (1974). *Ghanese lizards of the genus Mabuya (Scincidae, Sauria, Reptilia)*. Rijksmuseum van Natuurlijke Historie. Leiden. The Netherlands.
- HORAI, S.; HAYASAKA, K.; KONDO, R.; TSUGANE, K. & TAKAHATA, N. (1995). Recent african origin of modern humans revealed by complete sequence of hominoid mitochondrial DNAs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **92**: 532-536.
- HOWER, L. & HEDGES, S. (2003). Molecular phylogeny and biogeography of West indian teiid lizards of the genus *Ameiva*. *Caribbean Journal of Science* **39**: 298-306.
- HUELSENBECK, J. (1995). The robustness of two phylogenetic methods: Four-taxon simulations reveal a slight superiority of maximum likelihood over neighbor joining. *Molecular Biology and Evolution* **12**: 843-849.
- HUELSENBECK, J. & CRANDALL, K. (1997). Phylogeny estimation and hypotheses testing using maximum likelihood. *Annual Review of Ecology and Systematics* **28**: 437-466.
- HUELSENBECK, J. & HILLIS, D. (1993). Success of phylogenetic methods in the four taxon case. *Systematic Biology* **42**: 247-264.
- HUELSENBECK, J.; LARGET, B. & SWOFFORD, D. (2000). A compound poisson process for relaxing the molecular clock. *Genetics* **154**: 1879-1892.
- HUELSENBECK, J.; RONQUIST, F.; NIELSEN, R. & BOLLBACK, J. (2001). Bayesian inference of phylogeny and its impact on evolutionary biology. *Science* **294**: 2310-2314.
- HUELSENBECK, J.; LARGET, B.; MILLER, R. & RONQUIST, F. (2002). Potential applications and pitfalls of bayesian inference in phylogeny. *Systematic Biology* **51**: 673-688.
- HULVA, P.; HORÁČEK, I.; STRELKOV, P. & BRENDA, P. (2004). Molecular architecture of *Pipistrellus pipistrellus* / *Pipistrellus pygmaeus* complex (Chiroptera: Vespertilionidae): further cryptic species and mediterranean origin of the divergence. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **32**: 1023-1035.
- HUMPHRIES, C. & PARENTI, L. (1986). *Cladistic biogeography*. Clarendon Press. Oxford.
- HUNSAKER, D. (1966). Notes on the population expansion of the house gecko *Hemidactylus frenatus*. *Philippine Journal of Science* **95**: 121-122.
- IRWIN, D.; KOCHER, T. & WILSON, A. (1991). Evolution of the cytochrome b gene of mammals. *Journal of Molecular Evolution* **32**: 128-144.
- ISAAC, N.; MALLETT, J. & MACE, G. (2004). Taxonomic inflation: its influence on macroecology and conservation. *Trends in Ecology & Evolution*. **19**: 464-469.
- ITOW, S. (2003). Zonation patterns, succession process and invasion by aliens in species-poor insular vegetation of the Galápagos Islands. *Global Environmental Research* **7**: 39-58.
- JACKMAN, T.; IRSCHICK, D.; QUEIROZ, K.; LOSOS, J. & LARSON, A. (2002). Molecular phylogenetic perspective on evolution of lizards of the *Anolis grabami* series. *Journal of Experimental Zoology (Molecular and Developmental Evolution)* **294**: 1-16.

- JAMES, H. (1995). Prehistoric extinctions and ecological changes on oceanic islands. In: VITOUSEK, P.; LOOPE, L. & ADSESEN, H. (eds.). *Islands. Biological diversity and ecosystem function*. Ecological Studies 115. Springer-Verlag, Berlin. Heidelberg. Pp. 87-102.
- JANCZEWSKI, D.; MODI, W.; STEPHENS, J. & O'BRIEN, S. (1995). Molecular evolution of mitochondrial 12S RNA and cytochrome b sequences in the pantherine lineage of felidae. *Molecular Biology and Evolution* **12**: 690-707.
- JANKE, A. & ARNASON, U. (1997). The complete mitochondrial genome of *Alligator mississippiensis* and the separation between recent archosauria (birds and crocodiles). *Molecular Biology and Evolution* **14**: 1266-1272.
- JANKE, A.; ERPENBECK, D.; NILSSON, M. & ARNASON, U. (2001). The mitochondrial genomes of the iguana (*Iguana iguana*) and the caiman (*Caiman crocodylus*): Implications for amniote phylogeny. *Proceedings of the Royal Society of London B*. **268**: 623-631.
- JANZEN, F.; KRENZ, J.; HASELKORN, S.; BRODIE Jr, E. & BRODIE III, E. (2002). Molecular phylogeography of common garter snakes (*Thamnophis sirtalis*) in western North America: implications for regional historical forces. *Molecular Ecology* **11**: 1739-1751.
- JERMIIN, L.; GRAUR, D.; LOWE, R. & CROZIER, R. (1994). Analysis of directional mutation pressure and nucleotide content in mitochondrial cytochrome b genes. *Journal of Molecular Evolution* **39**: 160-173.
- JERRY, D. & BAVERSTOCK, P. (1998). Consequences of a catadromus life-strategy for levels of mitochondrial DNA differentiation among populations of the Australian bass, *Macquaria novemaculeata*. *Molecular Ecology* **7**: 1003-1013.
- JESUS, J. & SAMPAIO, L. (1994). Data on systematics and ecology of the madeiran lizard (*Lacerta dugesii* MILNE-EDWARDS, 1829). III Congreso Luso – Español, VII Congreso Español de Herpetología. 19-23 of September. Badajoz. Book of abstracts. Pp 63.
- JESUS, J.; SAMPAIO, L. & BREHM, A. (1994). Biometric data and morphological variability of *Lacerta dugesii* MILNE-EDWARDS, 1829 on the Madeira Archipelago (Portugal). III Congreso Luso – Español, VII Congreso Español de Herpetología. 19-23 of September. Badajoz. Book of abstracts. Pp 64.
- JESUS, J. BREHM, A. & VICENTE, L. (1998). Variability in *Lacerta dugesii* MILNE-EDWARDS, 1829 populations. *The Third International Symposium on the Lacertids of the Mediterranean Basin*. 25-29 May. Cres (Croatia). Book of abstracts, Pp. 10.
- JESUS, J.; SAMPAIO, L. & SILVA, L. (2001a). Incidence of *Lacerta dugesii* MILNE-EDWARDS, 1829, on the diet of *Falco tinnunculus canariensis* KOENIG, 1889, of Ponta de São lourenço (Madeira-Portugal). I symposium "Island ecosystems- A conservation and molecular approach". 05-09 March. Funchal. Book of abstracts, Pp. 68.
- JESUS, J.; BREHM, A.; PINHEIRO, M. & HARRIS, D. J. (2001b). Relationships of *Hemidactylus* (Reptilia: Gekkonidae) from the Cape Verde islands: What mitochondrial DNA data indicate. *Journal of Herpetology* **35**: 672-675.
- JESUS, J.; BREHM, A. & HARRIS, D. J. (2002a). Relationships of *Tarentola* (Reptilia: Gekkonidae) from the Cape Verde islands estimated from DNA sequence data. *Amphibia-Reptilia* **23**: 47-54.
- JESUS, J.; FREITAS, A.; BREHM, A. & HARRIS, D. J. (2002b). An introduced population of *Hemidactylus mabouia* (MOREAU DE JONNÉS, 1818) on Madeira island. *Herpetozoa* **15**: 179-180.
- JESUS, J.; BREHM, A. & HARRIS, D. J. (2003). The herpetofauna of Annobon island, Gulf of Guinea, West Africa. *Herpetological Bulletin* n° **86**: 20-22.
- JESUS, J.; BREHM, A. & HARRIS, D. J. (2005a). Relationships of scincid lizards (*Mabuya* spp.) from the islands of the Gulf of Guinea based on mtDNA sequence data. *Amphibia-Reptilia* (in press).
- JESUS, J.; BREHM, A. & HARRIS, D. J. (2005b). Phylogenetic relationships of *Hemidactylus* geckos from the Gulf of Guinea islands: patterns of natural colonizations and anthropogenic introductions estimated from mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **34**: 480-485.
- JESUS, J.; BREHM, A. & HARRIS, D. J. (2005c). Is *c-mos* phylogenetically informative at lower taxonomic levels in reptiles? Na assessment of variation within *Lacerta* (*Teira*) *dugesii* MILNE-EDWARDS, 1829 (Squamata: Sauria: Lacertidae). *Herpetozoa* **18** (in press).
- JESUS, J.; HARRIS, D. J. & BREHM, A. (submitted). Phylogeography of *Mabuya maculilabris* (reptilia) from São Tomé Island (Gulf of Guinea) inferred from mtDNA sequences. *Molecular Phylogenetic and Evolution* (Submitted).
- JIGGINS, C. & MALLETT, J. (2000). Bimodal hybrid zones and speciation. *Trends in Ecology & Evolution* **15**: 250-255.
- JIGGINS, C.; McMILLAN, W.; NEUKIRCHEN, W. & MALLETT, J. (1996). What can hybrid zones tell us about speciation?. The case of *Heliconius erato* and *H. bimera* (Lepidoptera: Nymphalidae). *Biological Journal of Linnean Society* **59**: 221-242.
- JOGER, U. (1983). Zwei neue Taxa der Gattung *Tarentola* (Reptilia: Sauria: Gekkonidae) von den Kanarischen Inseln. *Bonner zoologische Beiträge* **34** (4): 459-468.
- JOGER, U. (1984a). Taxonomische revision der Gattung *Tarentola* (Reptilia: Gekkonidae). *Bonner zoologische Beiträge* **35**: 129-174.
- JOGER, U. (1984b). Die Radiation der Gattung *Tarentola* in Makaronesien (Reptilia: Sauria: Gekkonidae). *Courier Forschung-Institut Senckenberg* **71**: 91-111.
- JOGER, U. (1985). Biochemical and immunological data on systematic position of the endemic gecko of Selvages Islands. *Bonner zoologische Beiträge* **36**: 307-314.
- JOGER, U. (1993). On two collections of reptiles and amphibians from the Cape Verde Islands, with descriptions of three new taxa. *Courier Forschung-Institut Senckenberg* **159**: 437-444.
- JOGER, U.; NAGY, Z.; VENCES, M. & WINK, M. (2001). Biogeography of colubrid snakes of Socotra and Madagascar: multiple colonization events demonstrated by analyses of nuclear and mitochondrial

- DNA. Abstract 11th OGM Soc. Eur. Herpetologica, Zalec. *Biota* 2: 32.
- JOHNS, G. C. & AVISE, J. C. (1998). A comparative summary of genetic distances in the vertebrates from the mitochondrial cytochrome b gene. *Molecular Biology and Evolution* **15**: 1481-1490.
- JOHNSON, G. (1973). Relationship of enzyme polymorphism to species diversity. *Nature* **242**: 193-194.
- JOHNSON, K. & SORENSON, M. (1998). Comparing molecular evolution in two mitochondrial protein coding genes (cytochrome b and ND2) in the dabbling ducks (Tribe: Anatini). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **10**: 82-94.
- JOUANIN, C.; ROUX & MOUGIN, J. (1995). Les îles et la conservation des oiseaux océaniques: L' exemple d'une espèce atlantique, le puffin cendré *Calonectris diomedea borealis*. *Boletim do Museu Municipal do Funchal*, Sup. N° 4: 353-363.
- JUAN, C.; OROMÍ, P. & HEWITT, G. (1996). Phylogeny of the genus *Hegeter* (Tenebrionidae, Coleoptera) and its colonization of the Canary Islands deduced from cytochrome oxidase I mitochondrial DNA sequences. *Heredity* **76**: 392-403.
- JUAN, C.; EMERSON, B.; OROMI, P. & HEWITT, G. M. (2000). Colonization and diversification towards a phylogeographic synthesis for the Canary Islands. *Trends in Ecology & Evolution* **15**: 104-109.
- JUKES, T. & CANTOR, C. (1969). Evolution of protein molecules. In: MURO, M. (ed.) *Mammalian protein metabolism*. Academic Press. New York.
- JUSTE, J. (1996). Trade in the gray parrot *Psittacus erithacus* on the Island of Príncipe (São Tomé and Príncipe, Central Africa): Initial assessment of the activity and its impact. *Biological Conservation* **76**: 101-104.
- JUSTE B. & IBÁÑEZ, C. (1994). Geographic variation and taxonomy of *Rousettus aegypticus* (Mammalia: Megachiroptera) in the islands of the Gulf of Guinea. *Zoological Journal of the Linnean Society* **107**: 117-179.
- JUSTE B.; MACHORDAN, A. & IBÁÑEZ, C. (1996). Allozyme Variation of the Egyptian Rousette (*Rousettus aegypticus*; Chiroptera, Pteropodidae) in the Gulf of Guinea (West-Central Africa). *Biochemical Systematics and Ecology* **24**: 499-508.
- JUSTE, J.; IBÁÑEZ, C.; MUÑOZ, J.; TRUJILLO, D.; BENDA, P.; KARATAS, K. & RUEDI, M. (2004). Mitochondrial phylogeography of the long-eared bats (*Plecotus*) in the Mediterranean Palearctic and Atlantic Islands. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **31**: 1114-1126.
- KAMIJO, T. & HASHIBA, K. (2003). Island ecosystem and vegetation dynamics before and after the 2000-year eruption on Miyake-jima Island, Japan, with implications for conservation of the island's ecosystem. *Global Environmental Research* **7**: 69-78.
- KARLIN, A.; GUTTMAN, S. & RATHBUN, S. (1984). Spatial autocorrelation analysis of heterozygosity and geographic distribution in populations of *Desmognathus fuscus* (Amphibia, Plethodontidae). *Copeia* 2: 343-356.
- KASAPIDIS, P.; SUCHENTRUNK, F.; MAGOULAS, A. & KOTOULAS, G. (2005). The shaping of mitochondrial DNA phylogeographic patterns of the brown hare (*Lepus europaeus*) under the combined influence of late Pleistocene climatic fluctuations and anthropogenic translocations. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **34**: 55-66.
- KEITT, T. & MARQUET, P. (1996). The introduced hawaiian avifauna reconsidered: Evidence for self-organized criticality ?. *Journal of Theoretical Biology* **182**: 161-167.
- KELLER, G. & MANAK, M. (1989). *DNA probes*. MacMillan Publishers Ltd.. 259 pp.
- KELLY, C.; BARKER, N. & VILLET, M. (2003). Phylogenetics of advanced snakes (Caenophidia) based on four mitochondrial genes. *Systematic Biology* **52**: 439-459.
- KELT, D. & BROWN, J. (2000). Species as units of analysis in ecology and biogeography: are the blind leading the blind ?. *Global Ecology & Biogeography* **9**: 213-217.
- KEOGH, J. (1998). Molecular phylogeny of elapid snakes and a consideration of their biogeographic history. *Biological Journal of the Linnean Society* **63**: 177-203.
- KHADEM, M.; JESUS, J. & BREHM, A. (1997). Peptidase-3 polymorphism in populations of the madeiran lizard *Lacerta dugesii*, from Porto Santo Island. *Boletim do Museu Municipal do Funchal* **49** (276): 99-105.
- KILBURN, P. (1966). Analysis of the species area relation. *Ecology* **47**: 831-843.
- KIM, K.; LEE, S.; JEONG, H & HA, J. (1998). The complete nucleotide sequence of the domestic dog (*Canis familiaris*) mitochondrial genome. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **10**: 210-220.
- KIMBALL, R.; BRAUN, E.; ZWARTJES, P.; CROWE, T. & LIGON, J. (1999). A molecular Phylogeny of the pheasants and partridges suggest that these lineages are not monophyletic. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **11**: 38-54.
- KIMURA, M. (1953). "Stepping stone" model of population. *Annual Report of the National Institut of Genetics, Japan* **3**: 62-63.
- KIMURA, M. (1980). A simple model for estimating rates of base substitution through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* **16**: 111-120.
- KIMURA, M. (1983). The neutral theory of molecular evolution. In: NEI, M. & KOEHN, R. (eds.). *Evolution of Genes and Proteins*. Sinauer Associates Inc.. Pp. 208-233.
- KIMURA, M. & WEISS, G. (1964). The stepping stone model of population structure and the decrease of genetic correlation with distance. *Genetica* **49**: 561-576.
- KING, M. (1973). Karyotypic studies of some australian scincidae (Reptilia). *Australian Journal of Zoology* **21**: 21-32.
- KIRKPATRICK, M. & SLATKIN, M. (1993). Searching for evolutionary patterns in the shape of a phylogenetic tree. *Evolution* **47**: 1171-1181.

- KITCHING, I.; FOREY, P.; HUMPHRIES, C. & WILLIAMS, D. (1998) Cladistics: The theory and practice of parsimony analysis. 2nd ed.. The Systematics Association Publication No. 11. Oxford University Press.
- KLEMMER, K. (1976). The amphibia and reptilia of the Canary islands. *In*: KUNKEL, G. (ed.). *Biogeography and ecology in the Canary Islands*. Den Haag. Pp. 433-456.
- KLUGE, A. (1969). The evolution and geographical origin of the new world *Hemidactylus mabouia-brooki* complex (gekkonidae, Sauria). *Miscellaneous Publications of the Museum of Comparative Zoology, University of Michigan* **138**: 1-78.
- KLUGE, A. (1984). The relevance of parsimony to phylogenetic inference. *In*: DUNCAN, T. & STUESSY, T. (eds). *Cladistics : Perspectives on the reconstruction of evolutionary history*. Columbia University Press. New York. Pp. 24-38.
- KLUGE, A. (1987). Cladistic relationships in Gekkonoidea (Squamata: Sauria). *Miscellaneous Publications, Museum of Zoology, University of Michigan* **173**: 1-54
- KLUGE, A. (1988). Parsimony in vicariance biogeography: a quantitative method and a greater Antillean example. *Systematic Zoology* **37**: 315-328.
- KLUGE, A. (2001). Gekkotan lizard taxonomy. *Hamadryad* **26**: 1-209.
- KLUGE, A. G. & FARRIS, J. S. (1969). Quantitative phyletics and the evolution of anurans. *Systematic Zoology* **18**: 1-32.
- KOCHER, T. THOMAS, W.; MEYER, A.; EDWARDS, S.; PÄÄBO S.; VILLABLANCA, F. & WILSON, A. (1989). Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: Amplification and sequencing with conserved primers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **86**: 6196-6200.
- KOHLER, G.; SCHROTH, W. & STREIT, B. (2000). Systematics of the Ctenosaura group of lizards (Reptilia: Sauria: Iguanidae). *Amphibia-Reptilia* **21**: 177-191.
- KORNEGAY, J.; KOCHER, T.; WILLIAMS, L. & WILSON, A. (1993). Pathways of lysozyme evolution inferred from the sequences of cytochrome b in birds. *Journal of Molecular Evolution* **37**: 367-379.
- KORNET, D. (1993). Permanent splits as speciation events: a formal reconstruction of the internodal species concept. *Journal of Theoretical Biology* **164**: 407-435.
- KREBS, C. (1994). *Ecology: The experimental analysis of distribution and abundance*. 4th ed.. Harper Collins College Publishers.
- KREITMAN, M. (1991). Detecting selection at the level of DNA. *In*: SELANDER, R.; CLARK, A. & WHITTAM, T. (eds). *Evolution at the molecular level*. Sinauer Associates Inc.. Pp. 204-221.
- KRONAUER, D.; BERGMANN, P.; MERCER, J. & RUSSEL, A. (2005). A phylogeographically distinct and deep divergence in the widespread neotropical turnip-tailed gecko, *Thecadactylus rapicauda*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **34**: 431-437.
- KRUESS, A. & TSCHARNTKE, T. (2000). Species richness and parasitism in a fragmented landscape: experiments and field studies with insects on *Vicia sepium*. *Oecologia* **122**: 129-137.
- KUMAR, S.; TAMURA, K.; JAKOBSEN, I. & NEI, M. (2001). *Mega 2: Molecular evolutionary genetics analysis software*. Arizona State University. Tempe. Arizona. USA.
- KUMAZAWA, Y. & NISHIDA, M. (1995). Variation in mitochondrial tRNA gene organization of reptiles as phylogenetic markers. *Molecular Biology and Evolution* **12**: 759-772.
- KUMAZAWA, Y. & NISHIDA, M. (1999). Complete mitochondrial DNA sequences of the green turtle and blue-tailed mole skink: Statistical evidence for Archosaurian affinity of turtles. *Molecular Biology and Evolution* **16**: 784-792.
- KUMAZAWA, Y.; OTA, H.; NISHIDA, M. & OZAWA, T. (1998). The complete nucleotide sequence of a snake (*Dinodon semicarinatus*) mitochondrial genome with two identical control regions. *Genetics* **150**: 313-319.
- LACK, D. (1969). Population changes in the land birds of a small island. *Journal of Animal Ecology* **38**: 211-218.
- LAKE, J. (1987). A rate-independent technique for analysis of nucleic acids sequences: evolutionary parsimony. *Journal of Molecular Evolution* **4**: 167-191
- LAINS E SILVA, H. (1958). São Tomé e Príncipe e a cultura do café. *Memórias da Junta de Investigação do Ultramar*. Lisboa. 2^a série. 499 pp.
- LAMB, T. & BAUER, A. (2000). Relationships of the *Pachydactylus rugosus* group of geckos (Reptilia: Squamata: Gekkonidae). *African Zoology* **35**: 55-57.
- LAMB, T. & BAUER, A. (2001). Molecular phylogeny of namib day geckos (*Rhotropus*) based on cytochrome b and 16 S rRNA sequences. *Copeia* **3**: 775-780.
- LAMB, T. & LYDEARD, C. (1994). A Molecular phylogeny of the gopher tortoises, with comments on familial relationships within Testudinoidea. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **3**: 283-291.
- LANAVE, C.; PREPARATA, G.; SACCONI, C. & SERIO, G. (1984). A new method for calculating evolutionary substitutions rates. *Journal of Molecular Evolution* **20**: 86-93.
- LANDE, R. (1988). Genetics and demography in biological conservation. *Science* **241**: 1455-1460.
- LANDE, R. (1992). Neutral theory of quantitative genetic variance in an island model with local extinction and colonization. *Evolution* **46**: 381-389.
- LANDE, R. (1993). Risks of population extinction from demographic and environmental stochasticity and random catastrophes. *The American Naturalist* **142**: 911-927.
- LANYON, S. (1988). The stochastic mode of molecular evolution: What consequences for systematics investigations?. *Auk* **105**: 565-573.
- LAURENT, L. (1993). *Une approche de biologie de la conservation appliqué a la population de tortue marine Caretta caretta de mediterranee*. Thèse de Doctorat. Université Paris VI.

- LAVERY, S.; MORITZ, C. & FIELDER, D. (1995). Changing patterns of population structure and gene flow at different spatial scales in *Birgus latro* (the coconut crab). *Heredity* **74**: 531-541.
- LECOINTRE, G.; PHILIPPE, H. & LÊ, H. (1993). Species sampling has a major impact on phylogenetic inference. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **2**: 205-224.
- LEE, J. C. (2000). *A field guide to the amphibian and reptiles of the Maya world: the lowlands of Mexico, Northern Guatemala and Belize*. Cornell University Press.
- LEE, D.; HALLIDAY, A.; FITTON, J. & POLI, G. (1994). Isotopic variations with distances and time in the volcanic islands of the Cameroon line. *Earth and Planetary Science Letters* **123**: 119-139.
- LESSA, E. & COOK, J. (1998). The molecular phylogenetics of Tuco-Tucos (genus *Ctenomys*, Rodentia: Octodontidae) suggests an early burst of speciation. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **9**: 88-99.
- LEVINS, R. (1969). Some demographic and genetic consequences of environmental heterogeneity for biological control. *Bulletin of the Entomological Society of America* **15**: 237-240.
- LEWIS, P. (2001). Phylogenetic systematics turns over a new leaf. *Trends in Ecology & Evolution* **16**: 30-37.
- LEWONTIN, R. (1975). Genetic aspects of intelligence. *Annual Review of Genetics* **9**: 387-405.
- Li W. (1997). *Molecular evolution*. Sinauer, Sunderland, Mass
- LI, W.; TANIMURA, M. & SHARP, P. (1987). An evaluation of the molecular clock hypothesis using mammalian DNA sequences. *Journal of Molecular Evolution* **25**: 330-342.
- LIN, S.; CHEN, C. & LUE, K. (2002). Molecular phylogeny and biogeography of the grass lizards genus *Takydromus* (Reptilia: Lacertidae) of East Asia. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **22**: 276-288.
- LINNAEUS, C. (1758). *Systema naturae*. Parte da Herpetologia. Pp 194-229. <http://itgmv1.fzk.de/www/itg/uetz/herp/library/Linnaeus1758.pdf>
- LIU, H. & HERSHLER, R. (2005). Molecular systematics and radiation of western north american nymphophilinae gastropods. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **34**: 284-298.
- LLOYD, D. & CALDER, V. (1991). Multi-residue gaps, a class of molecular characters with exceptional reliability for phylogenetic analyses. *Journal of Evolutionary Biology* **64**: 9-21.
- LOMOLINO, M. (2000). Ecology's most general, yet protean pattern: the species-area relationship *Journal of Biogeography* **27**: 17-26.
- LOMOLINO, M.; BROWN, J. & DAVIS, R. (1989). Island biogeography of montane forest mammals in the american SouthWest. *Ecology* **70**: 180-194.
- LOOIJEN, R. (1998). *Holism and reductionism in biology and ecology. The mutual dependence of higher and lower level research programmes*. PhD Thesis. Rijksuniversiteit Groningen.
- LOPEZ, J.; YUKKI, N.; MASUDA, R.; MODI, V. & O'BRIAN, S. (1994). *Numt*, a recent transfer and tandem amplification of mitochondrial DNA to the nuclear genome of the domestic cat. *Journal of Molecular Evolution* **39**: 174-190.
- LÓPEZ-FERNÁNDEZ, H.; HONEYCUTT, R. & WINEMILLER, K. (2005). Molecular phylogeny and evidence for an adaptive radiation of geophagine cichlids from South America (Perciformes: Labroidei). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **34**: 227-244.
- LÓPEZ-JURADO, L. & BAÉZ, M. (1985). La variación de *Chalcides sexlineatus* en la Isla de Gran Canaria (Islas Canarias). *Bonner Zoologische Beiträge* **36**: 315-336.
- LÓPEZ-JURADO, L. & MATEO, J. (1995). Origin, colonization, adaptive radiation, intraspecific evolution and species substitution processes in the fossil and living of the Canary Islands. In: LLORENTE, G.; MONTORI, A.; SANTOS, X. & CARRETERO, M. (eds.). *Scientia Herpetologica*. Asociación Herpetológica Española. Pp. 81-91.
- LOSOS, J. (1998). Ecological and evolutionary determinants of the species-area relationship in Caribbean anoline lizards. In: GRANT, P. (ed.). *Evolution on islands*. Oxford University Press. Pp. 210-224.
- LOSOS, J. & ADLER, F. (1995). Stumped by trees? A generalized null model for patterns of organismal diversity. *The American Naturalist* **145**: 329-342.
- LOSOS, J. & SCHLUTER, D. (2000). Analysis of an evolutionary species-area relationships. *Nature* **408**: 847-850
- LOSOS, J.; IRSCHICK, D. & SCHOENER, T. (1994). Adaptation and constraint in the evolution of specialization of bahamian *Anolis* lizards. *Evolution* **48**: 1786-1798.
- LOSOS, J.; JACKMAN, T.; LARSON, A.; QUEIROZ, K.; RODRÍGUEZ-SCHETTINO, L. (1998). Contingency and determinism in replicated adaptive radiations of island lizards. *Science* **279**: 2115-2118.
- LOVETTE, I. & BERMINGHAM, E. (1999). Explosive speciation in the New World *Dendroica* warblers. *Proceedings of the Royal Society of London B*. **266**: 1629-1636.
- LOVETTE, I. & BERMINGHAM, E. (2000). *C-mos* variation in songbirds: molecular evolution, phylogenetic implications, and comparisons with mitochondrial differentiation. *Molecular Biology and Evolution* **17**: 1569-1577.
- LOVETTE, I.; SEUTIN, G.; RICKLEFS, R. & BERMINGHAM, E. (1999b). The assembly of an island fauna by natural invasions: Sources and temporal patterns in the avian colonization of Barbados. *Biological Invasions* **1**: 33-41.
- LOWE, L. & SHERER, S. (1997). Mitochondrial eve: The plot thickens. *Trends in Ecology & Evolution* **12**: 422-423.
- LOWE, A.; HARRIS, S. & ASHTON, P. (2004). *Ecological genetics.. Design, analysis and application*. Blackwell Publishers.
- LUCOTTE, G. (1978). *Génétique et évolution*. Editions Vigot.
- LUIKART, G.; SHERWIN, W.; STEELE, B. & ALLENDORF, F. (1998). Usefulness of molecular markers for detecting population bottlenecks via monitoring genetic change. *Molecular Ecology* **7**: 963-974.
- LUNT, D.; WHIPPLE, L. & HYMAN, B. (1998). Mitochondrial DNA variable number of tandem

- repeats (VNTRs): utility and problems in molecular ecology. *Molecular Ecology* **7**: 1441-1455.
- LUTZ, D. & MAYER, W. (1985). Albumin evolution and its phylogenetic and taxonomic implications in several lacertid lizards. *Amphibia-Reptilia* **6**: 53-61.
- MACA-MEYER, N.; CARRANZA, S.; RANDO, J.; ARNOLD, E. & CABRERA, V. (2003). Status and relationships of the extinct giant canary island lizard *Gallotia galloti* (Reptilia: Lacertidae) assessed using ancient mtDNA from its mummified remains. *Biological Journal of the Linnean Society* **80**: 659-670.
- MACARTHUR, R. & WILSON, E. (1963). An equilibrium theory of insular zoogeography. *Evolution* **17**: 373-387.
- MACARTHUR, R. & WILSON, E. (1967). *The theory of island biogeography*. Princeton University Press. New Jersey.
- MACARTHUR, R. ; DIAMOND, J. & KARR, J. (1972). Density compensation in island faunas. *Ecology* **53**: 330-342.
- MACCULLOCH, R.; FU, J.; DAREVSKY, S.; DANIELYAN, F. & MURPHY, R. (1995). Allozyme variation in three closely related species of caucasian rock lizards (*Lacerta*). *Amphibia-Reptilia* **16**: 331-340.
- MACCULLOCH, R.; MURPHY, R.; FU, J.; DAREVSKY, S. & DANIELYAN, F. (1997). Disjunct habitats as islands: genetic variability in the caucasian rock lizard *Lacerta portschinskii*. *Genetica* **101**: 41-45.
- MACEY, J.; LARSON, A.; ANANJEVA, N.; FANG, Z. & PAPPENFUSS, T. (1997a). Two novel gene orders and the role of the vertebrates mitochondrial genome. *Molecular Biology and Evolution* **14**: 91-104.
- MACEY, J.; LARSON, A.; ANANJEVA, N. & PAPPENFUSS, T. (1997b). Replication slippage any cause parallel evolution in the secondary structures of mitochondrial transfer RNAs. *Molecular Biology and Evolution* **14**: 30-39.
- MACEY, J.; SCHUKTE II, J.; ANANJEVA, N.; LARSON, A.; RASTEGAR-POUYANI, N.; SHAMMAKOV, S. & PAPPENFUSS, T. (1998). Phylogenetic relationships among agamid lizards of the *Laudakia caucasica* species group: Testing hypotheses of biogeographic fragmentation and an area cladogram for the Iranian Plateau. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **10**: 118-131.
- MACEY, J.; SCHUKTE II, J.; LARSON, A.; TUNIYEK, B.; ORLOV, N. & PAPPENFUSS, T. (1999a). Molecular phylogenetics, tRNA evolution, and historical biogeography in anguid lizards and related taxonomic families. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **12**: 250-272.
- MACEY, J.; WANG, Y.; ANANJEVA, N.; LARSON, A. & PAPPENFUSS, T. (1999b). Vicariant patterns of fragmentation among gekkonid lizards of the genus *Teratoscincus* produced by the indian collision: a molecular phylogenetic perspective and an area cladogram for central Asia. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **12**: 320-332.
- MACHADO, A. (1985). Hypothesis on the reasons for the decline of the large lizards in the Canary Islands. *Bonner Zoologische Beiträge* **36**: 563-565.
- MACHADO, A. (1995). Ground beetles of Macaronesia, an overview (Coleoptera, Carabidae). *Boletim do Museu municipal do Funchal* Supl. N° 4: 395-410
- MACK, R.; SIMBERLOFF, D.; LONSDALE, M.; EVANS, H.; CLOUT, M. & BAZZAZ, F. (2000). Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecological Applications* **10**: 689-710.
- MALDONADO, J.; VILÁ, C. & WAYNE, R. (2001). Tripartite genetic subdivisions in the ornate shrew (*Sorex ornatus*). *Molecular Ecology* **10**: 127-147.
- MALEY, J. & BRENAC, P. (1998). Vegetation dynamics, paleoenvironments and climatic changes in the forests of western Cameroon during the last 28,000 years. *Review of Palaeobotany and Palynology* **99**: 157-187.
- MALKMUS, R. (1984). Zur verbreitung von *Rana perezi* und *Lacerta dugesii* auf den Azoren. *Nachr. Natur. Mus. Asch.* **92**: 37-69.
- MALLET, J. (1995). The species definition for the modern synthesis. *Trends in Ecology & Evolution* **10**: 294-299.
- MALLET, J. (2001a). Subspecies, semispecies. In: LEVIN, S. (eds.). *Encyclopedia of biodiversity*. Volume 5. Academic Press. pp 523-526
- MALLET, J. (2001b). Species, concepts of. In: LEVIN, S. et al (eds.). *Encyclopedia of biodiversity*. Volume 5. Academic Press. Pp. 427-440.
- MALLET, J. (2001c). The species revolution. *Journal of Evolutionary Biology* **14**: 887-888.
- MALLET, J. (2004). Species problem solved 100 years ago. *Nature* **430**: 503.
- MANAÇAS, C. (1952). Saurios de Moçambique. *Anais da Junta de Investigações do Ultramar*. **VII** (III) Trabalhos da Missão Zoológica de Moçambique 31: 129-159. Junta das Missões Geográficas e de Investigação Coloniais. Lisboa.
- MANAÇAS, C. (1955). Saurios e Ofídeos da Guiné Portuguesa. *Anais da Junta de Investigações do Ultramar*. **X** (IV) Trabalhos da Missão Zoológica da Guiné e do Centro de Zoologia 43: 185-213. Junta das Missões Geográficas e de Investigação Coloniais. Lisboa.
- MARJORAN, P. & DONNELLY, P. (1994). Pairwise comparison of mitochondrial DNA sequences in subdivided populations and implication for early human evolution. *Genetics* **136**: 673-683.
- MARSHALL, H. & BAKER, A. (1999). Colonization history of Atlantic island common chaffinches (*Fringilla coelebs*) revealed by mitochondrial DNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **11**: 201-212.
- MARTÍN, A. & BERMINGHAM, E. (1998). Systematics and evolution of lower central american cichlids inferred from analysis of cytochrome b gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **9**: 192-203.
- MARTÍN, C.; GONZALEZ-BENITO, M. & IRIONDO, J. (1997). Genetic diversity within and among populations of threatened species: *Erodium paularense* Fern. Gonz. & Izco. *Molecular Ecology* **6**: 813-820.
- MARZOLI, A.; RENNE, P.; PICCIRILLO, E. M.; FRANCESCA, C.; BELLINI, G.; MELFI, A.; NYOBE, J. & N'NI, J. (1999). Silic magmas from the continental Cameroon Volcani Line (Oku, Bambouto

- and Ngaoundere): ^{40}A - ^{39}A dates, petrology, Sr-Nd-O isotopes and their petrogenetic significance. *Contributions to Mineralogy and Petrology* **135**: 133-150.
- MATEO, J. (1997a). Las islas e islotes del litoral ibérico. In : PLEGUEZUELOS, J. (ed.). *Distribución y biogeografía de los anfibios y reptiles en España y Portugal*. Monografías de Herpetología. Vol.3. Asociación Herpetológica Española. Granada.
- MATEO, J. (1997b). Las especies introducidas en la Península Ibérica, Baleares, Canarias, Madeira y Azores. In : PLEGUEZUELOS, J. (ed.). *Distribución y biogeografía de los anfibios y reptiles en España y Portugal*. Monografías de Herpetología. Vol. 3. Universidad de Granada: Asociación Herpetológica Española. Pp. 465-475.
- MATEO, J.; GARCÍA-MARQUES, M. LÓPEZ-JURADO, L. & PETHER, J. (1997) Nuevas observaciones herpetológicas en las islas Desertas (Archipiélago de Cabo Verde). *Boletín de la Asociación Herpetológica Española* **8**: 8-11.
- MATISOO-SMITH, E. ; ROBERTS, R.; IRWIN, G.; ALLEN, J.; PENNY, D. & LAMBERT, D. (1998). Patterns of prehistoric human mobility in Polynesia indicated by mtDNA from the Pacific rat. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **95**: 15145-15150.
- MATSUHASHI, T.; MASUDA, R.; MANO, T. & YOSHIDA, M (1999). Microevolution of the mitochondrial DNA control region in the Japanese brown bear (*Ursus arctos*) population. *Molecular Biology and Evolution* **16**: 676-684.
- MATTHEE, C. & ROBINSON, T. (1999). Cytochrome b phylogeny of the family bovidae: Resolution within the Alcephini, Antilopini, Neotragini and Tragelaphini. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **13**: 31-46.
- MAUSFELD, P. & SCHMITZ, A. (2003). Molecular phylogeography, intraspecific variation and speciation of the Asian scincid lizard genus *Eutropis* Fitzinger, 1843 (Squamata: Reptilia: Scincidae): taxonomic and biogeographic implications. *Organisms Diversity & Evolution* **3**: 161-171.
- MAUSFELD, P.; VENCES, M; SCHMITZ, A. & VEITH, M. (2000). First data on the molecular phylogeography of scincid lizards of the genus *Mabuya*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **17**: 11-14.
- MAUSFELD, P.; SCHMITZ, A.; BOHME, W.; MISOF, B.; VRCIBRADIC, D. & ROCHA, C. (2002). Phylogenetic affinities of *Mabuya atlantica* Schmidt, 1945, Endemic to the Atlantic Ocean Archipelago of Fernando de Noronha (Brazil): Necessity of partitioning the genus *Mabuya* Fitzinger, 1826 (Scincidae: Lygosominae). *Zoologischer Anzeiger* **241**: 281-293.
- MAYER, W. & BENYR, G. (1994). Albumin-evolution and phylogenese in der familie Lacertidae. *Annual Naturhistorisches Museum Wien* **96B**: 621-648.
- MAYER, F. & HELVERSEN, O. (2001a). Sympatric distribution of two cryptic bat species across Europe. *Biological Journal of the Linnean Society* **74**: 365-374.
- MAYER, F. & HELVERSEN, O. (2001b). Cryptic diversity in European bats. *Proceedings of the Royal Society of London B* **268**: 1825-1832.
- MAYER, W. & LUTZ, D. (1989). Chemosystematische untersuchungen zur phylogenese der sammelgattung *Lacerta* (Reptilian: Sauria: Lacertidae). *Z. zool. Syst. Evolut.-forsch* **27**: 338-349.
- MAYER, W. & TIEDMANN, G. (1982). Chemotaxonomical investigations in the collective genus *Lacerta* (Lacertidae, Sauria) by means of protein electrophoresis. *Amphibia-Reptilia* **2**: 349-355.
- MAYR, E. (1942). *Systematics and the origin of species*. Columbia University Press. New York.
- MAYR, E. (1963). *Animal species and evolution* Belknap Press/Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts
- MAYR, E. (1964). The evolution of living systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **51**: 934-941.
- MAYR, E. (1969). *Principles of systematic zoology*. McGraw-Hill. New York.
- MAYR, E. (1970). *Populations, species and evolution*. Belknap Press / Harvard University Press, Cambridge (USA), London.
- MAYR, E. (2004). 80 Years of watching the evolutionary scenery. *Science* **305**: 46-47.
- McBEE, K.; BICKHAM, J. & DIXON, J. (1987). Male heterogamety and chromosomal variation in Caribbean lizards. *Journal of Herpetology* **21**: 68-71.
- McCOID, M. (1993). The "new" herpetofauna of Guam, Mariana Islands. *Herpetological Review* **24**: 16-17.
- McLOUGHLIN, S. (2001). The breakup history of Gondwana and its impact on Pre Cenozoic floristic provincialism. *Australian Journal of Botany* **49**: 271-300.
- MEACHAM, C. (1984). Evaluating characters by character compatibility analysis. In: DUNCAN, T. & STUESSY, T. (eds.). *Cladistics : Perspectives on the reconstruction of evolutionary history*. Columbia University Press. New York.
- MERTENS, R. (1934). Die Insel-Reptilien, Ihre Ausbreitung, Variation und Artbildung. *Zoologica* **H84**: 1-209.
- MERTENS, R. (1938). Eine melanistische Rasse der Madeira-Eidechse. *Senckenbergiana* **30**: 287-290.
- MERTENS, R. (1955). Die Eidechsen der Kapverden. *Societas Scientiarum Fennica. Commentationes Biologicae* **XV**: 1-17.
- MEYER, A. (1994). Shortcomings of the cytochrome b gene as a molecular marker. *Trends in Ecology & Evolution*. **9**: 278-280.
- MEYER, A.; KOCHER, T.; BASASIBWAKI, P. & WILSON, A. (1990). Monophyletic origin of Lake Victoria cichlid fishes suggested by mitochondrial DNA sequences. *Nature* **347**: 550-553.
- MEYERS, J.; ROSENDAHL, B.; HARRISON, C. & DING, Z. (1998). Deep-imaging seismic and gravity results from offshore Cameroon Volcanic Line, and speculation of African hotlines. *Tectonophysics* **284**: 31-63.

- MILLIGAN, B.; LEEBENS-MACK, J. & STRANG, A. (1994). Conservation genetics: beyond the maintenance of marker diversity. *Molecular Ecology* **3**: 423-435.
- MINDELL, D. (1991). Aligning DNA sequences: homology and phylogenetic weighting. In: MIYAMOTO, M. & CRACRAFT, J. (eds.). *Phylogenetic analysis of DNA sequences*. Oxford University Press. Pp. 73-89.
- MINDELL, D. & MEYER, A. (2001). Homology evolving. *Trends in Ecology & Evolution* **16**: 434-440.
- MINDELL, D. & THACKER, C. (1996). Rates of molecular evolution: Phylogenetic issues and applications. *Annual Review of Ecology and Systematics* **27**: 297-303.
- MINDELL, D.; KNIGHT, A.; BAER, C. & HUDDLESTON, C. (1996). Slow rates of molecular evolution in birds and the metabolic rate and body temperature hypothesis. *Molecular Biology and Evolution* **13**: 422-426.
- MINDELL, D.; SORENSON, M. & DIMCHEFF, D. (1998). Multiple independent origins of mitochondrial gene order in birds. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **95**: 10693-10697.
- MITCHELL-THOMÉ, R. (1979). Notes on the geomorphology of Madeira. *Boletim do Museu Municipal do Funchal* **32** (139): 5-18.
- MITCHELL-THOMÉ, R. (1980). The calderas of Macaronesia. *Boletim do Museu Municipal do Funchal* **33** (141): 5-43.
- MITCHELL-THOMÉ, R. (1983). The Cape Verde Archipelago and african affinities. *Boletim do Museu Municipal do Funchal* **35** (155): 175-206.
- MITCHELL-THOMÉ, R. (1985). Radiometric studies in Macaronesia. *Boletim do Museu Municipal do Funchal* **37**: 52-85.
- MITTLEMAN, M. (1952). A generic synopsis of the lizards of the subfamily Lygosominae. *Smithsonian Miscellaneous Collections*. **117**: 1-35.
- MIYAMOTO, M. & CRACRAFT, J. (1991). Phylogenetic inference, DNA sequence analysis, and the future of molecular systematics. In: MIYAMOTO, M. & CRACRAFT, J. (eds.). *Phylogenetic analysis of DNA sequences*. Oxford University Press. Pp. 3-17.
- MOONEY, H. & CLELAND, E. (2001). The evolutionary impact of invasive species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **98**: 5446-5451.
- MOORE, W. (1995). Inferring phylogenies from mtDNA variation. Mitochondrial-gene trees versus nuclear-gene trees. *Evolution* **49**: 718-726.
- MORITZ, C. (1994). Applications of mitochondrial DNA analysis in conservation: a critical review. *Molecular Ecology* **3**: 401-411.
- MORITZ, C. & BROWN, W. (1986). Tandem duplications of D-loop and ribosomal RNA sequences in lizard mitochondrial DNA. *Science* **233**: 1425-1427.
- MORITZ, C. & BROWN, W. (1987). Tandem duplications in animal mitochondrial DNAs: Variation in incidence and gene content among lizards. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **84**: 7183-7187.
- MORITZ, C. & FAITH, D. (1998). Comparative phylogeography and the identification of genetically divergent areas for conservation. *Molecular Ecology* **7**: 419-429.
- MORITZ, C. & HILLIS, D. (1990). Molecular systematics: Context and controversies. In: HILLIS, D. & MORITZ, C. (eds.). *Molecular systematics*. Sinauer Associates Publishers, Sunderland. Pp. 1-10.
- MORITZ, C.; DOWLING, T. & BROWN, W. (1987). Evolution of animal mitochondrial DNA: Relevance for population biology and systematics. *Annual Reviews of Ecology and Systematics* **18**: 269-292.
- MYERS, A. & GILLER, P. (1988a) (eds). *Analytical Biogeography. An integrated approach to the study of animal and plant distributions*. Chapman & Hall.
- MYERS, A. & GILLER, P. (1988b). Biogeography reconstruction: Introduction. In MYERS, A. & GILLER, P. (1988a). *Analytical biogeography. An integrated approach to the study of animals and plant distributions*. Chapman and Hall, London. Pp 301-310.
- MYLONAS, M. & VALAKOS, E. (1990). Contribution to the biogeographical analysis of the reptile distribution in the mediterranean islands. *Revista Española de Herpetología* **4**: 101-107.
- NAGY, Z.; JOGER, U.; WINK, M.; GLAW, F. & VENCES, M. (2003). Multiple colonization of Madagascar and Socotra by colubrid snakes: evidence from nuclear and mitochondrial gene phylogenies. *Proceedings of the Royal Society of London B* **270**: 2613-2621.
- NALLY, R. & BROWN, G. (2001). Reptiles and habitat fragmentation in the box-ironbark forests of Central Victoria, Australia: Predictions, compositional change and faunal nestedness. *Oecologia* **128**: 116-125.
- NAUROIS, R. (1994a). *Les oiseaux de L'Archipel du Cap Vert. As aves do Arquipélago de Cabo Verde*. Instituto de Investigação Científica Tropical, Lisboa.
- NAUROIS, R. (1994b). *Les oiseaux des îles du Golfe de Guinée (São Tomé, Príncipe et Annobon). As aves das ilhas do Golfo da Guiné (São Tomé, Príncipe e Ano Bom)*. Instituto de Investigação Científica e Tropical. Lisboa.
- NEI, M. (1991). Relative efficiencies of different tree-making methods for molecular data. In: MIYAMOTO, M. & CRACRAFT, J. (eds.). *Phylogenetic analysis of DNA sequences*. Oxford University Press. Pp. 90-128.
- NELSON, G. (1984) Cladistics and Biogeography. In: DUNCAN, T. & STUESSY, T. (eds.). *Cladistics : Perspectives on the reconstruction of evolutionary history*. Columbia University Press. New York. Pp 273-293.
- NELSON, G. & PLATNICK, N. (1981). *Systematics and biogeography. Cladistics and vicariance*. Columbia University Press.
- NICHOLS, R. & HEWITT, G. (1994). The genetic consequences of long distance dispersal during colonization. *Heredity* **72**: 312-317.
- NICHOLSON, S. & FLOHN, H. (1980). African environmental and climatic changes and the general atmospheric circulation in the late Pleistocene and Holocene. *Climatic Change* **2**: 313-348.

- NIXON, K. & WHEELER, Q. (1990). An amplification of the phylogenetic species concept. *Cladistics* **6**: 211-223.
- NOGALES, M.; LÓPEZ, M.; JIMÉNEZ-ASENSIO, J.; LARRUGA, J.; HERNÁNDEZ, M. & GONZÁLEZ, P. (1998). Evolution and biogeography of the genus *Tarentola* (Sauria: Gekkonidae) in the Canary Islands, inferred from mitochondrial DNA sequences. *Journal of Evolutionary Biology* **11**: 481-494.
- NORMAN, J.; MORITZ, C. & LIMPUS, C. (1994). Mitochondrial DNA control region polymorphisms genetic markers for ecological studies of marine turtles. *Molecular Ecology* **3**: 363-373.
- NUNN, P. (1994). *Oceanic Islands*. Blackwell Publishers.
- NUNN, G. & STANLEY, S. (1998). Body size effects and rates of cytochrome b evolution in tube-nosed seabirds. *Molecular Biology and Evolution* **15**: 1360-1371.
- NYAKAANA, S. & ARCTANDER, P. (1999). Population genetic structure of the african elephant in Uganda based on variation at mitochondrial and nuclear loci: evidence for male biased gene flow. *Molecular Ecology* **8**: 1105-1115.
- O'BRIEN, S.; MENOTTI-RAYMOND, M.; MURPHY, W.; NASH, W.; WIENBERG, J.; STANYON, R.; COPELAND, N.; JENKINS, N.; WOMACK, J. & GRAVES, J. (1999). The promise of comparative genomics in mammals. *Science* **286**: 458-465.
- ODIERNA, G.; OLMO, E. & COBROR, O. (1987). Taxonomic implications of NOR—localization in lacertid lizards. *Amphibia-Reptilia* **8**: 373-382.
- ODIERNA, G.; CAPRIGLIONE, T.; & CAPUTO, V. (1991). A karyological approach to the systematics of lacertidae (Reptilia, Sauria). *Revista Española de Herpetología* **6**: 81-90.
- ODIERNA, G.; CAPRIGLIONE, T.; CAPUTO, V. & OLMO, E. (1993). Chromosome G-banding comparison among some mediterranean lacertid lizards. *In*: VALAKOS, E.; BÖHME, W.; PÉREZ-MELLADO, V. & MARAGOU, P. (1993). *Lacertids of Mediterranean Region*. Hellenic Zoological Society. pp 51-59.
- OHTA, T. (1973). Slightly deleterious mutant substitutions in evolution. *Nature* **246**: 96-98.
- OHTA, T. (1974). Mutational pressure as the main cause of molecular evolution and polymorphism. *Nature* **246**: 96-98.
- OLIVERIO, M.; BOLOGNA, M.; MONCIOTTI, A.; ANNESI, F. & MARIOTTINI, P. (1998). Molecular phylogenetics of the italian *Podarvis* lizards (Reptilia, Lacertidae). *Italian Journal of Zoology* **65**: 315-324.
- OLIVERIO, M.; BOLOGNA, M. & MARIOTTINI, P. (2000). Molecular biogeography of the mediterranean lizards *Podarvis* Wagler, 1830 and *Teira* Gray, 1838 (Reptilia, Lacertidae). *Journal of Biogeography* **27**: 1403-1420.
- OLMO, E. (1986). A. reptilia. *In*: JOHN, B. (ed.). *Animal cytogenetics .4 Chordata*. Gebrueder Borntraeger. Berlin. Stuttgart
- OLMO, E.; ODIERNA, G.; CAPRIGLIONE, T. & CAPUTO, V. (1991). A karyological approach to the systematics of lacertidae (Reptilia, Sauria). *Revista Española de Herpetología* **6**: 81-90.
- OLMO, E.; ODIERNA, G. & CAPRIGLIONE, T. (1993). The karyology of the Mediterranean lacertid lizards. *In*: VALAKOS, E.; BÖHME, W.; PÉREZ-MELLADO, V. & MARAGOU, P. (eds.). *Lacertids of Mediterranean Region*. Hellenic Zoological Society. Pp 61-84.
- OROMI, P. (1983). Sobre el origen de la fauna entomológica de las islas Salvages. *Vieraea* **12**: 271-293.
- ORR, M. & SMITH, T. (1998). Ecology and speciation. *Trends in Ecology & Evolution* **13**: 502-506.
- OTA, H.; HIKIDA, T.; MATSUI, M. & MORI, A. (1991). Karyotypes of two water skinks of the genus *Tropidophorus* (Reptilia: Squamata) from Borneo. *Journal of Herpetology* **25**: 488-490.
- OTA, H.; HIKIDA, T. & HASEGAWA, M. (1995). Karyotypes of two lygosomine lizards of the genus *Emoia* (Squamata: Scincidae) from Malaysia and Micronesia. *Russian Journal of Herpetology* **2**: 43-45.
- OTA, H.; HIKIDA, T.; MATSUI, M.; HASEGAWA, M.; LABANG, D. & NABHITABHATA, J. (1996). Chromosomal variation in the scincid genus *Mabuya* and its arboreal relatives (Reptilia: Squamata). *Genetica* **98**: 87-94.
- OTA, H.; HIKIDA, T.; MATSUI, M. & HASEGAWA, M. (1988). Karyotype of a scincid lizard, *Carlia fusca*, from Guam, the Mariana Islands. *Zoological Science* **5**: 901-903.
- OUTOBER, P. (1981). The ecology of the island lizard *Podarvis sicula saffii*. Correlation of microdistribution with vegetation coverage thermal environment and food-size. *Amphibia-Reptilia*, **2**: 243-257.
- PALKOVACS, E.; GERLACH, J. & CACCONE, A. (2002). The evolutionary origin of Indian Ocean tortoises (*Dipsosaurus*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **24**: 216-227.
- PALUMBI, S. R. (1996). What can molecular genetics contribute to marine biogeography ? An urchins tale. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **203**: 75-92.
- PALUMBI, S.; MARTIN, A.; ROMANO, S.; McMILLAN, W.; STICE, L. & GRABOWSKI, G. (1991). *The simple tool's guide to PCR*. University of Hawaii Press. Honolulu.
- PANG, J.; WANG, Y.; ZHONG, Y.; HOELZEL, A.; PAPENFUSS, T.; ZENG, X.; ANANJEVA, N. & ZHANG, Y. (2003). A phylogeny of chinese species in the genus *Pbrynocephalus* (Agamidae) inferred from mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **27**: 398-409.
- PARKER, I.; SIMBERLOFF, D.; LONSDALE, W.; GOODELL, K.; WONHAM, M.; KAREIVA, P.; QWILLIAMSON, M.; VON HOLLE, B.; BYERS, J. & GOLDWASSER, L. (1999). Impact: toward a frame work for understanding the ecological effects of invaders. *Biological Invasions* **1**: 3-19.
- PASTEUR, G. (1965). Recherches sur l'évolution des Lygodactyles, lézards afro-malgaches actuels. *Travaux de l'Institut Scientifique Chérifién, Ser.Zool. Rabat*. **29**: 1-132.

- PASTEUR, G.; KEYMAR, P. & PERRET, J. (1988). *Canarian skink systematics contrasting insular diversifications within a subspecies subgroup. An introduction*. Memoires et Travaux de L'Institut de Montpellier. Ecole Pratique des Hautes Etudes.
- PATENAUDE, N.; QUINN; BELAND, S.; KINGSLEY, M. & WHITE, B. (1994). Genetic variation of the St. Lawrence beluga whale population assessed by DNA fingerprinting. *Molecular Ecology* **3**: 375-381
- PATERSON, H. (1985). The recognition concept of species. In: VRBA, E. (ed.). *Species and speciation*. Transvaal Museum Monograph. N°4. Pretoria
- PATTERSON, C. (1981). Methods in panbiogeography. In: NELSON, G. & ROSEN, D. (eds.). *Vicariance biogeography: a critique*. Columbia University Press. New York. Pp. 446-489.
- PAULO, O.; DIAS, C.; BRUFORD, M.; JORDAN, W. & NICHOLS, R. (2001). The persistence of Pliocene populations through the Pleistocene climatic cycles: evidence from the phylogeography of an Iberian lizard. *Proceedings of the Royal Society of London B*. **268**: 1625-1630.
- PAULO, O.; JORDAN, W.; BRUFORD, M. & NICHOLS, R. (2002). Using nested clade analysis to assess the history of colonization and persistence of populations of an Iberian lizard. *Molecular Ecology* **11**: 809-819.
- PELLEGRINO, K.; RODRIGUES, M.; YONENAGA-YASSUDA, Y. & SITES Jr., J. (2001). A molecular perspective on the evolution of the microteiid lizards (Squamata, Gymnophthalmidae), and a new classification for the family. *Biological Journal of the Linnean Society* **74**: 315-338.
- PERACCA, M. (1891). Osservazioni sul *Macrosclincus coctei* Dum. e Bibr. *Bollettino dei Musei di Zoologia ed Anatomia Comparata* **VI** (107): 1-5.
- PEREIRA, E. (1989). *Ilhas de Zargo*. 4ª ed.. Câmara Municipal do Funchal
- PÉREZ-MELLADO, V. & SALVADOR, A. (1988). The balearic lizard: *Podarcis lilfordi* (Gunther, 1874) (Sauria, Lacertidae) of Menorca. *Arquivos do Museu Bocage, Nova Série* **1** (10): 127-195.
- PERRAUD, B. (1992). *Le "Syndrome d'insularité" (Sensu Blondel)*. Diplôme d'études approfondies. Analyse et modélisation des systèmes biologiques. Université Claude Bernard – Lyon I.
- PERRET, J. (1973). Contribution à l'étude des *Panaspis* (Reptilia, Scincidae) d'Afrique occidentale avec la description de deux espèces nouvelles. *Revue Suisse de Zoologie* **80**: 595-630.
- PESTANO, J. & BROWN, R. (1999). Geographical structuring of mitochondrial DNA in *Chalcides sexlineatus* within the island of Gran Canaria. *Proceedings of the Royal Society of London B* **266**: 805-812.
- PESTANO, J.; BROWN, R.; RODRIGUEZ, F. & MORENO, A. (2000). Mitochondrial DNA control region diversity in the endangered blue chaffinch, *Fringilla teydea*. *Molecular Ecology* **9**: 1421-1425.
- PESTANO, J.; BROWN, R. P.; SUARÉZ, N.; BENZAL, J. & FAJARDO, S. (2003a). Intraspecific evolution of Canary Island Plecotine bats, based on mtDNA sequences. *Heredity* **90**: 302-307.
- PESTANO, J.; BROWN, R. P.; SUARÉZ, N. & FAJARDO, S. (2003b). Phylogeography of pipistrelle-like bats within the Canary Islands, based on mtDNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **26**: 56-63.
- PETT, R. & GRIVET, D. (2002). Optimal randomization strategies when testing the existence of a phylogenetic structure. *Genetics* **161**: 469-471.
- PHILIPPE, H. & GERMOT, A. (2000). Phylogeny of eukaryotes based on ribosomal RNA: Long-branch attractions and models of sequence evolution. *Molecular Biology and Evolution*. **17**: 830-834.
- PHILLIPS, A.; JANIES, D. & WHEELER, W. (2000). Multiple sequence alignment in phylogenetic analysis. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **16**: 317-330.
- PIANKA, E. (1988). *Evolutionary Ecology*. 4ª ed.. Harper & Row.
- PICKERING, C. (1962). A Check-list of the flowering plants and ferns of the island of Porto Santo (Arquipélago of Madeira). *Boletim do Museu Municipal do Funchal* **XV** (53): 33-60.
- PICKERING, C. & HANSEN, A. (1969). Scientific expedition to the Salvage Islands July 1963. IX. List of higher plants and cryptogams known from the Salvage Islands. *Boletim do Museu Municipal do Funchal* **XXIV** (53): 63-71.
- PIELOU, E. (1979). *Biogeography*. John Wiley and Sons. New York.
- PIMM, S. (1987). The snake that ate Guam. *Trends in Ecology & Evolution* **2**: 293-295.
- PIMM, S. & GILPIN, M. (1989). Theoretical issues in conservation biology. In: ROUGHGARDEN, J.; MAY, R. & LEVIN, S. (eds.). *Perspectives in ecological theory*. Princeton University Press. Princeton. New Jersey. Pp 287-305.
- PINHEIRO, M. (1989). *Mabuya delalandii* (Dum & Bibr) e *Mabuya vaillanti* Blgr (Sauria, Scincidae) do Arquipélago de Cabo Verde. *Garcia de Orta, Série Zoologia*, Lisboa **12**: 49-55.
- PINHEIRO, M. (1990). *Mabuya fogoensis* O'Shaughnessy e *Mabuya stangeri* (Gray) (Sauria, Scincidae) de algumas ilhas do Arquipélago de Cabo Verde. *Garcia de Orta, Série Zoologia*, Lisboa **15**: 49-56.
- PINNA, M. (1999). Species concepts and phylogenetics. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* **9**: 353-373.
- PINO, T.; SCHLICK, T.; LI, B. & DOWLING, H. (1996). Addition of Darwin's third dimension to phyletic trees. *Journal Theoretical Biology* **182**: 505-512.
- PINTO, F.; BREHM, A.; HERNANDEZ, M.; LARRUGA, J.; GONZALEZ, A. & CABRERA, V. (1997). Population genetic structure and colonization sequence of *Drosophila subobscura* in the Canaries and Madeira Atlantic islands as inferred by autosomal, sex linked and mtDNA traits. *Journal of Heredity* **88**: 108-114.
- PIONTKIVSKA, H. (2004). Efficiencies of maximum likelihood methods of phylogenetic inferences when different substitution models are used. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **31**: 865-873.

- PLATNICK, N. & NELSON, G. (1978). A method of analysis for historical biogeography. *Systematic Zoology* **27**: 1-16.
- PLEIJEL, F. & ROUSE, G. (2003). Ceci n'est pas une pipe: names, clades, and phylogenetic nomenclature. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* **41**: 162-174.
- PLESNER, S.; HOLM, P. & WILSON, J. (2002). ⁴⁰Ar-³⁹Ar geochronology of Santo Antão, Cape Verde Islands. *Journal of Volcanology and Geothermal Research* **120**: 103-121.
- POLIS, G. & HURD, S. (1995). Extraordinarily high spider densities on islands: Flow of energy from the marine to terrestrial food webs and the absence of predation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **92**: 4382-4386.
- POOK, C.; WÜSTER, W. & THORPE, R. (2000). Historical biogeography of the Western Rattlesnake (Serpentes: Viperidae: *Crotalus viridis*) inferred from mitochondrial DNA sequence information. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **15**: 269-282.
- POSADA, D. & CRANDALL, K. (1998). Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* **14**: 817-818.
- POSADA, D.; CRANDALL, K. & TEMPLETON, A. (2000). GeoDis: A program for the cladistic nested analysis of the geographic distribution of genetic haplotypes. *Molecular Ecology* **9**: 487-488.
- POUGH, F. (1980). The advantages of ectothermy for tetrapods. *The American Naturalist* **115**: 92-112.
- POUGH, F.; ANDREWS, R.; CADLE, J.; CRUMP, M.; SAVITZKY, A. & WELLS, K. (1998). *Herpetology*. Prentice Hall, New York.
- POULAKAKIS, N.; LYMBERAKIS, P.; TSIGENOPOULOS, C.; MAGOULAS, A. & MYLONAS, M. (2005). Phylogenetic relationships and evolutionary history of snake-eyed skink *Ablepharus kitabelii*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **34**: 245-256.
- POWELL, G. & TAYLOR, C. (1979). Genetic variation in ecologically diverse environments. *The American Naturalist* **67**: 590-596.
- POWELL, R.; CROMBIE, R. & BOOS, H. (1998). Reptilia: Squamata: Sauria: Gekkonidae: *Hemidactylus mabouia*. *Catalogue of American Amphibians and Reptiles* **694**: 1-11.
- PRADA, S. & SERRALHEIRO, A. (2000). Stratigraphy and evolutionary model of Madeira Island. *Bocagiana* n° 200: 1-13.
- PRESCH, W. (1988). Phylogenetic relationships of the Scincomorpha. In: ESTES, R. e PREGILL, G. (eds.). *Phylogenetic relationships of the lizard families*. Stanford University Press, Stanford, California. Pp. 471-492.
- PUORTO, G.; SALOMÃO, M.; THEAKSTON, R. D.; THORPE, R.; WARRELL, D. & WÜSTER, W. (2001). Combining mitochondrial DNA sequences and morphological data to infer species boundaries: phylogeography of lanceheaded pitvipers in Brazilian Atlantic forest, and the status of *Bothrops pradoi* (Squamata: Viperidae). *Journal of Evolutionary Biology* **14**: 527-538.
- QUINN, T. (1997). Molecular evolution of the mitochondrial genome. In: MINDELL, D. (ed.). *Avian molecular evolution and systematics*. Academic Press. San Diego.
- QUINN, T. & MINDELL, D. (1996). Mitochondrial genus order adjacent to the control region in crocodile, turtle, and tuatara. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **5**: 344-351.
- RAMBAUT, A. & BROMHAM, L. (1998). Estimating divergence dates from molecular sequences. *Molecular Biology and Evolution* **15**: 442-448.
- RAND, D. (1993). Endotherms, ectotherms, and mitochondrial genome-size variation. *Journal of Molecular Evolution* **37**: 281-295.
- RAND, D. (2001). Mitochondrial genomics flies high. *Trends in Ecology & Evolution* **16**: 2-4.
- RANDI, E. (2000). Mitochondrial DNA. In: BAKER, A. (ed.). *Molecular methods in ecology*. Blackwell Science Ltd.. Pp. 136-167.
- RANDI, E. & LUCCHINI, V. (1998). Organization and evolution of the mitochondrial DNA control region in the avian genus *Alectoris*. *Journal of Molecular Evolution* **47**: 449-462.
- RANDI, E.; GENTILE, L.; BOSCAGLI, G.; HUBER, D. & ROTH, H. (1994). Mitochondrial DNA sequence divergence among some west european brown bear (*Ursus arctos* L.) populations. Lessons for conservation. *Heredity* **73**: 480-489.
- RANKER, T.; FLOYD, S. & TRAPP, P. (1994). Multiple colonizations of *Asplenium nigrum* onto the hawaiian archipelago. *Evolution* **48**: 1364-1370.
- REEDER, T. (1995). Phylogenetic relationships among phrynosomatid lizards as inferred from mitochondrial ribosomal DNA sequences: Substitutional bias and information content of transition relative to transversions. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **4**: 203-222.
- REEDER, T. (2003). A phylogeny of the australian Sphenomorphus group (Scincidae: Squamata) and the phylogenetic placement of the crocodile skinks (*Tribolonotus*): Bayesian approaches to assessing incongruence and obtaining confidence in maximum likelihood inferred relationships. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **27**: 384-397
- REEDER, T.; COLE, C. & DESSAUER, H. (2002). Phylogenetic relationships of whiptail lizards of the genus *Cnemidophorus* (Squamata: Teiidae): A test of monophyly, reevaluation of karyotypic evolution, and review of hybrid origins. *American Museum Novitates* n° 3365, 61 pp.
- REES, D.; EMERSON, B.; OROMÍ, P. & HEWITT, G. (2001). Mitochondrial DNA, ecology and morphology: interpreting the phylogeography of the *Nesotes* (Coleoptera: Tenbrionidae) of Gran Canaria (Canary Islands). *Molecular Ecology* **10**: 427-434.
- REZNICK, D. & GHALAMBOR, C. (2001). The population ecology of contemporary adaptations: What empirical studies reveal about the conditions that promote adaptive evolution?. *Genetica* **112-113**: 183-198.

- RIBEIRO, A.; ANTUNES, M.; FERREIRA, P.; ROCHA, R.; SOARES, A.; ZBYSZEWSKI, G. & MONTEIRO de ALMEIDA, F. (1980). *Introduction à la géologie générale du Portugal*. Serviços Geológicos de Portugal. Lisboa.
- RIBEIRO, H.; RAMOS, H.; CAPELA, R. & PIRES, C. (1984). Contribuição para o estudo da diversidade faunística da Macaronésia. *Boletim da Sociedade Portuguesa de Entomologia* (43): 137-144
- RIBERON, A.; MIAUD, C.; GUYETANT, R. & TABERLET, P. (2004). Genetic variation in an endemic salamander, *Salamandra atra*, using amplified fragment length polymorphism. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **31**: 910-914.
- RICHTER, K. (1979). *Lacerta dugesii* Milne-Edwards, 1829 und *Lacerta perspicillata* Dumeril et Bibron, 1839 gehören zur Gattung *Podarcis* Wagler, subgenus *Teira* Gray, 1838 (Reptilia, Lacertidae). *Zool. Abh. Mus. Tierk. Dresden*. **36**: 1-9.
- RICHTER, K. (1986). *Podarcis dugesii* (Milne-Edwards, 1829) – Madeira Mauereidechse. Pp. 388-398. In: BÖHME, W. (ed.). *Handbuch der Reptilien und Amphibien Europas*. Band 2. Echsen (Sauria) III: *Podarcis*. Wiesbaden Aula Verlag.
- RIDDLE, B. & HAFNER, D. (1999). Species as units of analysis in ecology and biogeography time to take the blinders off. *Global Ecology and Biogeography* **8**: 433-441.
- RIDDLE, B.; HAFNER, D. & JAEGER, J. (2000) Cryptic vicariance in the historical assembly of a Baja California peninsular desert biota. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **97**: 14438-14443.
- RIDLEY, M. (1993). *Evolution*. Blackwell Publishing.
- RITLAND, C. & RITLAND, K. (2000). DNA-fragment markers in plants. In: BAKER, A. (ed.). *Molecular methods in ecology*. Blackwell Science Ltd.. Pp. 208-234.
- ROCHA, C.; DUTRA, G.; VRCIBRADIC, D. & MENEZES, A. (2002). The terrestrial reptile fauna of the Abrolhos Archipelago: Species list and ecological aspects. *Brazilian Journal of Biology* **62**: 285-291.
- ROCHA-OLIVARES, A.; KIMBRELL, C.; EITNER, B. & VETTER, R. (1999a). Evolution of a mitochondrial cytochrome b gene sequence in the species-rich genus *Sebastes* (Teleostei, Scorpaenidae) and its utility in testing the monophyly of the subgenus *Sebastomus*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **11**: 426-440.
- ROCHA-OLIVARES, A.; ROSENBLATT, R. & VETTER, R. (1999b). Molecular evolution, systematics and zoogeography of the rockfishes subgenus *Sebastomus* (*Sebastes*, Scorpaenidae) based on mitochondrial cytochrome b and control region sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **11**: 441-458.
- ROCHA PITÉ, M. & AVELAR, T. (1996). *Ecologia das populações e das comunidades- Uma abordagem evolutiva do estudo da biodiversidade*. Fundação Calouste de Gulbenkian. Lisboa.
- RODERICK, G. & GILLESPIE, R. (1998). Speciation and phylogeography of hawaiian terrestrial arthropods. *Molecular Ecology* **7**: 519-531.
- RODDA, G.; PERRY, G.; RONDEAU, R. & LAZELL, J. (2001). The densest terrestrial vertebrate. *Journal of Tropical Ecology*. **17**: 331-338.
- RODRÍGUEZ, CERVOLHEDER, e JOMARINO, JA. & MEDINA, J. (1990). The general stochastic model of nucleotide substitutions. *Journal of Theoretical Biology* **142**: 485-501.
- RODRÍGUEZ-TRELLES, F.; TARRÍO, R. & AYALA, F. (1999). Switch in codon bias and increased rates of amino acid substitution in the *Drosophila saltans* species group. *Genetics* **153**: 339-350.
- ROE, B.; MA, D.; WILSON, R. & WONG, J. (1985). The complete nucleotide sequence of the *Xenopus laevis* mitochondrial genome. *The Journal of Biological Chemistry* **260**: 9759-9774.
- ROEMER, G.; DONLAN, C. & COURCHAMP, F. (2001). Golden eagles, feral pigs, and insular carnivores: How exotic species turn native predators into prey. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **99**: 791-796.
- ROGERS, A. & HARPENDING, H. (1992). Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular Biology and Evolution* **9**: 552-569.
- ROMAN, G.; EMERSON, L. & FAIRWEATHER, K. (2001). *Forest fragmentation and biodiversity conservation : case studies of Costa Rica and Vancouver Island*. ENVR 400 Thesis.
- ROSA, H. & CRESPO, E. (1997). La conservación de los anfibios y reptiles en Portugal. In: PLEGUEZUELOS, J. (ed.). *Distribución y biogeografía de los anfibios y reptiles en España y Portugal*. Monografías de Herpetología. Vol. 3. Universidad de Granada: Asociación Herpetológica Española. Pp. 517-529.
- ROSEN, D. (1975). A vicariance model of caribbean biogeography. *Systematic Zoology* **24**: 431-464.
- ROSEN, D. (1978). Vicariant patterns and historical explanation of biogeography. *Systematic Zoology* **27**: 159-188.
- ROSENZWEIG, M.L. (1995). *Species diversity in space and time*. Cambridge University Press. Cambridge.
- ROUGHGARDEN, J. (1995). Vertebrate patterns on islands. In: VITOUSEK, P.; LOOPE, L. & ADSERSEN, H. (eds.). *Islands. Biological diversity and ecosystem function*. Ecological Studies 115. Springer-Verlag. Berlin. Heidelberg. Pp. 51-56.
- ROUTMAN, E. (1993). Mitochondrial DNA variation in *Cryptobranchus alleganiensis*, a salamander with extremely low allozyme diversity. *Copeia* 1993: 407-416.
- RÜBER, L.; VERHEYEN, E.; STURMBAUER, C. & MEYER, A. (1998). Lake level fluctuations and speciation in rock-dwelling cichlid fish in Lake Tanganyika, East Africa. In: GRANT, P. (ed.). *Evolution on islands*. Oxford University Press. Pp. 225-240.
- SÁ-SOUSA, P. (1995). The introduced madeiran lizard, *Lacerta (Teira) dugesii*. *Amphibia-Reptilia* **16**: 211-214.
- SÁ-SOUSA, P. & HARRIS, D.J. (2002). *Podarcis carbonelli* Pérez-Mellado, 1981 is a distinct species. *Amphibia-Reptilia* **23**: 459-468.
- SACCONE, C.; ATIMONELLI, M. & SBISÁ, E. (1987). Structural elements highly preserved during the

- evolution of the D-Loop-containing region in vertebrate mitochondrial DNA. *Journal of Molecular evolution* **26**: 205-211.
- SADEK, R. (1981). The diet of the lizard *Lacerta dugesii*. *Biological Journal of Linnean Society* **73**: 313-341.
- SAINT, K.; AUSTIN, C.; DONNELAN, S. & HUTCHINSON, M. (1998). *C-mos*, A nuclear marker useful for squamate phylogenetic analysis. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **10**: 259-263.
- SAITOU, N. & IMANISHI, T. (1989). Relative efficiencies of the Fitch-Margoliash, maximum parsimony, maximum likelihood, minimum evolution and neighbor-joining methods of phylogenetic tree construction in obtaining the correct tree. *Molecular Biology and Evolution* **6**: 514-525.
- SAITOU, N. & NEI, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* **4**: 406-425.
- SAKAI, A.; ALLENDORF, F.; HOLT, J.; LODGE, D.; MOLOFSKY, J.; WITH, K.; BAUGHMAN, S.; CABIN, R.; COHEN, J.; ELLSTRAND, N.; MCCAULEY, D.; O'NEIL, P.; PARKER, I.; THOMPSON, J. & WELLER, S. (2001). The population biology of invasive species. *Annual Review of Ecology and Systematics* **32**: 305-332.
- SALAMIN, N.; CHASE, M.; HODKINSON, T. & SAVOLAINEN, V. (2003). Assessing interanal support with large phylogenetic DNA matrices. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **27**: 528-539.
- SAMPAIO, L. & JESUS, J. (1994). Colour and pattern of Madeiran lizard (*Lacerta dugesii* MILNE-EDWARDS, 1829): An attempt towards the variability uniformization. III Congreso Luso – Español, VII Congreso Español de Herpetología. 19-23 of September. Badajoz. Book of abstracts. Pp 95.
- SANMARTÍN, I. & RONQUIST, F. (2002). New solutions to old problems: widespread taxa, redundant distributions and missing áreas in event-based biogeography. *Animal Biodiversity and Conservation* **25**: 75-93.
- SARMENTO (1948). *Vertebrados da Madeira*. 2ª ed.. Junta Geral do Distrito Autónomo do Funchal.
- SATO, A.; O'HUIGIN, C.; FIGUEIROA, F.; GRANT, P.; GRANT, B.; TICHY, H. & KLEIN, J. (1999). Phylogeny of Darwin's finches as revealed by mtDNA sequences. *Proceedings of Natural Academy of Sciences of the United states of America* **96**: 5101-5106.
- SATO, A.; TICHY, H.; O'HUIGIN, C.; GRANT, P.; GRANT, B. & KLEIN, J. (2001). On the origin of Darwin's finches. *Molecular Biology and Evolution* **18**: 299-311.
- SAUNDERS, M. & EDWARDS, S. (2000). Dynamics and phylogenetic implications of mtDNA control region sequences in New World jays (Aves: Corvidae). *Journal of Molecular Evolution* **51**: 97-109.
- SAVOLAINEN, P. ARVESTED, L. & LUNDBERG, J. (2000). mtDNA tandem repeats in domestic dogs and wolves: mutation mechanism studied by analysis of the sequence of imperfect repeats. *Molecular Biology and Evolution*. **17**: 474-488.
- SBISÀ, E.; TANZARIELLO F.; REYES, A.; PESOLE, G. & SACCONI, C. (1997). Mammalian mitochondrial D-loop region structural analysis: Identification of new conserved sequences and their functional and evolutionary implications. *Gene* **205**: 125-140.
- SCHLEICH, H. (1984). Die Geckos der Gattung *Tarentola* der Kapverden (Reptilia: Sauria: Gekkonidae). *Courier Forschung-Institut Senckenberg* **68**: 95-106.
- SCHLEICH, H. (1987). Herpetofauna caboverdiana. *Spixiana* Suppl. **12**: 1-75.
- SCHLEICH, H. H. (1988). *Ascalabotes gigas* Bocage, 1875 (currently *Tarentola gigas*; Reptilia, Squamata): Proposed conservation of the specific name. *Bulletin of Zoological Nomenclature* **45**: 41-42.
- SCHLEICH, H.; KASTLE, W. & KABISCH, K. (1996). *Amphibians and reptiles of North Africa*. Koeltz Scientific Books, Koenigstein, Germany.
- SCHLIEWEN, U.; RASSMAN, K.; MARKMANN, M. e MARKET, J.; KOCHER, T & TAUTZ, D. (2001). Genetic and ecological divergence oa a monophyletic cichlid species pair under fully sympatric conditions in Lake Ejagham, Cameroon. *Molecular Ecology* **10**: 1471-1488.
- SCHLUTER, D. (1988). Character displacement and the adaptive divergence of finches on islands and continents. *The American Naturalist* **131**: 799-824.
- SCHLUTER, D. (1994). Experimental evidence that competition promotes divergence in adptive radiation. *Science* **266**: 798-801.
- SCHLUTER, D. (1996). Ecological causes of adaptive radiation. *The American Naturalist* **148**: S40-S64.
- SCHLUTER, D. (1998). Ecological speciation in postglacial fishes. In: GRANT, P. (ed.) (1998). *Evolution on islands*. Oxford University Press. Pp. 163-180.
- SCHLUTER, D. (2000). Ecological character displacement in adaptive radiation. *The American Naturalist* **156**: S4-S16.
- SCHLUTER, D. (2001). Ecology and the origin of species. *Trends in Ecology & Evolution* **16**: 372-380.
- SCHLUTER, D. & McPHAIL, J. (1992). Ecological character displacement and speciation in sticklebacks. *The American Naturalist* **140**: 85-108.
- SCHLUTER, D.; PRICE, T. & GRANT, P. (1985). Ecological character displacement in Darwin's finches. *Science* **227**: 1056-1059.
- SCHMITZ, A.; INEICH, I. & CHIRIO, L. (2005a). Molecular review of the genus *Panaspis* sensu lato (Reptilia: Scincidae) in Cameroon, with special reference to the satus of the proposed subgenera. *Zootaxa* **863**: 1-28.
- SCHMITZ, A.; MANSFELD, P.; HEKKALA, E.; SHINE, T.; NICKEL, H.; AMATO, G. & BÖHME, W. (2003). Molecular evidence for species level divergence in african Nile crocodiles *Crocodylus niloticus* (Laurenti, 1786). *Comptes Rendus. Palevol* **2**: 703-712.
- SCHNEIDER, C. (2000). Natural Selection and speciation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **97**: 12398-12399.

- SCHOENER, T. (1976). The species-area relation within archipelagos: models and evidence from island land birds. *In: FIRTH, H. & CALABY, J. (eds.). Proceedings of the XVI International Ornithological Congress.* Australian Academy of Science. Canberra, Australia. Pp. 629-642.
- SCHOENER, A. (1988a). Experimental Island Biogeography. *In: MYERS, A. & GILLER, P. (eds.) (1988). Analytical biogeography: An integrated approach to the study of animal and plant distributions.* Chapman & Hall. Pp. 483-512.
- SCHOENER, T. (1988b). Ecological Interactions. *In: MYERS, A. & GILLER, P. (eds.) (1988). Analytical biogeography: An integrated approach to the study of animal and plant distributions.* Chapman & Hall.
- SCHOENER, T. & SCHOENER, A. (1978). Inverse relation of survival of lizards with island size and avifaunal richness. *Nature* **274**: 685-687.
- SCHOENER, T.; SPILLER, D. & LOSOS, J. (2001a). Predators increase the risk of extinction of prey populations. *Nature* **412**: 183-186.
- SCHOENER, T.; SPILLER, D. & LOSOS, J. (2001b). Natural restoration of the species-area relation for a lizard after a hurricane. *Science* **294**: 1525-1528.
- SCHULER, G. (2001). Sequence alignment and database searching. *In: BAXEVANIS, A. & OUELLETTE, B. (eds.). Bioinformatics: A practical guide to the analysis of genes and proteins.* Wiley-Interscience. John Wiley & Sons, Inc.. Pp. 187-214.
- SCHWENK, K. (1988). Comparative morphology of the lepidosaur tongue and its relevance to squamate phylogeny. *In: ESTES, R. & PREGILL, G. (eds.). Phylogenetic relationships of the lizard families.* Stanford University Press, Stanford, California. Pp. 569-598.
- SCOTT, I.; KEOGH, J. & WHITING, M. (2003). Shifting sands and shifty lizards: molecular phylogeny and biogeography of african flat lizards (*Platysaurus*). *Molecular Phylogenetics Evolution* **31**: 618-629.
- SCRIBNER, K.; ARNTZEN, J. & BURKE, T. (1994). Comparative analyses of intra- and interpopulation genetic diversity in *Bufo bufo*, using allozyme, single-locus microsatellite, minisatellite, and multilocus minisatellite data. *Molecular Biology and Evolution* **11**: 737-748.
- SERVIÇO DO PARQUE NATURAL DA MADEIRA (eds.) (2004) *As Ilhas Selvagens*. Secretaria Regional do Ambiente e dos Recursos Naturais-Serviço do Parque Natural da Madeira. Funchal.
- SEQUEIRA, M.; JARDIM, R.; CAPELO, J.; COSTA, J. C.; LOUSÃ, M.; RIVAS-MARTÍNÉZ, S. & FONTINHA, S. (*in press*). Estudo fitossociológico da Madeira- Implicações no ordenamento. II Jornadas Florestais Insulares. Funchal.
- SERRANO, A. (1982). Contribuição para o conhecimento do povoamento, distribuição e origem dos coleópteros do Arquipélago dos Açores (*Insecta, Coleoptera*). *Boletim do Museu Municipal do Funchal* **34** (147): 67-104.
- SEUTIN, G.; KLEIN, N.; RICKLEFS, R. & BERMINGHAM, E. (1994a). Historical biogeography of the bananaquit (*Coereba flaveola*) in the Caribbean region: A mitochondrial DNA assessment. *Evolution* **48**: 1041-1061.
- SEUTIN, G.; LANG, B.; MINDELL, D. & MORAIS, R. (1994 b). Evolution of the WANCY region in amniote mitochondrial DNA. *Molecular Biology and Evolution* **11**: 329-340.
- SHAFFER, H.; FELLERS, G.; MAGEE, A. & VOSS, R. (2000). The genetics of amphibian declines: population substructure and molecular differentiation in the yosemite toad, *Bufo canorus* (Anura, Bufonidae) based on single strand conformation polymorphisms analysis (SSCP) and mitochondrial DNA sequence data. *Molecular Ecology* **9**: 245-257.
- SHAW, K. (1996). Sequential radiations and patterns of speciation in the hawaiian cricket genus *Leupela* inferred from DNA sequences. *Evolution* **50**: 237-255.
- SHELDON, F.; JONES, C. & McCracken, K. (2000). Relative patterns and rates of evolution in heron nuclear and mitochondrial DNA. *Molecular Biology and Evolution* **17**: 437-450.
- SHI, L.; DRUMMOND, P.; KLOET, S.; PIMENTEL-SMITH, G. & SMITH, E. (2001). Comparative DNA sequence analysis of genetic variation in the african grey parrot, *Psittacus erythacus*. *Genetica* **110**: 227-230.
- SHORROCKS, B. (1980). *A origem da diversidade: as bases genéticas da evolução*. T. A. Queiroz (ed.). Editora da Universidade de São Paulo. São Paulo.
- SIBLEY, C. & AHLQUIST, J. (1990). *Phylogeny and classification of birds: A study in molecular evolution*. Yale University Press. New Haven.
- SIMBERLOFF, D. (1969). Experimental zoogeography of islands: A model for insular colonization. *Ecology* **50**: 296-314.
- SIMBERLOFF, D. (1976). Species turnover and equilibrium island biogeography. *Science* **194**: 572-578.
- SIMBERLOFF, D. (2001). Biological invasions – How are they affecting us, and what can we do about them ?. *Western North American Naturalist* **61**: 308-315.
- SIMON, C.; FRANKE, A. & MARTIN, A. (1990). The polymerase chain reaction: DNA extraction and amplification. *In: HEWITT, G.; JOHNSTON, A. & YOUNG, J. (eds.). Molecular techniques in taxonomy.* NATO ASI series. Vol. H57. Springer Verlag, Berlin. pp 329-357.
- SIMON, C.; FRATI, F.; BECKENBACH, A; CRESPI, B.; LIU, H. & FLOOK, P. (1994). Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the Entomological Society of America* **87**: 651-701.
- SIMPSON, G. (1961). *Principles of animal taxonomy*. Columbia University Press. New York.
- SINGH, R. S. & HALE, L. R. (1990). Are mitochondrial DNA variants selectively non-neutral?. *Genetics* **124**: 995-997.
- SINGH, R. & LONG, A. (1992). Geographic variation in *Drosophila*: From Molecules to Morphology and Back. *Trends in Ecology & Evolution* **7**: 340-345.
- SITES, Jr., J. & CRANDALL, K. (1997). Testing species boundaries in biodiversity studies. *Conservation Biology* **11**: 1289-1297.

- SITES Jr. & DAVIS, S. (1989). Phylogenetic relationships and variability within and among six chromosome races of *Sceloporus grammicus* (Sauria: Iguanidae) based on nuclear and mitochondrial markers. *Evolution* **43**: 296-317.
- SITES Jr.; DAVIS, S.; GUERRA, T.; IVERSON, J. & SNELL, H. (1996). Character congruence on phylogenetic signal in molecular and morphological data sets: A case study in the living iguanas (Squamata, Iguanidae). *Molecular Biology and Evolution* **13**: 1087-1105.
- SJÖGREN, E. (1972). Vascular plant communities of Madeira. *Boletim do Museu Municipal do Funchal* **XXVI** (114): 45-125.
- SLATKIN, M. (1987). Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science* **236**: 787-792.
- SLATKIN, M. (1993). Isolation by distance in equilibrium and nonequilibrium populations. *Evolution* **47**: 264-279.
- SLATKIN, M. & HUDSON, R. (1991). Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations. *Genetics* **129**: 555-562.
- SLOWINSKI, J. & KEOGH, J. (2000). Phylogenetic relationships of elapid snakes based on cytochrome b mtDNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **15**: 157-164.
- SLOWINSKI, J. & LAWSON, R. (2002). Snake phylogeny: evidence from nuclear and mitochondrial genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **24**: 194-202.
- SLUYS, R.; MARTENS, K. & SCHRAM, F. (2004). The phylocode: naming of biodiversity at a crossroads. *Trends in Ecology & Evolution* **19**: 280-281.
- SMITH, M. (1937). A review of the genus *Lygosoma* (Scincidae: Reptilia) and its allies. *Records of the Indian Museum* **39**: 213-234.
- SMITH, S. & BOND, J. (2003). An analysis of the secondary structure of the mitochondrial large subunit rRNA gene (16S) in spiders and its implications for phylogenetic reconstructions. *The Journal of Arachnology* **31**: 44-54.
- SMITH, M. & PATTON, J. (1991). Variation in mitochondrial cytochrome b sequence in natural populations of South American akodontine rodents (Muridae: Sigmodontinae). *Molecular Biology and Evolution* **8**: 85-103.
- SNEATH, P. & SOKAL, R. (1973). *Numerical taxonomy. The principles and practice of numerical classification*. W.H. Freeman and Company. San Francisco.
- SOBER, E. (1988). The conceptual relationship of cladistic phylogenetics and vicariance biogeography. *Systematic Zoology* **37**: 245-253.
- SOLÉ, R.; ALONSO, D. & MCKANE, A. (2002). Self-organized Instability in complex Ecosystems. *Philosophical Transactions of the Royal Society, Series B*. Special issue: the biosphere as a complex adaptive system. Pp. 1-32.
- SONG, C.; NEAR, T. & PAGE, L. (1998). Phylogenetic relations among percid fishes as inferred from mitochondrial cytochrome b sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **10**: 343-353.
- SORENSEN, M.; AST, J.; DIMICHEFF, D.; YURI, T. & MINDELL, D. (1999). Primers for PCR-based approach to mitochondrial genome sequencing in birds and other vertebrates. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **12**: 105-114.
- SOULÉ, M. (1966). Trends in the insular radiation of a lizard. *The American Naturalist* **100**: 47-64.
- SOULÉ, M. (1972). Phenetics of natural population. III variation in insular populations of a lizard. *The American Naturalist* **106**: 429-446.
- SOULÉ, M. & YANG, S. (1973). Genetic variation in side-blotched Lizards on islands in the Gulf of California. *Evolution* **27**: 593-600.
- SPRACKLAND, R. & SWINNEY, G. (1998). A new species of giant gecko of the genus *Tarentola* (Reptilia: Squamata: Gekkonidae) from Jamaica. *Journal of Zoology* **245**: 73-78.
- SPRINGER, M.; HOLLAR, L. J. & BURK, A. (1995). Compensatory substitutions and the evolution of the mitochondrial 12S rRNA gene in mammals. *Molecular Biology and Evolution* **12**: 1138-1150.
- SPRINGER, M.; DEBRY, R.; DOUADY, C.; AMRINE, H.; MADSEN, O.; JONG, W. & STANHOPE, M. (2001). Mitochondrial versus nuclear gene sequences in deep-level mammalian phylogeny reconstruction. *Molecular Biology and Evolution* **18**: 132-143.
- STAFFORD P. J. & MEYER, J. R. (2000). *A Guide to the reptiles of Belize*. The Natural History Museum, London, Academic Press.
- STEEL, M. & PENNY, D. (2000). Parsimony, likelihood, and the role of models in molecular phylogenetics. *Molecular Biology and Evolution* **17**: 839-850.
- STEINFARTZ, S.; VEITH, M. & TAUTZ, D. (2000). Mitochondrial sequence analysis of *Salamandra taxa* suggests old splits of major lineages and postglacial recolonizations of Central Europe from distinct source populations of *Salamandra salamandra*. *Molecular Ecology* **9**: 397-410.
- STORER, T.; USINGER, R.; STEBBINS, R. & NYBAKKEN, J. (1982). *Zoologia general*. 6^a ed. Ediciones Omega. S.A.. Barcelona.
- STRIMMER, K. & VON HAESLER, A. (1996). Accuracy of neighbor joining for n-taxon trees. *Systematic Biology* **45**: 516-523.
- STUESSY, T. & CRISCI, J. (1984). Problems in the determination of evolutionary of character-state change for phylogenetic reconstruction. In: DUNCAN, T. & STUESSY, T. (eds.). *Cladistics: Perspectives on the reconstruction of evolutionary history*. Columbia University Press. New York. Pp 71-87.
- STURMBAUER, C.; BARIC, S.; SALZBURGER, W. RUBER, L. & VERHEYEN, E. (2001). Lake level fluctuations synchronize genetic divergences of cichlid fishes in african lakes. *Molecular Biology and Evolution* **18**: 144-154.
- SULLIVAN, J. & SWOFFORD, D. (2001). Should we use model-based methods for phylogenetic inference. When we know that assumptions about among-site rate variation and nucleotide substitution pattern are violated?. *Systematic Biology* **50**: 723-729.

- SULLIVAN, J.; HOLSINGER, K. & SIMON, C. (1995). Among-site rate variation and phylogenetic analysis of 12S rRNA in sigmodontine rodents. *Molecular Biology and Evolution* **12**: 988-1001.
- SUNDERLAND, T. & OBAMA, C. (1999). A preliminary market survey of the non-wood forest products of Equatorial Guinea. In: SUNDERLAND, T.; CLARK, L. & VANTOMME, P. (eds.). *The non-wood forest products of Central Africa: current issues and prospects for conservation and development*. FAO, Roma.
- SUZUKI, Y.; GLAZKO, G. & NEI, M. (2002). Overcredibility of molecular phylogenies obtained by Bayesian phylogenetics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **99**: 16138-16143.
- SWOFFORD, D. (2000). PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony (* and other methods). Version 4. Sinauer, Sunderland, Massachusetts.
- SWOFFORD, D. (2002). PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony (and other methods) 4.0.b10. Sinauer, Sunderland, Massachusetts.
- SWOFFORD, D. & OLSEN, G. (1990). Phylogenetic reconstruction. In: HILLIS, D. & MORITZ, C. (eds.). *Molecular Systematics*. Sinauer Associates Publishers, Sunderland. Pp. 411-501.
- SWOFFORD, D.; OLSEN, G.; WADDELL, P. & HILLIS, D. (1996). Phylogenetic inference. In: HILLIS, D.; MORITZ, C. & MABLE (eds.). *Molecular Systematics*. Sinauer Associates Publishers, Sunderland. Pp.407-514.
- SWOFFORD, D.; WADELL, P.; HUELSENBECK, J.; FOSTER, P.; LEWIS, P. & ROGERS, J. (2001). Bias in phylogenetic estimation and its relevance to the choice between parsimony and likelihood methods. *Systematic Biology* **50**: 525-539.
- SZYNDLAR, Z. & RAGE, J. (1990) West paleartic cobras of the genus *Naja* (Serpentes: Elapidae): Interrrelationships among extinct and extant. *Amphibia-Reptilia* **11**: 385-400
- TAKEZAKI, N.; RZHETSKY, A. & NEI, M. (1995). Phylogenetic test of the molecular clock and linearized trees. *Molecular Biology and Evolution* **12**: 823-833.
- TAVARE, S. (1986). Some probabilistic statistical problems in the analysis of DNA sequences. *Lectures on Mathematics in the Life Sciences* **17**:57-86.
- TAYLOR, R. (1987). The geometry of colonization: 1. Islands. *Oikos*, **48**: 225-231.
- TAYLOR, G. (1991). Polymerase chain reaction: basic principles and automation. In : McPHERSON, M.; QUIRKE, P. & TAYLOR, G. (eds.). *PCR. A practical approach*. Oxford University Press. Pp. 1-14.
- TEIXEIRA, C. (1949). *Notas sobre a geologia das ilhas Atlântidas*. Faculdade de Ciências de Lisboa.
- TEIXEIRA, D. & ABREU, C. (2003). *Moluscos terrestres da Ponta de São Lourenço e ilhéus adjacentes*. Direcção Regional do Ambiente. Funchal.
- TEMPLETON, A. (1980). The theory of speciation via the founder principle. *Genetics* **94**: 1011-1038.
- TEMPLETON, A. (1981). Mechanisms of speciation – a population genetic approach. *Annual Review of Ecology and Systematics* **12**: 23-48.
- TEMPLETON, A. (1989). The meaning of species and speciation: a genetic perspective. In OTTE, D. & ENDLER, J. (eds.). *Speciation and its consequences*. Sinauer, Sunderland, Mass. Pp. 3-27.
- TEMPLETON, A. (1994). The role of molecular genetics in speciation studies. In SCHIERWATER, B.; STREIT, B; WAGNER, G. P. & DeSALLE, R. (eds.) . *Molecular Ecology: Approaches and Applications*. Pp. 455-477.
- TEMPLETON, A. (1998). Nested clade analysis of phylogeographic data: testing hypotheses about gene flow and population history. *Molecular Ecology* **7**: 381-397.
- TEMPLETON, A. R. (2001). Using phylogeographic analyses of gene trees to test species status and processes. *Molecular Ecology* **10**: 779-791.
- TEMPLETON, A. (2002). “Optimal” randomization strategies when testing the existence of a phylogeographic structure: A reply to Petit and Grivet. *Genetics* **161**: 473-475.
- TEMPLETON, A. (2004). Statistical phylogeography: methods of evaluating inference errors. *Molecular Ecology* **13**: 789-809.
- TEMPLETON, A.; CRANDALL, K. & SING, C. (1992). A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. Cladogram estimation. *Genetics* **132**: 619-633.
- TEMPLETON, A.; ROUTMAN, E. & PHILIPS, C.A. (1995). Separating population structure from population history: a cladistic analysis of geographical distribution of mitochondrial DNA haplotypes in the Tiger salamander *Ambystoma tigrinum*. *Genetica* **140**: 767-782.
- TEMPLETON, A.; ROBERTSON, R.; BRISSON, J. & STRASBURG, J. (2001). Disrupting evolutionary process: the effect of habitat fragmentation on collared lizards in Missouri Ozarks. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **98**: 5426-5432.
- THOMPSON, J.; HIGGINS, D. & GIBSON, T. (1994). Clustal W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and gap weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* **22**: 4673-4680.
- THORPE, R. & BROWN, R. (1989). Microgeographic variation in the colour pattern of the lizard *Gallotia galloti* within the island of Tenerife: distribution, pattern and hypothesis testing. *Biological Journal of the Linnean Society* **38**: 303-322.
- THORPE, R.; MCGREGOR, D. & CUMMINGS, A. (1993). Molecular phylogeny of the Canary Island lacertids (*Gallotia*): Mitochondrial DNA restriction site divergence in relation to sequence divergence and geological time. *Journal of Evolutionary Biology*. **6**: 725-735.
- THORPE, R.; MCGREGOR, D.; CUMMING, A. & JORDAN, W. (1994). DNA evolution and colonization sequence of island lizards in relation to geological history: mtDNA RFLP, cytochrome b,

- cytochrome oxidase, 12s rRNA sequence and nuclear RAPD analysis. *Evolution* **48**: 230-240.
- THORPE, R.; BLACK, H. & MALHORTA, A. (1996). Matrix correspondence tests on the DNA phylogeny of the Tenerife lacertid elucidate both historical causes and morphological adaptation. *Systematic Biology* **45**: 335-343.
- TOLLEY, K.; TILBURY, C.; BRANCH, W. & MATTHEE, C. (2004). Phylogenetics of the southern african dwarf chameleons, *Brachypodion* (Squamata: Chamaeloniidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **30**: 354-365.
- TORRES, P.C.; SILVA, L. C.; MENDES, M. H.; MUNHÁ, J. & MATA, J. (1998). On the genesis of the Cape Verde islands: tectonic influence. *Comm. Inst. Geol. Min.* (Portugal) **84**: B168-B170.
- TRACY, M. R. & HEDGES, S. B. (2000). Evolutionary history of enolase gene family. *Gene* **259**: 129-138.
- TRAPE, J. & ROUX-ESTÈVE, R. (1995). Les serpents du Congo: liste commentée et clé de détermination. *Journal of African Zoology* **109**: 31-50
- TREGENZA, T. & BUTLIN, R. (1999). Speciation without isolation. *Nature* **400**: 311-312.
- TRIANTIS, K.; MYLONAS, M.; LIKA, K. & VARDINOYANNIS, K. (2003). A model for the species-area-habitat relationship. *Journal of Biogeography* **30**: 19-27.
- TURBEVILLE, J.; SCHULZ, J. & RAFF, R. (1994). Deuterostome phylogeny and the sister group of the chordates: evidence from molecular and morphology. *Molecular Biology and Evolution* **11**: 648-655.
- UPHOLT, W. I. & DAVID, I. B. (1977). Mapping of mitochondrial DNA of individual sheep and goats: rapid evolution in the D-loop region. *Cell* **11**: 571-583.
- UPTON, D. & MURPHY, R. (1997). Phylogeny of the side-blotched lizards (Phrynomatidae: *Uta*) based on mtDNA sequences: Support for a midpeninsular seaway in Baja California. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **8**: 104-113
- USHER, M.; KRUGER, F.; MacDONALD, I.; LOOPE, L. & BROCKIE, R. (1988). The ecology of biological invasions into nature reserves: an introduction. *Biological Conservation* **44**: 1-8.
- VAN DER MEIJ, M.; BAKKER, M. & BOUT, R. (2005). Phylogenetic relationships of finches and allies based on nuclear and mitochondrial DNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **34**: 97-105.
- VAN VALEN, L. (1976). Ecological species, multispecies and oaks. *Taxon* **25**: 233-239.
- VAN VELLER, M. & ZANDEE, M. (2002). Unveiling vicariant methodologies in vicariance biogeography. In: VAN VELLER, M. (2002). *Unveiling vicariant methodologies. Not anything goes*. Leiden University.
- VANDEWOESTIJNE, S.; NÈVE, G. & BAGETTE, M. (1999). Spatial and temporal population genetic structure of the butterfly *Aglais urticae* L. (Lepidoptera, Nymphalidae). *Molecular Ecology* **8**: 1539-1543.
- VANHOOYDONCK, B. & IRSCHICK, D. (2002). Is Evolution predictable? Evolutionary relationships of divergence in ecology, performance and morphology in Old and New World lizard radiations. In: AERTS, P.; AOÛT, K.; HERREL, A. & VAN DAMME (eds.). *Topics in functional and ecological vertebrate morphology*. Shaker Publishing. Pp. 191-204.
- VARGAS, J. (1992a). Un ensayo en torno al concepto de Biogeografía. In: VARGAS, J.; REAL, R. & ANTÚNEZ, A. (eds.). *Objetivos y métodos biogeográficos. Aplicaciones en Herpetología*. Monografías de Herpetología. Vol. 2. Asociación Herpetológica Española. Pp. 7-20.
- VARGAS, J. (1992b). Escuelas y tendencias en biogeografía histórica. *Revista Española de Herpetología* **6**: 107-136.
- VEITH, M. (1996). Molecular markers and species delimitation: examples from the european batrachofauna. *Amphibia-Reptilia* **17**: 303-314.
- VELLEND, M. (2003). Island biogeography of genes and species. *The American Naturalist* **162**: 358-365.
- VENCES, M.; WANKE, S.; VIEITES, D.; BRANCH, W.; GLAW, F. & MEYER, A. (2004). Natural colonization or introduction? Phylogeographical relationships and morphological differentiation of house geckos (*Hemidactylus*) from Madagascar. *Biological Journal of the Linnean Society* **83**: 115-130.
- VICENTE, L. (1989) *Sobre a história natural dos répteis da Ilha da Berlenga – A síndrome de insularidade*. Tese de Doutoramento. Universidade de Lisboa. Lisboa.
- VICENTE, L.; VIEIRA-DE-CASTRO, C. & PAULO, O. (1987). Eco-etologia de uma população insular de *Lacerta Lepida* (Daudin, 1802) – um projecto. *Análise Psicológica* **2**: 281-294.
- VIDAL, N. & DAVID, P. (2004). New insights into the early history of snakes inferred from two nuclear genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **31**: 783-787.
- VIDAL, N. & LECOINTRE, G. (1998). Weighting and congruence: A case study based on three mitochondrial genes in pitvipers. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **9**: 366-374.
- VILÁ, C.; AMORIM, I.; LEONARD, J.; POSADA, D.; CASTROVIEJO, J.; PETRUCCI-FONSECA, F.; CRANDALL, K. & WAYNE, R. (1999). Mitochondrial DNA phylogeography and population history of the grey wolf *Canis lupus*. *Molecular Ecology* **8**: 2089-2103.
- VITOUSEK, P.; ADSERSEN, H. & LOOPE, L. (1995). Introduction-Why focus on Islands?. In: VITOUSEK, P.; LOOPE, L. & ADSERSEN, H. (eds.). *Islands. Biological diversity and ecosystem function*. Ecological Studies 115. Springer-Verlag. Berlin. Heidelberg. Pp. 1-4.
- VITT, L. & BLACKBURN, D. (1983). Reproduction in the lizard *Mabuya heathy* (Scincidae): A commentary on viviparity in new world *Mabuya*. *Canadian Journal of Zoology* **61**: 2798-2806.
- VITT, L. & BLACKBURN, D. (1991) Ecology and life-history of the viviparous *Mabuya bistriata* (Scincidae) in the Brazilian Amazon. *Copeia* 1991: 916-927.
- VITT, L. & PIANKA, E. (2004). Historical patterns in lizard ecology: What teiids can tell us about lacertids. In: PÉREZ-MELLADO, V.; RIERA, N. & PERERA, A. (eds). *The biology of lacertid lizards. Evolutionary and ecological perspectives*. Institut Menorquí d'Estudis. Recerc.
- VITT, L.; CALDWELL, J.; ZANI, P. & TITUS, T. (1997). The role of habitat shift in the evolution of lizard

- morphology: evidence from tropical *Tropidurus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **94**: 3828-3832.
- VOELKER, G. (1999). Molecular evolutionary relationships in the avian genus *Anthus* (Pipits: Motacillidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **11**: 84-94.
- XU, X. & ARNASON, U. (1996). The mitochondrial DNA molecule of sumatran orangutan and a molecular proposal for two (bornean and sumatran) species of orang-utan. *Journal of Molecular Evolution* **43**: 431-437.
- WAKELEY, J. (1994). Substitution-rate variation among sites and the estimation of transition bias. *Molecular Biology and Evolution* **11**: 436-442.
- WALBERG, M. & CLAYTON, D. (1981). Sequence and properties of the human KB cell and mouse L-cell D-loop regions of mitochondrial DNA. *Nucleic Acids Research* **9**: 5411-5421.
- WALKER, D.; BURKE, V.; BARÁK, & AVISE, J. (1995). A comparison of mtDNA restriction sites vs control region sequences in phylogeographic assessment of the musk turtle (*Sternotherus minor*). *Molecular Ecology* **4**: 365-373.
- WARREN, B.; BERMINGHAM, E.; BOWIE, R.; PRYSON-JONES, R. & THÉBAUD, C. (2003). Molecular phylogeography reveals island colonization history and diversification of western Indian Ocean sunbirds (*Nectarinia*: Nectariniidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **29**: 67-85.
- WATERMAN, M.; JOYCE, J. & EGGERT, M. (1991). Computer alignment of sequences. In: MIYAMOTO, M. & CRACRAFT, J. (eds.). *Phylogenetic analysis of DNA sequences*. Oxford University Press. Pp. 59-72.
- WAYNE, R.; GEORGE, S.; GILBERT, D.; COLLINS, P.; KOVACH, S.; GIRMAN, D. & LEHMAN, N. (1991). A morphological and genetic study of the island fox *Urocyon littoralis*. *Evolution* **45**: 1849-1868.
- WEIJDEN, C. & PACHECO, F. (2003). Hydrochemistry, weathering and weathering rates on Madeira island. *Journal of Hydrology* **283**: 122-145.
- WEINER, J. (1995). Evolution made visible. *Science* **267**: 30-33.
- WERMAN, S. & CROTHER, B. (1999). Phylogeny of some middle american pitvipers based on a cladistic analysis of mitochondrial 12S and 16S DNA sequence information. *Contemporary Herpetology* **3**: 1-13.
- WERMAN, S.; SPRINGER, M. & BRITTEN, R. (1990). Nucleic acids I: DNA-DNA hybridization. In: HILLIS, D. & MORITZ, C. (eds.). *Molecular Systematics*. Sinauer Associates Publishers, Sunderland. Pp.204-249.
- WHEELER, W. (1993). The triangle inequality and character analysis. *Molecular Biology and Evolution* **10**: 707-712.
- WHEELER, W.; GATESY, J. & DeSALLE, R. (1995). Elision: a method for accommodating multiple molecular sequence alignments with alignment-ambiguous sites. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **4**: 1-9
- WHITCOMB, R.; ROBBINS, C.; LYNCH, J.; WHITCOMB, B.; KLIMKIEWICZ, M. & BYSTRAK, D. (1981). Effects of forest fragmentation on avifauna of the eastern deciduous forest. In: BURGESS, R. & SHARPE, D. (eds.). *Forest island dynamics in man-dominated landscapes*. Springer-Verlag. New York. Pp. 125-205.
- WHITING, A. (2004). *Phylogenetic systematics and evolution within the family Scincidae*. PhD thesis. Brigham Young University.
- WHITING, A.; BAUER, A. & SITES Jr., J. (2003). Phylogenetic relationships and limb loss in sub-Saharan african scincine lizards (Squamata: Scincidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **29**: 582-598.
- WIENS, J. & PENKROT, T. (2002). Delimiting species using DNA and morphological variation and discordant species limits in spiny lizards (*Sceloporus*). *Systematic Biology* **51**: 69-91.
- WIENS, J. & SERVEDIO, M. (2000). Species delimitation in systematics: inferring diagnostic differences between species. *Proceedings of the Royal Society of London B*. **267**: 631-636.
- WILEY, E. (1978). The evolutionary species concept reconsidered. *Systematic Zoology* **27**: 17-26.
- WILEY, E. (1981). *Phylogenetics. The theory and practice of Phylogenetic Systematics*. John Wiley & Sons.
- WILEY, G. (2000). Recent records of reptiles and amphibians accidentally transported to Guam, Mariana Islands. *Micronesia* **32**: 285-287.
- WILKINSON, G.; MEYER, F.; KERTH, G. & PETRI, B. (1997). Evolution of repeated sequence arrays in the D-Loop region of bat mitochondrial DNA. *Genetics* **146**: 1035-1048.
- WILLIAMS, E. (1983). Ecomorphs, faunas, island size, and diverse end points in island radiations of *Anolis*. In: HUEY, R.; PIANKA, E. & SCHOENER, T. (eds.). *Lizard ecology. Studies of a model organism*. Harvard University Press.
- WILLIAMSON, M. (1988). Relationship of species number to area, distance and other variables. In: MYERS, A. & GILLER, P. (eds.). *Analytical biogeography: An integrated approach to the study of animal and plant distributions*. Chapman & Hall. Pp. 91-115.
- WILLIAMSON, M.; GASTON, K. & LONSDALE, W. (2001). The species-area relationship does not have an asymptote. *Journal of Biogeography* **28**: 827-830.
- WILLIAMSON, M.; GASTON, K. & LONSDALE, W. (2002). An asymptote is an asymptote and not found in species-area relationships. *Journal of Biogeography* **29**: 1713-1714.
- WILLIS, C. (1995). When did Eve live ?. An evolutionary detective story. *Evolution* **49**: 593-607.
- WILSON, A.; CANN, R.; CARR, S.; GEORGE Jr., M.; GYLLENSTEN, U.; HELM-BYCHOWSKI, K.; HIGUCHI, R.; PALUMBI, S.; PRAGER, E.; SAGE, R. & STONEKING, M. (1985). Mitochondrial DNA and two perspectives on evolutionary genetics. *Biological Journal of Linnaean Society* **26**: 375-400.
- WOISCHNIK, M. & MORAES, C. (2002). Pattern of organization of human mitochondrial pseudogenes in the nuclear genome. *Genome Research* **12**: 885-893.
- WOLSTENHOLME, D. (1992). Genetic novelties in mitochondrial genomes of multicellular animals. *Current Opinion in Genetics and Development* **2**: 918-925.

- WRIGHT, S. (1931). Evolution in mendelian populations. *Genetics* **16**: 97-159.
- WRIGHT, S. (1940). Breeding structure of populations in relation to speciation. *The American Naturalist* **74**: 232-248.
- WRIGHT, S. (1943). Isolation by distance. *Genetics* **28**: 114-156.
- WRIGHT, S. (1951). The genetical structure of populations. *Ann. Eugenics* **15**: 323-354.
- WU, C. & LI, W. (1985). Evidence for higher rates of nucleotide substitution in rodents than in man. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **82**: 1741-1745
- WÜSTER, W.; DUMBRELL, A.; HAY, C.; POOK, C.; WILLIAMS, D. & FRY, B. (2005). Snakes across the Strait: trans-Torresian phylogeographic relationships in three genera of australasian snakes (serpents: Elapidae: *Acanthophis*, *Oxyuranus*, and *Pseudechis*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **34**: 1-14.
- YANG, Z. (1993). Maximum likelihood phylogenetic estimation of phylogeny from DNA sequences when substitution rates differ over sites. *Molecular Biology and Evolution* **10**: 1396-1401.
- YANG, Z. (1994a). Estimating the pattern of nucleotide substitution. *Journal of Molecular Evolution* **39**: 105-111.
- YANG, Z. (1994b). Maximum likelihood phylogenetic estimation from DNA sequences with variable rates over sites: approximate methods. *Journal of Molecular Evolution* **39**: 306-314.
- YANG, Z. (1996a). Among-site rate variation and its impact on phylogenetic analyses. *Trends in Ecology & Evolution* **11**: 367-372.
- YANG, Z. (1996b). Phylogenetic analysis using parsimony and likelihood methods. *Journal of Molecular Evolution* **42**: 294-307.
- YANG, Z. (1997). How often do wrong models produce better phylogenies ?. *Molecular Biology and Evolution* **14**: 105-108.
- YANG, Z. & GOLDMAN, N. (1996). Are big trees indeed easy ?. *Trends in Ecology & Evolution* **12**: 357.
- YANG, Z. & NIELSEN, R. (2000). Estimating synonymous and nonsynonymous substitution rates under realistic evolutionary models. *Molecular Biology and Evolution* **17**: 32-43.
- YEATON, R. & CODY, M. (1974). Comparative release in islands song sparrow populations. *Theoretical Population Biology* **5**: 42-58.
- YEW, N.; STROBEL, M. & VANDE WOUDE, G. (1993). *Mos* and the cell cycle: the molecular basis of the transformed phenotype. *Current Opinion in Genetics & Development* **3**: 19-25.
- YODER, A.; IRWIN, J.; GOODMAN, S. & RAKOTOARISOA, S. (2000). Genetic tests of the taxonomy status of the ring-tailed lemur (*Leur catta*) from the high mountain zone of the Andringitra Massif, Madagascar. *Journal of Zoology, London* **252**: 1-9.
- ZAHER, H. (2000). Hemipenial morphology of the South American xenodontine snakes, with a proposal for a monophyletic xenodontinae and a reappraisal of colubroid hemipenes. *Bulletin of the American Museum of Natural History* **240**: 1-168.
- ZAMUDIO, K. & GREENE, H. (1997). Phylogeography of the bushmaster (*Lachesis muta*: Viperidae): implications for neotropical biogeography, systematics, and conservation. *Biological Journal of the Linnean Society* **62**: 421-442.
- ZANDEE, M. & ROOS, M. (1987). Component compatibility in historical biogeography. *Cladistics* **3**: 305-332.
- ZARDOYA, R. & MEYER, A. (1998). Complete mitochondrial genome suggests diapsid affinities of turtles. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **95**: 14226-14231.
- ZARDOYA, R.; ECONOMIDIS, P. & DOADRIO, I. (1999). Phylogenetic relationships of greek cyprinidae: molecular evidence for at least two origins of the greek cyprinid fauna. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **13**: 122-131.
- ZELDITCH, M.; FINK, W. & SWIDERSKI, D. (1995). Morphometrics, homology, and phylogenetics: quantified characters as synapomorphies. *Systematic Biology* **44**: 179-189.
- ZEVEERING, C.; MORITZ, C.; HEIDEMAN, A. & STURM, R. (1991). Parallel origins and the formation of pseudogenes in mitochondrial DNA from parthenogenetic lizards (*Heteronotia binoei*; Gekkonidae). *Journal of Molecular Evolution* **33**: 431-441.
- ZHANG, D. & HEWITT, G. (1996). Nuclear integrations: Challenges for mitochondrial DNA markers. *Trends in Ecology & Evolution* **11**: 247-251.
- ZHANG, D. & HEWITT, G. (2003). Nuclear DNA analyses in genetic studies of populations: practice, problems and prospects. *Molecular Ecology* **12**: 563-584.
- ZHANG, Y. & RYDER, O. (1994). Phylogenetic relationships of bears (the Ursidae) inferred from mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **3**: 351-359.
- ZHARKIKH, A. (1994). Estimation of evolutionary distances between nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* **39**: 315-329.
- ZINK, R. & DITTMAN, D. (1993). Gene refugia and evolution of geographic variation in the song sparrow (*Melospiza melodia*). *Evolution* **47**: 717-728.
- ZINK, R.; WELLER, S. & BLACKWELL, R. (1998). Molecular phylogenetic of avian genus *Pipilo* and a biogeographic argument for taxonomic uncertainty. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **10**: 191-201.
- ZINO, F.; BISCOITO, M. & ZINO, P. (1995). Birds of the Archipelago of Madeira and the Selvagens. New records and checklist. *Boletim do Museu Municipal do Funchal* **47** (262): 63-100.
- ZOUROS, E.; FREEMAN, K.; BALL, A. & POGSON, G. (1992). Direct evidence for extensive paternal mitochondrial DNA inheritance in the marine mussel *Mytilus*. *Nature* **359**: 412-414.
- ZUG, G. (1993). *Herpetology. An introductory biology of amphibians and reptiles*. Academic Press.

9. Webpages:

Barfford, D.N.. The islands of Sao Tome, Principe, and Annobon, West Africa.
http://volcano.und.nodak.edu/vwdocs/volc_images/africa/wafrica.html

CANTINO, P. D. e De QUEIROZ, K. (2000). PhyloCode: A phylogenetic code of biological nomenclature.
<http://www.ohiou.edu/phylocode/>

DREWES, R. (2002). Islands at the center of the world. http://www.calacademy.org/calwild/spring2002/stories/sao_tome2.htm.

EMBL Reptile database: <http://www.embl-heidelberg.de/~uetz/LivingReptiles.html>

HEY, J. (1997). A reduction of "Species" resolves the species problem. <http://lifesci.rutgers.edu/~heylab/sconcept/introduction.html>.

LINNAEUS, C. (1758). *Systema naturae*. Parte da Herpetologia. Pp 194-229. <http://itgmv1.fzk.de/www/itg/uetz/herp/library/Linnaeus1758.pdf>

<http://angelicus.netliberte.org/articles/atl/atlant.htm>

<http://itgmv1.fzk.de/www/itg/uetz/herp/library/Linnaeus1758.pdf>

<http://lifesci.rutgers.edu/sconcept/introduction.html>

<http://research.amnh.org/cgi-bin/herpetology/amphibia>

http://sea.unep-wcmc.org/isdb/CITES/taxonomy/country_list.cfm

<http://triplov.com/mamba/mamba00.htm>

http://volcano.und.nodak.edu/vwdocs/volc_images/africa/wafrica.html

<http://www.425dxn.org/dc3mf/annobon.html>

http://www.calacademy.org/research/guinea_islands/

http://www.calacademy.org/science_now/sao_tome/we_begin.htm

<http://WWW.demis.nl>

<http://www.embl-heidelberg.de/~uetz/families/Elapidae.html>

<http://www.embl.heidelberg.de/~uetz/families/Gekkonidae.html>

<http://www.embl-heidelberg.de/~uetz/families/Scincidae.html>

<http://www.embl-heidelberg.de/~uetz/families/Typhlopidae.html>

http://www.ggcg.st/amphibians_stp.htm

<http://www.ggcg.st/birds/GoGBirdChecklist.htm>

<http://www.ggcg.st/birds/stpbirdtable.htm>

<http://www.ggcg.St/ferns5.html>

http://www.ggcg.st/jon_principe.htm

http://www.ggcg.st/reptiles_stp.html

http://www.ggcg.st/Species_Lists/odonata.htm

http://www.ggcg.st/Species_Lists/STP%20Lepidoptera%20Geometridae.htm

http://www.calacademy.org/science_now/sao_tome/dispatch.2.htm

<http://www.fishbase.org>

**FILOGEOGRAFIA E SISTEMÁTICA MOLECULAR DE ALGUNS
RÉPTEIS DE ALGUNS ARQUIPÉLAGOS AFRICANOS DO
ATLÂNTICO ORIENTAL**

JOSÉ MANUEL ABREU DE JESUS

ANEXOS

Universidade da Madeira

Anexo I:

Aspectos da caracterização dos taxa considerados nesta dissertação

Família Gekkonidae

A maioria das espécies têm hábitos noturnos e por isso têm pupilas geralmente alongadas verticalmente ou elípticas (Glaw & Vences, 1994; Lee, 2000). Nas formas com actividade diurna, as pupilas são geralmente circulares (Henkel & Schmidt, 2000; Stafford & Meyer, 2000). Alguns géneros são essencialmente diurnos como por exemplo o género *Phelsuma* (Glaw & Vences, 1994). Outros géneros apresentam ainda a capacidade de possuir actividade diurna e noturna como por exemplo *Ptyodactylus*¹. Muitos daqueles com actividade diurna têm geralmente cores muito vivas (ex: género *Phelsuma* de Madagáscar).

São essencialmente insectívoros mas também podem predar sobre outros répteis e micromamíferos. Poucas espécies parecem alimentar-se de frutos e néctar. (Glaw & Vences, 1994).

Apresentam um tamanho corporal pequeno a médio, podendo no entanto variar entre 30 mm a mais de 350 mm. Parecem existir espécies fósseis com comprimentos superiores a 500 (ex: *Phelsuma gigas*) e 600 mm¹. A cauda costuma ter um tamanho aproximado ao comprimento focinho-cloaca. A maioria apresenta corpo “rechonchudo”, relativamente aplanado. Nas formas típicas, a cabeça é larga e apresenta contorno triangular, grandes olhos, que se diferencia do tronco por um pescoço definido (Barbadillo, 1987; Glaw & Vences, 1994).

A boca é grande e possui dentes pleurodontes. As arcadas ósseas temporais desapareceram (Barbadillo, 1987). Os membros geralmente pentadáctilos estão normalmente bem desenvolvidos (Barbadillo, 1987). Uma particularidade de muitas osgas, como aquelas dos arquipélagos considerados neste trabalho, é a existência de dilatação na extremidade de cada dedo. Na parte inferior destas dilatações, existem numerosas lamelas transversais que conferem um grande capacidade de adesão ao substrato por parte das osgas, funcionando cada dedo como uma ventosa. (Barbadillo, 1987; Lee, 2000; Stafford & Meyer, 2000; Glaw & Vences, 1994), sendo importantes estruturas na taxonomia do grupo (Glaw & Vences, 1994).

A pele destes animais é geralmente fina e frágil. Na região dorsal da maioria das espécies esta pele possui escamas granulares ou uma mistura de escamas granulares e grandes tubérculos (Barbadillo, 1987; Lee, 2000; Stafford & Meyer, 2000).

Muitas das espécies possuem a capacidade de autotomia e regeneração da cauda (Barbadillo, 1987; Henkel & Schmidt, 2000; Lee, 2000; Schleich *et al.*, 1996; Stafford & Meyer, 2000). Muitas osgas, principalmente as noturnas, emitem sons (Glaw & Vences, 1994; Henkel & Schmidt, 2000; Lee, 2000; Schleich *et al.*, 1996). Estes sons servem para delimitar território, atrair fêmeas, defender-se e ameaçar outros indivíduos. Aliás o nome da família está relacionado com os sons emitidos por *Gekko gekko* (Schleich *et al.*, 1996).

Por fim a família é essencialmente ovípara, a maioria dos indivíduos põe 2 ovos. Possuem reprodução sexuada, mas existem casos de partenogénese nos géneros *Gehyra* e *Hemidactylus* (Glaw & Vences, 1994)

Género *Tarentola* GRAY, 1825

Habitam geralmente zonas relativamente secas onde costumam subir e trepar as rochas durante a noite mas ocasionalmente podem aparecer durante o dia. As espécies constituintes do género possuem dedos livres fortemente dilatados na extremidade, com lamelas não divididas por baixo e um escudo aplanado parecido com uma unha na sua superfície dorsal e perto das pontas dos dedos. 3º e 4º dedos com garras em ambos os sexos;

¹ <http://www.embl.heidelberg.de/~uetz/families/Gekkonidae.html>

os outros dedos não têm unhas nos machos ou têm unhas diminutas nas fêmeas. Pupilas verticais, sem poros femurais ou pré-femurais (Schleich *et al.*, 1996).

***Tarentola darwini* JOGER, 1984**

Joger (1993) descreve um macho de Santiago da seguinte forma: 35 escamas numa fiada longitudinal entre as margens posteriores do membro anterior e do membro posterior; apresenta um valor baixo de escamas em torno do corpo (119) e uma coloração uniforme castanho-acinzentada; apenas as zonas laterais do corpo suportam pontos (“spots”) reticulados. O comprimento da cabeça e corpo é de 53 mm (62 mm segundo Schleich, 1987) e a cauda apresenta comprimento semelhante. O outro exemplar, do Fogo, é uma fêmea com 49 mm de comprimento cabeça+corpo, e 51 mm de comprimento de cauda; apresenta cerca de 31 tubérculos entre as margens posteriores dos membros e 110 escamas em torno do corpo. Existem bandas transversais difusas no dorso. Apresenta também o padrão reticulado nas zonas laterais.

Segundo Schleich (1987), a espécie possui cerca de 7-10 infralabiais e cerca de 13 lamelas subdigitais. A mental está em contacto com duas submaxilares (ver Schleich, 1987)

***Tarentola caboverdiana* SCHLEICH, 1984**

Joger (1993) refere que a subespécie *raziana* apresenta três bandas dorsais transversais. A subespécie *substituta* apresenta mais do que três bandas. A subespécie *maioensis* apresenta folidose e padrão típico e apresenta uma distância entre a abertura auditiva e o olho menor do que a distância entre o olho e a ponta do focinho, contrariamente ao definido por Schleich (1987).

***Tarentola rudis* BOULENGER, 1906**

Joger (1993) cria e caracteriza a subespécie *boavistensis* da seguinte forma: pequenos (70 mm de comprimento entre o focinho e a cloaca); 112 a 143 escamas em torno do corpo; 19 a 22 escamas interorbitais.

***Tarentola gigas* BOCAGE, 1896**

Bocage (1875) dá-lhe o nome de *Ascalabotes gigas* e descreve-a da seguinte forma: É uma espécie de grande tamanho de forma atarracada, cabeça grossa e larga na parte posterior. Em termos de escamas são semelhantes a *T. delalandii*. A cabeça é revestida por pequenas placas poligonais ligeiramente convexas, entremeadas por granulações. Na região dorsal, o corpo possui pequenas granulações e tubérculos não carenados, circulares e convexos. Estes tubérculos estão dispostos irregularmente sobre a nuca e sobre as têmporas e regularmente em 8 fiadas longitudinais no tronco. Pequenos grânulos semelhantes a estes do dorso e tubérculos disseminados sem ordem cobrem a face externa dos membros. A cauda é anelada, guarnecida de granulações por cima e sobre os cantos mais desenvolvidos sobre o bordo de cada anel, e suporta 6 fiadas longitudinais de tubérculos um pouco mais fortes e com forma cônica mais acentuada. O revestimento da parte superior do corpo é formado por pequenas escamas aplanadas em que as dimensões e forma variam com a área em que estão inseridas (muito pequenas e arredondadas na face inferior da cabeça e tornam-se maiores e hexagonais no tronco e abdómen onde atingem o seu máximo desenvolvimento). A face interna dos membros apresenta um revestimento semelhante ao da face inferior da cabeça. Os anéis da cauda são constituídos, na sua face inferior, por escamas quadrangulares ou hexagonais dispostas em fiadas paralelas e em que as dimensões

vão aumentando da base ao bordo de cada anel. Dois tubérculos cónicos fortes estão patentes em cada lado da base da cauda, na sua face inferior. A placa rostral apresenta a forma dum paralelograma alongado. De cada lado desta placa, 9-10 supralabiais de forma quadrangular, em que as dimensões vão diminuindo para a parte posterior. Os bordos do lábio inferior estão guarnecidas por 8 placas quadrangulares. Em torno da narina encontramos a rostral, a primeira labial e três placas nasais de dimensões semelhantes. A extremidade da mandíbula inferior está coberta por uma placa longa truncada na parte superior e bordejada em cada lado por 3 sub-mentais estreitas e alongadas. O bordo palpebral é completo e os olhos são grandes com pupila vertical. Não possuem poros femurais e pré-anais.

Coloração: Região dorsal cinzento-acastanhada com manchas castanhas mais ou menos carregadas que formam bandas transversais no dorso e da cauda. A meio do dorso existe uma banda longitudinal mais clara. A parte superior da cabeça possui manchas e linhas castanhas; uma pequena faixa estreita bordeja de castanho desde a narina à parte anterior da órbita; labiais inferiores e superiores estão irregularmente manchadas de castanho e alguns traços desta cor podem ser encontrados nos cantos do pescoço e nos flancos. Os tubérculos do tronco e da cauda participam em geral na coloração das partes onde se encontram implantados. As regiões inferiores são claras, cremes, amareladas e sem manchas. A coloração é sensivelmente menos marcada nos indivíduos de maior tamanho (Bocage, 1875).

Dimensões (Bocage, 1875): Do focinho à extremidade anterior da cloaca- 125mm; comprimento com a cauda- 236 mm ; comprimento da cabeça- 38 mm; do bordo anterior da cloaca à ponta da cauda- 111 mm; comprimento do membro anterior- 36 mm; comprimento do membro posterior- 48 mm; largura do tronco- 40 mm.

Género *Hemidactylus* OKEN, 1817

É constituído por osgas com hábitos nocturnos, com uma pupila vertical (Glaw & Vences, 1994; Schleich *et al.*, 1996). Os animais apresentam a extremidade dos dedos dilatada e duas fiadas de lamelas subdigitais nessas dilatações (Schleich *et al.*, 1996). Existe uma depressão que divide longitudinalmente as lamelas das almofadas dos dedos, daí o nome atribuído a este género, *hemi* significa metade e *dactylus* significa dedo. Os dígitos, ao contrário do que acontece no género *Tarentola*, estão pouco ou nada expandidos distalmente e possuem unhas (Anderson, 1999; Schleich *et al.*, 1996; Stafford & Meyer, 2000). Muitas vezes, a base da cauda apresenta fiadas de tubérculos pontiagudos e distintos daqueles que são encontrados no dorso (Stafford & Meyer, 2000). Apresentam escamas de diferentes tamanhos no dorso, com pequenas escamas misturadas com tubérculos achatados ou pontiagudos (Andersson, 1999; Stafford & Meyer, 2000). Os machos costumam possuir poros femurais pré-anais (Stafford & Meyer, 2000).

Muitas das espécies deste género possuem a capacidade para emitir sons (Glaw & Vences, 1994).

***Hemidactylus brookii* GRAY, 1845**

Possui tubérculos dorsais grandes e numerosos, fortemente carenados, dispostos segundo fiadas longitudinais mais ou menos regulares. Machos com 15-27 poros femurais e pré femurais. Com 6 a 10 lamelas sob o 4º dedo (Anderson, 1999).

Hallowell (1854) descreveu *Hemidactylus brookii* como *Hemidactylus angulatus* da seguinte forma:

Parte superior do corpo coberta por tubérculos dispostos em linhas paralelas oblíquas convergindo para a linha média do dorso. Grande placa triangular debaixo do queixo. Comprimento da cauda semelhante ao comprimento da cabeça e corpo. Cauda subquadrangular na sua base, afinando-se até à extremidade.

Cabeça de tamanho médio ou moderado, achatada por cima. O focinho é triangular e deprimido por cima. As narinas são pequenas e circulares estando colocadas perto duma linha localizada a meio e por cima da abertura da boca. Existe uma fiada de nove ou dez placas em cada lado da mandíbula superior; destas, as duas ou três mais perto do focinho parecem ser as maiores. O mesmo número de placas existe em fiada na mandíbula inferior. A narina é estreita, oblonga e está numa placa quadrilateral estreita e oblonga. A placa mental é grande e triangular, com duas pequenas placas quadrangulares em cada lado no ápice do triângulo. O *meatus* auditivo é distinto, de tamanho moderado e oval. Os olhos são grandes e laterais com pupilas arredondadas. A parte superior da órbita é bordejada por uma fiada única de escamas cónicas. O queixo e a garganta (região gular) estão cobertos por pequenas escamas granulares que são um pouco maiores junto ao queixo. As escamas no pescoço e abdómen são lisas, quadrangulares e dispostas em fiadas oblíquas. A parte superior do corpo apresenta numerosos tubérculos dispostos em fiadas oblíquas, convergindo para a linha média do dorso. Os espaços entre os tubérculos estão cobertos por numerosos pontos escuros (pretos). Por cima da cabeça e do pescoço, numerosos tubérculos grandes (mais abundantes no pescoço) são observados e estão dispostos irregularmente. As partes superiores e laterais do focinho estão cobertas de tubérculos aglomerados. Uma depressão bem marcada existe entre o focinho e a parte superior da cabeça. Existem 13 ou 14 poros femurais nos espécimes examinados, mas nenhum imediatamente à frente da cloaca. 4 ou 5 destes poros estendem-se para além da coxa em cada lado, cerca duma linha em frente da cloaca. A parte inferior das extremidades está coberta com pequenas escamas imbricadas que apresentam ponto escuros (pretos) muito pequenos. A parte inferior dos dedos apresenta uma fiada dupla de escamas imbricadas divididas por uma linha mediana. A parte superior da cauda apresenta numerosos tubérculos, a parte inferior apresenta pequenos escudos transversais, algo indistintos (Hallowell, 1854).

Coloração: Parte superior e lados da cabeça amarelados. Parte superior do corpo castanho claro, com numerosos pontos escuros diminutos. Parte superior da extremidades mais clara do que o resto do corpo. Partes inferiores do corpo e das extremidades são claras e às vezes rosadas. É estranha esta descrição. Quanto a nós, esta descrição da coloração deverá ser para indivíduos conservados, pois em vivo os *Hemidactylus* têm a capacidade de mudar de cor (Hallowell, 1854).

Dimensões: comprimento da cabeça: cerca de 2 cm; maior largura da cabeça: cerca de 1,3 cm; comprimento do corpo: cerca 3,8 cm; comprimento da cauda: cerca de 5 cm (Hallowell, 1854).

Esta espécie é bem caracterizada pela placa angular no queixo e a disposição das fiadas de tubérculos no dorso (Hallowell, 1854).

***Hemidactylus bouvieri* (BOCOURT 1870)**

O dorso encontra-se coberto por grânulos uniformes. Angel (1935) considera como existindo 3 subespécies que para outros autores não são subespécies. Assim, refere *H. b. bouvieri* em Santo Antão, São Vicente, Santiago, Fogo e Brava; *H. b. boavistensis* na Boa Vista; e de *H. b. chevalieri* no Sal. Refere diferenças morfológicas baseadas no número de lamelas subdigitais nos diferentes dedos e da ausência ou presença de poros femurais nos machos.

Joger (1993) refere que os exemplares estudados e oriundos de Santa Maria (Sal) tinham um padrão dorsal reduzido

***Hemidactylus greeffii* BOCAGE, 1886**

A exemplo dos outros *Hemidactylus* possuem as lamelas subdigitais subdivididas por uma depressão longitudinal.

A conformação do polegar dos membros anteriores, reduzido na parte basal e sem garra, é suficiente para distinguir *H. greeffii* de *H. mabouia*. (Bocage 1904-1905). Na diagnose feita em 1886, é referida a existência de 12 poros pré-anais e a inexistência de poros femurais, o que não é verdade pois mais tarde Bocage (1904-1905) observou cerca de 9 indivíduos e constatou a existência de 12 a 14 poros pré-anais bem distintos nos machos. De cada lado mas menos distintos e difíceis de serem percebidos existia uma série de 11 poros femurais que se encontravam separados dos poros pré-anais por um intervalo de 3-4 escamas não perfuradas.

***Hemidactylus mabouia* (MOREAU DE JONNÉS, 1818)**

O corpo desta osga é deprimido, com um comprimento nos adultos entre 50 e 86 mm (comprimento entre a rostral e a cloaca)(Glaw & Vences, 1994). A espécie caracteriza-se por possuir tubérculos convexos, estriados, “com quilha ou crista”, ou subtriangulares dispersos pelo dorso e formam 9 a 18 linhas longitudinais mais ou menos regulares e acinzentadas ou castanho claro ou escuro, uniforme ou pintalgado com manchas escuras. Cerca de 5 barras transversais estão presentes no dorso. Cerca de 10 barras escuras podem ser encontradas na cauda. A coloração é, no entanto, muito variável e rapidamente mutável, dependendo da cor do substrato e do estado fisiológico do animal (Glaw & Vences, 1994, Henkel & Schmidt, 2000). A distância entre a ponta do focinho e o bordo anterior do olho é maior do que a distância entre o bordo posterior do olho ao bordo posterior da abertura auditiva (Glaw & Vences, 1994).

Não há dimorfismo sexual no tamanho. Machos poderão ser identificados pelos poros femurais (Henkel & Schmidt, 2000) que segundo Bocage (1904-1905) apresentam uma série longa de cerca de pelo menos 33 poros preanais e femurais.

Hemidactylus mabouia e *H.greeffii* de São Tomé e Príncipe foram confundidas no início, e muitos naturalistas consideraram-nas como a mesma espécie. Daí que Bocage (1886) tivesse comparado as duas espécies (Tabela 13).

Manaças (1952) descreve *H. mabouia* de Moçambique da seguinte forma: comprimento total: maior macho com 160 (75 + 93 mm), maior fêmea com 83 (44 +39) (com cauda regenerada). Estes valores são muito díspares e deverão estar relacionados com a pequenez da amostra.

Morfologia (Manaças, 1952): Cabeça mais comprida do que larga; focinho maior do que a distância entre olho e ouvido; narina compreendida entre a rostral, a primeira supralabial e 3 nasais, a maior das quais à frente e separada da sua simétrica por um grânulo. Ouvido menor do que o diâmetro do olho. Rostral quadrangular, com sulco médio na parte superior; 11 supralabiais, sendo a 11ª muito pequena; 10 infralabiais; mental triangular; 2 pares de pós-mentais, no primeiro, as escamas grandes unem-se na linha média. Cabeça coberta por grânulos maiores no focinho, e muito pequenos na parte posterior onde se notam alguns tubérculos. No dorso com grânulos pequenos, existem 14 fiadas irregulares de tubérculos ovais, convexos, fracamente carenados. Na face ventral existem escamas imbricadas, lisas, arredondadas e muito pequenas na região gular.

Dedos dilatados, 5 lamelas subdigitais no 1º dedo do pé e 9 no quarto. Cauda mais comprida do que a cabeça e corpo, subcilíndrica, revestida dorsalmente por escamas pequenas e por tubérculos cónicos, aguçados e dispostos em 6 fiadas longitudinais; ventralmente, as escamas da região média são largas formando fiada. Uma pequena fenda transversal em cada lado da cloaca. Um macho com 47 poros preano-femorais e outro com 34, formando uma série não interrompida.

<i>Hemidactylus mabouia</i>	<i>Hemidactylus greefii</i>	<i>Hemidactylus newtonii</i>
-Fronte côncava	-Fronte côncava	
-Focinho mais longo do que a distância entre o olho e a abertura auricular	-Focinho mais longo do que a distância entre o olho e a abertura auricular	-Focinho afiado até à extremidade, de tamanho semelhante à distância entre olho e abertura auricular
-Abertura auricular estreita e oblíqua	-Abertura auricular oval e oblíqua	
-Narina bordejada pela rostral e 3 ou 4 nasais	-Narina bordejada pela rostral, a primeira labial e 3 nasais	-Narina limitada anteriormente pela rostral, em baixo pela primeira labial, e posteriormente por duas ou três placas arredondadas
-11 a 13 supralabiais e 9 a 10 infralabiais	-11 supralabiais e 9 infralabiais	-9 a 11 supralabiais e 8 a 9 infralabiais - mental triangular seguida de dois pares de placas gulares onde o primeiro par toca-se na linha mediana
-Dorso e flancos cobertos de pequenos grânulos entremeados de tubérculos arredondados, convexos, não carenados, dispostos irregularmente e espaçados	-Dorso e flancos cobertos de pequenos grânulos entremeados de tubérculos convexos, carenados, dispostos longitudinalmente em 20 séries regulares próximas entre duas de cada série	- Cabeça coberta superiormente por pequenos grânulos, o dorso é igualmente granuloso mas aqui os grânulos estão entremeados por numerosas placas tetraédricas ou arredondadas, irregularmente dispostas. A garganta está revestida por pequenos grânulos e o ventre está coberto por pequenas escamas imbricadas.
-Uma prega longitudinal da pele de cada lado do abdómen não guarnecida por uma fiada de tubérculos	- Uma prega longitudinal da pele de cada lado do abdómen onde se encontram implantados uma fiada de tubérculos mais fortes do que os outros prismáticos e pontiagudos	
-Dedos livres, polegar completo nas extremidades anteriores e posteriores, armado com garras	-Dedos livres, polegares incompletos nas extremidades anteriores, reduzido à sua porção basal, sem garra	
-4 a 5 lamelas infradigitais no polegar ou dedo interno, 6 a 8 no quarto dedo	-7 lamelas infradigitais no polegar, 9 a 10 no quarto dedo	-Dedos com unhas; lamelas infradigitais de 7 a 8 nos primeiros dedos e de 11 a 12 no quarto dedo do pé
-Cauda fracamente deprimida, cónica, guarnecida superiormente e lateralmente com seis fiadas longitudinais laterais de tubérculos cónicos espaçados; uma série mediana de placas largas transversais na face inferior	-Cauda quase tetragonal, com seis fiadas longitudinais de tubérculos grossos prismáticos e justapostos nas partes superiores e laterais, uma série mediana de placas largas transversais na face inferior	-Sobre a cauda de forma tetragonal, seis fiadas longitudinais de tubérculos espinhosos, que geralmente desaparecem a partir de certa distância à medida que se aproxima da parte terminal da cauda
-No macho uma série não interrompida de poros femurais, 15 a 30 de cada lado	-No macho uma pequena série de 12 poros pré-anais	

Tabela 13. Comparação em termos morfológicos entre *Hemidactylus mabouia* e *H. greefii* (Bocage, 1886; Ferreira, 1897 in Bocage, 1903)

Coloração (Maués, 1952) (de animais conservados em álcool)- Dorsalmente, a cor de fundo é o castanho claro; na cabeça encontramos algumas manchas castanho escuras; no dorso 5 manchas onduladas castanho escuras; na cauda 10 barras transversais da mesma cor. Face ventral branco-amarelada.

***Hemidactylus newtonii* FERREIRA, 1897**

Quem descreveu formalmente esta espécie foi Ferreira em 1897 (Bocage, 1903) o qual achou que era uma espécie distinta e nova. Os caracteres distintivos e diferenciais estão assinalados na Tabela 16. Segundo Bocage (1903), a cor dos organismos desta espécie parece variar com a idade. O jovem é castanho mais ou menos carregado na parte superior, com o dorso marcado por algumas linhas escuras transversais e angulosas; a cauda nos mais jovens da coleção do Bocage apresentam bandas dorsais alternadas de castanho e castanho muito claro, ou esbranquiçado. No adulto as cores são mais pálidas e o desenho menos marcado. A exemplo do que acontece com *H.mabouia* estes animais deverão mudar de cor consoante o substrato. O diagnóstico cromático aparentemente contraditório efectuado por Bocage poderá ficar a dever-se simplesmente ao facto de ter utilizado muito provavelmente animais mortos.

Família Scincidae

Habitam essencialmente os solos, sendo alguns bons escavadores (Henkel & Schmidt, 2000), principalmente as formas com redução de membros (Lee, 2000).

São espécies com hábitos diurnos, embora algumas possam ser nocturnas (Barbadillo, 1987), de tamanho pequeno a médio, em que cerca de 80% das espécies possuem tamanhos (comprimento entre focinho e cloaca) inferiores a 120 mm. Algumas podem ser maiores, como *Cornuia* spp. que atinge 35 cm¹. Ocupam uma grande diversidade de habitats (Whiting *et al.*, 2003).

O corpo é geralmente alongado e cilíndrico não havendo contudo distinção clara do pescoço (Barbadillo, 1987, Lee, 2000 e Henkel & Schmidt, 2000). Têm geralmente focinhos longos e crânios mais ou menos achatados, nos quais a abertura temporal superior é reduzida ou ausente. A cabeça está geralmente coberta por placas grandes justapostas com distribuição mais ou menos típica e definida, a exemplo do que acontece com os lacertídeos, com osteodermes geralmente associados. Os osteodermes são encontrados ao longo do corpo dorsal e ventralmente (Barbadillo, 1987). Nesta família observa-se uma enorme diversidade de tamanhos de membros (Schleich *et al.*, 1996), desde formas com membros desenvolvidos (*Mabuya* spp.) a formas com membros muito reduzidos ou inexistentes (ex: géneros *Amphiglossus*, *Androngo*, *Feylinia*, *Chalcides*, *Pygomeles*, etc.), estando a a cintura peitoral ou escapular sempre presente (Barbadillo, 1987). Muitas das espécies são pentadáctilas (ex: *Mabuya* spp.), mas algumas espécies sofreram um processo de redução do número de dedos (3 em *Chalcides chalcides*) (Barbadillo, 1987).

As escamas que rodeiam o corpo são geralmente lisas e imbricadas e ciclóides com osteodermes associados (Barbadillo, 1987; Lee, 2000; Glaw & Vences, 1994; Schleich *et al.*, 1996), não havendo diferenças assinaláveis entre o tamanho e forma das escamas da região dorsal e região ventral do corpo. Na cabeça, a

¹ <http://www.embl-heidelberg.de/~uetz/families/Scincidae.html>

exemplo do que acontece com os lacertídeos, existem grandes placas cefálicas bem definidas e justapostas (Barbadillo, 1987).

Um palato secundário, parcial ou totalmente desenvolvido é uma característica distintiva dos crânios dos indivíduos desta espécie. É formado primeiramente pelo desenvolvimento duma lâmina em cada lado do osso palatino que prolonga os canais das coanas. Em algumas espécies o *rumus* palatal dos pterigoides estendem o palato secundário posteriormente até ao nível posterior da língua; muitos apresentam também processos descendentes dos parietais que encontram os epipterigoides e um largo processo coronoide do dentário. O ouvido interno apresenta um corpo inerte acessório. A boca é relativamente pequena e as mandíbulas possuem dentes pleurodotes. A premaxila está dividida e às vezes aparece uma barra óssea superior na região temporal. A maioria das espécies não possuem osso postorbital (Barbadillo, 1987). Tal como nos lacertídeos, as aberturas timpânicas são facilmente observadas lateralmente na cabeça, embora possam estar reduzidas em muitos grupos (Barbadillo, 1987).

A família pode ser definida pelas seguintes características: ossificações presentes nas pálpebras; osteodermes presentes dorsalmente, ventralmente e na cabeça; arcada superior completa ou quase, com o jugal e esquamosal próximos ou em contacto; fossa temporal superior tapada principalmente pelo postfrontal; sem poros femurais e anais; escamas dorsais planas e imbricadas (Glaw & Vences, 1994).

Uma particularidade de algumas espécies desta família é a presença do fenómeno da ovoviviparidade. São geralmente insectívoros (Barbadillo, 1987; Lee, 2000).

Contrariamente aos lacertídeos, não possuem poros femurais. Também não possuem colar e como dissemos anteriormente não possuem grande diferenciação entre as escamas dorsais e ventrais do corpo (Barbadillo, 1987; Lee, 2000).

***Euprepis* WAGLER, 1830** (descrição apresentada por Mausfeld *et al.*, 2000)

-Lagartos com tamanho médio a grande, corpo cilíndrico, membros pentadáctilos fortes e bem desenvolvidos e com caudas de tamanho médio. Escamas ciclóides com osteodermes por baixo, escamas dorsais carenadas (com algumas excepções em que são lisas). Escamas dorsais e ventrais semelhantes entre si. Inexistência de separação clara entre as escamas gulares e as ventrais. Ossos palatinos em contacto na região média; entalhe palatino separando os pterigoides, estendendo-se para a frente até ao centro dos olhos. Dentes pterigoides presentes ou ausentes. Escamas dorsais da cabeça achatadas e subimbricadas, com um par de supranasais. Prefrontais e frontoparietais aos pares ou fundidas. Supraocular mais posterior, a terceira, contacta com a frontal. Temporais secundárias estão em contacto ou separadas pelos limites anteriores da terceira temporal. Narina incluída numa única nasal. As pálpebras são móveis com a pálpebra inferior com um disco semitransparente bordejado inferiormente por uma ou mais supralabiais. Pupila redonda. Abertura timpânica relativamente pequena, com o tímpano no fundo dum pequeno *meatus* auditivo. Os dentes são pequenos e pleurodotes. A língua é larga, lanceolada, coberta por papilas dispostas irregularmente e a sua extremidade está fracamente fendida. Poros femurais ausentes. 26-27 vértebras présacrais. Reprodução ovípara ou vivípara. O sentido de *Euprepis* é masculino. Correspondem às *Mabuia* spp. africanas

***Chioninia* GRAY, 1845** (descrição apresentada por Mausfeld *et al.*, 2000)

-Lagartos com tamanho médio a grande, corpo cilíndrico, membros pentadáctilos fortes e bem desenvolvidos e com caudas de tamanho médio. Escamas ciclóides com osteodermes por baixo, escamas dorsais carenadas. Escamas dorsais e ventrais semelhantes entre si. Inexistência de separação clara entre as escamas gulares e as ventrais. Ossos palatinos em contacto na região média; entalhe palatino separando os pterigoides, estendendo-se para a frente até ao centro dos olhos. Dentes pterigoides presentes ou ausentes. Escamas dorsais da cabeça achatadas e subimbricadas. Um par de supranasais. Préfrontais e frontoparietais aos pares ou fundidas. Supraocular mais posterior, a terceira, contacta com a frontal. Temporais em contacto. Narina incluída numa única nasal. As pálpebras são móveis, pálpebra inferior com um disco semitransparente bordejado inferiormente por uma ou mais supralabiais. Pupila redonda. Abertura timpânica relativamente pequena, com o tímpano no fundo dum *meatus* auditivo de tamanho médio. Dentes pequenos, pleurodontes e a língua é larga, lanceolada, coberta por papilas dispostas irregularmente e a sua extremidade é fracamente fendida. Poros femurais ausentes. 26-27 vértebras présacrais. Reprodução ovípara ou vivípara. O sentido de *Chioninia* é masculino. Correspondem às *Mabuya* spp. caboverdeanas.

Género *Mabuya* FITZINGER, 1826

Se não considerarmos a divisão em quatro grupos (quatro géneros de acordo com Mausfeld *et al.*, 2002), a maioria das espécies são robustas e possuem membros desenvolvidos e pentadáctilos (Anderson, 1999), quando comparados com espécies de outros géneros da Família Scincidae, como por exemplo *Chalcides* spp.. Dedos subcilíndricos ou comprimidos com lamelas transversais inferiormente (Anderson, 1999). Possuem também uma cauda longa (Anderson, 1999; Boulenger 1887; Hoogmoed, 1974).

Ao contrário de outros escincídeos, não apresentam escamas na região temporal alargadas ou bem diferenciadas (Stafford & Meyer, 2000). São lagartos e lagartixas de tamanho pequeno a médio (Lee, 2000), ou são escincídeos de médio a grande tamanho com corpo cilíndrico (Hoogmoed, 1974). Ossos palatinos em contacto medianamente, entalhe palatino separando os pterigoides e estendendo-se para a frente até entre os olhos; dentes pterigoides minúsculos ou ausentes Dentes maxilares cónicos ou bicúspides (Anderson, 1999; Boulenger 1887; Hoogmoed, 1974).

Não possuem poros femurais ou préanaís (Hoogmoed, 1974)

Pálpebras móveis tendo um disco mais ou menos transparente na maioria das espécies (Glaw & Vences, 1994). Ouvido distinto com tímpano mais ou menos profundo. Narina inserida numa única nasal. Supranasais e prefrontais presentes. Frontoparietais às vezes unidas num único escudo e a interparietal muitas vezes fundidas com as parietais (Anderson, 1999; Boulenger 1887).

Mabuya significa lagarto num dialecto africano (Schleich *et al.*, 1996). Como curiosidade apresenta-se a seguir a descrição do género apresentada por Boulenger (1887) que o designava por *Mabuia*.

“*Palatine bones in contact mesially; palatal nitch separating entirely the pterygoids, extending forwards to between the centre of the eyes; pterygoid teeth minute or absent; Maxillary teeth conical or bicuspid. Eyelids movable. Ear distinct, tympanum more or less deeply sunk. Nostril pierced in a single nasal; supranasals present; prefrontals present; frontoparietal present; single or double interparietal usually distinct, sometimes coalesced with the parietals. Limbs well developed, pentadactyle. Digits sub-cylindrical or compressed, with transverse lamellae inferiorly.*

Africa and Madagascar; Southern Asia; Central and South America and West Indies?

***Mabuya salensis* ANGEL, 1935**

Apresenta 39 a 40 escamas em torno do corpo (Angel, 1935; Bertin, 1946). Dorsais tricarenadas; 5ª e 6ª labiais situadas sob o olho; 3 supraciliares (Angel, 1935)

***Mabuya vaillanti* BOULENGER, 1887**

Boulenger (1887) apresenta as seguintes dimensões: comprimento total, 257 mm; comprimento da cabeça, 22 mm; largura da cabeça, 18 mm; comprimento do corpo, 100 mm; comprimento do membro anterior, 33 mm; comprimento do membro posterior, 46 mm, comprimento da cauda, 135 mm.

Apresenta 54 escamas em torno do corpo (Bertin, 1946; Angel, 1935). 5ª e 6ª supralabiais iguais e formam as suboculares. Abertura timpânica maior do que a do olho (Angel 1935; Boulenger, 1887).

Segundo Pinheiro (1989), o comprimento do corpo oscila entre 80 e 125 mm com um valor médio de 104,42 e um desvio padrão de 10,52. As fiadas de escamas em torno do corpo variam entre 50 e 56, com um valor médio de 53,5 e um desvio padrão de 1,56. Os exemplares adultos são maiores, mais robustos, com focinho romboidal e perfil mais alto, cabeça relativamente mais larga e mais curta do que os adultos de *Mabuya delalandii*. Em termos de coloração distingue-se bem de *Mabuya delalandii* (Pinheiro, 1989).

Possuem interparietais e parietais fundidas (único nos escincídeos) e retêm as 26 vértebras presacrais, típica das *Mabuya* (Greer, *et al*, 2000). As outras espécies de Cabo Verde possuem 27 vértebras.

A coloração destes organismos caracteriza-se pelo seguinte: banda vertebral esbranquiçada, abrangendo duas fiadas de escamas; duas bandas laterais da mesma cor (3 fiadas de escamas) desde a nuca à cauda. Estas bandas são bordejadas por listas castanho escuras. Entre cada uma das bandas laterais e a vertebral, a coloração é castanha com linhas transversais castanho escuras e com algumas pontuações claras que podem se organizar em linhas paralelas às escuras. O castanho-acinzentado pontuado por pontos cinzento azulados que podem conter uma mancha castanha caracteriza a coloração dos flancos. As pontuações e as manchas podem organizar-se num padrão de linhas transversais semelhante ao observado no espaço limitado pelas bandas vertebral e lateral. Coloração ventral cinzento escura, excepto na parte média que é mais clara; região gular esbranquiçada com marmoreações cinzentas (Pinheiro, 1989)

Boulenger (1887) designou a espécie por *Mabuia vaillantii* e descreveu-a da seguinte forma:

“*Head short and feebly depressed similar to that of Lacerta agilis. Lower eyelid with na undivided transparent disk. Nostril just above or behind the vertical of the suture between the rostral and the first labial; a postnasal; anterior loreal in contact with the first labial; supranasals in contact behind the rostral; frontonasal broader than long; praefrontals forming a median suture; frontal pentagonal, in contact with the second and third supraoculars; four (or three) supraoculars, the first very small and sometimes absent; six or seven supraciliares; frontoparietals coalesced to a single shield; parietals and interparietal coalesced to a single subrescentic shield, followed by a pair of nuchals; fifth and sixth upper labials below the eye, the former not much larger than the latter. Ear-opening oval, considerably larger than the eye opening, with a few minute projecting lobules or granules anteriorly. Nuchal and dorsal scales strongly tricarinate; 54 scales round the middle of the body, subequal. The limbs overlap when depressed. Subdigital lamellae smooth. Tail a little longer than head and body. Olive-brown above, with small darker and lighter spots, and three lighter longitudinal dorsal bands, the vertebral of which is a little narrower than the others and does not extend beyond the base of the tail; a small blackish spot in the axilla. Lower surfaces greenish grey, with more or less distinct darker variegations; chin, and sometimes a median ventral zone, yellowish.*”

***Mabuya delalandii* (DUMERIL & BIBRON, 1839)**

Os exemplares do Fogo capturados por Joger (1993) parecem possuir maior número de fiadas de escamas do que aquilo que é conhecido para a espécie ou seja, 50 (Schleich, 1987) ou 52 (Mertens, 1955). Joger (1993) também capturou animais na Brava que não fogem ao padrão da espécie.

Boulenger (1887) apresenta as seguintes dimensões: comprimento total, 190 mm; comprimento da cabeça, 17 mm; largura da cabeça, 12 mm; comprimento do corpo, 63 mm; comprimento do membro anterior, 23 mm; comprimento do membro posterior, 33 mm, comprimento da cauda, 110 mm.

Nesta espécie, observa-se uma fusão da placa interparietal com a parietal. Distinto das outras espécies caboverdeanas é a presença duma mancha escura na axila. (Joger, 1993). A abertura do "ouvido" é tão grande como o olho, sem lista vertebral clara (Boulenger, 1887)

Apresenta 46 a 50 escamas em torno do corpo; 5ª labial maior do que a 6ª, formando a subocular; abertura timpânica de tamanho semelhante ao olho (Angel, 1935).

De acordo com Pinheiro (1989) esta espécie caracteriza-se por possuir os seguintes valores para os respectivos parâmetros biométricos (ver Tabela 14). São aqui incluídos os mais importantes e que definem a forma geral do animal.

Caracteres	Ilha/Localidade	Média/Desvio padrão
Comprimento do Corpo	Santiago	63,89/10,18
	Fogo	65,22/10,71
	Brava	57,53/8,41
Comprimento da Cabeça	Santiago	12,08/1,51
	Fogo	12,4/2,07
	Brava	11,31/1,28
Largura da Cabeça	Santiago	9,71/1,43
	Fogo	10,14/1,89
	Brava	8,61/1,2
Largura mínima da cabeça	Santiago	1,27/0,33
	Fogo	1,37/0,23
	Brava	1,08/0,20
Comprimento do escudo pós-frontal	Santiago	2,42/0,22
	Fogo	2,41/0,26
	Brava	2,27/0,23
Diâmetro do olho	Santiago	3,44/0,36
	Fogo	3,37/0,49
	Brava	3,08/0,41
Diâmetro do ouvido	Santiago	2,15/0,41
	Fogo	2,19/0,38
	Brava	1,85/0,27
Largura da rostral	Santiago	2,15/0,28
	Fogo	2,51/0,41
	Brava	1,92/0,26
Altura da Rostral	Santiago	1,47/0,23
	Fogo	1,6/0,34
	Brava	1,38/0,21

Tabela 14. Médias e desvios padrões para determinadas características morfométricas (fonte: Pinheiro, 1989)

Segundo Pinheiro (1989) os exemplares da Ilha de Santiago conservados em álcool apresentam a parte média do dorso castanho-escuro que se prolonga pela cauda e na sua parte mais larga abrange cerca de seis escamas. As escamas da 7ª fiada têm as orlas inferiores pretas, formando um traço que bordeja a banda dorsal. Frequentemente há espessamentos que alcançam as escamas da fiada seguinte e no seu conjunto com mais duas ou três fiadas adjacentes na parte média do dorso, formam listas dorsolaterais branco-acastanhadas que percorre o corpo desde as supracilírias até pelo menos 2/3 da cauda. Segue-se outra banda escura que se prolonga desde

o focinho e metade superior do ouvido até à cauda. As duas fiadas de escamas seguintes são branco azuladas encontrando-se entre as labiais e a inserção das patas posteriores. Os flancos entre a inserção dos membros anteriores e posteriores apresentam pontuações branco-azuladas e castanho-escuras dispostas mais ou menos em xadrez. É branco-azulada ou acinzentada a região ventro-lateral da cabeça e pescoço, possuindo ainda traços longitudinais cinzento-escuros. As gulares são branco-rosadas com alguns pontos escuros. A mental é geralmente rosada. A coloração ventral é branco-acinzentada ou rosada. Segundo o autor existem variações ao padrão descrito, com maior ou menor contraste entre cores, a possível existência de risca clara sobre a coluna vertebral, entre outras.

As formas da ilha do Fogo apresentam um padrão de coloração semelhante ao das formas da Ilha de Santiago, mas com algumas diferenças no tom e contraste das riscas. O tom de fundo é geralmente castanho muito escuro; as listas dorsolaterais claras costumam estar interrompidas por manchas escuras. O espaço acinzentado entre os flancos e a banda lateral castanho-escura é menos marcado nos flancos e as manchas escuras são maiores (Pinheiro, 1989).

As formas da Ilha Brava apresentam padrão semelhante às formas anteriores no entanto apresentam maiores diferenças do que entre as formas do Fogo e de Santiago. O tom de fundo é castanho-esverdeado ou acinzentado. Na banda dorsal existem algumas pontuações escuras, enquanto que nas outras formas esta banda é uniforme. As listas dorsolaterais contrastam pouco com o fundo claro e possuem ainda algumas pontuações escuras e são geralmente mais curtas raramente ultrapassando o canto posterior do olho. Os traços escuros longitudinais na região gular são substituídos por uma mancha cinzento difusa. O contraste das cores nestas formas parece ser menor (Pinheiro, 1989).

As formas das três ilhas parecem diferir no número de escamas em torno do corpo, número de lamelas subdigitais no quarto dedo e na coloração. As formas do Fogo parecem possuir maior número de escamas. As formas da Brava diferenciam-se das outras essencialmente pela coloração, com tons mais claros e contrastes menos acentuados (Pinheiro, 1989)

Boulenger (1887) designa a espécie por *Mabuia delalandii* e descreve-a da seguinte forma:

“Snout rather elongate, obtusely acuminate; the shape of the head similar to that of the typical Lacerta muralis. Lower eyelid with an undivided transparent disk. Nostril behind the vertical of the suture between the rostral and the first labial; a postnasal; anterior loreal usually in contact with the first labial; supranasals in contact behind the rostral; frontonasal broader than long; praefrontals forming a median suture; frontal pentagonal, in contact with the second, and usually also the first and third supraoculars; four supraoculars, second largest; five or six supraciliary; fronto-parietals coalesced to a single shield; parietals and interparietal coalesced to a single subcrescentic shield, followed by a pair of nuchals; fifth upper labial (or subocular) below the eye, not twice as large as the proximal labials, not narrowed inferiorly. Ear-opening oval, about as large as the eye opening, with three to five short pointed lobules anteriorly. Nuchal and dorsal scales mostly tricarinate, some bicarinate, the keels very distinct; 46 to 50 scales round the middle of the body, subequal. The hind limb reaches the wrist or the elbow of the adpressed fore limb. Subdigital lamellae smooth. Tail once and one third to once and two thirds as long as head and body. Brown or bronzy olive above; a pale band on each side of the back, beginning from the supraciliary border, and edged with a series of small, more or less confluent dark brown spots; another, narrower, pale band on each side from axilla to groin; the interspace between the two light bands on each side dark brown; flanks dotted with dark brown, sometimes even over the lower light band; a large deep black, white-edged ocellus in the axilla; lower surfaces yellowish white, Throat usually dotted with brown”.

***Mabuya fogoensis* O'Shaughnessy, 1874**

Existem várias formas dentro da espécie. A de Santo Antão terá comprimento do corpo: 56-79 mm; 7 supralabiais e 6 infralabiais (três exemplares com 5, dois exemplares com 7); 4 supra-oculares, 5 supraciliares (um exemplar com 6); 13, 14 ou 15 escamas subdigitais no quarto dedo do membro anterior; 19,20 ou 21 escamas subdigitais no 4º dedo do membro posterior (um exemplar com 18); 58 a 68 fiadas de escamas a meio e em torno do corpo (média: 61,21; desvio-padrão: 2, 55) (Pinheiro, 1990); ou 60 a 64 (Angel, 1935; Bertin 1946; Boulenger 1887). Dorsais duplo-carenadas (Angel, 1935; Boulenger 1887). 5ª e 6ª supralabiais debaixo do olho (Angel, 1935)

A forma de São Nicolau terá comprimento do corpo entre 43 e 81 mm; 7 supralabiais (um exemplar com 8) e 6 ou 7 infralabiais (um exemplar com 5); 4 supra-oculares, 5 supraciliares (quatro exemplares com 6); 13, 14 ou 15 escamas subdigitais sobre o 4º dedo do membro anterior (um exemplar com 12, dois exemplares com 16); 19 a 23 escamas subdigitais sob o 4º dedo do membro posterior (um exemplar com 17, dois com 18); 58 a 64 fiadas de escamas a meio do corpo (um exemplar com 53, dois com 56 um com 57, um com 66) (média: 60,20; desvio-padrão: 2, 42) (Pinheiro, 1990).

Boulenger (1887) apresenta as seguintes dimensões: comprimento total, 173 mm; comprimento da cabeça, 17 mm; largura da cabeça, 13 mm; comprimento do corpo, 61 mm; comprimento do membro anterior, 24 mm; comprimento do membro posterior, 32 mm, comprimento da cauda, 95 mm.

Boulenger (1887) descreve a espécie da seguinte forma:

“Snout rather elongate, obtuse; the shape of the head somewhat like that of the typical form of Lacerta muralis . Lower eyelid with na undivided transparent disk. Nostril just above or behind the vertical of the suture between the rostral and the first labial; a postnasal; anterior loreal slightly or not in contact with the first labial; supranasals in contact behind the rostral; frontonasal broader than long; praefrontals forming a median suture; frontal as long as or a little shorter than the frontoparietals and interparietal together, in contact with the second and third, or first, second, and third supraoculars; four supraoculars, second largest and usually touching the praefrontal; five or six supraciliares; frontoparietals distinct, larger than the interparietal; parietals forming a suture behind the latter shield; a pair of nuchals; fifth and sixth upper labials (or suboculars) below the eye, the former not or but slightly larger than the latter. Ear opening oval, about as large as the eye-opening, the anterior border simple or with a few slightly projecting granules. Dorsal scales mostly feebly bicarinate, some here and there, tricarinate; nuchal and lateral scales very feebly tricarinate; 60 to 64 scales round the middle of the body, subequal. The hind limb reaches the wrist or the elbow of the adpressed fore limb. Subdigital lamellae smooth. Tail once and one fourth to once and two thirds as long as head and body. Olive-brown above, variegated with darker and lighter; three unspotted bands along the back; lower surfaces yellowish, throat and chest marbled with grey-brown.”

***Mabuya stangeri* (GRAY, 1845)**

Segundo Pinheiro (1990), a forma da Ilha do Maio apresenta comprimento do corpo entre 54mm e 75 mm; 7 ou 8 supralabiais (dois exemplares com 6) e 6 ou 7 infralabiais; 4 supraoculares (dois exemplares com 5), 3 ou 4 supraciliares; 13, 14 ou 15 escamas sob o 4º dedo do membro anterior(um exemplar com 12, um exemplar com 16); 20 a 22 lamelas sob o 4º dedo do membro posterior (um exemplar com 19, um com 23, um com 24); 36 a 38 fiadas de escamas a meio do corpo (dois exemplares com 39, dois com 40)(média: 37,42; desvio-padrão: 1,39). A forma da Ilha de Santiago, caracterizada pelo mesmo autor, apresenta um comprimento do corpo entre 55mm e 63 mm. 7 supralabiais e 7 ou 8 infralabiais, 3, 4 ou 5 supraciliares; 10 a 14 escamas sob o 4º dedo do membro anterior; 18 a 20 lamelas sob o 4º dedo do membro posterior; 36 a 38 fiadas de escamas a

meio do corpo” (Pinheiro, 1990). A forma de São Nicolau apresenta um comprimento do corpo entre 63mm e 71 mm. 7 supralabiais e 6 infralabiais (um exemplar com 5 um com 7); 4 supra-oculares, 5 supraciliares; 13 escamas sob o 4º dedo do membro anterior (um exemplar com 12, um com 14); 16 a 18 escamas sob o 4º dedo do membro posterior; 42 a 47 fiadas de escamas a meio do corpo (um exemplar com 40) (Pinheiro, 1990). A forma do Ilhéu Raso apresenta um comprimento do corpo entre 67mm e 79 mm. 7 supralabiais (um exemplar com 8), 6 ou 7 infralabiais, 4 supraoculares, 5 supraciliares (um exemplar com 6); 12 ou 13 escamas sob o 4º dedo do membro anterior (um exemplar com 14); 19 ou 20 escamas sob o quarto dedo do membro posterior; 43 a 48 fiadas de escamas em torno do corpo.

Segundo Bocage (1875) a coloração é menos marcada e aproxima-se de *Mabuya delalandii*. *M. stangeri* é perfeitamente distinta de *M. delalandii* pelas escamas da cabeça e de *M. fogoensis* pelo número de fiadas longitudinais de escamas que é de 56 a 60 nesta última, bem como da forma das escamas, tricarenadas numas e bicarenadas noutras. Não são possíveis de serem confundidas com espécies das áreas continentais vizinhas. São castanho-escuros, com bandas dorsolaterais uniformes pouco definidas que são sublinhadas por uma fiada de manchas escuras transversais de cada lado da linha média e intercaladas com pontos claros. Flancos com bandas definidas e com pontuações claras. Supralabiais, infralabiais e uma zona da metade inferior do ouvido à inserção do membro anterior, são esbranquiçadas. Coloração ventral branca (Pinheiro, 1990).

Boulenger (1887) apresenta as seguintes dimensões: comprimento total, 181 mm; comprimento da cabeça, 16 mm; largura da cabeça, 11 mm; comprimento do corpo, 61 mm; comprimento do membro anterior, 23 mm; comprimento do membro posterior, 31 mm, comprimento da cauda, 104 mm.

Sem referir locais de captura, Angel (1935), Bertin (1946) e Boulenger (1887) referem que esta espécie possui em torno do corpo 42 a 46 escamas. Angel (1935) adianta ainda a existência de dorsais tricarenadas ; as 5ª e 6ª supralabiais (suboculares) estão situadas sob o olho; 5 a 6 supraciliares, frontoparietais, parietais e interparietal distinta; uma postnasal (Boulenger, 1887).

Segundo Bocage (1875) que a designa por *Euprepes hopfferi*, a descrição é a seguinte (baseada em exemplares do Ilhéu Razo): Corpo lacertiforme, ligeiramente aplanado com comprimento total- 160 mm; comprimento da cabeça- 15 mm; da ponta do focinho à cloaca – 75 mm; da cloaca à ponta da cauda- 85 mm; comprimento do membro anterior- 20 mm; comprimento do membro posterior- 32 mm; comprimento do 3º dedo- 6 mm; do 3º dedo do pé – 10 mm; cabeça curta com focinho cónico e pontiagudo; cauda um pouco mais longa do que a cabeça+corpo, deprimida na base e arredondada na extremidade. Membros fortes e regulares; escutelos subdigitais lisos; nos membros anteriores os 3º e 4º dedos são semelhantes e os mais longos; nos membros posteriores o 4º dedo, o mais longo é maior do que o 3º dedo em cerca de 2mm. Abertura auricular oval, tendo no seu bordo anterior três lóbulos arredondados e pequenos. Rostral estreita, alta, com extremidade superior arredondada e elevada, ou proeminente sobre a extremidade do focinho, apresentando 5 bordos onde os dois laterais são direitos e articulam-se à primeira labial e os dois superiores são côncavos. Placas nasais pequenas, pontiagudas à frente e arredondadas atrás; supranasais em contacto, estreitas e alongadas; internasal de forma hexagonal mais larga do que comprida, articulando-se pelos seus bordos externos à primeira frenal; duas frontonasais contíguas e pentagonais; uma frontal que se liga anteriormente à internasal, hexagonal e alongada, mais estreita anteriormente e com bordos laterais côncavos; duas frontoparietais distintas e duas parietais de forma pentagonal, mas com parietais mais desenvolvidas; uma interparietal em forma de lança, separando quase completamente as duas parietais que são bordejadas posteriormente por uma escama estreita e alongada. De

cada canto uma freno-nasal pequena, onde o bordo superior corresponde à extremidade da supranasal; duas frenais, a primeira romboidal e a segunda pentagonal mais alta e mais estendida do que a primeira das duas pequenas freno-orbitais, situadas por cima da 4ª labial; 4 suborbitais e 5 supraciliares; 7 supralabiais em que a quinta faz parte do bordo orbital e as quatro que a precedem são quadrilaterais, a sexta é pentagonal e a maior de todas, a sétima é estreita e alongada; 7 infralabiais. Escamas dorsais tri-carenadas bem distintas e em 43 fiadas longitudinais.

Coloração: superiormente, sobre um fundo oliváceo, duas bandas largas escuras interrompidas, alternadas de pequenos traços de cor esbranquiçada que se estendem da nuca à base da cauda, onde se reúnem para formar uma banda única que se prolonga até à extremidade da cauda; as faces laterais do tronco e da cauda manchadas de negro e ponteadas de branco-amarelado, encontram-se separados da banda dorsal por um largo espaço castanho claro que toma a aparência duma banda longitudinal mais ou menos distinta. Face superior e cantos da cabeça dum castanho oliváceo e uniforme, à exceção das labiais superiores e inferiores que são amareladas ou castanho clarinho. Face externa dos membros da cor do dorso manchado de negro. Regiões inferiores esbranquiçadas ou amareladas sem manchas.

Boulenger (1887) atribui o nome de *Mabuia stangeri* e descreve-a da seguinte forma:

“Snout short, obtuse. Lower eyelid with na undivided transparent disk. Nostril just above or behind the vertical of the suture between the rostral and the first labia; a postnasal; anterior loreal usually slightly in contact with the first labial; supranasals in contact behind the rostral; frontonasal broader than long; praefronrals forming a median suture; frontal as long as or a little shorter than the frontoparietals and interparietal together, in contact with the second and third, or first, second and third supraoculars; four supraoculars, second largest and usually touching the praefrontal; five or six supraciliares; frontoparietals distinct, larger than the interparietal; parietals forming a suture behind the latter shield; a pair of nuchals; fifth and sixth (or sixth and seventh) upper labials below the eye, the former not or but slightly larger than the latter. Ear-opening oval, about as large as eye opening, the anterior border simple or with a few slightly projecting granules. Nuchal and dorsal scales distinctly tricarinate; 42 to 46 scales round the middle of the body subequal. The limbs overlap when adpressed. Subdigital lamellae smooth. Tail about once and one third the length of the head and body. Olive-brown above, with small darker and lighter spots; a more or less distinct lighter dorso-lateral band; a black, white-edged spot in the axilla; lower surfaces yellowish white, throat sometimes brown spotted.”

As discrepâncias encontradas por Pinheiro (1990) deverão estar relacionadas ou com verdadeiras diferenças entre populações ou com o reduzido tamanho das amostras, ou pelo simples facto de ignorar, no caso do comprimento do corpo, os fenómenos de alometria.

Considerando algumas espécies reconhecidas como subespécies Pinheiro (1990) apresenta um quadro significativo das diferenças e semelhanças morfológicas entre *Mabuya stangeri* e *Mabuya fogoensis* (Tabela 15).

***Mabuya spinalis* BOULENGER, 1906**

Apresenta 36 a 38 escamas em torno do corpo (Angel, 1935; Bertin, 1946). Angel (1935) refere ainda a existência de dorsais carenadas, uma só labial (5ª ou 6ª) sob o olho; 4 a 5 supraciliares; uma linha branca dorso-lateral do olho à base da cauda.

***Mabuya maculilabris* (GRAY, 1845)**

Hoogmoed (1974) apresenta a seguinte descrição de *Mabuya maculilabris*:

Diagnose: Lagarto de tamanho médio, robusto, com membros bem desenvolvidos e cauda moderadamente longa. Um par de nucais presentes, supranasais separadas na maioria dos espécimes, as pré-frontais formam uma pequena sutura na maioria dos espécimes. Duas escamas entre a quarta supraocular e a supratemporal anterior. Dorsais com 5 a 7 carenas nos adultos. Número de lamelas debaixo do quarto dedo posterior varia entre 16 e 20 (maioria 17-19). Debaixo do quarto dedo anterior 12-17 lamelas (maioria com 14 a 16). Castanho claro por cima com ou sem pontos pretos. Linha dorsolateral formada por manchas brancas desde as supraciliares até à zona entre a inserção dos membros posteriores e anteriores. Flancos castanho-escuro. Linha branca desde a segunda loreal, debaixo do olho e da abertura auditiva, até à inserção do membro anterior, no flanco. Subocular com áreas pretas ou castanho escuro ao longo dos seus bordos dorsal e ventral; supralabiais anteriores até à subocular com áreas pretas ou castanho escuro ao longo das suas margens superiores. Uma orla branca ao longo da pálpebra superior; pálpebra inferior apenas com áreas brancas perto dos cantos do olho e a área central é cinzento claro a escuro. Ventre branco, mas os adultos podem ter pequenas manchas castanhas irregularmente dispostas na garganta (região gular).

Características	Localidade e taxa
1- Mais de 50 fiadas de escamas; uma banda dorsolateral uniforme pouco contrastada	<i>Mabuya fogoensis, sensu lato.</i> Santo Antão e São Nicolau; citada também para São Vicente e Fogo
1.1. Exemplares fortemente melânicos; Região gular, periferia da região abdominal e face inferior dos membros com marmoreações cinzentas	<i>Mabuya fogoensis</i> Santo Antão
2. Menos de 50 fiadas de escamas; canto posterior do olho prolongado para trás e para cima	<i>Mabuya stangeri</i> São Nicolau, Santiago, Maio e Ilhéu Raso; citadas para todas as ilhas do arquipélago excepto Santo Antão, Brava e São Nicolau
2.1. Mais de 40 fiadas de escamas; uma banda dorsolateral clara; coloração dorsal predominantemente castanho escuro	<i>Mabuya stangeri stangeri</i> São Nicolau e Ilhéu Raso; citada para São Vicente e Ilhéu Raso
2.2. Menos de 40 fiadas de escamas; duas bandas claras, uma dorsolateral outra no flanco	<i>Mabuya stangeri maiensis</i> Maio
2.3. Menos de 40 fiadas de escamas; três bandas claras de cada lado do corpo; coloração predominantemente castanho claro.	<i>Mabuya stangeri spinalis ?</i> Santiago; Citada para a ilha do Fogo

Tabela 15. Sinopse do grupo *Mabuya fogoensis/Mabuya stangeri sensu* Pinheiro (1990)

Descrição: cabeça curta e larga, correspondendo a cerca de 23 a 25 % da distância entre a ponta do focinho e a cloaca (SVL) nos machos, a 19 a 25% nas fêmeas e 23 a 28 % nos juvenis; distintamente deprimida e 1,9 a 2,3 vezes mais longa do que alta nos adultos, 1,9 a 2,7 nos juvenis; 1,4 a 1,7 mais longa do que larga. Rostral pentagonal, claramente visível de cima e duas vezes mais larga do que alta. Um par de supranasais alongadas e estreitas formando uma pequena sutura em 8 espécimes; em dois espécimes encontram-se num ponto, e em 20 espécimes estão completamente separadas. Frontonasal grande, romboidal ou hexagonal, tão larga como comprida até mais de 1,5 mais larga do que comprida. Um par de pré-frontais rectangulares (quando não formando sutura) ou pentagonais (quando formando sutura) formando na maioria uma sutura (em 30 indivíduos, 21 possuíam-na). Frontal alongada, romboidal, tão longa ou mais pequena do que a distância entre ela e a ponta do focinho, 1,5 mais comprida do que larga, em contacto com a primeira, segunda e a terceira supraocular, ou apenas com a segunda e a terceira. Um par de frontoparietais irregularmente pentagonais formando uma sutura longa mediana. Interparietal romboidal, desde tão comprida como larga até 1,5 vezes mais longa do que larga. Parietais com formas irregulares, mais largas do que compridas na maioria dos espécimes, formando uma sutura por trás da interparietal. Um par de nucais compridas e transversais, desde duas vezes mais largas do que compridas a 2,5 vezes mais largas do que compridas; bordo posterior com 12 a 15 carenas

indistintas. Quatro supraoculares, a primeira é a mais pequena e a segunda a maior. As supraciliares são 4 a 7 (maioria 5) em contacto directo com as supraoculares. Lateralmente, as parietais estão bordejadas por quatro escamas, das quais as duas anteriores, as suprapostoculares, são pequenas e semelhantes e as duas posteriores, as supratemporais, são maiores, sendo a última maior. Poucas temporais e grandes, uma bastante grande anteriormente, temporais posteriores mais pequenas e semelhantes, em cinco fiadas verticais entre as postoculares e a abertura auditiva. Abertura auditiva grande, verticalmente oval; bordo anterior com 2 a 5 (maioria 3 a 4) lóbulos assimétricos pontiagudos, bordo posterior liso; *meatus* auditivo externo moderadamente longo. Tímpano bem visível.

Todas as escamas da cabeça são lisas, excepto as temporais posteriores que são ligeiramente carenadas.

Gulares e ventrais lisas, cicloides, imbricadas, em fiadas longitudinais e oblíquas transversais. Ventrais ligeiramente maiores do que as gulares. Colar ausente. 53 a 64 escamas entre o primeiro par das placas mentais (placas do queixo) e as pré-anais. Escamas da nuca e as dorsais excepto, às vezes, algumas perto das nucais podem ser irregularmente maiores. Escamas no lado do pescoço da mesma forma do que aquelas da nuca, mas mais pequenas. Escamas na nuca e no lado do pescoço em séries oblíquas e longitudinais. Escamas dorsais e laterais idênticas, imbricadas, hexagonais, mais largas do que compridas, em séries longitudinais e obliquamente transversas; não existe uma fronteira definida entre ventrais e laterais. O número de carenas varia entre as escamas: nos juvenis (26-40 mm de SVL) 3 carenas; nos subadultos e alguns adultos (46-76 mm) 5 carenas; na maioria dos adultos (64 – 88 mm) 7 carenas. Número total de fiadas de escamas em torno do corpo, ao nível médio é de 32 a 38; maioria dos espécimes com 51 a 62 fiadas transversais de escamas entre as nucais e a base da cauda. Placa pré-anal coberta por escamas semelhantes às ventrais, excepto a camada de escamas bordejando anteriormente a cloaca que consiste em maiores escamas. Escamas da cauda e do corpo imbricadas, na superfície dorsal. Debaixo da cauda uma fiada alargada de escamas desde imediatamente atrás da cloaca até à ponta. Escamas na metade superior da superfície lateral como as dorsais são carenadas; na metade inferior são lisas como as ventrais. Escamas nas porções regeneradas da cauda são lisas. As fiadas de escamas vertebrais e subcaudais estão transversalmente alargadas (duas linhas laterais em cada lado). Cauda redonda em corte transversal, perto da ponta torna-se comprimida. Escamas nos membros são cicloides (partes ventrais) a romboidais (partes dorsais), imbricadas, ligeiramente mais pequenas do que as dorsais ou ventrais, em séries longitudinais e obliquamente transversas; lisas na maioria das superfícies dos membros anteriores, e a superfície ventral dos membros posteriores, com três carenas na superfície dorsal dos membros posteriores e das restantes superfícies dos membros posteriores. 12 a 17 lamelas únicas lisas debaixo do quarto dedo; 16 a 20 sob o quarto dedo do membro posterior. Plantas dos membros com escamas justapostas, irregularmente dispostas, arredondadas e planas. Dedos comprimidos (Hoogmoed, 1974).

Cor em vivo: Dorso castanho com ou sem pontos castanho escuros. Flancos castanho-escuro. Nos juvenis existe uma banda dorsolateral alargada e evidente com pontos ou manchas brancas. Nos adultos esta banda é menos clara apesar da existência de pontos brancos. Banda lateral branca desde o lábio superior até à virilha nos juvenis, até logo atrás a inserção dos membros anteriores nos adultos. Uma faixa amarela circunda a abertura auditiva. Pescoço amarelo, ventre amarelo pálido (Hoogmoed, 1974).

Cor nos animais preservados: Dorso castanho-bronze com pontos castanho escuros formando séries longitudinais distintas ou indistintas. Quando distintas formam duas listas longitudinais em cada lado da coluna vertebral. Até à cauda os pontos das duas linhas, no mesmo lado, podem-se fundir. As linhas continuam na

cauda. Uma lista dorsolateral larga mais clara do que a cor do dorso é bem aparente essencialmente nos juvenis e nos subadultos, e vai desde o canto posterior do olho e continua pela cauda. Nesta banda uma série de pontos brancos estão presentes, começando na primeira supralabial ou mesmo na frontonasal e finalizando mesmo antes da inserção dos membros posteriores. Cada uma das 4 supralabiais anteriores com uma mancha ou ponto branco, uma zona castanha ao longo da margem dorsal, uma zona cinzento clara ou pálido ao longo da margem ventral e parte da margem anterior. Uma lista lateral branca com 1,5 a 2 escamas de largura desde a loreal até à virilha (juvenis) ou até a qualquer zona nos flancos (adultos), passando por baixo do olho e da abertura auditiva e por cima da inserção do membro anterior. A metade superior das duas escamas entre a loreal e a subocular preta a castanho escura e com a metade inferior branca. Quinta supralabial (ou subocular) com uma orla dorsal preta ou castanho escura e uma castanho claro ventralmente, ficando uma faixa branca na parte central. Parte superior das supralabiais posteriores preto a castanho escuro e parte inferior branca. Nos juvenis esta banda lateral branca continua nos flancos até às virilhas e é bordejada ventralmente por uma linha castanho escura. Nos adultos esta linha desaparece bem como a banda lateral branca. Na maioria dos espécimes a banda clara é distinta mesmo atrás da inserção dos membros anteriores. Nos adultos maiores encontra-se interrompida formando uma série de manchas brancas. Superfície superior dos membros da mesma cor do dorso, com pontos ou manchas brancas e pretas. Partes ventrais branco escuro a amarelo pálido. Uma orla branca distinta na pálpebra superior, pálpebra inferior apenas com áreas brancas perto dos cantos (Hoogmoed, 1974).

Lagarto de médias dimensões, robusto, com pernas bem desenvolvidas. Comprimento do corpo máximo medido por Hoogmoed (1974): 88 mm para o macho e 83 mm para a fêmea. Juvenis recém-eclodidos com 23 a 26 mm. Quando os membros são dispostos ao longo do corpo há uma considerável sobreposição entre o membro anterior e o membro posterior, a ponta do quarto dedo chega ao espaço entre o cotovelo e o punho. A cauda não danificada é 1,9 vezes maior do que a distância entre a ponta do focinho e a cloaca nos adultos e é 1,5 a 1,7 vezes nos juvenis.

Habitat: restrita a áreas florestais ou a áreas que até recentemente foram florestadas. No Gana, os animais colhidos por Hoogmoed (1974) foram encontrados junto às habitações e nos jardins. Só um indivíduo foi colhido numa zona mais ou menos natural. Parece assim que aparecem muito perto das habitações, como também foi notado na Nigéria (Dunger, 1972) nos Camarões e Costa do Marfim (Hoogmoed, 1974). Em São Tomé e Príncipe também foram encontrados essencialmente junto às habitações. Este facto poderá conduzir-nos a um argumento prévio ou uma pressuposição de que talvez esta espécie tenha sido introduzida nestas ilhas.

O número de carenas por escama aumenta com a idade, os juvenis apenas possuem três. Quando crescem e tornam-se mais velhos mais duas carenas aparecem lateralmente e muitas vezes ainda mais duas são “adicionadas” (total: 7).

É um lagarto diurno (Hoogmoed, 1974).

Mabuya maculilabris deve ser entendida como um complexo de espécies onde também se deve incluir a espécie gémea *M. comorensis* com apenas 1,6% de divergência no gene 16S rRNA do DNA mitocondrial (Mausfeld *et al.*, 2000). Este valor de variação genética nos escincídeos corresponde ao valor entre duas subespécies (Mausfeld & Schmitz, 2003). Esta espécie aparece mais uma vez no mesmo grupo numa análise de “maximum likelihood” no trabalho de Mausfeld & Schmitz (2003). Em *M. maculilabris* foram encontradas divergências de 7 % no DNA mitocondrial (12S rRNA e 16S rRNA) entre populações (Mausfeld & Schmitz, 2003).

Há ainda a salientar que *Mabuya comorensis* já foi considerada uma subespécie de *M. maculilabris* (Brygoo, 1981).

***Mabuya affinis* (GRAY, 1838)**

Diagnose apresentada por Hoogmoed (1974) para *M. affinis* do Gana:

- Lagarto de tamanho médio com uma cauda moderadamente longa. Um par de nucais presente. Supranasais podem estar separadas ($\pm 40\%$) ou em contacto. As pré-frontais podem estar separadas ($\pm 84\%$) ou em contacto. Entre a quarta supraocular e a supratemporal anterior existem duas escamas. O número de lamelas sob o quarto dedo do pé varia entre 16 e 21. Sob o quarto dedo da mão existem 12 a 16 lamelas, maioria dos indivíduos com 15 a 16. Acastanhado por cima, muitas vezes com quatro fiadas longitudinais de pontos pretos, dispostas em dois pares. Flancos castanho escuro a negro, ventralmente com ou sem lista branca distinta desde o lábio superior à virilha. A região ventral é branca e apresenta frequentemente pontos pretos no pescoço, e quando presentes estes são muito pequenos.

Caracterizam-se por possuir 28 escamas em torno do corpo, cinco supraciliares e escamas nucais distintamente carenadas (Boulenger, 1887).

Descrição apresentada por Hoogmoed (1974) para *M. affinis* do Gana:

- Cabeça pequena e larga, representando 22 a 24 % do SVL nos machos e 20 a 24% nas fêmeas e 23 a 28% nos juvenis; 1,8 a 2,3 vezes mais longa do que alta nos machos; 1,8 a 2,1 nas fêmeas; 1,9 a 2,4 nos juvenis; 1,4 a 1,7 vezes mais longa do que larga nos adultos, 1,5 a 1,8 nos juvenis. Rostral pentagonal, claramente visível de cima, 1,5-2 vezes mais larga do que alta. Um par de supranasais pequenas, alongadas e rectangulares, que em 49 (42%) dos espécimes estão separadas, estando em contacto ou formando uma pequena sutura mediana em 67 (57%) exemplares. Frontonasal grande, irregularmente hexagonal e aproximadamente 1,5 vezes mais larga que comprida. Préfrontais trapezoides ou rectangulares; separadas em 100 (85%) exemplares, em contacto ou formando uma pequena sutura mediana em 16 (14%), com uma pequena escama adicional entre elas em dois exemplares. Frontal alongada, romboidal, maior do que a distância entre esta e a ponta do focinho e 1,5 a 2 vezes mais comprida do que larga; está em contacto amplo com a segunda supraocular, mas suturas estreitas com a primeira e a terceira supraoculares podem ou não estar presentes. Um par de fronto-parietais, irregularmente pentagonais, formando uma longa sutura mediana. Interparietal romboidal, aproximadamente 1,5 vezes mais comprida do que larga. Parietais com formas irregulares, mais largas que compridas; em 84 espécimes examinados, 57% apresentavam uma pequena sutura atrás da interparietal e em 24% não se tocavam. Um par de nucais transversalmente alongadas, 3 a 4 vezes mais largas que compridas, bordo posterior carenado (mais de 14 carenas pouco distintas). Quatro supraoculares, a primeira mais pequena, a segunda a maior. 4 a 8 supraciliares, maioria com 6 ou 7, em contacto directo com as supraoculares. Duas pequenas escamas que poderão ser designadas por suprapostoculares, entre a quarta supraocular e a supratemporal anterior. Duas supratemporais sendo a posterior maior. Poucas temporais e grandes, sendo a anterior a maior e em quatro a cinco fiadas verticais entre as postoculares e a abertura auricular. Abertura auricular grande, verticalmente oval, margem anterior com duas a cinco, maioria 3 lóbulos pequenos arredondados, margem posterior lisa; *meatus* externo auditivo moderadamente longo. Tímpano visível. Todas as escamas da cabeça, excepto as temporais posteriores are fracamente carenadas. Gulares e ventrais lisas, ciclóides, imbricadas, em fiadas longitudinais e oblíquas transversalmente. Ventrais maiores do que as gulares. Colar ausente. 45 a 61 escamas numa linha média entre a escama mental e as pré-anais. Escamas na nuca são hexagonais, mais largas do

que compridas, imbricadas, com 3, 4 ou 5 (raramente até 7) carenas. Escamas no lado do pescoço ciclóides, mais pequenas que as dorsais e imbricadas com três carenas. Escamas na nuca e no lado do pescoço em fiadas longitudinais e transversalmente oblíquas. Escamas dorsais e laterais idênticas, imbricadas, maioria com 3 carenas (regularmente com 5 ou mesmo 7), hexagonais, ligeiramente mais largas do que compridas e em séries longitudinais e oblíquas. 45 a 54 fiadas transversais de escamas entre as nucais e a base da cauda. Não existe uma fronteira nítida entre as escamas laterais e as ventrais. 28 a 32 escamas em torno do corpo ao nível médio, maioria com 30 a 32. Placa préanal coberta por escamas idênticas às ventrais, excepto as 4 escamas medianas bordejando a fenda cloacal anteriormente, que são ligeiramente maiores.

Escamas nas superfícies dorsal e laterais da cauda são como as dorsais; excepto no número de carenas por escama. Posteriormente, o número de carenas aumenta até ao máximo de 7, apesar de perto da ponta da cauda as escamas serem lisas. Debaixo da cauda uma fiada de escamas imbricadas, hexagonais, lisas e transversalmente alargadas. A parte regenerada da cauda é coberta por escamas lisas: uma fiada vertebral com escamas transversalmente alargadas, uma fiada de subcaudais transversalmente alargadas, e uma fiada de laterais em cada lado. Cauda arredondada, mas perto da ponta é lateralmente comprimida. Escamas nos membros ciclóides, imbricadas, menores que as dorsais, em fiadas longitudinais e obliquamente transversas; lisas nos membros anteriores, e nas superfícies ventral e posterior dos membros posteriores. 12 a 16 lamelas subdigitais lisas e únicas sobre o quarto dedo do membro anterior, frequentemente 16 a 22 lamelas subdigitais lisas e únicas sobre o quarto dedo do membro posterior. Os quartos dedos têm um perfil ligeiramente serrado. Palmas dos membros cobertas por pequenas escamas justapostas, ligeiramente tuberculares a aplanadas e não formando linhas longitudinais. Os dedos são comprimidos (Hoogmoed, 1974).

Coloração: Dorso castanho com pontuações castanho-escuras, muitas vezes organizadas em dois pares de linhas longitudinais. Cabeça e pescoço podem ser castanho-avermelhados. Os flancos são castanho escuros e possuem uma lista bem definida, branca, creme ou amarela desde o lábio superior às virilhas. Em poucos indivíduos esta lista está ausente. Lados da cabeça frequentemente alaranjados nos machos e raramente assim nas fêmeas; esta cor estende-se pelos lados da garganta ou região gular. Garganta esbranquiçada. Ventre branco nas fêmeas, amarelo e laranja pálido nos machos. Superfície ventral da cauda cinzenta nas fêmeas, amarelo ou laranja nos machos. Íris castanho-dourada (Hoogmoed, 1974).

Coloração dos animais preservados: dois tipos devem ser distinguidos. Num existe uma lista branca distinta na parte inferior dos flancos, noutra esta lista não existe. A maioria dos espécimes pertencem ao primeiro tipo. Não há diferenças entre sexos no que concerne à presença ou ausência de lista. O dorso é castanho com ponteados castanho-escuro restrito à parte lateral de algumas escamas dorsais. Às vezes, estes ponteados formam quatro linhas longitudinais, organizadas em dois pares. Banda castanho-escuro lateral bem definida desde imediatamente antes do olho, através do olho, sobre a abertura auditiva até às virilhas. Esta banda lateral também pode consistir em escamas que têm maioritariamente a mesma cor do que o dorso, com zonas castanho-escuras ao longo das suas margens. Dorsalmente, esta banda pode estar bordejada por uma lista clara indistinta ou por uma série de pontos brancos. Ventralmente, a banda lateral é orlada por uma lista branca com uma escama de largura e ocupando as metades das duas fiadas de escamas que fazem fronteira com a lista. Esta lista branca começa no lábio superior, por baixo do olho, passa através da abertura auditiva, sobre a inserção dos membros anteriores e termina nas virilhas; quer dorsalmente quer ventralmente é bordejada por uma lista preta estreita com meia escama de largura. Supralabiais anteriores acinzentadas a castanho claras; as posteriores com

um sarapintado bem definido de cinzento e castanho. Infralabiais podem não ter ou possuir pontos pretos perto das margens posteriores e anteriores. Pálpebras orladas com uma faixa branca. Ventre branco ou creme. Garganta branca, ocasionalmente com um número pequeno de pontos pretos que podem ou não estar organizados em fiadas longitudinais. Superfície superior dos membros da mesma cor do dorso, algumas vezes com pontos castanho-escuros e brancos (Hoogmoed, 1974).

O segundo tipo deverá estar de acordo, na generalidade, com o primeiro tipo, excepto que aqui quer a banda lateral castanho-escura quer a banda lateral clara estão ausentes. Os flancos são da mesma cor do que o dorso, tornando-se cinzento-acastanhado para o ventre e gradualmente transitando para a cor do ventre. No lado da cabeça e do pescoço uma indicação da banda lateral castanho-escura permanece ainda presente, algumas vezes, como uma pequena banda longitudinal, outras vezes sob a forma de poucas escamas castanho escuras. Entre os dois tipos extremos existem formas intermediárias (Hoogmoed, 1974).

Lagarto de tamanho médio com patas normalmente desenvolvidas. Comprimento entre a ponta do focinho e a cloaca (SVL) máximo nas formas do Gana: 76 mm para as fêmeas (81 numa fêmea dos Camarões), e 76 mm para os machos do Gana. Juvenis recém eclodidos com 29 e 30mm. Quando os membros são colocados ao longo do corpo, a ponta do quarto dedo chega perto do cotovelo. A cauda não danificada é 1,7 a 2,0 vezes maior do que o SVL nas fêmeas; 2,0 a 2,2 vezes maior nos machos e 1,8 a 2,2 maior nos juvenis (Hoogmoed, 1974).

Habitata: habita a savana, florestas e jardins. Na savana, Hoogmoed (1974) encontrou-a sempre junto à água onde também se concentram os arbustos e as árvores; o segundo tipo (ver parágrafos anteriores) foi encontrada essencialmente junto à água. Os animais do outro tipo foram encontrados perto de estruturas artificiais como paredes. Os animais podem ser encontrados nas árvores até 2 m acima do chão da floresta e no chão da floresta sobre as folhas caídas.

Activa durante o dia, mas a termorregulação é efectuada essencialmente à tarde.

Cerca de 130 anos antes, Hallowell (1844) designava a espécie por *Euprepis blandinji* e a descrevia da seguinte forma:

-Cabeça de tamanho moderado, triangular, estreita e achatada por cima. O focinho é mais ou menos prolongado e arredondado à frente. As placas na superfície dorsal da cabeça e dos lados são lisas; a placa rostral é grande, pentagonal, apresentando um ângulo obtuso na sua parte superior; placas nasais de tamanho moderado, triangulares e arredondadas posteriormente; as supranasais são estreitas, oblongas, em contacto uma com a outra; a placa internasal é grande, apresentando a forma de losango com os ângulos laterais truncados, o ângulo posterior é agudo, o anterior é obtuso e está em contacto na parte anterior com duas supranasais; o seu ângulo anterior não chegando tão longe como a rostral; frontonasais de tamanho moderado, sub-pentagonais e margens lateral e inferior em contacto com a margem superior de duas placas frenais; a placa freno-nasal é pequena e triangular; a primeira das placas frenais é oblonga-quadrilátera; a segunda, maior, é pentagonal; a placa frontal é pentagonal, mais larga na parte anterior, arredondada posteriormente; as frontoparietais são oblongas, pentagonais, as suas margens anterior e as posteriores em contacto com a frontal são as mais pequenas; estão em contacto lateralmente com duas supraorbitais e posteriormente com a parietal e a interparietal; as parietais são grandes e pentagonais; a interparietal é maior do que as fronto-parietais e termina posteriormente num ponto obtuso; quatro placas supraorbitais e duas freno-orbitais. A margem exterior das supraorbitais é bordejada por uma fiada de sete pequenas placas quadrangulares e oblongas; imediatamente atrás delas está uma pequena placa

romboidal; a parte superior entre a supraorbital superior e a placa parietal; não há occipital, mas imediatamente atrás das parietais existem duas escamas oblongas, maiores do que as posteriores, apresentando numerosas estrias, ou linhas elevadas nas suas margens posteriores. Sete placas labiais, sendo a quinta a mais evidente e é quadrilátera, oblonga e a maior de todas, formando metade da margem inferior da órbita; a segunda, terceira e quarta são romboidais; a primeira é irregularmente quadrilátera; a sexta e a sétima são pentagonais; a abertura auditiva é de tamanho moderado; a sua margem inferior está bordejada por numerosos pequenos grânulos e há duas ou três pequenas escamas à frente. As escamas na parte superior do corpo são hexagonais mais ou menos arredondadas posteriormente; aquelas no dorso, nos flancos e cauda apresentam três carenas bem distintas e pode-se ainda observar uma pequena carena em cada extremidade da escama. Existem oito escamas à frente da cloaca de tamanho semelhante.

Coloração (Hallowell, 1844): A cabeça, o dorso e a parte superior da cauda apresentam uma cor bronze com numerosos pontos negros; estes pontos são mais abundantes e algo maiores na parte superior da cauda. Existe uma linha de pontos brancos que se estende ao longo dos lados do pescoço e do corpo até à extremidade da cauda. Uma banda larga preta percorre os flancos do corpo até aos membros posteriores e tornando-se indistinta na cauda, e outra imediatamente atrás da órbita. Imediatamente abaixo há uma linha estreita branca começando perto da extremidade anterior da órbita e terminando numa linha definida pela extremidade inferior do membro anterior quando posicionado para trás junto ao corpo. Ventralmente, no queixo, garganta, abdómen e extremidades, a coloração é cinzento-prateada e ligeiramente esverdeada. Um número pequeno de pequenos pontos pretos conglomerados e observados até ao queixo.

Hallowell (1857) refere que o exemplar da Libéria tem uma lista branca que se estende lateralmente até metade do corpo, mas é mais extensa no outro lado e em todos os exemplares do Gabão. Existem duas linhas brancas em cada lado, a inferior começando à frente do olho e terminando na extremidade posterior; a superior começando na zona occipital e chegando à base da cauda; a inferior é a mais larga. Quatro linhas pretas estreitas ao longo do dorso, duas em cada lado, que se estendem até à base da cauda onde assumem mais a forma de pontos. A fiada de pontos brancos que passa ao longo do pescoço e do corpo até à extremidade da cauda, mencionada na descrição anterior, é idêntica à linha lateral superior sobre uma superfície imaculada. O autor não considera a interparietal maior do que as fronto-parietais; no exemplar da Libéria é maior. Em todas as formas do Gabão as frontonasais estão separadas; no exemplar da Libéria estão quase em contacto.

Hallowell (1857) descreve outra espécie, a *Euprepes frenatus*, muito semelhante a *Euprepes blandingii* segundo o autor. Baseia-se num exemplar colhido na Libéria e que o autor refere que talvez seja uma variedade de *blandingii*. *Euprepes frenatus* caracteriza-se por possuir frontonasais em contacto, frenais distintas pelo seu grande desenvolvimento, especialmente a segunda; escamas do dorso mais largas do que em *blandingii*; Cor olivácea no dorso, com pontos pretos e sem linhas brancas dorsais distintas. Abdómen esverdeado com tons amarelados, sem pontos e o verde é mais marcado nos lados. 33 fiadas de escamas, tricarenadas no dorso e nos flancos. Cerca de 13,7 cm de comprimento total; Da extremidade do focinho à extremidade anterior cerca de 2,54 cm; entre as extremidades anteriores e posteriores cerca de 3,5 cm; cerca de 7,6 cm de comprimento da cauda (regenerada): da extremidade anterior à extremidade do maior dedo cerca de 2,5 cm; da extremidade posterior à extremidade do maior dedo cerca de 2,8 cm.

As medidas gerais apresentadas por Hallowell (1844) constam da Tabela 16. As descrições de Hallowell (1844) basearam-se em exemplares capturados na Libéria.

Dimensões	Centímetros
Comprimento da Cabeça	1,8
Comprimento do Corpo	4,8
Comprimento da cauda	8,6
Comprimento das extremidades anteriores	2,3
Comprimento das extremidades posteriores	2,5

Tabela 16. Algumas medidas biométricas de *Mabuya affinis* (adaptado de Hallowell, 1844)

***Mabuya ozorii* BOCAGE, 1893**

De acordo com a descrição original (Bocage, 1893b), apresenta focinho alongado e arredondado na extremidade. Um disco transparente na pálpebra inferior. Narina situada por cima da primeira labial. Uma placa freno-nasal; frenal anterior larga em contacto com a primeira e a segunda labiais; supranasais separadas pela extremidade da internasal que é tão longa como comprida; pré-frontais largamente em contacto pelos seus bordos externos; frontal com um comprimento semelhante às fronto-parietais e parietais reunidas e tocando pelo seu bordo externo na segunda e terceira supraocular. Quatro supraoculares, sendo a segunda a maior; seis supraciliares, a última é pequena; fronto-parietais distintas; as parietais em contacto atrás da interparietal; um par de nucais; uma grande subocular, não estreita em baixo, localizada entre a quinta e a sexta labiais. Abertura auricular oval, possuindo no seu bordo anterior 3 a 4 pequenos lóbulos arredondados. Escamas dorsais tricarenadas, dispostas em 34 fiadas longitudinais em torno do meio do tronco. Membros regulares; lamelas subdigitais lisas. A cauda é longa com quase duas vezes o comprimento da cabeça + tronco, ciclo-quadrangular na base, arredondada no resto. Dorsalmente, castanho-oliváceo com os bordos das escamas negras e alguns pequenos pontos claros disseminados; partes ventrais esbranquiçadas amareladas ou azuladas, mudando para cinzento nos flancos. Comprimento total, 240 mm; comprimento da cabeça, 18 mm; largura da cabeça, 11 mm; comprimento do tronco, 70 mm; comprimento da cauda, 152 mm.

Segundo Bocage (1893a,b; 1903), embora possua tamanho e coloração semelhante a *M. maculilabris*, distingue-se facilmente da espécie de São Tomé pelos caracteres seguintes: escamas dorsais tricarenadas em vez de pentacarenadas, placa infraocular situada entre a 5ª e a 6ª labiais, em vez de se encontrar entre a 4ª e a 5ª; as placas supra-nasais estão separadas pela extremidade da inter-nasal e as pré-frontais extensamente em contacto pelas suas margens internas.

Família Lacertidae

Apresenta hábitos diurnos e são insectívoros, embora algumas espécies possam ser omnívoras (ex: *Lacerta dugesii* :ver Sadek, 1981) ou herbívoras.

Caracterizam-se por possuir uma cabeça bem diferenciada, com focinho estreito. Nasais em pares. Maxila contactando fronto-dorsalmente e separando as nasais das pré-frontais, frontais em pares ou fundidas no adulto (Arnold, 1989). Osso parietal único. Processos supratemporais do tamanho da parietal podendo expandir-se ainda mais posteriormente. Fontanela pineal presente na maioria dos casos. Sutura fronto-parietal mostrando alguma interdigitação. Ossos postfrontal e postorbital separados ou fundidos, o postfrontal cobre a fossa supratemporal; presença do osso supratemporal; presença do lacrimal; borda inferior da órbita com o jugal que pode possuir um processo quadratojugal; vomers pares; abertura posterior do canal vidiano na sutura basisfenóide-prótica; osteodermes do crânio presentes e fundidos com os ossos do crânio quando em contacto

com eles. Geralmente com ossificações nas pálpebras (14 ossículos em cada olho). No crânio, os arcos ósseos temporal e postorbital estão presentes. A abertura temporal é reduzida. Os premaxilares encontram-se fundidos e sobre eles temos dentes do tipo pleurodonte, geralmente bicúspides ou ocasionalmente com mais cúspides em muitas espécies. Dentes também presentes nas maxilas, mandíbula inferior e pterigoides (Arnold, 1989; Barbadillo, 1987). Todos os elementos mandibulares estão presentes e fossa de Meckel está aberta; coronoide sobrepondo ligeiramente o dentário na zona labial. Exteriormente, a cabeça está coberta dorsalmente por grandes placas simétricas com osteodermes associados. Apresentam boa visão e audição (aberturas timpânicas bem visíveis). Colar em alguns géneros (Arnold, 1989; Schleich *et al.*, 1996).

Pescoço e tronco relativamente alongados. Membros pentadáctilos e caudas desenvolvidas (Barbadillo, 1987; Schleich *et al.*, 1996).

Dorso coberto dorsal e lateralmente por escamas pequenas sem osteodermes associados. Estas podem ser imbricadas ou justapostas (Schleich *et al.*, 1996). Ventralmente as escamas são maiores e aplanadas, podendo estar imbricadas (Arnold, 1989; Barbadillo, 1987). 22 a 33 vértebras présacrais, com as fêmeas a possuírem geralmente maior número do que os machos. Frequentemente três pares de costelas nucais pequenas e dois grandes. Tipicamente três pares de costelas ligadas ao externo. Geralmente a última vértebra pré-sacral não possui costelas. Geralmente a clavícula está estendida medianamente e perforada para formar um “loop” contínuo ou posteriormente interrompido; interclavícula cruciforme; *esternum* com fontanela na maioria dos casos, frequentemente 0, 1 ou 2 pares de costelas associadas. Vértebras caudais autotómicas proximais com um ou dois pares de processos transversais, se dois, então o par posterior deve ser curto e paralelo ao anterior, ou comprido e divergindo posteriormente (Arnold, 1989). Com poros femurais sendo muito mais desenvolvidos nos machos (Arnold, 1989; Barbadillo, 1987). A cauda desenvolvida e cilíndrica apresenta a capacidade de autotomia e está recoberta por anéis de escamas e na maioria das espécies é maior do que a distância entre a ponta do focinho e a cloaca (Arnold, 1989; Barbadillo, 1987; Schleich *et al.*, 1996).

Geralmente ovíparas, se bem que se possam encontrar formas ovovivíparas (ex *Lacerta vivípara*) e algumas formas partenogenéticas (Barbadillo, 1987).

Género *Lacerta* LINNAEUS 1758

Placas dorsais da cabeça com um arranjo típico. Narina geralmente em contacto com uma supralabial, bordejada posteriormente por 1, 2 ou raramente 3 postnasais. Pálpebra inferior geralmente escamosa, podendo ter uma pequena janela transparente. Anteriormente as parietais não se estendem às margens exteriores do osso postorbital. Primeira supratemporal por vezes grande; placa massetéica muitas vezes presente. As escamas dorsais são pequenas a médias. Colar bem marcado. Escamas ventrais lisas, truncadas, mais ou menos imbricadas ou não e dispostas em 6 a 10 fiadas longitudinais. Dedos cilíndricos ou comprimidos, frequentemente com tubérculos ou lamelas por baixo, algumas vezes fortemente imbricados. Cauda geralmente longa com capacidade autotómica (Anderson, 1999; Arnold, 1973). As escamas ou placas cefálicas dorsais têm geralmente osteodermes associados ao contrário das restantes escamas do corpo.

O crânio possui uma forma variável; o foramen parietal está presente; existe um par de ossos frontais ao longo da vida; ossos postorbitais e postfrontais separados nos jovens mas nalgumas espécies fundem-se ao longo da vida. A clavícula está fortemente expandida medianamente; interclavícula cruciforme com os braços laterais não fortemente dirigidos para a frente, foramen emarginado ou não; fontanella esternal quase sempre

presente e quase sempre oval. Variação sexual no número de vértebras présacrais, todas estas vértebras com costelas, excepto as três primeiras cervicais. Costelas divididas em duas séries, uma anterior com costelas longas e outra posterior com curtas; padrão de vértebras caudais A ou B (raramente C) *sensu* Arnold (1973). Hemipénis simetricamente bilobado, armadura tipicamente ausente, lobos não complexamente dobrados, micro-ornamentação variável, parte apical dos lobos frequentemente curta com pequenos sulcos labiais e inexistência de grandes papilas cónicas nas extremidades dos lobos (Anderson, 1999).

Muitas espécies apresentam grande variabilidade populacional, principalmente na cor e padrão. Existe também um dimorfismo sexual nestas características morfológicas na maioria das espécies (Arnold, 1973).

***Lacerta* parte II (*sensu* Arnold, 1973)**

Características distinguíveis: Maioria com comprimento inferior a 90 mm (do focinho à cloaca); adultos com ventres claros pelo menos nos machos em época de reprodução (Arnold, 1973).

Características do esqueleto (ver Arnold, 1973): Crânio variável, deprimido ou delicado nalgumas espécies e muito robusto noutras. Lamelas supraoculares muitas vezes fenestradas. Geralmente sem ossificação temporal; ossos postorbitais e postfrontais geralmente não fundidos. Dentes pterigoides ausentes excepto em certas espécies como *Lacerta dugesii*. Número de vértebras présacrais mostram variação relacionada com sexo (25 e 28 nos machos; 26 e 29 nas fêmeas). Clavícula expandida medianamente e existente na condição emarginada e intacta; interclavícula cruciforme com braços laterais poucas vezes fortemente direccionados para a frente ou para trás (fortemente para trás em *L. dugesii*); fontanela esternal frequentemente oval. Vértebras caudais não autotómicas em número de 5 ou 6, raramente 4 ou 7. Vértebras da cauda com padrão B, raramente A (*sensu* Arnold, 1973).

Hemipénis (ver Arnold, 1973): simetricamente bilobado, na maioria dos casos sem armadura óbvia e os lobos não enrolados em repouso. Geralmente lobos sem grandes papilas apicais, os sulcos labiais geralmente pequenos ou muito pequenos. Micro-ornamentação variável em que a maioria tem tubérculos em forma de coroa e com espinhos simples recurvados (*L. dugesii* possui na ponta destes espinhos espínulas microscópicas).

Características exteriores (ver Arnold, 1973): Pequenos a grandes lacertídeos de 35 mm (em *L. andreanszkyi*) a 165 mm (em *L. jayakari*) de SVL, maioria entre 50 e 90 mm. Narina geralmente em contacto com a primeira supralabial, bordejada posteriormente por uma ou duas postnasais (duas em *L. dugesii*). Pálpebra fracamente escamosa e opaca, com janela transparente. Parte anterior do bordo lateral da parietal muitas vezes emarginado indo da região mediana à extremidade do osso postorbital (ao longo da margem postorbital em *L. dugesii*); supratemporais bastante desenvolvidas na maioria (em *L. dugesii* supratemporais são difíceis de distinguir das temporais); placa massetéica geralmente distinguível excepto em várias espécies como *L. dugesii*. Escamas dorsais geralmente pequenas, lisas ou ligeiramente rugosas, ou com quilhas ou carenas pouco desenvolvidas. Colar bem desenvolvido em serrilha ou liso. Escamas ventrais lisas e truncadas em que o grau de imbricação varia com o habitat; frequentemente com 6 fiadas longitudinais ventrais; placa pré-anal geralmente desenvolvida. Dedos variando no grau de compressão, frequentemente com tubérculos na face inferior. Presença de poros femurais (7 a 31 em cada lado). Cauda geralmente longa.

Coloração (ver Arnold, 1973): Dimorfismo sexual no padrão dorsal geralmente inexistente nos adultos (as excepções incluem *L. dugesii*); padrão muito variável mas na maioria falta as listas laterais estreitas, claras e

bem definidas, encontradas em *Podarvis* e *Gallotia*. O padrão é muito variável sendo difícil definir um para o grupo.

***Lacerta dugesii* MILNE-EDWARDS, 1829**

Atinge grandes densidades principalmente junto aos muros de pedra dos terrenos agrícolas, nas lixeiras clandestinas, junto às casas e em locais com comida e soalheiros, e a altitudes relativamente baixas (Cook, 1983; Dellinger, 1997, Jesus & Sampaio, 1994), e possui como principais predadores os ratos, gatos, francelhos e mantas (Cook, 1983; Cook & Yalden, 1980; Jesus *et al.*, 2001a; Sadek, 1981). É omnívora, oportunista, antropófila e generalista (Dellinger, 1997; Sadek, 1981), ocupando uma grande variedade de habitats desde os 0 m aos 1861 m na sua área de distribuição original. Estes habitats apresentam diferentes características nomeadamente ao nível da exposição ao Sol, da natureza do substratos, etc. (Jesus & Sampaio, 1994).

Segundo Báez & Brown (1997), o tamanho do corpo parece ser maior em altas altitudes e menor nas baixas. Observações nossas não são concordantes com esta regra. Encontramos animais menores no Pico do Areeiro (1800 metros) do que em muitos outros locais da costa e de média altitude.

É uma lagartixa de tamanho médio. As maiores podem ultrapassar os 18 cm de comprimento (desde a placa rostral à extremidade da cauda). Possui dimorfismo sexual nas dimensões corporais. Os machos adultos são maiores, têm cabeças relativamente mais largas, caudas e membros posteriores relativamente maiores do que as fêmeas com a mesma idade (Cook, 1979 e Sadek, 1981, informação não publicada). Cook (1979) fez um estudo da morfologia geral da espécie nos Arquipélagos da Madeira e Selvagens e verificou que o tamanho relativo da perna variava significativamente de local para local na Madeira e havia uma diminuição na variância desta proporção com o aumento do tamanho (Tabela 17). Não foram encontradas diferenças gerais entre os vários grupos de ilhas. Quanto ao número de escamas, variavam significativamente com os grupos de ilhas com a forma das Ilhas Desertas geralmente mais escamosa (ver Tabela 19) e a das Ilhas Selvagens menos escamosa.

	MACHOS			FÊMEAS		
	CCP	TRP (%)	TRC (%)	CCP	TRP (%)	TRC (%)
Madeira	60.5	21.5	174.0	52.0	20.2	169.8
Desertas	60.5	21.5	171.9	52.8	20.6	169.5
P. Santo	59.3	21.2	175.4	53.2	19.7	168.8
Selvagens	58.1	21.3	179.5	53.1	19.6	150.7

Tabela 17. Valores médios do comprimento do corpo (CCP); razão entre comprimento do membro posterior e o comprimento do corpo (TRP); razão entre comprimento da cauda e comprimento do corpo (TRC) (Cook, 1979)

Sadek (1981) obteve também resultados semelhantes (Tabela 18). Assim a forma das Selvagens é mais pequena e possui uma cauda relativamente maior.

Na espécie em geral, Sadek (1981) considerou como adultas as fêmeas com mais de 50 mm de tamanho corporal (não incluindo a cauda), os machos adultos com mais de 62 mm, os machos subadultos com 50 a 62 mm, e os juvenis com menos de 50 mm. Cook (1979) considerou os adultos com mais de dois anos de idade e os animais com menos de 45 mm eram tidos como jovens com menos de um ano de idade. Entre 45 e 60 mm encontravam-se os juvenis e adultos jovens com idade compreendida entre 1 e 2 anos. A informação que temos vindo a obter, ao longo dos anos, permite referir que não é fácil estabelecer a separação entre adultos e subadultos/juvenis, ou uma relação entre idade de maturação e comprimento do corpo.

	MACHOS			FÊMEAS		
	Média	D. padrão	N	Média	D. padrão	N
Madeira	59.53	7.21	663	52.17	5.85	306
Desertas	59.47	7.81	126	52.13	5.10	46
P. Santo	58.79	5.77	209	53.60	4.94	173
Selvagens	57.93	7.23	57	52.59	3.94	32
Total	59.29	7.03	1055	52.64	5.35	557

Tabela 18. Comprimento do corpo de lagartixas das várias ilhas dos Arquipélagos da Madeira e Selvagens (Adaptado de Sadek, 1981)

MACHOS	N	DORS	VENT	COLL	CHIN	DIFE	ESFE	4°DED
Madeira	1113	62.0±6.5	26.1±3.8	13.1±7.6	30.4±8.8	19.8±8.4	19.8±8.4	29.9±5.6
Desertas	149	64.4±6.4	26.0±3.8	13.0±9.4	31.1±8.6	19.8±7.4	19.9±7.4	29.1±5.5
P. Santo	218	61.8±5.7	25.8±3.4	12.6±8.2	29.4±8.5	18.8±7.9	18.8±7.9	29.7±5.5
Selvagens	75	58.9±5.1	25.8±4.4	13.0±8.0	27.8±5.9	18.1±8.1	17.8±8.8	28.4±4.6

FÊMEAS	N	DORS	VENT	COLL	CHIN	DIFE	ESFE	4°DED
Madeira	546	59.9±6.2	27.5±4.0	12.6±8.2	29.9±9.1	19.0±8.2	19.7±7.7	29.9±5.9
Desertas	50	64.5±7.0	27.0±4.1	12.4±8.0	31.6±10.	18.6±8.0	18.7±6.9	29.1±6.1
P. Santo	176	60.6±5.4	27.3±4.0	12.4±7.7	29.3±8.1	18.1±6.7	17.9±6.5	29.4±5.1
Selvagens	51	59.2±5.2	26.6±3.8	12.7±9.3	28.4±5.0	17.2±6.7	17.1±6.5	28.8±4.3

Tabela 19. Caracteres folidóticos das principais formas de Lagartixa da Madeira. Número de escamas dorsais numa fiada transversal na posição da 10ª linha de escamas ventrais (DORS), número de escamas ventrais numa fiada longitudinal central (VENT), número de placas do colar (COLL), número de escamas do queixo ao colar numa fiada longitudinal (CHIN), número de poros femurais na pata direita (DIFE), número de poros femurais na pata esquerda (ESFE) e número de lamelas na parte inferior do 4º dedo da perna esquerda (4°DED) (Adaptado de Cook, 1979).

Em termos de padrão de coloração dorsal, ele pode ser uniforme ou repartido por listas longitudinais (vertebral, dorsolateral ou ventro-lateral) mais claras (mais frequente nas fêmeas, subadultos e juvenis) ou com fiadas de manchas escuras. Pode estar sarapintado por pintas de cor creme amarelo, verde etc.. A cor de fundo vai desde o castanho claro ao negro (na forma das Desertas). O padrão ventral pode ser uniforme ou estar sarapintado de manchas de várias cores. A coloração ventral de fundo vai desde o creme, verde amarelado, azul, castanho alaranjado, até ao negro (forma das Desertas) (Báez, 1990; Crisp *et al.*, 1979). Não esquecer que também podem ser encontrados indivíduos melânicos fora das Desertas (Báez, 1990; Crisp *et al.*, 1979; observação pessoal). Crisp *et al.* (1979) afirmam que a cor dorsal está dependente da cor de fundo onde vivem, tendo assim um valor críptico contra os predadores. A nossa experiência diz-nos que em determinados locais como na Serra de Fora – Porto Santo, lagartixas negras sobre fundos amarelos claros junto ao mar indicam que a termorregulação poderá ser a melhor explicação.

Muita discussão tem ocorrido em torno da sua designação genérica, desde *Lacerta*, *Podarcis*, até *Teira*. Após Arnold (1973), Richter (1986) considera *L. dugesii* e *L. perspicillata* como *taxa* irmãos de *Podarcis s. str.* Considerou as duas unidades como subgéneros, respectivamente *Teira* e *Podarcis* e colocou-as dentro do género *Podarcis*. Arnold (1989) volta a sugerir a sua retirada do género *Podarcis*, por este ser muito uniforme e as espécies em causa possuírem muitas características diferentes. Sugere ainda a consideração de *Lacerta sensu lato* como sendo um grupo parafilético, possuindo vários tipos que têm sido usados, entre os quais *Teira* Gary 1845, onde se inclui *L. dugesii*.

Lacerta dugesii, *L. andreanskyi* e *L. perspicillata* são colocadas por alguns autores num género à parte, ou seja no género *Teira* GRAY 1838, (Böhme & Corti, 1993; Richter, 1979). Esta linhagem terá se separado das restantes “*Lacertas*” há cerca de 18 milhões de anos (Mayer & Lutz, 1989). Contudo Böhme & Corti, (1993) afirmam não haver base para suportar estas relações filogenéticas hierárquicas.

De acordo com a maior revisão feita ao género *Lacerta* spp. com base em caracteres essencialmente morfológicos, esqueléticos, genitais, etc. (Arnold, 1973) e trabalhos mais recentes baseados em sequências de DNA (Harris *et al.*, 1998b), assim como revisões feitas à família (Arnold, 1989), optamos por designar este *taxon* por *Lacerta dugesii*.

Segundo Arnold (1973) existem várias características que permitem excluir a espécie do género *Podarvis* como a interclavícula com braços laterais direccionados para trás, a fontanela esternal oval, o padrão vertebral da cauda do tipo A ou B (*sensu* Arnold, 1973), o hemipénis com pequenas secções apicais e pequenos sulcos labiais, geralmente com duas postnasais, sem placa massetéica ou supratemporais bem definidas, muitas vezes, padrão dorsal incluindo listas supraciliares que se tornam mais fracas para a região posterior (como *L. caucasica*), podendo ter padrão reticulado ou estriado (como certas *L. perspicillata*) e hemipénis ornamentado com espinhos recurvados e com minutas espínulas na ponta dos espinhos.

De acordo com estudos anteriores, utilizando sequências do 12S, citocromo b e 16S (Harris *et al.*, 1998b; Harris & Arnold 1999), a espécie mais próxima de *Lacerta dugesii* é *Lacerta perspicillata* que se distribui por certas zonas do Norte ou Noroeste Africano, sendo consideradas espécies irmãs e encontrando-se entre o género *Podarvis* (subgénero *Podarvis* antes de Arnold, 1973) e o género *Lacerta* propriamente dito, possuindo assim uma relação de proximidade com *Podarvis* (Harris & Arnold, 1999; Odierna *et al.*, 1987). Mais próximo de *Podarvis* está *L. andreanskyi*. A taxonomia do género *Podarvis* é complicada, principalmente devido às semelhanças entre as espécies (Harris & Arnold, 1999). *Lacerta dugesii* e *L. perspicillata* assemelham-se na estrutura peculiar da interclavícula, no número de postnasais (2), nos padrões dorsais (Arnold, 1973), na inexistência de placa massetéica diferenciada, na existência de grandes escamas na pálpebra, braços da interclavícula dirigidos para trás e na fontanela esternal oval (Arnold, 1989). *L. andreanskyi* que apenas existe em Marrocos (Schleich *et al.*, 1996) e *L. dugesii* têm ambas 6 fiadas longitudinais de escamas ventrais. Estas três espécies são incluídas no grupo das espécies do sudoeste (Arnold, 1973). Curioso é a semelhança nos hábitos e padrões dorsais com *L. danfordi*. Isto é estranho em termos zoogeográficos, visto que esta espécie se distribui pelo Sudoeste Asiático e Europa Ocidental (Arnold, 1973). Mertens (1934) considera *L. dugesii* como uma forma modificada de *Lacerta muralis bocagei* (actualmente *Podarvis bocagei*?) do Norte de África.

Do ponto de vista cariológico, a espécie possui um número de cromossomas igual a $2n=38$, sendo 2 macrocromossomas com dois braços e 36 macrocromossomas com um braço. A localização do NOR, maioritariamente em posição telomérica, é do tipo L a exemplo dos *Lacerta* e não de acordo com o tipo M como em *Podarvis* (Odierna *et al.*, 1987). L e M refere-se ao tamanho do cromossoma com o NOR (M- médio, L- grande). No entanto *L. dugesii* aproxima-se de *Podarvis* por partilhar a presença dum *Taq1* satellite DNA (Olmo *et al.*, 1993). As fêmeas da maioria dos lacertídeos (*L. dugesii* não deverá fugir à regra) são heterogaméticas (tipo ZW) (Olmo *et al.*, 1993). O tamanho do genoma em *L. dugesii* é de 4,9 picogramas/núcleo (Olmo, 1986)

Anexo II:

Caracterização de alguns taxa encontrados nas expedições.

(Caracterização de alguns *taxa* encontrados nas nossas expedições, ou dados para as ilhas visitadas e que não foram alvo de estudos moleculares mais aprofundados, apesar de sequenciados, por várias razões entre as quais a falta de “outgroups”, ou a pequenez das amostras).

Informação sobre sinonímias, subespécies e *terra typica* retirada da “EMBL Reptile database”.

Família Gekkonidae

Hemidactylus longicephalus

Sinonímia: *Hemidactylus longicephalus* BOCAGE, 1873; *Hemidactylus longiceps* O'SHAUGHNESSY, 1873 (nomen nudum); *Hemidactylus bocagii* BOULENGER, 1885: 125 (nom. nov. pro *H. longiceps*); *Hemidactylus mabouia* var. *molleri* BEDRIAGA, 1892; *Hemidactylus beequi* BOULENGER, 1901 (fide LOVERIDGE, 1947); *Hemidactylus steindachneri* TORNIER, 1902 (fide LOVERIDGE, 1947); *Hemidactylus beequi* BOCAGE, 1903; *Hemidactylus longicephalus* SCHMIDT, 1919; *Hemidactylus longicephalus* LOVERIDGE, 1947; *Hemidactylus longicephalus* KLUGE, 1993; *Hemidactylus longicephalus* RÖSLER, 2000

Subespécies: Não há referências

Terra typica: Capangombe e Catumbella (Angola).

A espécie distribui-se por Angola, Congo (Zaire), Tanzânia?, Camarões e São Tomé.

Bedriaga 1882 *in* Bocage (1892) considerou a forma de São Tomé como uma variedade distinta de *H. mabouia*, a “*Moller?*”. Para tal baseou-se no número reduzido (6) de poros pré-anais e na ausência de poros femurais. Provavelmente Bedriaga estaria a considerar um *H. longicephalus*.

Género *Lygodactylus* GRAY, 1864

As cerca de 4 a 5 dezenas de espécies constituintes deste género são caracterizadas pelo seu pequeno tamanho e hábitos diurnos. É um género que se distribui pela África sub-sahariana e por Madagáscar. Cerca de 17 espécies estão restritas a Madagáscar (Glaw & Vences, 1994). Do ponto de vista morfológico, além do pequeno tamanho, as pupilas arredondadas (típico das osgas com hábitos diurnos) são características importantes. Muitos aspectos da biologia das espécies permanecem desconhecidos (Glaw & Vences, 1994). Parece no entanto que são espécies insectívoras.

A identificação é muito difícil pois baseia-se em caracteres folidóticos, com muitas excepções, ou variações entre as espécies (Glaw & Vences, 1994).

O género foi dividido em 3 linhagens. Uma quarta linhagem consiste no género *Millotisaurus* (Pasteur, 1965).

***Lygodactylus thomensis* (PETERS, 1881)**

Sinonímia: *Scalabotes thomensis* PETERS, 1881; *Lygodactylus thomensis* BOULENGER, 1885; *Lygodactylus rolasi* (GREEF, 1885); *Lygodactylus thomensis* KLUGE, 1993; *Lygodactylus (Lygodactylus) thomensis* RÖSLER, 2000

Subespécies: *Lygodactylus thomensis thomensis* PETERS, 1881; *Lygodactylus thomensis delicatus* PASTEUR, 1962; *Lygodactylus thomensis wermuthi* PASTEUR, 1962

Terra typica: São Tomé (São Tomé e Príncipe)

Distribui-se pelas ilhas de São Tomé, Príncipe, Rolas e Annobon. A sua presença é questionável nos Camarões¹. Segundo Bocage (1904-1905) esta espécie nunca mais tinha sido encontrada em São Tomé, apenas nas Rolas. No entanto, esta constatação parece ter apenas valor histórico.

¹ <http://www.embl-heidelberg.de/~uetz/LivingReptiles.html>

Pouco se sabe sobre esta espécie. Pelas nossas observações, possui hábitos diurnos e é frequentemente observada em ramos das árvores durante os seus períodos de actividade. Em Madagáscar, *L. bterurns* e *L. miops*, apresenta o mesmo tipo de comportamento (Henkel & Schmidt, 2000).

Família Scincidae

***Mabuya geishardti* (JAGER, 1993)**

Sinónimia: *Mabuya geishardti* JAGER, 1993; *Chioninia geishardti* MAUSFELD *et al.*, 2002.

Subespécies: Não há referências

Considerada por Carranza *et al.* (2001) como conspécifica de *M. fogoensis*. Pouco se conhece sobre este *taxa*. Será real?

Género *Panaspis* COPE, 1869

As espécies deste género fazem parte dum grupo extremamente difícil em termos de delimitação e caracterização taxonómica (Greer, 1974) e por isso não nos alongaremos muito.

Os Lygosominae da África Ocidental foram durante muito tempo colocados no género *Lygosoma*. Contudo este género encontra-se actualmente restrito às formas do Sul da Ásia e Austrália (Perret, 1973). Na revisão do género *Lygosoma*, Smith (1937), colocou já dentro do subgénero *Panaspis* as espécies da África Ocidental, como a *breviceps*, *togoense*, *kitsoni*, *cabindae*, *reichenowi* e *africana*, mas ele manteve-as no género *Riopa* reconhecido actualmente como género distinto. Mittleman (1952) faz outra revisão, considerando 33 géneros. O género *Panaspis* é reconhecido, se bem que algumas espécies são colocadas no género *Leiolopisma*.

Os trabalhos de Fuhn (1970 e 1972) mostraram que o género *Panaspis* é caracterizado pela sua osteologia craniana pelos ramos palatinos dos pterigoides com processos recurvados em bico e separados por um processo basal dos palatinos alongado e pontiagudo. O autor reconhece 7 espécies de *Ablepharus* mais 10 descritas em diferentes géneros de *Lygosoma* (*sensu lato*), dos quais faz parte a *africana*. Perret (1973) afirma ter registado a partir da literatura 18 espécies para o género.

Numa lista enviada pelo Doutor Schmitz do Museu da Suíça, verifica-se que os nomes atribuídos não pertencem ao mesmo género. Parece que muitas das espécies deste grupo continuam até com problemas de atribuição do nome genérico.

Na África ocidental, Perret (1973) distinguiu três grupos que parecem indicar três tendências evolutivas. A primeira é caracterizada por animais com *habitus mabuiforme*, um número elevado de escamas em torno do corpo, a presença de supranasais e com 7 supralabiais, estando a 5ª debaixo do olho; neste grupo estão incluídas as espécies *breviceps*, *kitsoni*, *nimbaensis* e *africana*. A *africana* é a espécie mais divergente do grupo, pois não possui todos os caracteres seleccionados. Todavia, pelo *habitus*, estrutura das “mãos” e dos “pés” e o tipo de padrão, estas quatro espécies estão próximas e formam um grupo distinto. O segundo grupo caracteriza-se por *habitus lacertiforme*, o corpo “elegante”, os membros bem desenvolvidos, sobrepondo-se largamente quando estão rebatidos sobre o corpo, os dedos e membros são muito longos e finos com um número máximo de lamelas subdigitais, uma longa cauda afiada, que pode ultrapassar o dobro do comprimento do corpo, e não é espessa na base. Deste grupo fazem parte as espécies *robdei* e *reichenowi*. O outro grupo caracteriza-se por *habitus sepsinoide* caracterizado por um alongamento do corpo, membros curtos e robustos que não se sobrepõem quando rebatidos, a cauda é musculada

e espessa na base (o seu comprimento é moderado ou muito comprido consoante as espécies) Neste grupo enquadram-se as espécies *vigintiserierum*, *gemmiventris*, *pauliani* e *amieri*, que são consideradas próximas, possuindo um caractere sexual secundário comum, i.e. as escamas latero-caudais proximais carenadas no macho, um corpo robusto de secção ovalada ou subcircular. Neste grupo também se incluem mais duas espécies, a *lepesmei* e *fulni*; estas são mais deprimidas dorsoventalmente que as quatro anteriores e o tipo de padrão afasta-se das quatro espécies precedentes; até 1973 apenas se conheciam indivíduos fêmeas, não se podendo testar o caractere sexual secundário referido anteriormente.

A região do Golfo da Guiné e Camarões Ocidental parece como um centro de especiação devido ao número de espécies e a existência de endemismos (Perret, 1973).

Este género é complicado na medida em que espécies atribuídas a este género são às vezes atribuídas a outros géneros como *Leptosiaphos*. Andreas Schmitz enviou-nos amostras em que apenas uma tinha a designação genérica de *Panaspis*. De resto, por exemplo *P. vigintiserierum* vinha com a designação genérica de *Leptosiaphos*.

Num trabalho recente Schmitz *et al.* (2005) realizaram uma abordagem molecular ao grupo que designaram por *Panaspis* (*sensu lato*). Segundo os autores o género *Panaspis* tem sido ao longo do tempo alvo de várias mudanças taxonómicas, essencialmente baseadas em estudos morfológicos. Aplicando vários métodos de análise filogenética (MP, ML, Análise Baiesiana) a sequências do 12S rRNA e 16S rRNA, os autores encontraram elevados níveis de variação genética em subgéneros pré-estabelecidos. E, assim sugerem que quatro subgéneros sejam reconhecidos como géneros, e dentro destes encontraram evidência para a formação de alguns subgéneros. Segundo este trabalho a *Panaspis africana* passa a ter um nome genérico diferente, ou seja *Afroablepharus*, e tendo como espécie mais próxima a *A. walbergi*. Quando foi criado o género *Afroablepharus* era distinto de *Panaspis*, sendo a *P. africana* incluída no género *Panaspis* (Greer, 1974)

***Panaspis africana* (GRAY, 1845)**

Sinonímia: *Mocoo africana* GRAY, (1845); *Lygosoma africanum* BOULENGER, 1887; *Lygosoma africanum* BOCAGE, (1903); *Lygosoma africanum* BOCAGE, (1904-1905); *Riopa (Panaspis) africana* SMITH, 1937; *Leiolopisma africana* MITTLEMAN, 1952; *Panaspis africana* PERRET, 1973; *Leptosiaphus africana* HAFT, 1993; *Afroablepharus africanus* SCHMITZ *et al.*, 2005.

Subespécies: *Panaspis africana annobonensis* FUHN, (1972)

Terra typica : São Tomé, Rolas, Príncipe e Annobon (Perret, 1973).

Distribui-se pelas ilhas do Príncipe, São Tomé, Rolas (segundo o “EMBL Reptile database” – <http://www.embl-heidelberg.de/~uetz/LivingReptiles.html>) e por Annobon (Perret, 1973). Em São Tomé são conhecidas há cerca de 100 anos (Bocage, 1904-1905). A forma de Annobon foi considerada por Fuhn (1972) como uma subespécie distinta. Perret (1973) considerou no entanto o mesmo *taxon* como *Panaspis annobonensis*. Dados da nossa equipa não publicados parecem suportar 3 e não dois *taxa* distintos (estatuto ?), em São Tomé, Príncipe e Annobon (provavelmente cada um a ocupar uma ilha)

Esta espécie é pouco conhecida na sua área de distribuição, mas parece apresentar hábitos fossoriais, estando associada à manta morta das florestas densas de baixa e média altitude, aparecendo também na manta morta das margens dessas florestas.

A sistemática não é clara. Há quem considere as duas subespécies como duas espécies (<http://www.embl-heidelberg.de/~uetz/LivingReptiles.html>) estando *P. annobonensis* restricta a Annobon e a outra, *Panaspis africana*,

restricta a ao Príncipe, Rolas e São Tomé. Dados recentes, obtidos pela nossa equipa, e oriundos de sequências de DNA mitocondrial (12S, 16S, citocromo b e de DNA nuclear (*c-mos*) (dados não publicados) parecem sugerir a existência de três espécies e não de duas nas ilhas do Golfo da Guiné consideradas na presente dissertação.

Já em 1903 Bocage afirmava ser uma espécie comum em Annobon.

A diagnose apresentada por Perret (1973) é a seguinte:

- Espécie de tamanho modesto, 35 a 47 mm do focinho ao ânus, com cauda moderadamente longa (45 a 56 mm), fina e um pouco comprimida lateralmente na extremidade. Membros bem desenvolvidos, separados mesmo que eles estejam rebatidos (fêmeas) ou sobrepõem-se ligeiramente (Machos). Membro anterior com cerca de 8 a 9 mm de comprimento; membro posterior com cerca de 10 a 12 mm de comprimento. *Habitus mabuiforme*. 24 a 26 fiadas de escamas em torno do corpo contadas na zona mediana do corpo; 7 supralabiais em que a 5ª está debaixo do olho; sem supranasais; 2 nucais largas e razoavelmente mais elevadas que as escamas dorsais alargadas que lhes seguem. Quarto dedo do membro anterior com 8 a 11 lamelas; quarto dedo do membro posterior com 11 a 14 lamelas. Dorso e flancos do corpo castanho arruivado com pequenos pontos ou manchas castanho-escuras alinhadas formando raios longitudinais paralelos, o limite dorso-lateral marcado por um ou dois destes raios espessos bordejam uma lista clara de pequenas manchas brancas alinhadas e espaçadas.

É uma espécie mabuiforme (cauda delgada e pequena, dedos curtos) que se assemelha a *Panaspis kaitsonii* na coloração. Distingue-se das outras espécies mabuiformes pelo número reduzido de escamas em torno do corpo e ausência de supranasais. Característica particular e distintiva da coloração, é a cabeça estar inteiramente e finamente manchada de castanho escuro à excepção das supraoculares centrais que apresentam-se « invadidas » por sombras. As duas linhas escuras paralelas médio-dorsais são mais visíveis do que as outras. Os lábios, a garganta e a parte inferior da cauda estão manchadas de castanho escuro num exemplar fêmea. As outras fêmeas e machos são claros inferiormente. Sobre o material examinado (2 juvenis, 3 fêmeas e 2 machos) Perret (1973) afirma que não consegue distinguir um dimorfismo nem um dicromatismo sexual marcado. Todavia a cauda da fêmea que é mais reduzida na base, parece ser relativamente mais comprida do que a do macho.

Apesar de descrita há mais de um século é uma espécie pouco conhecida e rara nas colecções de museus (Perret, 1973). Fuhn (1972) descreveu uma subespécie para Annobon. Esta apresenta 10 a 12 lamelas subdigitais no 4º dedo do membro anterior e 16 a 18 no 4º dedo do membro posterior.

Género *Feylinia* Gray, 1845

Greer & Shea (2000) considera os indivíduos deste género como possuindo um padrão de escamas semelhante aos outros não-Lygosomíneos (Subfamília: Lygosominae), designado por “chalcidine head scale pattern”. Assim, a frontal expande-se posteriormente ao longo de pelo menos parte da sua fronteira comum com as supraoculares e ao longo desta distância está sobreposta pelas supraoculares. Este padrão parece ser um padrão derivado nos escincídeos. Há três variações ao padrão básico, um em que a frontal parece um cálice (B), noutro um sino (D) e noutro um diamante (F). O sentido da polaridade do caractere deverá ser este anunciado, i.e. o mais novo é o padrão com a frontal em forma de diamante.

Segundo Whiting (2004), o grupo Feylininae (colocada assim à parte) forma um grupo aninhado com o grupo monofilético de Scincinae do Sul de África.

***Feylinia polylepis* (Bocage, 1887)**

Sinonímia: *Feylinia polylepis* BOCAGE, 1887; *Feylinia polylepis* WELCH, 1982

Terra typica: Príncipe

Distribui-se pela Ilha do Príncipe¹.

Família Colubridae

“COLUBER. Scuta abdominalia. Squamae subcaudales” Linnaeus, 1758

É uma família bastante numerosa com cerca de 2500 espécies vivas (Barbadillo, 1987; Stafford & Meyer, 2000), contendo cerca de 70 % das cobras e serpentes (Lee, 2000). Zaher (2000) refere a existência de 1800 espécies. É a família de cobras mais numerosa e diversa (Glaw & Vences, 1994). É uma família que pode ser encontrada em todos os continentes excepto a Antártida. Encontram-se espécies desde o Círculo Polar Ártico até ao Cabo da Boa Esperança. Habita também numerosas ilhas (Lee, 2000; Stafford & Meyer, 2000). Contudo é uma família que apresenta aspectos ecológicos e anatómicos diversos (Lee, 2000). Parece que muitos fenómenos de radiação adaptativa aconteceram nesta família, dando origem a uma grande variedade de formas (Stafford & Meyer, 2000). Podem ser terrestres, arborícolas, aquáticas ou raramente escavadoras (Barbadillo, 1987).

A exemplo das famílias scincidae e lacertidae, possuem a cabeça coberta por grandes placas bem definidas e com disposição típica (Barbadillo, 1987, Stafford & Meyer, 2000). São geralmente diurnas, possuindo olhos bem desenvolvidos com pupilas redondas, ovais ou elípticas (Barbadillo, 1987). O corpo é geralmente longo e fino (Chippaux, 2001). A cauda é geralmente fina. A cabeça distinta arredondada apresenta elementos com grande flexibilidade na parte anterior ao contrário do resto do crânio. Assim a premaxila torna-se independente da maxila. A maxila junto com o dentário e muitas vezes com os pterigoides e palatinos suportam numerosos dentes pontiagudos e dirigidos para trás. O pré-maxilar não possui dentes. O maxilar é geralmente longo e pode possuir vários diastemas. Na região posterior do crânio, o supratemporal tem muita mobilidade e o cuadrado pode bascular até uma posição mais posterior para permitir uma maior abertura da boca (Barbadillo, 1987). A maioria das cobras são aglíficas, isto é, não possuem dentes especializados na inoculação de veneno (Barbadillo, 1987; Chippaux, 2001). As que possuem dentes especializados para a inoculação de veneno são opistoglíficas, i.e., têm-nos em posição posterior (Chippaux, 2001; Stafford & Meyer, 2000). O olho é sempre visível, mesmo quando é pequeno (Chippaux, 2001). Dorsal e ventralmente possuem escamas. Na região dorsal do corpo estas escamas têm um contorno romboidal e podem ter cristas e encontram-se várias fiadas. Na região ventral apenas existe uma fiada de escamas ao longo do corpo, e possuem um contorno mais ou menos rectangular (Barbadillo, 1987; Chippaux, 2001). As escamas subcaudais podem estar muitas vezes divididas em pares (Stafford & Meyer, 2000). Não possuem membros nem qualquer vestígio de cintura escapular ou pélvica. (Barbadillo, 1987, Chippaux, 2001).

Poucas espécies possuem a capacidade de autotomia (Stafford & Meyer, 2000). São maioritariamente ovíparas, havendo, no entanto algumas espécies ovovivíparas. (Barbadillo, 1987)

Por fim, as tentativas de classificação dos colubrídeos estão longe de serem satisfatórias, em parte devido a se basearem em caracteres morfológicos e osteológicos sujeitos a fenómenos adaptativos e à grande diversidade

¹ <http://www.embl-heidelberg.de/~uetz/LivingReptiles.html>

existente (Chippaux, 2001). Segundo Nagy *et al.* (2003), os colubrídeos constituem um grupo com muitas espécies mas com filogenia pouco clara. As subfamílias têm sido alvo de debate. É provável a família seja um grupo parafilético (Kelly *et al.*, 2003).

Originários da Ásia, os colubrídeos deram provavelmente origem a outros grupos de serpentes como os elapídeos e os viperídeos (Chippaux, 2001).

Género *Phylothamnus* SMITH, 1847

De acordo com a descrição apresentada por Chippaux (2001), o género é caracterizado pelo seguinte:

- A cabeça é fina e distinta do pescoço. O pescoço está bem marcado. O focinho é alongado. Os olhos possuem dimensões médias a grandes, com pupilas redondas. O corpo é longo e cilíndrico, com escamas de tamanho médio. A cauda é longa e fina. Maxilar com 17 a 48 dentes de tamanho similar. Não há diastema. Os hemipénis são unilobados e o sulco espermático é simples. Os espinhos basais são bastante desenvolvidos e por cima temos 3 ou 4 coroas substituídas progressivamente por alvéolos reticulados. A parte apical está coberta de papilas (Bogert, 1940). Rostral saliente e pouco visível por cima. A nasal está dividida. Existem 2 internasais e 2 pré-frontais. A loreal está presente. 1 ou 2 pré-oculares, mas sem subocular. Frontal mais longa que larga e está separada do olho por uma supraocular. 2 ou 3 post-oculares. 1 a 2 temporais anteriores, 1 a 2 medianas e 1 a 3 temporais posteriores. 7 a 10 supralabiais, 2 -3 em contacto com o olho. 2 pares de mentonianas. O sulco mentoniano é nitidamente marcado. Cerca de 8 a 11 infralabiais. Escamas dorsais lisas sem fosseta apical, somente sobre a parte anterior do corpo nalgumas espécies e dispostas sobre 13 a 15 linhas longitudinais. A linha vertebral não é distinta das outras. As escamas ventrais são carenadas. A anal é inteira ou dividida. As subcaudais são duplas e às vezes carenadas. Algumas espécies com dimorfismo sexual evidente ao nível do número de ventrais e do número de subcaudais. Género com 19 espécies. (Chippaux, 2001).

***Phylothamnus girardi* BOCAGE, 1893**

Sinonímia: *Philothamnus girardi* BOCAGE, 1893; *Philothamnus girardi* BOULENGER, 1894; *Philothamnus girardi* GÜNTHER, 1895; *Philothamnus girardi* TRAPE & ROUX-ESTÈVE, 1995.

Subespécies: não há referências

Terra typical: Annobon

Esta espécie distribui-se pela ilha de Annobon. Poderá ocorrer no Congo (?) (Trape & Roux-Estève 1995), mas com muitas reservas.

Esta espécie distingue-se facilmente das suas congéneres, nomeadamente *P. thomensis* pela maior robustez e ser mais esguia e pelo número de fiadas de escamas dorsais, 13 em vez de 15 (Bocage, 1893b; 1903). Distingue-se ainda de *P. thomensis* pelo focinho mais longo e mais estreito, pela forma da placa frenal e pela disposição diferente das suas temporais (Bocage 1893b)

De acordo com a descrição original (Bocage (1893b) :

Corpo esguio. Cabeça bem distinta do corpo, aplanada por cima; focinho alongado, estreito, ligeiramente truncado na ponta. Cauda longa e afilada, medindo mais ou menos um terço do comprimento total. Rostral larga e elevada sobre o focinho; internasais mais curtas do que as pré-frontais; frontal longa, estreita nos dois terços posteriores com bordos laterais ligeiramente côncavos e terminando em forma pontiaguda. As parietais

robustas e grandes têm bordos posteriores direitos. Duas nasais. Uma frenal muito estreita e alongada, uma pré-ocular e duas post-oculares; temporais 1+1+1, excepcionalmente 1+1/1+1. 9 supralabiais, com as 4ª, 5ª e 6ª tocando o olho; as seis primeiras infralabiais em contacto com os dois pares de sub-mentais, que são estreitas e longas, sobretudo as do segundo par. Escamas dorsais em 13 fiadas longitudinais a meio do tronco e cerca de 11 na parte posterior. Escamas ventrais distintamente carenados; as corporais variam entre 189 e 194, as caudais entre 145 e 153 pares; anal dividida. Por cima são geralmente verde oliváceas com os bordos das escamas negros que se reúnem em bandas transversais mais marcadas na parte anterior do tronco; nalguns indivíduos pode-se encontrar pequenas manchas brancas mais ou menos aparentes. Por baixo são geralmente esbranquiçadas amareladas com uma linha negra de cada lado sobre as carenas das placas abdominais. Por baixo da cauda é esverdeado. Comprimento total, 780 mm; comprimento da cabeça, 17 mm; Largura da cabeça, 9 mm; Comprimento da cauda, 280 mm.

***Phylothamnus thomensis* BOCAGE, 1882**

Sinónímia: *Phylothamnus thomensis* BOCAGE, 1882; *Phylothamnus thomensis* BOULENGER, 1894; *Phylothamnus thomensis* GÜNTHER, 1895.

Subespécies: não há referências.

Terra typica. São Tomé

É uma cobra diurna que se alimenta essencialmente de rãs e outros répteis¹. Distribui-se por São Tomé onde é conhecida pelas pessoas como Cobra Soá-Soá. É referida para esta ilha há pelo menos 100 anos (Bocage, 1904-1905).

Género *Lamprophis* FITZINGER, 1843

Segundo Chippaux (2001) podemos descrever o género da seguinte forma:

-Cabeça mediana e distinta do pescoço. Ao pescoço segue-se o corpo, sendo pouco marcada a transição. O focinho é saliente. O olho é pequeno com uma pupila vertical elíptica. O corpo é longo, fino e geralmente cilíndrico, coberto por escamas de pequeno tamanho. A cauda é curta. O maxilar tem 18 a 22 dentes. Há um breve diastema que separa 6 dentes anteriores maiores. Após o diastema, o maxilar contém 12 a 16 dentes de tamanho similar mas mais pequenos do que os anteriores. Os hemipénis são bilobados no terço apical, estando o sulco espermático dividido no quarto basal. A ornamentação é constituída por espinhos de base larga, relativamente longos na parte basal do hemipénis e reduzem-se até ao ápice sendo substituídos nesta zona por alvéolos dispostos em colares (Bogert, 1940). A rostral é saliente, mais ou menos bem visível de cima consoante as espécies. A nasal é inteira ou semi-dividida. Existem sempre duas internasais e duas pré-frontais. A loreal está presente. Existem duas pré-oculares, mas não existe sub-ocular. A frontal é mais longa do que larga e está separada do olho por uma supraocular. Duas postoculares. Uma a duas temporais anteriores, duas a três temporais médias e três a quatro temporais posteriores. O tamanho das temporais é regularmente e discretamente decrescente para a parte posterior. Sete a nove supralabiais em que duas estão em contacto com o olho. Dois pares de mentonianas anteriores. O sulco mentoniano está profundamente marcado. Cerca de 7 a 9 infralabiais. Escamas dorsais lisas com ou sem

¹ http://calacademy.org/science_now/são_tomé/we_begin.htm

fosseta apical e dispostas sobre 17 a 35 fiadas direitas. A anal é inteira. As subcaudais são simples e duplas. O dimorfismo sexual é uma realidade na maioria das espécies principalmente ao nível do maior número de subcaudais no macho.

***Lamprophis lineatus* (DUMÉRIL, BIBRON & DUMÉRIL, 1854)**

Sinónímia: *Boaedon lineatum* DUMÉRIL, BIBRON & DUMÉRIL, 1854; *Boaedon capense* DUMÉRIL & BIBRON, 1854 (fide WALLACH); *Boodon lineatus* BOULENGER, 1893; *Boodon lineatus* BOCAGE, 1904-1905; *Boaedon lineatus* SCHMIDT, 1923; *Boaedon lineatum* BOGERT, 1940*; *Boaedon lineatus lineatus* VILLIERS 1950c, 1952; *Boaedon lineatus lineatus* MANAÇAS, 1955; *Boaedon lineatum* VILLIERS, (1951, 1956b, 1975)*; *Boaedon lineatum* ANGEL *et al.*, 1954*; *Boaedon lineatum* CONDAMIN, 1958*; *Boaedon lineatum* DOUCET, 1963a*; *Boaedon lineatus* STUCKI-STIRN, 1979 *; *Boaedon lineatum* ROMAN, 1980* ; *Lamprophis lineatus* BROADLEY, 1983; *Boaedon lineatus* LEBRETON, 1999; *Lamprophis lineatus* BROADLEY, 1998

*informação retirada de Chippaux (2001)

Subespécies: *Lamprophis lineatus bedriagae*; *Lamprophis lineatus lineatus*

Terra typica: Ghana

Distribui-se pelo Mali, República Centro-Africana, Camarões, Congo e Senegal (Chippaux, 2001; “EMBL Reptile database”¹; Manaças, 1955). É uma cobra estritamente nocturna com hábitos generalistas, embora prefiram lagartos e anfíbios (Chippaux, 2001). Na África Subsahariana e ocidental é uma espécie abundante. Em São Tomé as pessoas conhecem-na por “Gita”.

Na página do “Gulf of Guinea Conservation Group”² é considerada como endémica de São Tomé e Príncipe. Na página da EMBL a espécie é referida para vários países do continente africano. Estará o grupo de Robert Drewes a se referir à subespécie? E onde foi buscar esta designação ?. Provavelmente e efectivamente *L. l. bedriagae* parece constituir uma subespécie de São Tomé e Príncipe.

Referida em São Tomé há cerca de 100 anos por Bocage (1904-1905).

As formas da espécie caracterizam-se por possuir uma cabeça média e distinta do pescoço (Chippaux, 2001). O olho é pequeno com uma pupila vertical e elíptica. O corpo é longo fino e cilíndrico e coberto por escamas pequenas dorsalmente. A cauda é curta (Chippaux, 2001). A rostral é saliente, pouco visível por cima e mais larga que alta. Nasal inteira, as internasais são duas a três vezes mais curtas que as pré-frontais. Loreal é duas vezes mais longa do que alta. Uma ou duas pré-oculares. A pré-ocular superior é discretamente maior do que a inferior. As duas postoculares são do mesmo tamanho. Podem ser encontrados indivíduos com apenas uma postocular. A frontal é mais longa que larga. As supraoculares são estreitas. Uma temporal anterior, 1 a 2 medianas e 3 a 4 temporais posteriores. Oito a nove supralabiais, estando a quarta e quinta a bordejar o olho. Mentonianas anteriores são duas a três vezes mais longas do que as posteriores. Nove a onze infralabiais, as quatro primeiras estão em contacto com as mentonianas anteriores. Escamas dorsais lisas e dispostas sobre 25 a 35 fiadas direitas. A fiada ou linha vertebral não é distinta das outras. 192 a 243 escamas ventrais. Anal inteira. 40 a 70 subcaudais duplas. Comprimento médio dos adultos, 500 mm. O dorso é cinzento e o ventre é acinzentado. A cabeça tem a mesma cor do dorso, mas com duas linhas amareladas paralelas de cada lado. Supralabiais claras. (Chippaux; 2001).

¹ <http://www.embl-heidelberg.de/~uetz/LivingReptiles.html>

² http://calacademy.org/science_now/são_tomé/we_begin.htm

Não se sabe muito sobre a reprodução. Mas os valores não devem andar longe de *Lamprobis fuliginosus* (uma espécie próxima e confundida muitas vezes com *L. lineatus*). Segundo Schleich *et al.* (1996), as formas de *Lamprobis fuliginosus* do Norte de África são ovíparas, ovipositando cerca de 6 a 10 ovos (máximo registado: 16) no Verão, debaixo de rochas ou no húmus. Os ovos são alongados e ovais. Os recém eclodidos medem cerca de 18 a 26 cm e pesam cerca de 3-6 g

Manaças (1955) caracterizou *Lamprobis lineatus lineatus* como *Boaedon lineatus lineatus* da Guiné Bissau da seguinte forma:

Morfologia: uma só pré-ocular e excepto num dos 9 exemplares examinados pelo autor, ela toca a frontal; 2 pós-oculares; 1+2 temporais; 8 labiais superiores, das quais a 4ª e a 5ª limitam o olho (num dos exemplares, no lado direito, é a 5ª e a 6ª que limitam o olho); 4 labiais inferiores em contacto com as gulares anteriores. Escamas em 28, 29 e 30 fiadas longitudinais; número de escamas ventrais 210, 211, 218, 219, 221, 222 e 225; subcaudais são 50, 54, 55, 56, 59, 60, 61 e 64 pares.

Coloração (Manaças, 1955) (animais conservados em álcool) – Face dorsal castanho claro ou castanho acobreado. De cada lado da cabeça, uma faixa escura passando pelo olho e limitada por duas linhas claras. Labiais superiores amarelas com manchas castanhas. Face ventral amarelada ou esbranquiçada.

Género *Hapsidophrys* FISCHER, 1856

De acordo com Chippaux (2001) este género é sinónimo do género *Gastropyxis*; COPE, 1861, devendo desaparecer o nome genérico *Gastropyxis*.

Segundo Chippaux (2001) o género caracteriza-se pelo seguinte:

- Cabeça pequena e distinta do pescoço. O pescoço está bem marcado. O focinho é alongado. Olho de tamanho médio com uma pupila arredondada. Corpo longo e cilíndrico coberto por escamas de pequeno tamanho. A cauda é longa e fina. O maxilar tem 30 a 32 dentes, em que o seu tamanho cresce da frente para trás. Não há diastema. Os hemipénis são unilobados. O sulco espermático é simples. Existem dois espinhos basais fortes opostos ao sulco espermático. O terço basal do hemipénis é ornamentado por espinhos onde o comprimento é decrescente em direcção à parte apical; As partes média e apical estão cobertas de alvéolos que são progressivamente substituídos por papilas à medida que se aproxima o ápice. Rostral é saliente, pouco visível por cima. A nasal é dividida. 2 internasais e 2 pré-frontais. Loreal presente. Uma pré-ocular, sem subocular. A frontal é mais comprida do que larga e está separada do olho por uma supraocular. 2-3 postoculares. 1 ou 2 temporais anteriores, 2 temporais médias e 2 a 3 temporais posteriores. 8 a 11 supralabiais, em que duas estão em contacto com o olho. 2 pares de mentonianas, estando o sulco mentoniano profundamente marcado. Cerca de 9 a 11 infralabiais. As escamas dorsais são carenadas, dispostas obliquamente sobre 15 fiadas a meio do corpo, sem fosseta apical ou com apenas uma só fosseta apical discreta. A fiada vertebral não é distinta das outras. As ventrais são carenadas. A anal é inteira ou dividida. As subcaudais são duplas e carenadas lateralmente ou arredondadas consoante as espécies. Parece não existir dimorfismo sexual ao nível do número de escamas ventrais ou de subcaudais.

***Hapsidophrys smaragdina* (SCHLEGEL, 1837) ou *Hapsidophrys principis* (*)**

Sinónímia da *Hapsidophrys smaragdina* : *Dendrophis smaragdina* SCHLEGEL, 1837; *Leptophis gracilis* HALLOWELL, 1844; *Leptophis smaragdinus* HALLOWELL, 1854; *Leptophis smaragdinus* DUMÉRIL, BIBRON & DUMÉRIL, 1854; *Leptophis smaragdinus* HALLOWELL, 1857; *Hapsidophrys coeruleus* FISCHER, 1856; *Gastropyxis*

smaragdina COPE, 1860; *Gastrophycis smaragdina* BOULENGER, 1894; *Hapsidophrys smaragdinus* BOCAGE, 1895; *Gastrophycis smaragdina* SCHMIDT, 1923; *Hapsidophrys smaragdinus* BROADLEY, 1966; *Hapsidophrys smaragdinus* WILLIAMS & WALLACH, 1989; *Gastrophycis smaragdina* MEIRTE, 1992; *Hapsidophrys smaragdina* BROADLEY, 1998; *Gastrophycis smaragdina* RÖDEL & MAHSBERG, 2000; *Hapsidophrys smaragdina* CHIPPAUX, 2001; *Hapsidophrys smaragdina* GOSSMANN *et al.*, 2002.

*http://www.ggcg.st/reptiles_stp.html

Subespécies: não há referências.

Terra typica: Costa Dourada (Ghana)

A espécie distribui-se pelo Uganda, Zaire, Angola, Congo, Zaire, Gabão, Guiné Equatorial, Camarões, República Centro Africana, Nigéria, Togo, Benin, Gana, Libéria, Serra Leoa, Costa do Marfim, Guiné, Guiné Bissau, Gambia, São Tomé e Príncipe (Chippaux, 2001; “EMBL Reptile database”¹).

Segundo Chippaux (2001) a espécie caracteriza-se por ter:

-Cabeça alongada e distinta do pescoço. Olho de tamanho médio com pupila redonda. O corpo é longo e cilíndrico ou ligeiramente comprimido. A cauda é fina. A rostral é saliente, pouco visível por cima e é mais larga que alta. A nasal é dividida. As internasais são tão longas como as pré-frontais. Loreal rectangular e 2 a 3 vezes mais longa que alta. 1 pré-ocular, às vezes 2. Sem subocular. Frontal 2 vezes mais longa do que larga. A supraocular é mais ou menos larga do que a frontal. A postocular superior é ligeiramente maior que a inferior. A fórmula temporal é 1+2+3, às vezes 1+1+2. Cerca de 8 a 11 supralabiais, geralmente 9, estando a 5ª e a 6ª em contacto com o olho. Mentonianas anteriores são tão longas como as posteriores. Entre 9 a 11 infralabiais, maioria com 10, as cinco primeiras em contacto com o primeiro par de mentonianas. Escamas dorsais carenadas dispostas obliquamente em 15 linhas a meio do corpo. A linha vertebral não é distinta das outras. Ventrais são carenadas e em número de 150 a 174. A anal é dividida. Entre 129 a 172 subcaudais duplas e carenadas. Os adultos têm um tamanho médio de 750 mm. O dorso é verde esmeralda, com algumas escamas nos flancos azul-turquesa. O ventre é verde claro. A cabeça possui uma barra lateral negra, da nasal às últimas supralabiais e à altura do olho.

As serpentes desta espécie são estritamente arborícolas e diurnas. Vivem às vezes perto das habitações e nos jardins. Existe pouca informação sobre a espécie apesar da sua frequência. Alimenta-se de anfíbios, répteis e talvez aves. (Chippaux, 2001)

Hallowell (1957) atribui à espécie as seguintes características:

- Número de escamas abdominais, 158; dupla preanal; número de escamas subcaudais, 138; no exemplar de Duméril & Bibron, 154; 15 fiadas de escamas dorsais carenadas; Lados do abdómen angulares. Comprimento total 2 pés e 6 linhas; Comprimento da cauda, 9 polegadas e 4 linhas.

Há dúvidas quanto ao estatuto específico das formas de São Tomé e Príncipe. Serão endémicas e constituirão a espécie *H. principis*?

Família Elapidae

São semelhantes aos colubrídeos, donde são provavelmente oriundos mas algumas são semelhantes a viperídeos. É uma família com cerca de 250 espécies venenosas caracterizadas por possuírem presas (dentes do

¹ <http://www.embl-heidelberg.de/~uetz/LivingReptiles.html>

veneno) não erécteis e parcialmente sulcadas à frente da boca (Proteroglifas) (Lee, 2000; Chippaux, 2001), e encaixam-se em depressões existentes na mandíbula inferior. O osso maxilar é relativamente imóvel; o maxilar é curto e possui um ou mais dentes venenosos canaliculados em posição anterior, seguidos geralmente por dentes de pequeno tamanho. As vértebras dorsais possuem uma hipapófise. O dentário é curto e suporta dentes. O palatino e o pterigoide também suportam dentes. O palatino move-se parcialmente nalguns géneros, o que leva a uma mobilidade relativa do maxilar (*Dendroaspis*). Todas as espécies possuem uma glândula de veneno ligadas aos dentes venenosos. O veneno é rico em toxinas de baixo peso molecular, com efeitos neuro-musculares. Possuem escamas cefálicas semelhantes às dos colubrídeos. Pupila arredondada A escama loreal entre as narinas e o olho está ausente nesta família. (Chippaux, 2001)¹.

Nesta família encontramos por exemplo as mambas (outrora referidas para São Tomé- género *Dendroaspis*) e as cobras marinhas. São responsáveis pela maioria das mortes em pessoas devido a picadas de cobras (Lee, 2000; Stafford & Meyer, 2000). São espécies fossoriais a arbóreas¹. Ocorrem essencialmente em zonas tropicais e subtropicais quer no Novo Mundo quer no Velho Mundo (Stafford & Meyer, 2000).

São geralmente ovíparas ou ovovivíparas. Poucas são vivíparas¹.

Género *Naja* LAURENTI, 1768

É um género que se caracteriza pelo seguinte (Chippaux, 2001):

- Cabeça pequena, larga e curta. O pescoço é distinto. O focinho é arredondado. O olho é pequeno com uma pupila redonda. Corpo longo e robusto, cilíndrico e coberto por escamas de tamanho médio. A cauda é de tamanho médio. Na sua parte anterior, o maxilar suporta dois dentes venenosos canaliculados. Eles são seguidos dum curto diastema, mais 2 a 4 dentes de pequeno tamanho. Os hemipénis são bilobados, pelo menos a partir de metade deste órgão. O sulco espermático está dividido. A totalidade da superfície está coberta por pequenos espinhos finos. Rostral arredondada, bem visível de cima. A nasal está dividida. 2 internasais e duas pré-frontais. Loreal ausente. Uma pré-ocular. Suboculares ausentes ou presentes. A frontal é tão longa como larga. Está separada do olho por uma supraocular. 2-3 pós-oculares. 1-3 temporais anteriores, 2-3 temporais posteriores. 6-8 supralabiais, estando 1 ou duas em contacto com o olho. Em algumas espécies, o olho está separado das supralabiais por suboculares. 1 a 2 pares de mentonianas. O sulco mentoniano é bem marcado. Entre 7 a 11 infralabiais. Escamas dorsais lisas, sem fosseta apical, dispostas sobre 17 a 27 linhas oblíquas. A linha vertebral não é distinta das outras. A anal é inteira. As subcaudais são duplas. Género com 9 espécies.

Em princípio é um género não monofilético, talvez parafilético (Slowinski & Keogh, 2000). Com base em estudos morfológicos, de caracteres osteológicos, Szyndlar & Rage (1990) viram que o género era monofilético na Ásia e deveria ser parafilético em África.

***Naja melanoleuca melanoleuca* (HALLOWELL, 1857)**

Sinonímia: *Naja haje* var. *melanoleuca* HALLOWELL, 1857; *Naja annulata* BUCHHOLZ & PETERS, 1876; *Aspidelaps bocagii* SAUVAGE, 1884; *Naja haje* var. *leucosticta* FISCHER, 1885; *Naja melanoleuca* MATSCHIE, 1893; *Naja melanoleuca* BOULENGER, 1896; *Naja melanoleuca* SCHMIDT, 1923; *Naja leucosticta* BETHENCOURT – FERREIRA, 1930; *Naja melanoleuca subfulva* LAURENT, 1955; *Naja melanoleuca melanoleuca* CAPOCACCIA, 1961; *Naja melanoleuca aurata* STUCKI-STIRN, 1979; *Naja melanoleuca melanoleuca* OTA *et al.*, 1987*; *Naja melanoleuca* RÖDEL & MAHSBERG, 2000.

¹ <http://www.embl-heidelberg.de/~uetz/families/Elapidae.html>

* informação retirada de Chippaux (2001)

Subespécies: não há referências.

Terra typica: Gabão (Chippaux, 2001)

A espécie apresenta uma distribuição vasta na África Subsahariana, desde Angola, República Centro-Africana, Chade, Congo, Zâmbia, Zimbábwe, Gabão, Gana, Guiné-Bissau, Senegal, Gâmbia, Guiné, Costa do Marfim, Libéria, Níger, Nigéria, Camarões, Serra Leoa Malawi, Mali, África do Sul, Moçambique, Somália, Sudão, Etiópia, Tanzânia, Quênia, Togo, Uganda, etc...(Chippaux, 2001; “EMBL Reptile database”¹). Terá sido introduzida em São Tomé. É uma espécie florestal que se alimenta essencialmente de pequenos roedores (Chippaux, 2001)

Na Ilha de São Tomé é conhecida e designada pelo povo por Cobra Preta. Há pelo menos 100 anos foi já referida em São Tomé por Bocage (1904-1905).

Segundo a descrição que Chippaux (2001) faz no seu livro, a espécie caracteriza-se por:

-Cabeça curta. Pescoço marcado. Focinho arredondado. O olho é pequeno com pupila redonda. A cauda apresenta tamanho médio. A rostral é arredondada, bem visível por cima e é uma a uma vez e meia mais larga que alta. A nasal está dividida. As internasais são duas vezes mais curtas do que as pré-frontais. A loreal está ausente. A primeira pré-ocular é mais curta do que o diâmetro do olho e mais alta que esta última. Uma subocular do mesmo tamanho das post-oculares. Frontal é tão longa como larga e é da mesma largura do que as supraoculares. 2-3 post-oculares de tamanho semelhante. Uma temporal anterior e duas posteriores. 7 supralabiais, 3ª e 4ª em contacto com o olho; a 6ª é a maior e está em contacto com as post-oculares. Um par de mentonianas *sensu stricto*, mas as gulares parecem-se ou simulam mentonianas posteriores. O sulco mentoniano é bem marcado. Entre 7-9 infralabiais, geralmente 8, as primeiras 4 em contacto com as mentonianas anteriores, a 5ª infralabial é a maior. Escamas dorsais são lisas, sem fosseta apical e dispostas sobre 17 a 21 fiadas oblíquas, geralmente 19. A fiada vertebral não é distinta das outras. Entre 198 a 228 escamas ventrais, menos de 224 para os machos e mais de 215 para as fêmeas. A anal está inteira. Entre 52 a 76 Subcaudais duplas. Sem aparente dimorfismo sexual. Comprimento médio dos adultos: 1800 mm. O dorso é uniformemente negro mais ou menos manchado de branco. O ventre é de cor ardósia.

Família Typhlopidae

São cobras pequenas, geralmente não ultrapassando os 30 cm ou 40 cm segundo Lee (2000), e semelhantes a vermes, no entanto poderão atingir cerca de 90 cm (Chippaux, 2001; Lee, 2000). São facilmente identificáveis pelo aspecto de verme, pequeno tamanho, coloração uniforme e a cabeça não é mais larga do que o corpo (Glaw & Vences, 1994). São consideradas como cobras cegas (Stafford & Meyer, 2000) porque os olhos não existem ou são vestigiais (Glaw & Vences, 1994) e estão cobertos por uma escama ocular que não está fundida com uma escama labial (Lee, 2000). Vivem essencialmente na manta morta ou em buracos no solo (Glaw & Vences, 1994), podendo aparecer durante a noite (Stafford & Meyer 2000), onde se alimentam de pequenas presas. Habitam essencialmente entre os trópicos tanto no “Novo” como no “Velho” Mundo (Lee, 2000).

A sistemática desta família é muito complexa e está a ser alvo de revisões (Chippaux, 2001).

¹ <http://www.embl-heidelberg.de/~uetz/LivingReptiles.html>

A cabeça é “cortada a direito” e arredondada. A cauda é curta, terminando geralmente num espinho. Ao contrário dos colubrídeos, faltam-lhes as escamas ventrais alargadas. As escamas dorsais e ventrais são lisas e apresentam tamanhos semelhantes (Lee, 2000).

O maxilar dispõe-se transversalmente e possui alguns dentes. Os dentes posteriores estão dirigidos para trás, para o fundo da cavidade bucal. O prémaxilar, o palato, e o pterigoide não possuem dentes. O prémaxilar encontra-se fortemente soldado ao focinho. A mandíbula e a maxila possuem dentes na maioria das espécies, e estão articuladas com o crânio por articulações móveis¹ (Chippaux, 2001). Algumas possuem um dente na extremidade anterior (Chippaux, 2001). A mandíbula está composta por um enorme osso composto, um coronoide largo e separado, uns pequenos ossos, um angular e um pequeno dentário sem dentes. Não possuem o osso pré-frontal¹. A pélvis é reduzida e vestigial nestas espécies (Chippaux, 2001).

Dezasseis fiadas longitudinais de escamas em torno do corpo (Chippaux, 2001)

Reconhecem-se cerca de 6 géneros nesta família¹. Na África Ocidental e Central existem apenas três géneros (*Rhamphotyphlops* (1 espécie), *Rhinotyphlops* (6 espécies) e *Typhlops* (11 espécies)) (Chippaux, 2001).

Nalgumas espécies existem casos de ovoviviparidade/viviparidade, noutras oviparidade e noutras partenogénese como em *Rhamphotyphlops braminus*¹ (Chippaux, 2001).

Género *Rhinotyphlops*

***Rhinotyphlops feae* (BOULENGER, 1906)**

Sinónímia: *Typhlops feae* BOULENGER, 1906; *Typhlops principis* BOULENGER, 1906; *Rhinotyphlops feae* McDIARMIND, CAMPBELL & TOURÉ, 1999.

Subespécies: não há referências.

Terra typica: São Tomé, Príncipe (?).

Distribui-se pelas Ilhas do Príncipe e São Tomé.

***Rhinotyphlops newtoni* (BOCAGE, 1890)**

Sinónímia: *Typhlops (Onycephalus) newtonii* BOCAGE, 1890; *Typhlops naveli* ANGEL, 1920; *Rhinotyphlops newtoni* ROUX-ESTEVE, 1974; *Rhinotyphlops newtoni* McDIARMIND, CAMPBELL & TOURÉ, 1999.

Subespécies: não há referências

Terra typica: São Tomé, Príncipe (?).

Distribui-se pelas Ilhas do Príncipe e São Tomé.

De acordo com a descrição original feita por Bocage (1890), os olhos são invisíveis, rostral grande com bordos laterais paralelos e arredondada posteriormente. Bordo livre do focinho robusto e truncado e prolonga-se para a frente numa forma pontiaguda; nasal desenvolvida, com bordo posterior côncavo, passando na parte de trás o bordo posterior da rostral. Atrás da nasal existem duas placas estreitas e alongadas (pré-ocular e ocular) que se prolongam sobre a cabeça e terminam as duas em ponta à mesma altura. Corpo longo e estreito, um pouco mais grosso posteriormente, recoberto por 28 fiadas longitudinais de escamas. Cauda curta, ligeiramente curva,

¹ <http://www.embl-heidelberg.de/~uetz/families/Typhlopidae.html>

terminando por uma pequena espinha. Coloração geral esbranquiçada. Comprimento total, 40 mm; comprimento da cauda, 6 mm.; largura da cabeça e parte do corpo, 6mm; largura da cauda de 7 a 8 mm.

A descrição foi baseada num indivíduo fornecido por Francisco Newton e oriundo do Ilhéu das Rolas. À primeira vista poderia ser confundido com *R. caecus*. No passado parece que M. Greeff havia referido *R. caecus* para São Tomé, mas esta seria a *R. newtoni*, só que M. Greeff não se havia dado conta das diferenças (Bocage, 1890). As escamas da cabeça apresentam certas características que as distinguem perfeitamente: a forma da rostral não é truncada mas arredondada na parte posterior, possui bordo livre e parece mais saliente e mais distintamente prolongada e mais pontiaguda do que em *R. caecus* (espécie próxima, continental, e que existe nos Camarões, Gabão, Zaire, Congo, Togo, Serra Leoa, Gana), mas o que distingue nitidamente as duas espécies é a forma e dimensões das placas pré-ocular e ocular, placas estreitas, alongadas e prolongando-se à mesma altura sobre a cabeça (no exemplar do José Vicente Barboza du Bocage), enquanto que em *R. caecus* a ocular é bem mais pequena que a pré-ocular e com formas distintas. O número de fiadas de escamas longitudinais é de 28 em vez em vez de 22 e a coloração é esbranquiçada-amarelada em vez de castanho claro (Bocage, 1890; Bocage, 1904-1905).

Género *Typhlops*, OPPEL, 1921

É um dos géneros mais representativos da família, com cerca de 130 espécies, que se distribuem essencialmente por zonas tropicais e subtropicais do globo terrestre (Lee, 2000).

***Typhlops elegans* PETERS, 1868**

Sinónímia: *Typhlops (Ophthalmidion) elegans* PETERS, 1868; *Typhlops elegans* BOULENGER, 1893; *Typhlops elegans* McDIARMIND, CAMPBELL & TOURE, 1999.

Subespécies: não há referências.

Terra típica: Príncipe

Distribui-se pela Ilha do Príncipe

Género *Ramphotyphlops* FITZINGER, 1843

É um género, conhecido no passado por *Typhlina*, e que compreende um conjunto de tiflopídeos caracterizados pela presença de hemipénis nos machos (Glaw & Vences, 1994).

***Ramphotyphlops braminus* (DAUDIN, 1803)**

Sinónímia: *Eryx braminus* DAUDIN, 1803; *Ophthalmidium tenue* HALLOWELL, 1861; *Tortrix russelii* MERREM, 1820; *Typhlops russelii* SCHLEGEL, 1839; *Typhlops Braminus* DUMÉRIL & BIBRON, 1844; *Argyrophis truncatus* GRAY, 1845; *Onychocephalus capensis* SMITH, 1846; *Argyrophis bramicus* KELAART, 1854; *Typhlops (Typhlops) inconspicuus* JAN, 1863; *Typhlops (Typhlops) euproctus* BOETTGER, 1882; *Typhlops braminus* BOULENGER, 1893; *Typhlops limbrickii* ANNANDALE, 1906; *Typhlops braminus* STEJNEGER, 1907; *Typhlops braminus* BOULENGER, 1920; *Glaucania braneri* STERNFELD, 1910; *Typhlops braminus* DE ROOIJ, 1917; *Typhlops braminus* SMITH, 1943; *Typhlops pseudosaurus* DRYDEN & TAYLOR, 1969; *Typhlina braminus* MCDOWELL, 1974; *Ramphotyphlops braminus* NUSSBAUM, 1980; *Ramphotyphlops braminus* CONANT & COLLINS, 1991; *Ramphotyphlops braminus* GLAW & VENCES, 1994; *Ramphotyphlops braminus* MANTHEY & GROSSMANN, 1997; *Ramphotyphlops braminus* COX *et al.*, 1998; *Ramphotyphlops braminus* McDIARMID, CAMPBELL & TOURE, 1999.

Subespécies: não há referências

Terra típica: Vizagapatam [Visakhapatnam], Índia

Apresenta uma distribuição vasta, desde a África (Costa do Marfim, Senegal, Madagáscar, Comoros, etc.) até à Ásia (Índia, Japão, Vietname, etc), Indonésia, Austrália, Estados Unidos da América (introduzida) (“EMBL Reptile database”: <http://www.embl-heidelberg.de/~uetz/LivingReptiles.html>). Nativa de África e Ásia, terá sido introduzida em muitas ilhas do Pacífico (ver Buden, 2000), como por exemplo na Ilha de Pohnpei (ilha da Micronésia, entre a Nova Guiné, Filipinas e o Hawaii).

É uma espécie que apresenta corpo cilíndrico com diâmetro semelhante ao longo do corpo (Stafford & Meyer, 2000), em que o adulto apresenta um comprimento total de cerca de 175 mm (Glaw & Vences, 1994). Possuem uma cabeça muito discreta arredondada e truncada (Stafford & Meyer, 2000). Apresentam uma cauda curta que termina num espinho (Stafford e Meyer, 2000). As escamas lisas do corpo apresentam todas o mesmo tamanho, dorsal e ventralmente. No corpo, possuem 20 fiadas longitudinais de escamas. A escama rostral é arredondada, acastanhada e mais clara ventralmente (Glaw & Vences, 1994)

Julga-se que as populações são constituídas por fêmeas com reprodução partenogenética (Glaw & Vences, 1994; Stafford & Meyer, 2000). Esta condição poderá favorecer a colonização de ilhas oceânicas.

Vive na manta morta (Glaw & Vences, 1994)

Parece que poderá existir um complexo de espécies sob a alçada da designação de *Rhampotyphlops braminus*, com diferentes estratégias reprodutoras (Glaw & Vences, 1994).

Como curiosidade “Brahmin” é a designação duma casta (etnia) da Índia, entre os Hindus.