

FILOGENIA MOLECULAR E TAXONOMIA DO GRUPO
***ANOLIS CHRYSOLEPIS* DUMÉRIL & BIBRON, 1837**
(SQUAMATA, POLYCHROTIDAE)

ANNELISE BATISTA D'ANGIOLELLA



BELÉM, PARÁ

2010



**MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA
CURSO DE MESTRADO EM ZOOLOGIA**

**Filogenia Molecular e Taxonomia do grupo *Anolis chrysolepis* Duméril &
Bibron, 1837 (Squamata, Polychrotidae)**

Annelise Batista D'Angiolella

**Dissertação apresentado ao Programa de
Pós-graduação em Zoologia, Curso de
Mestrado, do Museu Paraense Emílio
Goeldi e Universidade Federal do Pará
como requisito parcial para obtenção do
grau de mestre em Zoologia.**

Orientador: Teresa C. S. de Avila Pires

Co-orientador: Tony Gamble

BELÉM-PA

2010

ANNELISE BATISTA D'ANGIOLELLA

**Filogenia Molecular e Taxonomia do grupo *Anolis chrysolepis* Duméril &
Bibron, 1837 (Squamata, Polychrotidae)**

Annelise Batista D'Angiolella

**Dissertação apresentado ao Programa de
Pós-graduação em Zoologia, Curso de
Mestrado, do Museu Paraense Emílio
Goeldi e Universidade Federal do Pará
como requisito parcial para obtenção do
grau de mestre em Zoologia.**

Orientador: Teresa C. S. de Avila Pires

Co-orientador: Tony Gamble

BELÉM-PA

2010

**Renda-se, como eu me rendi. Mergulhe no que você não conhece como eu
mergulhei. Não se preocupe em entender, viver ultrapassa qualquer
entendimento.**

Clarice Lispector

**À minha super família, por me inspirar e apoiar em
simplesmente todos os momentos!**

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela concessão da minha bolsa de pesquisa.

À Teresa Avila-Pires, minha orientadora, por sua total disponibilidade de me ajudar em todos os momentos que a procurei, pela confiança, paciência e estímulo constantes.

Ao Tony Gamble, meu co-orientador, por toda a sua ajuda, assistência e principalmente paciência em todos os momentos do trabalho, ajudando pessoalmente em Minnesota ou virtualmente através dos zilhões de e-mails trocados com respostas quase instantâneas! You're simply the best!

Ao Harvard Museum of Comparative Zoology pelo Ernst Mayr Travel Grant que custeou a minha visita à Coleção de Herpetologia e a todos do MCZ que tornaram a minha visita inesquecível: meu querido Jose Rosado, Joseph Martinez, Jonathan Woodward, Catherine Weisel e James Hanken. Obrigada por tudo!

A todo o pessoal do Losos Lab, Alexis Harrison, Yoel Stuart, Martha Muñoz, Liam Revell, Jonathan Losos e especialmente a Luke Mahler pelo intercâmbio de músicas e conversas entre uma contagem e outra de escamas.

Aos meus colaboradores Laurie Vitt, Guarino Colli, Brice Noonan e Miguel Rodrigues pela ajuda na execução do trabalho, cedendo tecidos, custeando o material para as análises ou contribuindo na revisão do manuscrito.

Ao Marinus Hoogmoed por sempre estar disposto a ajudar, seja traduzindo uma descrição, conseguindo um artigo ou puxando minha orelha na qualificação!

A Ana Prudente pelo passe livre à Coleção e sugestões dadas ao trabalho.

Ao Tibério Burlamaqui por todos os socorros prestados com as análises moleculares! Obrigada pela paciência Titi!!!

A todo o pessoal do laboratório de Herpetologia do MPEG pela companhia quase que diária e por toda ajuda que me foi dada, em especial a Marcelo Sturaro pela ajuda com a edição dos gráficos e dicas de uso do Systat.

A minha turma de mestrado pela companhia nas disciplinas e bate papos desanuviante nos intervalos.

A turma do NOAP na Bahia, onde comecei minha vida acadêmica, especialmente a Rejâne Lira e Eduardo Dias. Sem vocês eu jamais teria chegado até aqui!

A minha família da “República Baixaria” em Belém, Marquito, Raulzinho, Lili e Maya, por me receberem com tanto carinho e compartilharem **todos** os momentos comigo, dos pileques às cenas de novela mexicana que só Belém poderia produzir! Apesar de não estar mais debaixo do mesmo teto que vocês, me considerarei eternamente como parte da família. Obrigada por tudo! Amo vocês!

Aos queridos agregados da República: David, Nanci, Lincon e Rica por todas as empreitadas na capital Paraense.

Ao meu quarteto fantástico: Hanna, Cí, Mel e Glau por serem minhas gêmeas siamesas brasileiras em Minnesota. Conhecer vocês foi, sem dúvida, uma das melhores coisas que me aconteceu na terrinha do Tio Sam!

À Monica Paez, por ser a minha fiel companheira de almoços, cafés e chocolates quentes durante a visita ao MCZ. Harvard jamais seria a mesma sem você, Moniquita!

Aos meus amigos baianos Nine, Cal, Tchuca, Kari, Luli, Bú, Marquinhos, Pat & Léo, Tosta, Leozito, Tikito, Chan e a todos os outros que não citei, mas que moram no meu coração!

Aos meus filhos Pukey e Bingo por sempre fazerem eu me sentir a pessoa mais especial do mundo toda vez que chego em casa! Obrigada pelas lambidas, carinho e amor incondicional.

Aos protetores dos animais espalhados por esse mundo afora por compartilharem comigo o sonho de um mundo melhor, igualitário e sem crueldades.

A dança, por ser meu refúgio mais alegre e por colocar pessoas tão maravilhosas na minha vida!

Ao meu amor, Bruno, por ser meu amigo, cúmplice, incentivador e uma das pessoas mais lindas que já conheci! Te amo muito moção!!

Aos amores da minha vida: Duda, Tatá, Dona Lili e Seu Tony (que foi cedo demais...). Sou abençoada por ter vocês como minha súper família! Nada na vida tem graça se não puder ser compartilhado com vocês!!! Obrigada por existirem! **AMO VOCÊS DEMAIS!!!**

E enfim, a todos os lagartinhos ao redor do mundo, especialmente os *Anolis*, por me estimularem a me despencar para a Amazônia e por serem minha fonte constante de inspiração!

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	vi
SUMÁRIO	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
INTRODUÇÃO	1
Taxonomia	8
O gênero <i>Anolis</i> Daudin, 1802	8
<i>Anolis chrysolepis</i> Duméril & Bibron, 1837	8
A problemática do Conceito de Espécie e o uso do termo subespécie	11
Síntese	13
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	14
Artigo a ser submetido à Revista Zootaxa	26
ABSTRACT	27
RESUMO	27
INTRODUCTION	28
MATERIAL AND METHODS	31
Taxon sampling and DNA sequencing	31
Phylogenetic analyses	32
Morphological analyses	33
RESULTS	34
Phylogenetic analyses	34
Morphological analyses	35
Congruence among morphological and molecular analyses	36
Taxonomy/Species accounts	37
The <i>Anolis chrysolepis</i> species group	37
<i>Anolis chrysolepis</i> Duméril & Bibron, 1837	37
<i>Anolis tandai</i> Avila-Pires, 1995	38
<i>Anolis planiceps</i> Troschel, 1848	39
<i>Anolis brasiliensis</i> Vanzolini & Williams, 1970	40
<i>Anolis scypheus</i> Cope, 1864	41
<i>Anolis bombiceps</i> Cope, 1876	42
DISCUSSION	44
AKNOWLEDGMENTS	45
Appendix 1	54
Figures	57
Tables	66

RESUMO

A Amazônia é considerada a maior floresta tropical contínua do mundo e diversos mecanismos têm sido propostos para tentar explicar a sua alta diversidade biológica. Um dos mecanismos mais discutidos desde sua proposição é a hipótese dos Refúgios, que se baseia na retração da floresta em períodos mais secos, isolando a fauna de florestas em refúgios imersos em uma matriz de vegetação aberta. Essas retrações e subseqüentes expansões em períodos mais úmidos provocariam a interrupção do fluxo gênico entre as populações isoladas e poderiam gerar especiação. Contudo, estudos moleculares recentes indicam que a diversificação de espécies de vertebrados de florestas tropicais provavelmente precede o período pleistocênico, originalmente indicado na hipótese dos Refúgios como o período em que esses eventos teriam ocorrido. A espécie politípica *Anolis chrysolepis*, juntamente com *Anolis bombiceps*, foi previamente estudada como um típico exemplo de diversificação gerada pelas flutuações climáticas do Pleistoceno, embora estudos posteriores tenham demonstrado a presença de grande divergência molecular entre parte das subespécies, indicando uma separação mais antiga desses táxons e levantando o questionamento sobre seu status taxonômico. Utilizamos o gene mitocondrial ND2 para investigar as relações filogenéticas entre as subespécies de *Anolis chrysolepis* e os táxons determinados em estudos anteriores como mais próximos a elas. Além disso, a sua morfologia e o seu status taxonômico foram revisados, a fim de verificar a congruência entre os dados morfológicos e moleculares, determinando se os táxons previamente reconhecidos morfológicamente são espécies válidas. Com base nos dois conjuntos de dados, nós elevamos as cinco subespécies do grupo *Anolis chrysolepis* ao status de espécies, diagnosticamos cada uma delas com comentários sobre as principais diferenças morfológicas entre as espécies irmãs e fornecemos novos dados de distribuição.

ABSTRACT

The Amazon forest is the largest continuous tropical forest around the world and several mechanisms have been proposed to explain its high biological diversity. The Refuge Hypothesis is one of the most debated explanations used and is based on the contraction of forested areas during dry periods, restricting populations to forest refugia. Forests expand during wet periods and these climatic and vegetational oscillations during the Pleistocene would be responsible for speciation and distribution patterns seen in Amazonian species. However, recent molecular phylogenetic studies confront this notion by indicating that most divergences among tropical forest vertebrate species predate the Pleistocene period. The *Anolis chrysolepis* clade, along with *Anolis bombiceps*, was previously studied and cited as a classic example of Pleistocene speciation, but recent studies showed substantial molecular divergence in the complex indicating that further studies about the subspecies relationships will demonstrate they are distinct species. We used the mitochondrial gene (ND2) to estimate phylogenetic relationships among the *Anolis chrysolepis* subspecies and the taxa previously hypothesized as related to them. In addition, their morphology and taxonomy status were revisited in order to confirm the congruence among the molecular and morphological datasets, determining if morphologically defined taxa are valid species. Based on both datasets, we elevate the five subspecies of *Anolis chrysolepis* to species status, diagnosing each one of them with comments about the main morphological differences between the sister taxon and providing new distribution data.

INTRODUÇÃO

A Amazônia é considerada a maior floresta tropical contínua do mundo, (Capobianco, 2002; Goulding et al., 2003) e diversos mecanismos de especiação foram propostos para explicar a sua grande diversidade de espécies. Entre estas hipóteses biogeográficas estão as que destacam a importância dos gradientes ecológicos na geração de espécies simpátricas (Endler, 1982; Smith et al., 1997), a existência de refúgios florestais pleistocênicos (Haffer, 1969; Vanzolini & Williams, 1970), a influência do sistema hidrográfico na diversificação da biota (Ayres & Clutton-Brock, 1992; Haffer, 1992), os arcos geológicos espalhados pela bacia amazônica como indicadores de processos de vicariância (Silva & Patton, 1998; Patton & Silva 2001) e o papel biogeográfico dos mares e lagos salobros que invadiram a bacia amazônica (Bates, 2001). Edward Forbes (1846) foi um dos primeiros a citar a Hipótese dos Refúgios, uma das explicações mais usadas para elucidar a diversificação da fauna de florestas tropicais, ao tentar analisar a distribuição disjunta de plantas na Europa (Mayr & O'Hara, 1986). A partir de então, muitos autores argumentaram que as barreiras vegetacionais que foram tão efetivas no processo de especiação em regiões temperadas, poderiam também ter sido bastante eficazes nas regiões tropicais (Haffer 1969, 1974; Vanzolini & Williams, 1970; Snow, 1978).

Haffer (1969), ao analisar uma carta pluviométrica e perceber a presença de áreas com alta precipitação anual (por exemplo, acima de 3.000 mm entre os rios Negro e Japurá) e locais bem mais secos (menos de 2.000 mm ao longo dos rios Trombetas e Tapajós), presumiu que o aumento da aridez do clima viria a erradicar a floresta nessas áreas mais secas, isolando manchas de floresta em diversos “refúgios”, onde a fauna umbrófila de aves sobreviveria e entraria em processo de especiação geográfica. Haffer (1969, 1974) baseou o modelo dos refúgios nas flutuações climáticas drásticas do Pleistoceno e sua presumível influência na especiação da fauna tropical, ao forçarem as florestas contínuas a se reduzirem a fragmentos separados entre si por áreas de vegetação aberta, restringindo assim o fluxo gênico entre as espécies. Mas em 1992 e em 1997, o autor tornou a hipótese mais abrangente ao admitir que a variação climática ocorrente em todo o Cenozóico também poderia produzir especiação.

Contemporaneamente, Vanzolini & Williams (1970) estudaram a variação geográfica do que chamaram de complexo de espécies *Anolis chrysolepis* (incluindo as espécies atualmente reconhecidas *A. chrysolepis* e *Anolis bombiceps*). Os autores analisaram caracteres merísticos e morfométricos ao longo de diversos transectos e, como resultado, chegaram à mesma conclusão que Haffer quanto ao modelo de especiação. Distinguiram quatro áreas core, designando cada uma delas como centro de evolução de uma subespécie, e as áreas de intergradação (entre as áreas core) foram consideradas como zonas de contato secundário entre elas. Em consequência, descreveram uma nova subespécie (*Anolis chrysolepis brasiliensis*) e reconheceram outras três (*A. c. scypheus*, *A. c. planiceps*, e *A. c. chrysolepis*). Tendo em vista a simpatria entre *A. c. scypheus* e o taxon *A. bombiceps*, esta foi considerada como uma espécie à parte.

Tais trabalhos foram de imensa importância por questionarem a idéia dominante na época, de que a estabilidade das florestas tropicais era o fator gerador e mantenedor da sua alta biodiversidade. Assim, houve um frenesi de trabalhos subsequentes que tentaram explicar os padrões de diversificação de diversos grupos tendo como base as flutuações climáticas do Pleistoceno abordadas na hipótese dos Refúgios.

Em 1981, Vanzolini & Williams propuseram uma extensão à hipótese dos Refúgios: o modelo dos Refúgios Evanescerentes. Durante os períodos mais secos, alguns refúgios florestais teriam se contraído tanto que chegaram a desaparecer por completo. Algumas populações dos animais que viviam nesses refúgios, contudo, teriam conseguido se adaptar a esses novos ambientes mais áridos, eventualmente vindo a acumular divergências de tal ordem que impedisse o intercruzamento com as populações remanescentes de floresta, em caso de contato secundário entre elas.

Em seu trabalho sobre lagartos da Amazônia Brasileira, Avila-Pires (1995) não concordou completamente com o cenário apresentado por Vanzolini & Williams (1970), argumentando que a análise individual de cada caráter tende a obscurecer a informação obtida pela associação de caracteres. Adotou *Anolis nitens*, ao invés de *A. chrysolepis*, descreveu uma nova subespécie, *A. nitens tandai*, identificou a nível de sub-espécie todo o material examinado e questionou a existência das áreas de intergradação identificadas pelos autores em 1970. Além disso, chamou atenção para outro ponto relevante referente a *Anolis chrysolepis brasiliensis* que, ao contrário de seus coespecíficos, habita áreas de vegetação aberta. Vanzolini & Williams (1970)

consideraram todo o grupo como típico de áreas florestadas, essencial para se postular a separação do grupo em decorrência do isolamento de suas populações em refúgios florestais (Figuras 1 e 2). Com exceção dessa subespécie, todas as outras são consideradas como típicas de formações florestais fechadas, onde são usualmente encontradas sobre a serapilheira que cobre o chão da floresta (Caldwell & Vitt, 1999, Vitt & Zani, 1996; Mesquita et al, 2006; Vitt et al, 2008). Avila-Pires (1995) considerou que estudos mais aprofundados seriam necessários e que maior atenção deveria ser dada às possíveis relações entre as subespécies, pois as similaridades entre elas nem sempre coincidiam com a proximidade geográfica, como por exemplo no caso de *A. chrysolepis chrysolepis* e *A. chrysolepis tandai*.

A hipótese dos Refúgios sofreu várias críticas desde que foi apresentada, uma das quais diz respeito ao tempo de divergência postulado. A versão original indica claramente o Pleistoceno, ainda que posteriormente Haffer (1992, 1997, 2002), já em resposta a evidências de processos de especiação mais antigos (Colinvaux & Oliveira, 2001; Aleixo, 2004; Rosseti et al, 2005), argumente que mudanças climáticas similares tenham ocorrido também em períodos anteriores. Estudos moleculares mais recentes vêm corroborando a idéia de que grande parte da divergência vista entre espécies irmãs de vertebrados que habitam florestas tropicais datam de períodos anteriores ao Pleistoceno (Patton et al., 1996; Avise et al., 1998; Moritz et al., 2000, Glor et al., 2001, Patton & Silva, 2001; Pelegriño et al., 2005; Geurgas et al., 2008; Geurgas & Rodrigues, 2010).

Tais estudos envolvendo a fauna de lagartos tropicais têm aumentado significativamente nos últimos dez anos (Jackman et al, 1999; Moritz et al., 2000; Glor et al, 2001; Nicholson, 2002; Pelegriño et al., 2005; Nicholson et al., 2006; Gamble et al, 2007, 2008; Geurgas et al., 2008; Geurgas & Rodrigues, 2010). Dentre esses trabalhos, Glor et al. (2001) examinaram as relações filogenéticas das espécies de *Anolis* amazônicos utilizando os genes mitocondriais ND2, COI e RNA's transportadores adjacentes. A partir da calibração já existente de 0.65% de divergência por linhagem por milhões de anos para lagartos da família Agamidae para os mesmos genes, encontraram altos níveis de divergência na seqüência de DNA mitocondrial entre as espécies analisadas, rejeitando a hipótese de que essas espécies divergiram no período Pleistocênico e sugerindo que sua separação se deu no Mioceno ou antes.

De acordo com Glor et al. (2001), a divergência de haplótipos em *Anolis chrysolepis* sugere que a espécie é a mais antiga (15 ma) quando comparada com *Anolis fuscoauratus* (3 ma), *Anolis ortonii* e *Anolis punctatus* (ambas com 6-7 ma), que também ocupam toda a região amazônica. Além disso, a alta diferenciação genética encontrada pelos autores entre as populações geográficas de *A. chrysolepis* (representando três das cinco subespécies atualmente reconhecidas: *A. chrysolepis planiceps*, *A. chrysolepis scypheus*, *A. chrysolepis tandai*) sugere que sua diversificação provavelmente precede o Pleistoceno. Os autores concluem que estudos futuros acerca das interações geográficas genéticas entre as subespécies provavelmente iriam revelar que são espécies distintas (Figura 3).

Nicholson et. al (2005) ao testarem a hipótese de que as espécies de *Anolis* que habitam o continente descendem de um ancestral caribenho, observaram maior proximidade molecular entre as espécies *A. onca*, *A. annectans*, *A. lineatus*, *A. auratus*, *A. meridionalis* e *A. chrysolepis* (Figura 4), que formaram um grupo bem apoiado estatisticamente (probabilidade posterior Bayesiana 90-100).

Esse mesmo grupo foi estudado mais a fundo por Nicholson et. al, (2006) a fim de investigar a hipótese de evolução retrógrada de redução ou perda das lamelas subdigitais na série *onca* de *Anolis*. Nesse trabalho, *A. annectans* e *A. onca* formam um clado bem apoiado pelas análises de Máxima Parcimônia e Bayesiana, mas as demais relações interespecíficas não são bem apoiadas estatisticamente, permanecendo não resolvidas. Embora *A. chrysolepis* não tenha sido o foco do trabalho, os resultados não apoiaram a monofilia do grupo (considerando três subespécies: *A. c. scypheus*, *A. c. tandai* e *A. c. planiceps*), mas sugerem que *A. c. tandai* possa ser mais próximo de *A. meridionalis* e da série *onca*, ao invés dos seus co-específicos, *A. c. scypheus* e *A. c. planiceps* (Figura 5).

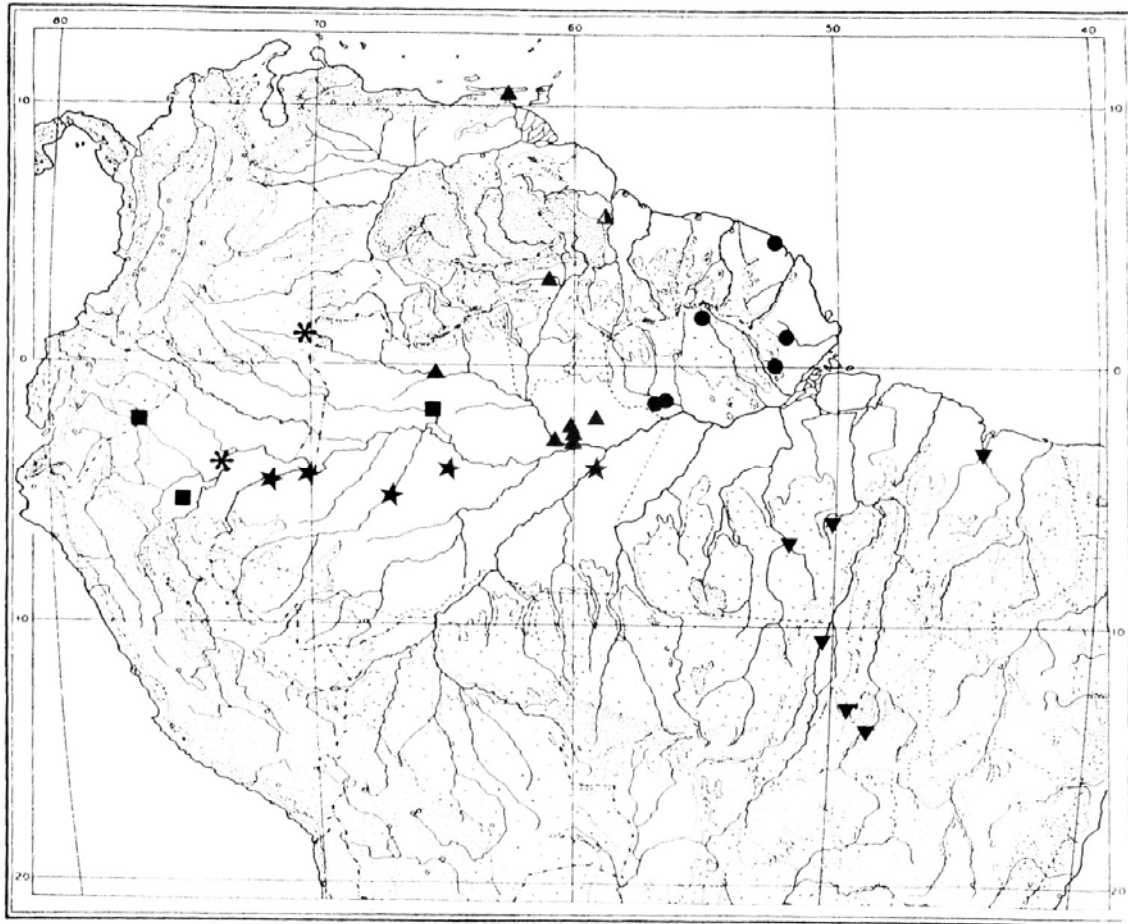


Figura 1: Mapa de Distribuição de *Anolis chrysolepis* e *Anolis bombiceps* retirado de Avila-Pires (1995) para a Amazônia brasileira: *A. c. brasiliensis* (triângulos invertidos), *A. c. chrysolepis* (círculos), *A. c. planiceps* (triângulos; triângulo meio aberto representa “Guyana”), *A. c. tandai* (estrelas), *A. c. scypheus* (quadrados) e *A. bombiceps* (asteriscos).

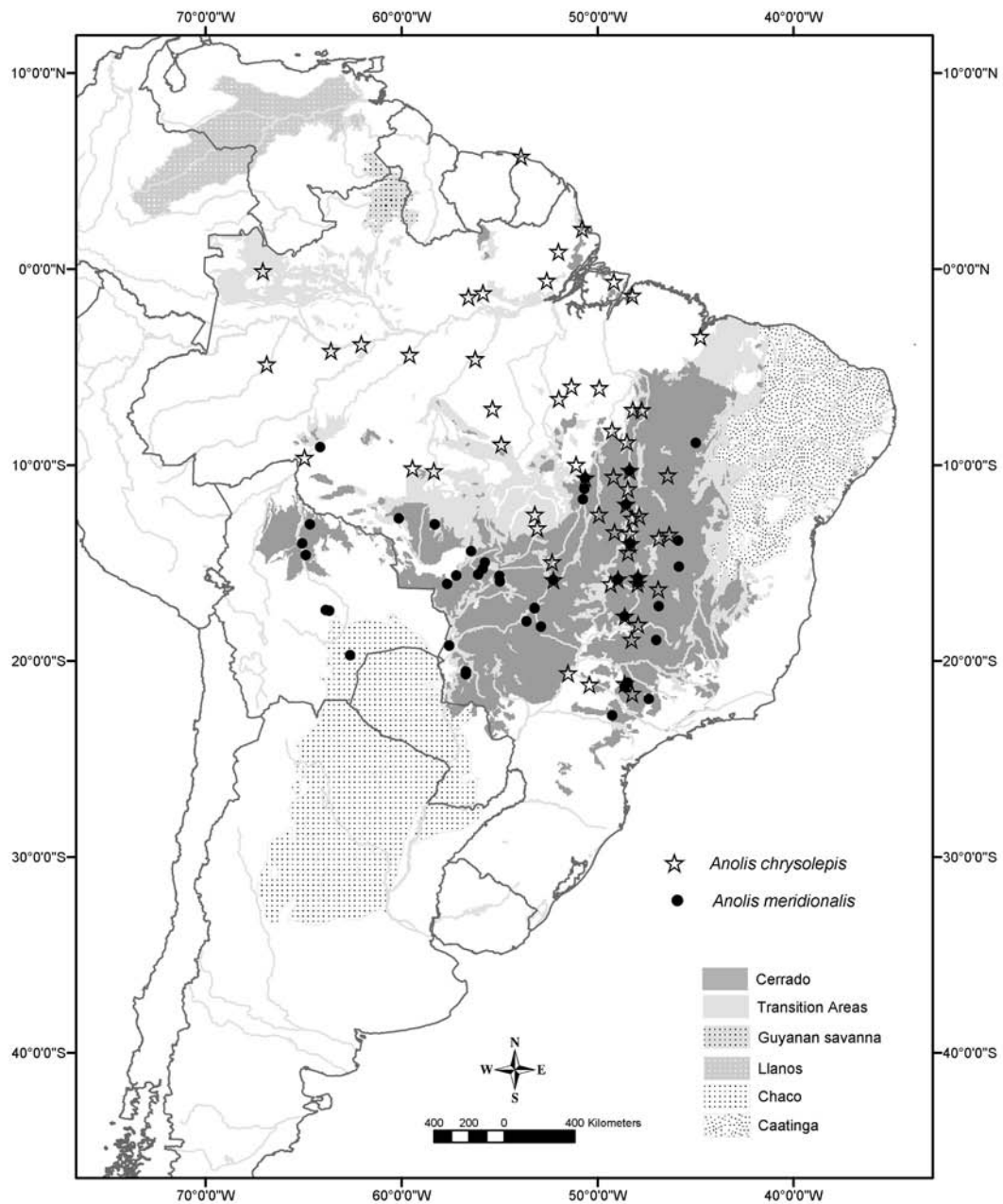


Figura 2: Mapa de distribuição das espécies *Anolis chrysolepis* e *Anolis meridionalis* no Brasil, retirado de Nogueira (2006). Os símbolos preenchidos em preto representam material examinado pelo autor nas coleções do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP) e Coleção Herpetológica da Universidade de Brasília (CHUNB), os demais representam dados obtidos da literatura.

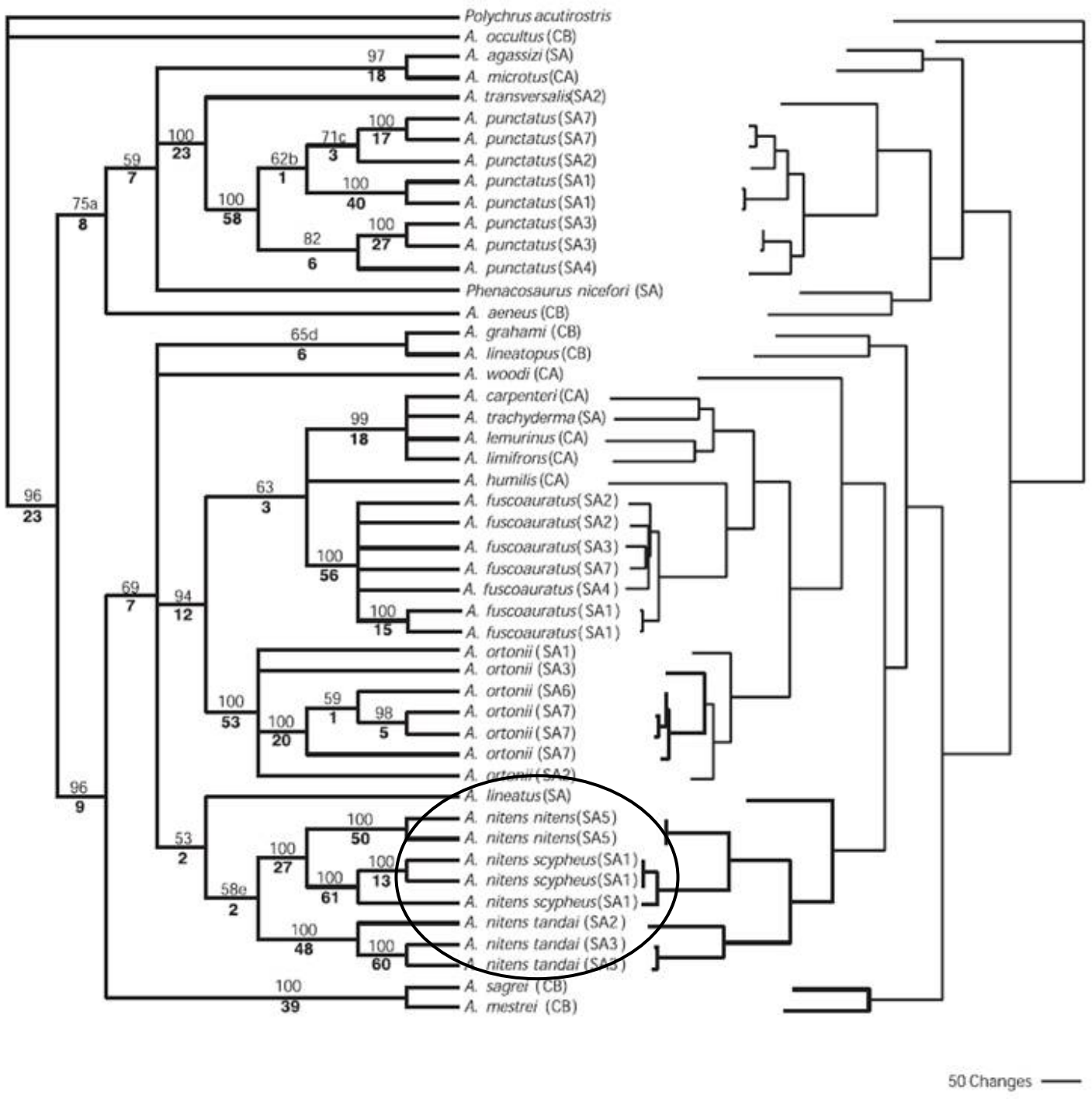


Figura 3: Árvore de máxima parcimônia (esquerda) e máxima verossimilhança (direita) do gênero *Anolis* na Amazônia. Números acima de cada clado representam bootstrap e abaixo o índice de bremer. Em destaque o clado formado por *A. nitens* (= *Anolis chrysolepis*) e *A. lineatus*. Retirado de Glor et. al, (2001).

Taxonomia

O gênero *Anolis* Daudin, 1802

O gênero *Anolis* pertence à família Polychrotidae (sensu Frost et al, 2001) e sua taxonomia tem como base o trabalho clássico de Etheridge (1960). Ao estudar a osteologia do grupo, ele dividiu *Anolis* em dois subgrupos diagnosticados pela morfologia das suas vértebras caudais: alfa e beta, sendo cada um subdividido em várias subseções e séries. Reconheceu também três gêneros distintos além de *Anolis*: *Chamaeleolis*, *Phenacosaurus* e *Chamaelinorops*. Apesar desse arranjo taxonômico ter sido amplamente utilizado, o próprio Etheridge percebeu algumas incongruências de caracteres em relação às seções alfa e beta (Etheridge, 1960). Savage & Talbot (1978) sugeriram que a seção beta de *Anolis* deveria ser tratada como gênero à parte *Norops* com base na suposição de que se tratava de um grupo monofilético.

Guyer & Savage (1986) apoiaram a monofilia da seção beta e aderiram à sugestão de que os representantes de tal seção fossem agrupados no gênero *Norops*. Reconheceram também quatro outros gêneros no lugar da seção alfa: *Anolis* (sensu strictu), *Ctenotus*, *Dactyloa* e *Xiphosurus*. As conclusões dos autores foram amplamente criticadas (Cannatella & de Queiroz, 1989; Williams, 1989) e a monofilia dos seus grupos foi tida como especulativa. Dessa forma, a grande maioria dos pesquisadores preferiu continuar utilizando *Anolis*, por alegar que o reconhecimento de *Norops*, na conformação taxonômica atual, deixaria *Anolis* parafilético (Cannatella & de Queiroz, 1989; Jackman et al., 1999; Poe, 2004; Nicholson et al., 2005).

Os demais gêneros sugeridos por Guyer & Savage (1986) e Savage & Guyer (1989) são raramente utilizados.

***Anolis chrysolepis* Duméril & Bibron, 1837**

A nomenclatura do grupo é bastante confusa, e tanto *nitens* quanto *chrysolepis* permanecem sendo utilizados como nomes válidos até o presente momento. A descrição original de *Draconura nitens* Wagler (1830) é bastante sucinta e se baseia principalmente em caracteres de coloração, que poderiam caracterizar diversas espécies de *Anolis*. O espécime tipo foi perdido e parece não haver registro de outro autor que o tenha examinado. Além disso, a localidade tipo “América” não é

informativa, se considerarmos toda a distribuição do gênero, que vai desde o sudoeste dos Estados Unidos, México, América Central, Antilhas até a América do Sul (Etheridge, 1960).

Em 1837, Duméril & Bibron descreveram *Anolis refulgens*, cuja localidade-tipo é Suriname, e mencionaram a possível sininímia com *Draconura nitens*. Nesse mesmo trabalho. Algumas páginas depois, descreveram também *Anolis chrysolepis*, proveniente de Mana, na Guiana Francesa. Berthold (1840) usou *refulgens* ao invés de *nitens* e acrescentou duas novas espécies, *chrysolepis* e *striata*, descrevendo o último. Atualmente, *A. striata* é reconhecido como sinônimo de *Anolis auratus*.

Ao longo do século XIX, o uso de *nitens* ou *refulgens* estava associado a apenas algumas listas de espécies de pouca importância, ao mesmo tempo em que *Anolis chrysolepis* Duméril & Bibron era reconhecida como espécie válida pela maioria desses autores (Myers & Donnelly, 2008).

Boulenger (1885), no seu *Catalogue of the Lizards in the British Museum*, listou *refulgens* como sinônimo junior de *nitens* e reconheceu tanto *Anolis nitens* como *Anolis chrysolepis* como espécies válidas, embora tenha identificado os 15 espécimes examinados por ele como *Anolis chrysolepis*.

Fowler (1913) descreveu a subespécie *Anolis nitens bondi*, tendo como localidade-tipo ‘Cariquito’ (segundo Vanzolini & Williams, 1970: 85, Cariaquito, na província de Paria, Sucre), na Venezuela. Barbour (1934) seguiu Boulenger (1885), listando *Anolis refulgens* como sinônimo de *A. nitens*.

Beebe (1944) coletou animais vivos em uma expedição a campo e reconheceu *A. nitens* e *A. chrysolepis* como as espécies mais abundantes de *Anolis* de Kartabo, Guiana, e Caripito, Venezuela. *Anolis chrysolepis* foi considerada uma espécie com padrões de linhas dorsais com infinita variação, enquanto *Anolis nitens* foi caracterizada por séries de marcas em formas de V no dorso, do pescoço à base da cauda. Shreve (1947) sinonimizou *Anolis chrysolepis* com *Anolis nitens* em uma nota sobre dois espécimes da Venezuela que foram capturados no momento de sua cópula, admitindo que a fêmea apresentava a linha vertebral mais clara de *A. chrysolepis* (padrão morfológico comum para as fêmeas de alguns *Anolis*) e o macho apresentava o padrão de marcas em V de *A. nitens* (Figura 4). Esse mesmo autor foi o primeiro a questionar a descrição de Wagler (1830). A partir desse trabalho, *nitens* passou a ser usado como nome válido por diversos autores para os espécimes da Venezuela (Roze, 1958; Test et al., 1966; Donoso-Barros, 1968), mas *chrysolepis* não foi descartado e

ambos continuaram a ser utilizados como espécies válidas no *Catalogue of Neotropical Squamata* (Peters & Donoso-Barros, 1970).

Vanzolini & Williams (1970) revisaram esse grupo, a que chamaram de “*Anolis chrysolepis* species group”, e consideraram treze nomes específicos que estavam disponíveis na época, com *Draconura nitens* Wagler (1830) sendo referido como o mais antigo. Para os autores, *Anolis refulgens* teria apenas a prioridade de algumas páginas em relação a *Anolis chrysolepis* e, por ter sido empregado somente em listas de tipos e sinonímia, tratar-se-ia de um *nomen oblitum*. Já *Draconura nitens* não representaria o sinônimo sênior de *A. chrysolepis*, mas sim um nome de aplicação incerta (*nomen dubium*), tendo em vista sua descrição vaga. Por essa razão, Vanzolini & Williams (1970) elegeram *Anolis chrysolepis* Duméril & Bibron (1837) como nome mais satisfatório e familiar para qualquer membro do grupo. Reconheceram *Anolis bombiceps* Cope 1876, cujo tipo parece ter sido perdido, como espécie válida e simpátrica a *Anolis chrysolepis scypheus*, uma vez que possuíam espécimes que se encaixavam na descrição original de Cope, procedentes de diversas localidades próximas a Nauta, Peru, localidade-tipo de *A. bombiceps*. Vanzolini & Williams também sinonimizaram *Anolis incompertus incompertus* a *Anolis chrysolepis scypheus*, através da análise do espécime-tipo utilizado na descrição de Barbour (1932), proveniente da localidade de Villa-Vicencio, na Colômbia. *Anolis nitens bondi* Fowler (1913) foi considerado sinônimo de *A. chrysolepis planiceps*, tendo como base o exame de espécimes de Yacua, localidade próxima a Cariaquito, Venezuela (localidade-tipo de *A. n. bondi*), em vista de terem encontrado o holótipo desse táxon mal preservado, impedindo uma análise adequada de seus caracteres.

Hoogmoed (1973) seguiu a nomenclatura proposta por Vanzolini & Williams (1970), mas sugeriu que a Comissão Internacional de Nomenclatura Zoológica (ICZN) fosse consultada para que o nome *nitens* fosse suprimido e a estabilidade nomenclatural fosse então obtida.

Para Savage & Guyer (1989) *A. chrysolepis* foi considerada como espécie válida, seguindo o proposto por Vanzolini & Williams (1970). Contudo, em 1991, os autores mudaram de opinião alegando que *nitens* já possuía 125 anos de uso contínuo e que a proposta de Vanzolini & Williams (1970) não era apenas contrária ao Código, como também desestabilizava um nome amplamente aceito. Tanto Hoogmoed (1973) como Savage & Guyer (1991) consideraram que, tendo em vista o princípio da

prioridade estabelecido pelo Código Internacional de Nomenclatura Zoológica, a supressão de um nome mais antigo só poderia ser decidida pela ICZN.

Avila-Pires (1995) seguiu Savage & Guyer (1991) na utilização do nome *Anolis nitens*, considerando que até aquele momento nenhuma solicitação havia sido enviada à ICZN para supressão desse nome. Além disso, descreveu uma nova subespécie, *Anolis nitens tandai*, proveniente de localidades entre Borba e Benjamin Constant, no Amazonas, Brasil.

Alguns autores (Shreve, 1947; Vanzolini & Williams, 1970; Myers & Donnelly, 2008) foram bastante explícitos quanto à inadequação da descrição original de *A. nitens*, pois, sem uma localidade-tipo específica e sem um holótipo conhecido, só é possível reconhecer a espécie a partir da vaga descrição original. Para Vanzolini & Williams (1970) e recentemente enfatizado por Myers & Donnelly (2008), *A. nitens* só poderia ser reconhecido através dos caracteres de coloração, uma vez que a morfologia geral descrita pode até excluir alguns táxons, mas não oferece o reconhecimento de caracteres específicos de uma determinada espécie de *Anolis*. Tendo em vista que os dois nomes, *A. nitens* e *A. chrysolepis*, continuam sendo utilizados por diferentes autores, C. W. Myers enviou, em dezembro de 2007, uma proposta à ICZN de supressão do nome *nitens* Wagler (1840).

Tendo em vista que nenhuma decisão foi ainda publicada pela Comissão Internacional de Nomenclatura Zoológica e levando em consideração os argumentos acima citados acerca da vaga descrição de *nitens*, da ausência de tipo, da falta de especificidade quanto à sua localidade-tipo e por considerá-lo como um nome de aplicação incerta, adoto neste trabalho o nome *Anolis chrysolepis* como permitido pelo Código, Artigo 23.3.6 (ICZN, 1999).

A problemática do Conceito de Espécie e o uso do termo subespécie

O tratamento taxonômico de muitas espécies, principalmente daquelas politípicas, depende fundamentalmente do que entendemos por espécie (Aleixo, 2007). Ao longo dos últimos cinquenta anos, diversos conceitos de espécie têm sido propostos e, com isso, debates infundáveis têm dominado o ramo da biologia evolutiva abordando qual o melhor conceito de espécie a ser adotado e por que.

Dentre diversos conceitos, destacam-se o Conceito Biológico de Espécie (CBE) e o Conceito Filogenético de Espécie (CFE). Segundo Mayr (1942), o CBE

define como espécie grupos de populações naturais, atual ou potencialmente intercruciantes e reprodutivamente isoladas de outros grupos, ou ainda, uma comunidade reprodutiva de populações (reprodutivamente isolada de outras) que ocupa um nicho específico na natureza (Mayr 1988). O CFE, por sua vez, define espécie como o menor grupo diagnosticável de organismos individuais, entre os quais há um padrão parental de ancestralidade e descendência (Cracraft 1983). As diferentes propriedades que são destacadas em cada conceito, como por exemplo, isolamento reprodutivo, monofilia recíproca e diagnosticabilidade, são certamente importantes na separação das linhagens, embora não sejam úteis na detecção da separação das linhagens nos estágios iniciais de divergência (de Queiroz 1998, 2007, Aleixo 2007).

O problema atual do conceito de espécie está diretamente ligado ao problema de delimitação de espécies (de Queiroz, 1998, 2005, 2007), ou seja, como determinar os limites e os números de espécies a partir de dados empíricos. Nas tentativas anteriores de se resolver o problema de conceitualização, todos os conceitos de espécies propostos enfatizaram as diferenças entre os conceitos conflitantes, ao invés de buscar um denominador comum entre eles. Para de Queiroz (1998, 1999, 2005, 2007) os atuais conceitos de espécie possuem uma unidade conceitual comum semelhante, que garante a base para um conceito de espécie unificado, uma vez que todos eles consideram espécies como segmentos de linhagens evolutivas de níveis populacionais.

Esse conceito mais geral, batizado por de Queiroz (1998) de Conceito Filético Geral de Espécies (CFGE), leva em consideração o componente temporal do processo de cladogênese que microevolutive culmina com a produção de espécies cujos genomas não mais se misturam (de Queiroz, 2005, 2007; Aleixo, 2007). Na definição de espécie do CFGE, o sub-critério monofilia para determinação de limites inter-específicos está intimamente relacionado com a questão do isolamento reprodutivo (Aleixo, 2007). Em genética de populações, populações em divisão durante o processo de cladogênese evoluem de modo crescente da polifilia e parafilia para a monofilia e a monofilia recíproca entre elas só é atingida depois de muitas gerações após a interrupção do fluxo gênico (Avice, 2000). Portanto, o isolamento reprodutivo é consequência (e não causa) do processo cladogenético (de Queiroz, 1999, 2007; Aleixo, 2007) e considerar a especiação como um processo relativamente extenso é a chave para a compreensão da proposta do Conceito Filético Geral de Espécie.

Quando populações distintas são capazes de serem corretamente diagnosticadas, todos os “conceitos” as reconhecem como entidades distintas. O que muda apenas é que no CBE, por exemplo, em alguns casos elas são denominadas de subespécies, enquanto o CFE já as considera como espécies (Aleixo, 2007). Assim, independentemente da ênfase dada por cada um dos “conceitos”, eles constituem unicamente critérios distintos e alternativos para a definição de espécie dentro de um mesmo conceito unificado de espécie (de Queiroz, 1998, 2007).

Outro termo que tem sido bastante debatido na ciência é o termo subespécie. Na zoologia, a grande maioria dos autores que fazem uso desse termo se refere à variedades geográficas, ou seja, qualquer população natural com alguma diferenciação, mas que ainda não seja suficientemente distinta das demais para ser chamada de espécie é denominada subespécie (Mayr, 1982). Contudo, ultimamente, a validade do termo tem sido questionada por diversos autores (Mayr, 1982; Cracraft 1983; McKittrick & Zink 1988; Frost et al., 1992; Frost & Kluge 1994, Burbrink et al., 2000, Zink, 2004). Mayr (1982) acredita que o termo subespécie não seja realmente um conceito de biologia evolutiva, mas simplesmente facilite o trabalho diário de um curador de museu. Frost et. al., (1992) também acreditam que seja mais prudente manter a nomenclatura subespecífica em museus até que estudos futuros esclareçam as relações reais dos grupos. Por outro lado, o termo foi bastante usado para designar espécies incipientes, isto é, sub-linhagens isoladas que podem vir a se tornar espécies distintas (Mayr, 1982; Burbrink et al., 2000), embora tal aplicação tenha sido criticada por necessitar de um conhecimento inacessível e prévio do futuro (Burbrink et al., 2000).

Mais recentemente, Zink (2004) chamou atenção para as análises de DNA mitocondrial que são capazes de elucidar as relações filogenéticas entre subespécies, revelando se elas evoluíram de forma independente, se há fluxo gênico entre elas, ou ainda se elas se encontram em um estágio intermediário de isolamento. Além disso, pelas subespécies quase nunca serem unidades historicamente independentes e por não representarem as entidades evolutivas existentes, o foco em subespécies pode desviar os esforços de conservação (Zink, 2004; Aleixo, 2007). Conseqüentemente, o termo subespécie não possui um significado taxonômico real se usado para designar espécies incipientes ou grupos com caracteres escolhidos de forma arbitrária.

Síntese

O presente trabalho teve como principais objetivos analisar as relações filogenéticas do complexo *Anolis chrysolepis*, com base em seqüências de DNA mitocondrial (ND2) de todas as cinco subespécies atualmente reconhecidas, considerando os táxos previamente demonstrados como mais relacionados a elas - *Anolis bombiceps*, *Anolis auratus*, *Anolis lineatus*, *Anolis meridionalis*, *Anolis annectans* e *Anolis onca* (Glor et al., 2001; Nicholson, 2002; Nicholson et al., 2005); analisar a congruência entre os resultados moleculares e os dados morfológicos dos grupos atualmente reconhecidos; e avaliar o status taxonômico das subespécies atualmente reconhecidas.

Caracteres merísticos e morfométricos foram obtidos a partir da análise de 274 espécimes provenientes de diversas coleções herpetológicas nacionais e internacionais. Para a análise molecular, 39 amostras de tecidos foram seqüenciadas, incluindo tecidos de todas as subespécies de *Anolis chrysolepis* e de táxons mais relacionados a elas. Seqüências de trabalhos anteriores depositadas no GenBank também foram utilizadas.

Com base nos caracteres morfológicos e nas árvores de Máxima Parcimônia e Máxima Verossimilhança, elevamos as cinco subespécies do complexo *Anolis chrysolepis* ao status de espécie, adotando o Conceito Filético Geral de Espécie (de Queiroz, 1998). Cada espécie é diagnosticada, destacando-se as diferenças entre as espécies-irmãs, e novos dados de distribuição são apresentados.

Os métodos e os resultados encontrados durante o estudo são apresentados a seguir de forma mais detalhada, em formato de artigo, em língua inglesa. A formatação segue aquela da revista *Zootaxa*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aleixo, A. 2004. Historical Diversification of a Terra-firme Forest bird superspecies: a Phylogeographic perspective on the role of different hypotheses of Amazonian diversification. *Evolution*. 58(6): 1303–1317.

Aleixo, A. (2007) Conceitos de espécie e o eterno conflito entre continuidade e operacionalidade: uma proposta de normatização de critérios para o reconhecimento

de espécies pelo Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos. *Revista Brasileira de Ornitologia* 15 (2), 297–310.

Avila-Pires, T. C. S. (1995). Lizards of Brazilian Amazonia (Reptilia: Squamata). *Zoologische Verhandelingen Leiden* 299, 1-706.

Avice, J.C., Walker, D., Johns, G.C. (1998). Speciation durations and Pleistocene effects on vertebrate phylogeography. *Proceedings of the Royal Society of London*. 265, 1707- 1712.

Avice, J. C. (2000) *Phylogeography: the history and formation of species*. Cambridge: Harvard University Press.

Ayres J.M., Clutton-Brock T.H. (1992) River boundaries and species range size in Amazonian primates. *American Naturalist* 140, 531–37

Bates, J.M., Hackett, J.S., Cracraft, J. (1998) Area-Relationships in the Neotropical Lowlands: An Hypotesis Based on Raw Distributions of Passerine Birds. *Journal of Biogeography*. 25 (4), 783-793.

Bates, J.M. (2001) .Avian Diversification in Amazonia: evidence for historical complexity and a vicariance model for a basic diversification pattern. In I.C.G. Vieira; J.M.C. da SILVA; D.C. Oren & M.A. D’Incao (Eds). *Diversidade Cultural e Biológica da Amazônia*. Belém, Museu Paraense Emílio Goeldi, pp. 119-138

Barbour, T. (1934) The anoles II. The mainland species from Mexico southward. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology* 77(4), 121–155.

Beebe, W. (1944) Field notes on the lizards of Kartabo, British Guiana, and Caripito, Venezuela. Part 2. Iguanidae. *Zoologica*. 29(18), 195–216.

Berthold, A.A. (1840) Ueber verschiedene neue oder seltene Amphibienarten. *Gottingische Gelehrte Anzeigen* 2, 889–902.

Bocourt, M. (1874) *Anolis (Draconura) nitens*, Wagler. *Anolis refulgens*, type (Schlegel) Mus. de Leyde. De Surinam. In Duméril, A.H.A.; Bocourt, M. F. and Mocquard, F. (Eds.), *Études sur les reptiles. In Mission scientifique au Mexique et dans l'Amérique Centrale* Paris: Imprimerie nationale. pp 1870–1909.

Boulenger, G.A. (1885). *Catalogue of the lizards in the British Museum (Natural History)*. 2, pp.497.

Brumfield, R.T., Edwards, S.V. (2007). Evolution into and out of the Andes: a bayesian analysis of historical diversification in *thamnophilus antshrikes*. *Evolution*. pp. 346-367.

Bull, J.J., Huelsenbeck, J.P., Cunningham, C.W., Swofford, D.L.. 1993. Partitioning and combining data in phylogenetic analysis. *Systematic Zoology*. 42, 384–397.

Burbrink, F.T., Lawson, R., Slowinski, J.B. (2000) Mitochondrial DNA Phylogeography of the Polytypic North American Rat Snake (*Elaphe obsoleta*): A Critique of the Subspecies Concept. *Evolution*, 54(6), 2107–2118.

Cannatella, D.C., De Queiroz, K. (1989) Phylogenetic Systematics of the Anoles: Is a New Taxonomy Warranted? *Systematic Zoology*. 38 (1), 57-69.

Caldwell, J. P. & Vitt, L.J. (1999) Dietary asymmetry in leaf litter frogs and lizards in a transitional northern Amazonian rain forest. *Oikos* 84, 386-397.

Capobianco, J.P.R., Veríssimo, A., Moreira, A., dos Santos, I., Pinto, L.P., Sawyer, D. (2001) *Biodiversidade na Amazônia Brasileira*. Editora Estação Liberdade & Instituto Socioambiental, São Paulo, SP. 544 p.

Castoe, Todd A., Tiffany M. Doan, and Christopher L. Parkinson. (2004) Data partitions and complex models in Bayesian analysis: the phylogeny of Gymnophthalmid lizards. *Systematic Biology* 53(3), 448–469.

Colinvaux, P. A. & P.E. De Oliveira. (2001) Amazon plant diversity and climate through the Cenozoic. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 166, 51-63.

Cracraft, J. (1983). Species concepts and speciation analysis. *Current Ornithology* 1, 159-187.

Cracraft, J. (1985). Historical biogeography and patterns of differentiation within the South American avifauna: areas of endemisms. *Ornithological Monographs* 36, 49-84.

Cracraft, J. (1988) Deep-history biogeography: retrieving the historical pattern of evolving continental biotas. *Systematic Zoology* 37, 221-236.

de Queiroz, K. (1998) The general lineage concept of species, species criteria, and the process of speciation: a conceptual unification and terminological recommendations. In: Howard, J. D. & Berlocher, S. J. (Eds.), *Endless forms, species, and speciation..* Oxford University Press. pp. 57–75.

de Queiroz, K. 1999. The general lineage concept of species and the defining properties of the species category. In *Species: New interdisciplinary essays* (R. A. Wilson, ed.). Pag.49-89. MIT Press, Cambridge, Massachusetts.

de Queiroz, K. 2005. Ernst Mayr and the modern concept of species. *Proceedings of National Academy of Science*. 102: 6600-6607.

De Queiroz, K. 2007. Species concept and species delimitation. *Systematic Biology*. 56(6):879–886.

Donoso-Barros, Roberto. 1968. The lizards of Venezuela (check list and key). *Caribbean Journal of Science*. 8(3/4): 105–122.

Duméril, A.M. Constant, and Gabriel Bibron. 1837. *Erpétologie général ou histoire naturelle complète des reptiles*, vol. 4. Paris: Librairie Encyclopédique de Roret, 571 pp.

Endler, J. 1982. Pleistocene forest refuges: fact or fancy, p. 179- 200. In: G.T. Prance (Ed.). *Biological diversification in the tropics*. New York, Columbia University Press, 714p.

Etheridge, R. 1960. The relationships of the anoles (Reptilia: Sauria: Iguanidae): an interpretation based on skeletal morphology. Ph.D. diss., Univ. Michigan. 236 pp.

Fowler, H.W. 1913. Amphibians and reptiles from Ecuador, Venezuela and Yucatan. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*. 2: 153–176.

Frost, D. R. e Hill, D. M. 1990. Species in concept and practice: herpetological applications. *Herpetologica* 46: 87–104.

Frost, D. R., A. G. Kluge, and D. M. Hillis. 1992. Species in contemporary herpetology: comments on phylogenetic inference and taxonomy. *Herpetological Review* 23:46–54.

Frost, D. R., and A. G. Kluge. 1994. A consideration of epistemology in systematic biology, with special reference to species. *Cladistics* 10:259–294.

Gamble, T., Bauer, A. M., Greenbaum, E., Jackman, T. R. 2007. Evidence for Gondwanan vicariance in an ancient clade of gecko lizards. *Journal of Biogeography*. Journal compilation.

Gamble, T., Simons, A.M., Colli, G. R., Vitt, L. J. 2008. Tertiary climate change and the diversification of the Amazonian gecko genus *Gonatodes* (Sphaerodactylidae, Squamata). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 46: 269–277.

Geurgas, S. R., Rodrigues, M. T., Moritz, C. 2008. The genus *Coleodactylus* (Sphaerodactylinae, Gekkota) revisited: A molecular phylogenetic perspective. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 49: 92–101.

Geurgas, S. R. & Rodrigues, M. T. 2010. The hidden diversity of *Coleodactylus amazonicus* (Sphaerodactylinae, Gekkota) revealed by molecular data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 54: 583–593.

Glor, R.E., L.J. Vitt, and A. Larson. 2001. A molecular phylogenetic analysis of diversification in Amazonian *Anolis* lizards. *Molecular Ecology* 10 (11): 2661–2668.

Goulding M., Barthem R., Ferreira E.J.G. 2003. The Smithsonian Atlas of the Amazon. Smithsonian Institution Press, Washington, DC, 256 pp.

Grau, E.T; S.L. Pereira; L.F. Silveira; E. Höfling & A. Wajntal. 2005. Molecular phylogenetic and biogeography of Neotropical piping guans (Aves: Galliformes): *Pipile* Bonaparte, 1856 is synonym of *Aburria* Reichenbach, 1853. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 35: 637-645.

Guyer C, Savage JM. 1986. Cladistic relationships among anoles (Sauria: Iguanidae). *Systematic Zoology* 35 –531.

Haffer, J. 1969. Speciation in Amazonian forest birds. *Science* 165: 131-137.

Haffer, J. 1974. Avian Speciation in Tropical South America. Nuttall Ornithology Club. Cambridge, MA.

Haffer, J. 1985. Avian zoogeography of the neotropical lowlands. *Ornithological Monographs* 36: 113-145.

Haffer, J. & J.W. Fitzpatrick. 1985. Geographic variation in some amazonian forest birds. *Ornithological Monographs* 36: 147-168.

Haffer, J. 1992. On the “river effect” in some forest birds of southern Amazonia. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, Série Zoologia*, 8: 217-245.

Haffer, J. 1997. Alternative models of vertebrate speciation in Amazonia: an overview. *Biodiversity and Conservation*. 6(3): 451-476.

Haffer, J. 2001. Hypotheses to explain the origin of species in Amazonia, p. 45- 118. In: I.C.G. Vieira; J.M.C. da Silva; D.C. Oren & M.A. D'incao (Eds). *Diversidade cultural e biológica da Amazônia*. Belém, Museu Paraense Emílio Goeldi, 421p.

Heyer, W. R. 1984. Variation, Systematics, and Zoogeography of *Eleutherodactylus guentheri* and closely related species (Amphibia: Anura: Leptodactylidae). *Smithsonian Contributions to Zoology*, 402: 1-42.

Hillis, D. M. 1987. Molecular versus morphological approaches to systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 18:23–42. Hoogmoed, M. S. 1973. Notes on the herpetofauna of Surinam IV. The lizards and amphisbaenians of Surinam. *Biogeographica* 4: 419 pp.

Hoogmoed, Marinus S. 1973. Notes on the herpetofauna of Surinam IV. The lizards and amphisbaenians of Surinam. The Hague: W. Junk. *Biogeographica* 4: 419 pp.

Huelsenbeck, J.P., B. Rannala, J.P. Masly. 2000. Accommodating phylogenetic uncertainty in evolutionary studies. *Science* 288:2349– 2350.

ICZN. 1999. International code of zoological nomenclature, 4th ed. London: International Trust for Zoological Nomenclature, xxxix, 306 pp.

Jackman, T.R., Larson, A., Queiroz, K.D., Losos, J.B., 1999. Phylogenetic relationships and temp of early diversification in *Anolis* lizards. *Systematic Biology*. 48:403-420.

Klekca, R. W. 1980. Discriminant Analysis. Sage University Paper Series Quantitative Applications in the Social Sciences 07-019. Beverly Hills and London: Sage pubns. 71 pp.

Losos, J.B., Jackman, T.R., Larson, A., Queiroz, K., Rodríguez-Schettino, L., 1998. Contingency and determinism in replicated adaptive radiations of island lizards. *Science* 279: 2115-2118.

Macey, J.R., A. Larson, N.B. Ananjeva, Papenfuss, T.J. 1997. Evolutionary shifts in three major structural features of the mitochondrial genome among Iguanian lizards. *Journal of Molecular Evolution* 44:660–674.

Manly, B.F.J. (1994). *Multivariate Statistical Methods*. 2nd ed. Chapman and Hall, London, 215 pp.

Mayr, E. 1942. *Systematic and the origin of species*. Columbia University Press, New York.

Mayr, E. 1982. *The growth of biological thought: diversity, evolution, and inheritance*. Cambridge: Harvard University Press.

Mayr, E., O'Hara, R.J. 1986. The Biogeographic Evidence Supporting the Pleistocene Forest Refuge Hypothesis. *Evolution*. 40 (1): 55-67.

Mayr, E. 1988. *Toward a new Philosophy of Biology: observations of an Evolutionist*. Harvard University Press, Cambridge, MA.

McKittrick, M. C., and R. M. Zink. 1988. Species concepts in ornithology. *Condor* 90:1–14.

Mesquita, D.O, Colli, G.R., França, F. G. R. and Vitt, L.J. 2006. Ecology of a Cerrado Lizard Assemblage in the Jalapão Region of Brazil. *Copeia* 3: 460-471.

Moritz, C., Patton, J. L., Schneider, C. J. e Smith T. B. 2000. Diversification of rainforest faunas: an integrated molecular approach. *Annual Review of Ecology and Systematics* 31: 533–563.

Myers, C.W., Donnelly, M.A. 2008. The summit herpetofauna of Auyantepui, Venezuela: report from the Robert G. Goelet American Museum – Terramar Expedition. *Bulletin of The American Museum of Natural History*. N. 308, 147 pp.

Nicholson, K.E., 2002. Phylogenetic analyzes and a test of the current Infrageneric classification of *Norops* (Beta *Anolis*). *Herpetological Monographs*. 16:93-120.

Nicholson KE, Glor RE, Kolbe JJ, Larson A, Hedges SB, Losos JB. 2005. Mainland colonization by island lizards. *Journal of Biogeography* 32:929–938

Nicholson, K.E., Mijares-Urrutia, A. and Larson, A. 2006. Molecular Phylogenetics of the *Anolis onca* Series: A Case History in Retrograde Evolution Revisited. *Journal of Experimental Zoology (Mol. Dev. Evol.)* 306B:450–459.

Nogueira, C. C. 2006. Diversidade e padrões de distribuição da fauna de lagartos do Cerrado. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo. São Paulo.

Patton, J.L., da Silva, M.N.F, Malcolm, J.R.1996. Hierarchical genetic structure and gene flow in three sympatric species of Amazonian rodents. *Molecular Ecology*, 5:229-238.

Patton, J. & M.N. Silva. 2001. Molecular phylogenetics and the diversification of Amazonian mammals. p. 139-166. In: I.C.G. Vieira; J.M.C. da Silva; D.C. Oren & M.A. D’Incao (Eds). *Diversidade cultural e biológica da Amazônia*. Belém, Museu Paraense Emílio Goeldi, 421p.

Pellegrino, K. C. M., Rodrigues, M. T., Waite, A.N., Morando, M., Yassuda, Y.Y., Sites, J.W. 2005. Phylogeography and species limits in the *Gymnodactylus darwinii* complex (Gekkonidae, Squamata): genetic structure coincides with river systems in the Brazilian Atlantic Forest. *Biological Journal of the Linnean Society*. 85: 13–26.

Pereira, S. 2000. Filogenia e Evolução Molecular em Cracidae (Aves). Tese de Doutorado. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo – Brasil.

Peters, J. A., Donoso-Barros R. 1970. Catalogue of the Neotropical squamata. Part II. Lizards and amphisbaenians. *United States National Museum Bulletin* 297: viii, 1–293.

Poe S. 2004. Phylogeny of Anoles. *Herpetological Monographs*, 18:37–89.

Ronquist, F., Huelsenbeck, J.P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19 (12):1572– 1574.

Rossetti, D. F.; Toledo, P.M. and A. M. Goés. 2005. New geological framework for Western Amazonia (Brazil) and implications for biogeography and evolution. *Quaternary Research* 63: 78– 89.

Roze, J. A. 1958. Los reptiles del Auyantepui, Venezuela, basandose en las colecciones de las expediciones de Phelps-Tate, del American Museum of Natural History, 1937–1938, y de la Universidad Central de Venezuela, 1956. *Acta Biologica Venezuelica* 2(22): 243–270.

Roze, J. A. 1958. Los reptiles del Chimantá Tepui (Estado Bolívar, Venezuela) colectados por la expedición botánica del Chicago Natural History Museum. *Acta Biologica Venezuelica* 2(25): 299–314.

Savage, J.M., Guyer, C., 1989. Infrageneric classification and species composition of the anole genera, *Anolis*, *Ctenotus*, *Dactyloa*, *Norops* and *Semiurus* (Sauria: Iguanidae). *Amphibia-Reptilia* 10: 105-116.

Savage, J. M., Guyer, C. 1991. Nomenclatural notes on anoles (Sauria: Polychridae): stability over priority. *Journal of Herpetology* 25(3): 365–366.

Savage, J. M., and J. J. Talbot. 1978. The giant anoline lizards of Costa Rica and western Panama. *Copeia* 480-492.

Silva, M.N.F. & J.L. Patton. 1998. Molecular phylogeography and the evolution and conservation of Amazonian mammals. *Molecular Ecology* 7: 475-486.

Shreve, B. 1947. On Venezuelan reptiles and amphibians collected by Dr. H. G. Kugler. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology* 99(5): 519–537.

Smith, T.B.; R.K.Wayne; D.J. Girman & M.W. Bruford. (1997). A role of ecotones in generating rainforest biodiversity. *Science* 276: 1855-1857.

Snow, D.W. (1978). *An Atlas of Speciation in African Non- passerine Birds*. British Museum (Natural History) London, UK.

Swofford, D. L. (2001) PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony (and other methods). Version 4.0 Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

Test, Frederick H, Owen J. Sexton, and Harold Heatwole. 1966. Reptiles of Rancho Grande and vicinity, Estado Aragua, Venezuela. *Miscellaneous Publications Museum of Zoology University of Michigan* 128: 1–63.

Vanzolini, P.E., Williams, E.E., 1970. South American anoles: the geographic differentiation and evolution of the *Anolis chrysolepis* species group (Sauria: Iguanidae). Part 1. *Arq. Zool. (São Paulo)* 19:1-124.

Vanzolini, P.E., Williams, E.E., 1970. South American anoles: the geographic differentiation and evolution of the *Anolis chrysolepis* species group (Sauria: Iguanidae). Part 2. *Ibid.* 19:125-298.

Vanzolini, P.E., Williams, E.E., 1981. The Vanishing refuge: a mechanism for ecogeographic speciation. *Papéis Avulços de Zoologia (São Paulo)* 34:251-255.

Vitt, L.J., Zani, P.A., 1996. Ecology of the South American Lizard *Norops chrysolepis* (Polychrotidae). *Copeia* 1996: 56-58.

Vitt, L.J., Sartorius, S.S., Avila-Pires, T.C.S., Espósito, M.C., 2001. Life on the Leaf Litter: The Ecology of *Anolis nitens tandai* in the Brazilian Amazon. *Copeia* (2), pp. 401-412.

Vitt, L.J., Shepard, D.B., Vieira, G.H.C., Caldwell, J.P., Colli, G.R., Mesquita, D.O. 2008. Ecology of *Anolis nitens brasiliensis* in Cerrado Woodlands of Cantão. *Copeia*, No. 1, 144–153.

Wagler, Johann Georg. 1830. *Natürliches System der Amphibien, mit vorangehender Classification der Saugthiere und Vogel*. Munich: J.G. Cotta, vi, pp. 354.

Williams, E.E., 1969. The Ecology of colonization as seen in the zoogeography of anoline lizards on small islands. *Q. Rev. Biol.* 44:345-389.

Williams, E. E. 1976. South American anoles: The species groups. *Papéis Avulsos de Zoologia*, Sao Paulo, 29: 259-268.

Williams, E.E., 1983. Ecomorphs, fauna, island size and diverse end points in island radiation of *Anolis*. In *Lizard Ecology: studies of a model organism*. In: Huey, R.B., Schoener, T.W., Pianka, E.R. pp. 326-370. Harvard Univ. Press, Cambridge, MA.

Williams, E.E., 1989. A Critique of Guyer and Savage (1986): Cladistic Relationships Among Anoles (Sauria: Iguanidae): are the data available to reclassify the Anoles? *Biogeography of The West Indies*. 433-478.

Zink R. M. e Mckitrick, M. C. 1995. The debate about species concepts and its implications for ornithology. *Auk* 112: 701–719.

Zink R. M. 2004. The role of subspecies in obscuring avian biological diversity and misleading conservation policy. *Proc. R. Soc. Lond. B* 271: 561–564.

MOLECULAR PHYLOGENY AND TAXONOMY OF THE *ANOLIS*
CHRYSOLEPIS GROUP DUMÉRIL & BIBRON, 1837 (SQUAMATA:
POLYCHROTIDAE)

Annelise D'Angiolella¹, Tony Gamble², Teresa Avila-Pires³, Guarino R. Colli⁴, Brice
P.Noonan⁵ and Laurie J. Vitt⁶

1 Programa de Pós-Graduação em Zoologia UFPA-MPEG, Belém, PA, Brazil

2 University of Minnesota, Minneapolis, MN, USA

3 Museu Paraense Emilio Goeldi, Belém, PA, Brazil

4 Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brazil

5 The University of Mississippi, University, MS, USA

6 University of Oklahoma, Norman, OK, USA

e-mail:

¹ annelise.dangiolella@gmail.com

² gamb1007@umn.edu

³ avilapires@museu-goeldi.br

ABSTRACT

We used the mitochondrial gene (ND2) to estimate phylogenetic relationships among the *Anolis chrysolepis* subspecies and the taxa previously hypothesized as related to them. In addition, their morphology and taxonomy status were revisited in order to confirm the congruence among the molecular and morphological datasets, determining if morphologically defined taxa are valid species. Based on both datasets, we present a revised taxonomy that incorporates this phylogenetic information, elevating each *Anolis chrysolepis* subspecies to species status. Furthermore, we provide new diagnosis for each one of them with comments about the main morphological differences between the sister taxon and new distribution data.

Key words: *Anolis*, Amazon, Polychrotidae, molecular phylogeny, taxonomy

RESUMO

Utilizamos o gene mitocondrial ND2 para investigar as relações filogenéticas entre as subespécies de *Anolis chrysolepis* e os táxons determinados em estudos anteriores como mais próximos a elas. Além disso, a sua morfologia e o seu status taxonômico foram revisados a fim de confirmar a congruência entre os dados morfológicos e moleculares, determinando se os táxons previamente reconhecidos morfológicamente são espécies válidas. Com base nos dois conjuntos de dados, apresentamos uma revisão taxonômica que incorpora a informação filogenética, elevando as cinco subespécies de *Anolis chrysolepis* ao status de espécies. Assim, diagnosticamos cada uma delas com comentários sobre as principais diferenças morfológicas entre as espécies irmãs e fornecemos novos dados de distribuição.

Palavras-chave: *Anolis*, Amazônia, Polychrotidae, filogenia molecular, taxonomia

INTRODUCTION

The problem of species delimitation and conceptualization has long been confused and for over the last fifty years many different species concepts have been proposed, leading to endless debates about which concept should be adopted and why. Each species concept focused on a different property acquired by lineages during the course of divergence (e.g., intrinsic reproductive isolation, reciprocal monophyly, diagnosability) but they all agree in treating species as a separately evolving metapopulation lineage (de Queiroz, 1998, 1999, 2005, 2007). Based on the assumption that an unified species concept can be achieved, once the contemporary alternative species concepts exhibit a fundamental conceptual unity, de Queiroz (1998) proposed the General Lineage Species Concept, advocating that the only necessary property of species is considering them as (segments of) metapopulation lineages and that the secondary properties are different lines of evidence relevant to assessing lineage separation. This broader concept has several advantages, especially because it takes into account the relative extensive process of diversification (Aleixo, 2007). In that context, new methods to test hypothesis of lineage separation based on the coalescent theory, instead of traditional species criteria, have arisen (Knowles & Castens, 2007) and will continue to arise once this unified concept propels biologists to keep developing new methods of species delimitation.

Another problem that is far from getting solved is the subspecies issue. The validity of the subspecies rank has received criticism for over 50 years (Mayr 1942, 1982; 1983; McKittrick and Zink 1988; Frost and Kluge 1994, Burbrink et al, 2000; Zink, 2004). The term designates geographical varieties, entities at a lower level than the species (Mayr, 1982). It has been used to designate arbitrary classes of characters (Burbrink et al, 2000) and incipient species, as isolated sublineages that may evolve into full species (Mayr, 1942). However, these applications were criticized for requiring a previous and unobtainable knowledge of the future (Burbrink et al, 2000) and for the lack of real taxonomic meaning if subspecies are used to represent arbitrary classes. Formal taxonomic names must have a consistent meaning, and the taxonomy of a group should be consistent with its evolutionary history (Burbrink et al, 2000; Zink, 2004; Gamble et al, 2008). Nowadays, molecular systematic studies offer tests of the significance of named subspecies and with mitochondrial DNA sequence variation is possible to comprehend whether subspecies are evolving independently or if they are

at some intermediate stage of isolation (Burbrink et al, 2000; Zink, 2004; Gamble et al, 2008). These new molecular tools, associated with multiple morphological characters, are extremely useful in recognizing the evolutionary history of a group and the congruence among these both datasets is way more consistent than using just a few arbitrary characters.

In this paper we examine the molecular phylogeny and morphology of *Anolis chrysolepis* to determine if any of the five currently known subspecies represent distinct evolutionary lineages. Members of *Anolis chrysolepis* species group are beta (Etheridge, 1960) anoles of moderate size (up to 80 mm of snout-vent length) with short heads, relatively narrow digital pads; dewlap short to moderate, not reaching the axilla level, present in both sexes (smaller on females), and with large variation in color among subspecies. The *Anolis chrysolepis* clade, along with *Anolis bombiceps*, was the study case used by Vanzolini & Williams (1970) to formulate their controversial Pleistocene Refuge Hypothesis. They proposed a classification of four subspecific taxa associated with four core areas, one of them a new subspecies, *Anolis chrysolepis brasiliensis*, from Mato Grosso, Brazil. The authors believed that the levels of differentiation were “closest to species difference, and indicative, perhaps, of past and future potential species formation”. The *Anolis chrysolepis* clade was also examined by Avila-Pires (1995). Under the name *Anolis nitens*, Avila-Pires (1995) described another subspecies *Anolis n. tandai*, from localities in the state of Amazonas, between Borba and Estirão do Equador, in Brazil, and pointed out about *Anolis chrysolepis brasiliensis*, which inhabits open vegetation, while your conspecifics are only found in forest vegetation.

Very little subsequent research has been conducted on the *Anolis chrysolepis* group. The work of Glor et al. (2001) is the only study up to the present to propose a phylogenetic analysis of mitochondrial DNA of Amazonian anole species (even though some of these species have been included in broader studies, e.g. Nicholson et al., 2005). Although *Anolis chrysolepis* were not the focus of the work, a substantial molecular divergence in the *chrysolepis* complex was detected. According to Glor et al. (2001), haplotype divergence within *A. chrysolepis* suggested that the species would be older than 15 Myr, much more than the estimated ages of *A. fuscoauratus* (3 Myr), *A. punctatus* and *A. ortonii* (both 6-7 Myr), which also occupy the entire Amazon basin. The authors concluded that “further study of geographical genetic

interactions among these subspecies probably will reveal that they are distinct species”.

Nicholson et. al (2005) tested the hypothesis that the mainland (Central and South American) *Anolis* species descended from a West Indian *Anolis* ancestor and recovered molecular phylogenetic relationships among *A. onca*, *A. annectans*, *A. lineatus*, *A. auratus*, *A. meridionalis* e *A. chrysolepis*, which formed a well supported clade (bayesian posterior probabilities 90-100). These relationships were studied by Nicholson et. al, (2006) to investigate the hypotheses of retrograde evolution of reduction and loss of the subdigital pads in *Anolis onca* series. In this study, *A. annectans* and *A. onca* formed a well supported clade both by parcimony and bayesian analyses, however, the branching structure for the remaining interspecific relationships were not well supported and were considered unresolved. Although *A. chrysolepis* were not the focus of the work, the results did not recover the monophyly of the group (considering three of the five known subspecies: *A. c. scypheus*, *A. c. tandai* e *A. c. planiceps*), but suggested that *A. c. tandai* should be more closely related to *A. meridionalis* and to *onca* series, instead of the subspecies *A. c. scypheus* e *A. c. planiceps*.

Background Taxonomy

In addition to the lack of knowledge about the phylogenetic relationships among the *A. chrysolepis* complex, the nomenclature of the group has become confuse and both *A. nitens* and *A. chrysolepis* have been used as valid names. The original description of *Draconura nitens* Wagler (1830) is very brief and was based mainly in color characters (see Myers & Donnelly, 2008 for a translation of the description to English) that could be assigned to several anole species. Moreover, the holotype is unknown and the type locality “America” is not informative considering the whole distribution of *Anolis*, which goes from southeastern United States, through Mexico, Central America and Antilles to South America (Etheridge, 1960). A few years later, Duméril & Bibron (1937) described *Anolis chrysolepis* from Mana, French Guiana. Boulenger (1885), in his *Catalogue of the Lizards in the British Museum*, recognized both *A. nitens* and *A. chrysolepis* as valid species (but identified all the fifteen specimens he examined as *Anolis chrysolepis*). Vanzolini & Williams (1970) listed thirteen available names, with *Draconura nitens* referred as the older, and adopted *Anolis chrysolepis* judging *nitens* a name of uncertain application (*nomen dubium*)

considering its poorly description. Hoogmoed (1973) followed the nomenclature proposed by Vanzolini & Williams, but admitted that the International Commission on Zoological Nomenclature (ICZN) should be consulted to suppress *nitens*, once *chrysolepis* was more widely used. Savage & Guyer (1989) followed Vanzolini & Williams (1970) and adopted *chrysolepis* as a valid species, but in 1991, the authors changed their opinion alleging that *nitens* had more than 100 years of usage and the Vanzolini & Williams proposal to discard *nitens* was contrary to the Code, causing destabilization of a widely used name. Avila-Pires (1995) adopted *nitens* and considered *Anolis nitens nitens* to correspond to *Anolis chrysolepis planiceps* as proposed by Savage & Guyer (1991). Myers & Donnelly (2008) made a complete revisiting of the *nitens* and *chrysolepis* issue. Considering that “no authors have argued that Wagler’s (1830) description of *nitens* demonstrably applies to *chrysolepis*, only that the name has priority and has been applied to that species”, they concluded that “*nitens* is a *nomen dubium* and the Article 23.3.6 (ICZN, 1999) allows authors who reject the synonymy to use the junior name *chrysolepis* as valid”. So, attempting to solve this issue, Charles Myers submitted a proposal for suppression of *nitens* in favor of *chrysolepis* to ICZN in December 2007.

In agreement with Vanzolini & Williams (1970) and Myers & Donnelly (2008), considering that *Anolis nitens* is a *nomen dubium* and no decision has been published by the ICZN until now, we adopt *Anolis chrysolepis* in the present work.

We analyzed mtDNA (ND2) and morphological data from all five described *A. chrysolepis* subspecies and related taxa to complete the following objectives: first, to recover the phylogenetic relationships among *A. chrysolepis* subspecies and to test previous phylogenetic hypotheses; second, to re-evaluate the species status of described *A. chrysolepis* subspecies using the general lineage species concept (de Queiroz 1998, 1999, 2005, 2007) and to present a revised taxonomy that incorporates this phylogenetic information.

MATERIAL AND METHODS

Taxon sampling and DNA sequencing

We sampled representatives of each of the five subspecies of *Anolis chrysolepis* (Table 9) and downloaded GenBank sequences from species previously hypothesized to be closely related to them, to be used as outgroups (Glor et al, 2001; Nicholson, 2002; Nicholson et al, 2005). Genomic DNA was extracted from muscle, liver or tail clips using DNeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen, Valencia, CA, USA). PCR was used to amplify portions of the mitochondrial protein-coding ND2 (NADH dehydrogenase subunit 2) gene and tRNA's. We used primers LVT_Metf.6_AnCr (AAGCTATTGGGCCCATACC) and LVT_5617_AnCr (AAAGTGYTTGAGTTGCATTCA) (Rodriguez Robles et al. 2007) to amplify and sequence the entire ND2 gene and adjacent tRNAs. PCR cleanup and DNA sequencing was performed by Agencourt Bioscience (Beverly, MA). DNA sequence fragments were edited and aligned using SEQUENCHER ver. 4.2 (Gene Codes, Ann Arbor, MI, USA). All sequences were translated into amino acids using MacClade ver. 4.08 (Maddison & Maddison, 1992) to confirm alignment and gap placement.

Phylogenetic analyses

We analyzed ND2 data using parsimony in PAUP ver. 4.0b10 (Swofford, 2001). Parsimony analysis was conducted by performing a heuristic search with 1000 random taxon additions and tree bisection and reconnection (TBR) branch swapping and all characters equally weighted. We conducted 1000 bootstrap replicates with 25 random additions per replicate to assess nodal support.

Mitochondrial DNA (mtDNA) has been widely used to recover species phylogenetic relationships and to delimit species (Avice, 1998; Grau et al, 2005; Gamble et al, 2008; Fenwick et al, 2009) and because of its shorter coalescent times, it is considered a good arbiter of population history and species limits (Avice, 2000; Zink and Barrowclough 2008). The faster substitution rate of mitochondrial DNA (Hudson & Turelli, 2003) though makes saturation, especially at third codon positions (Glor et al., 2001), a possible problem for accurate phylogenetic reconstruction (Jukes, 1987; Yoder et al, 1996). One way to minimize the effects of saturation is to use model-based phylogenetic methods like maximum likelihood (Felsenstein 1978; Jukes, 1987; Lartillot et al, 2007). Another is to use partitioned model-based analyses, with separate models of molecular evolution for each gene or codon (Brandley et al. 2005; Nylander et al. 2004). We conducted a partitioned Maximum Likelihood analysis, with data partitioned by codon and a fourth partition for tRNAs, using RAXML ver.

7.0.4 (Stamakis, 2006). GTR+GAMMA was the model selected for all partitions, with 25 Gamma rate categories, and excluded an additional model parameter for invariant sites (Stamatakis, 2006). We conducted 1000 “fast bootstrap” replicates and 10 separate maximum likelihood searches. Bootstrap values ≥ 70 were considered as indicating strong support for both parsimony and ML analyses.

Based on the results shown on the best ML tree generated by RAXML 7.0.4, we performed an Approximately Unbiased-AU test (Shimodaira, 2002) and a Shimodaira-Hasegawa-SH test (Shimodaira & Hasegawa, 1999, 2001) to assess the confidence of the phylogenetic ML tree selected and verify if there was significant difference between our best ML tree and alternative constrained trees. We used RAXML7.0.4 (Stamakis, 2006) to compute the per-site log Likelihoods and then used CONSEL (Shimodaira & Hasegawa, 2001) to calculate p-values for the SH and the AU tests. These methods produce for each tree a number ranging from zero to one. This number is the probability value or *P*-value, which represents the possibility that the tree is the true tree. *P*-values $< 0,001$ are considered significant.

Morphological analyses

We collected morphological and morphometric data from 264 specimens (Appendix 1) from the following zoological collections: CHUNB - Coleção de Herpetologia da Universidade de Brasília and MPEG - Museu Paraense Emílio Goeldi, Brazil; MCZ – Harvard Museum of Comparative Zoology and KU –University of Kansas, USA.

Measurements were made with digital calipers to the nearest 0.1 mm on the right side of the body, except when the specimen was damaged (in this case the left side was used). Scale and measurements terminology follows Avila-Pires (1995).

The following data were obtained: MORPHOMETRIC – **SVL** (snout-vent length); **HEAD-W** (head width); **HEAD-H** (head height); **MOUTH** (from tip of snout to posterior margin of mouth); **ORBDIST** (minimum distance between orbits); **EAR** (ear-opening diameter), **NOSTRILS** (minimum distance between nostrils); **MTE** (mouth to ear, from anterior margin of ear-opening to posterior margin of mouth); **SNOUT** (from tip of snout to anterior margin of orbit); **INTERP** (interparietal scale length); **TAIL** (tail length, from cloaca to tip of tail); **TIBIA** (tibia length). MERISTIC – **MBODY** (number of scales around midbody); **PROSTRALS** (number of postrostral scales); **SLAB** (number of supralabial scales); **ILAB** (number of infralabial scales); **LOREALS** (number of loreals under second canthal);

CANTHALS (number of canthals); **BET2CAN** (number of scales between second canthals); **BETSEMICIR** (minimum number of scales between supraorbital semicircles); **INTERPSEMI** (minimum number of scales between interparietal scale and supraorbital semicircles); **PMENT** (number of postmentals); **LAM-D** (number of expanded lamellae under fourth finger); **LAM-A** (number of expanded lamellae under fourth toe).

In order to reduce the effect of size on the comparisons, a Principal Component Analysis (PCA) was applied to the morphometric data, each character was regressed on the PCA factor 1 value (interpreted as representing variation in size), and the residuals of each regression were used as characters in the discriminant analysis (Strauss, 1985; Reis et al, 1990). A Stepwise Discriminant Function Analysis (SDFA) was then applied to verify whether the groups defined a priori could be discriminated and which morphometric characters contributed most to the divergence among the geographic groups (Tabanick & Fidel, 2001). Meristic data were analysed through a SDFA independent from that applied to the morphometric data. As meristic data do not vary with size, no previous PCA was performed with these data.

Data normality was tested before the statistical analyses were performed, and the log-transformation of data was applied when the normal distribution wasn't achieved. All statistical analyses were performed in the software SYSTAT 12 for Windows (Systat Software, San Jose, California, USA).

RESULTS

Phylogenetic analyses

We sequenced 1088 base pairs of the mitochondrial ND2 gene and adjacent tRNAs, which consisted of 82 variable sites, 633 parsimony-informative and 373 constant characters. Thirty-nine new mtDNA sequences from 34 localities are reported and aligned with fourteen previously reported sequences.

Maximum-likelihood analysis produced a single tree (lnL= -16649.1489) and Parsimony analysis produced 54 equally most parsimonious trees TL=3832, CI= 0.337683, RI=0.682552, RC =0.230486, HI=0.662317. The ML analysis, but not the MP analysis, recovered a monophyletic *Anolis chrysolepis* complex, supported by 83% bootstrap. (Figures 1 and 2). Both analyses included in the *A. chrysolepis*

complex the taxa *A. bombiceps* and *Anolis meridionalis* and recognized two major clades - one composed by *Anolis c. chrysolepis*, *Anolis c. tandai* and *Anolis meridionalis*, and another composed by *Anolis c. brasiliensis*, *Anolis c. planiceps*, *Anolis c. scypheus* and *Anolis bombiceps*. The second clade is very similar in MP and ML trees, with (*A. bombiceps* - *A. c. scypheus*) and (*A. c. planiceps* - *A. c. brasiliensis*) as sister taxa. The first clade turns out different in MP and ML phylogenies: *Anolis c. tandai* from Acre (ACT_LSUMZ_13599_Acre) appears as the sister taxon of the clade *Anolis tandai* - *Anolis chrysolepis* in MP tree (bootstrap = 100%) but appears as the sister taxon of *Anolis chrysolepis* in ML tree, with low bootstrap support value (41%). In both analyses the clade composed by *A. c. chrysolepis* and *A. c. tandai* is well supported (bootstrap = 100%) but the entire clade, including *Anolis meridionalis*, is poorly supported (bootstrap = 59%).

Both in MP and in ML, the clades formed by the populations of each subspecies are monophyletic and strongly supported (bootstrap \geq 99%), indicating their independent evolutionary history. Moreover, both analyses recovered the relationship among *A. bombiceps* and *A. scypheus* as sister taxa, confirming the *A. bombiceps* placement inside the *A. chrysolepis* species complex.

Considering the critical and doubtful regions of the ML tree, we chose to test different taxonomic hypothesis represented by three constrained trees: 1) monophyletic *Anolis chrysolepis* group, excluding *Anolis bombiceps* and *Anolis meridionalis*; 2) monophyletic *A. chrysolepis* group, excluding only *Anolis meridionalis*; and 3) monophyletic *Anolis tandai* group, including LSUMZ 13599, from Acre. Test 1 was significant, which means that excluding both *A. bombiceps* and *A. meridionalis* resulted in a significantly worse tree. Tests 2 and 3 were not significant, which means that our best ML tree was not significantly different than these two hypotheses, so we can not reject these alternative trees. Since the only difference between test 1 and test 2 was the placement of *A. bombiceps*, we can assume that the significant result in test 1 is because of *A. bombiceps*. Consequently, by these results, there is a great probability that *A. bombiceps* is nested within the *A. chrysolepis* complex.

Morphological analyses

In the meristic S DFA, the first three canonical discriminant functions accounted for 97% of the total variation (Wilks Lambda = 0.014; F-ratio = 51.366 df = 40, 959; p = 0.000) and correctly classified 96% of the individuals (figure 4, table 2). The first canonical discriminant function was responsible for 63% of total variation, the second for 22%, and the third for 13%. Characters that most contributed to discriminate the specimens on the first function (tables 3 and 4) were number of canthals and number of lamellae under fourth finger (lama). These same characters were important on the second function, along with number of infralabials (ilab) and loreals. Plot of functions 1 and 2 largely separate three groups – *tandai-chrysolepis*, *scypheus-brasiliensis*, and *planiceps*. On the third function, minimum number of scales between second canthals (scabecan) and number of scales around midbody (mbody) were most important. Plot of functions 1 and 3 separate most of *scypheus* and *brasiliensis*, while *tandai* and *chrysolepis* are largely separated when functions 2 and 3 are plotted together. This indicates that the five taxa are largely separated from each other in the three dimensional space of functions 1-3.

The morphometric S DFA correctly classified 76% of the individuals (Wilks Lambda = 0,118; F-ratio = 20,285 df = 36, 948; p = 0,000), a relatively low value; only *A. c. brasiliensis* had a high percentage (90%) of correct identification (Figure 5, table 5). The three first canonical discriminant functions accounted for 76% of the total variation, of which the first was responsible for 69% of total dispersion, the second for 22%, and the third for 6%. The morphometric characters that most contributed to discriminate the specimens on the first function (tables 6 and 7) were the tibia length, snout-vent length (svl), and mouth. Head width (headw), minimum distance between orbits (orbdist), snout length and interparietal width (Interp) were important on the second function, while head width (headw), snout length and ear-opening were important on the third. In the first function, *brasiliensis* occupies the upper and most isolated position of an apparent morphometric gradient between all taxa. *A. c. planiceps*, on the other hand, is the most divergent taxon in function 2, while function 3 seems to partially separate *scypheus*.

Congruence among morphological and molecular analyses

The phylogenetic analyses based on molecular data recovered the existence of six monophyletic lineages (excluding *A. meridionalis*) that can also be morphologically distinguished, especially by meristic characters. Even though we cannot infer

relationship between these taxa on basis of the meristic S DFA, the results of this analysis are consistent with existence of two clades, one composed by *A. c. tandai* and *A. c. chrysolepis* and another clade composed by *A. c. brasiliensis*, *A. c. scypheus*, and *A. c. planiceps*. Separation by morphometric data was not very clear, except for *brasiliensis*, but in agreement with the molecular and meristic results, these data also showed *chrysolepis* and *tandai* to be the most similar taxa. In general, our results show large congruence among molecular and morphological datasets and are consistent with considering them independent evolutionary lineages. We therefore elevate each subspecies to species status.

In order to facilitate future studies, each species, including *A. bombiceps*, is diagnosed below and table 8 compares their main meristic and morphometric characters.

Taxonomy/Species accounts

The *Anolis chrysolepis* species group

These anoles are characterized by the moderate size (up to 80 mm snout-vent length), short heads, supraorbital semicircles forming a pronounced ridge in most specimens; relatively narrow digital pads, with distal lamellae under phalanx ii forming a slightly prominent border; dewlap short to moderate, not reaching level of axilla, present in both sexes but smaller in females; ventrals distinctly larger than dorsals, keeled, imbricate.

***Anolis chrysolepis* Duméril & Bibron, 1837**

Anolis chrysolepis Duméril & Bibron, 1837: 94 (lectotype MHNP 2456, type-locality: La Mana, French Guiana); Cunha, 1961:60.

Anolis chrysolepis chrysolepis; Vanzolini & Williams, 1970:85; Hoogmoed, 1973:112; Hoogmoed & Avila-Pires, 1989:168.

Norops nitens chrysolepis; Savage & Guyer, 1991:366

Anolis nitens chrysolepis; Avila-Pires, 1995:75

Maximum SVL 74 mm. Vertebral scales distinctly enlarged along back, middorsal row largest; number of rows of enlarged scales increases along posterior part of body. Scales on upper arms smaller than to subequal to vertebral scales. Supraorbital semicircles with scarcely enlarged scales. Supraocular scales keeled, slightly larger or subequal to scales on snout, grading into granules laterally and posteriorly.

Interparietal subequal to or slightly larger than adjacent scales. Postrostrals 4-7, loreals 5-10, canthals 6-9, 9-14 scales between the second canthals, 1-3 scales between supraorbital semicircles, 1-5 scales between supraorbital semicircles and interparietal scale. Sexual dimorphism in color pattern. In preservative, male dorsal color usually pale or grayish-brown. A wide light vertebral band may be present bordered by a grayish-brown irregular band on both sides. Paired triangular spots may be present along back, and most specimens have a pair of triangular spots on sacral region. Dewlap skin royal blue, dark blue or blackish, with light scales or blue scales toward the rim. Female dorsal pattern is usually less variable. A dark brown thin line begins at posterior corner of each eye, converging toward neck in direction to vertebral region and tail. These lines delimit a lighter vertebral band that darkens on tail and expands to cover all its extension. Female dewlap cream, with no distinction from the color of surrounding area, and toward the rim scales may be darker.

Comparison with other species of the group: This species has the proportionally smallest interparietal width, fourth toe width and foot size among the species of the group. It differs from its sister taxa *Anolis tandai* mainly by having a lower number of postrostral scales (4-7 in *chrysolepis* and 6-9 in *tandai*) and by the female dewlap color, generally cream in *chrysolepis*, cream with a large central blue spot in *tandai* (figure 6).

Distribution: Southern Guyana, Suriname, French Guiana and northern Brazil, in the states of Amapá and Pará.

***Anolis tandai* Avila-Pires, 1995**

Anolis chrysolepis; Gascon & Pereira, 1993:181.

Anolis nitens tandai Avila-Pires, 1995:80 (holotype MPEG 15850, type-locality: Rio Urucu, Amazonas state, Brazil); Santos-Jr et. al, 2007:9

Diagnosis: Maximum SVL 70 mm. Vertebral scales slightly enlarged along back, with numbers of enlarged rows increasing posteriad. Scales on upper arms small or subequal to vertebral scales. Supraorbital semicircles with scarcely enlarged scales, supraocular scales almost the same size of scales on the snout, with no specific group of enlarged scales, laterally grading into granules. Interparietal moderately small, but larger than adjacent scales. Postrostrals 6-9, loreals 7-9, 6-10 canthals, 10-15 scales between the second canthals, 1-4 scales between supraorbital semicircles, 2-4 scales

between supraorbital semicircles and interparietal scale. Sexual dimorphism in color pattern. Males usually have the vertebral region distinct from flanks, but with unclear limits between them. A pair of subtriangular darker spots is present on sacral region. May also present sinuous lines, which in some specimens can assume subtriangular forms along back. Male dewlap royal blue or blackish-blue, with light scales, similar to *Anolis chrysolepis* male's dewlap. Females usually have a well delimited vertebral band, and show a very similar dorsal pattern of *Anolis chrysolepis* females. Sometimes, may show a dorsal pattern very similar to male's pattern. The female's dewlap shows a central blue spot, surrounded by a light area, with no distinction between the adjacent areas, scales usually light (figure 6).

Comparison with other species of the group: As already mentioned by Avila-Pires (1995), this species has the longest tibia in relation to SVL (0.30-0.41). For differences with *Anolis chrysolepis*, see above. Avila-Pires (1995) also mentioned the possible sympatry with *A. bombiceps*, which also has a blue or blackish blue dewlap (with no sexual dimorphism), but they can be distinguished by female dewlap color (a central blue spot, surrounded by a pale area in *A. tandai*), by the number of loreals (4-7 in *A. bombiceps* and 7-9 in *A. tandai*), by the minimum number of scales between supraorbital semicircles (1-4 in *A. tandai* and 1-2 in *A. bombiceps*) and by the number of postmentals (4-8 in *A. tandai* and 6-7 in *A. bombiceps*).

Distribution: Brazil south of the Amazon River, in the states of Pará (west of Tapajós River), Amazonas, Rondônia and Acre.

***Anolis planiceps* Troschel, 1848**

Anolis planiceps Troschel, 1848:649 (holotype ZMB 529, type-locality: Caracas, Venezuela).

Anolis chrysolepis planiceps; Vanzolini & Williams, 1970:85; Hoogmoed, 1973:125; Vanzolini, 1986:3; Myers & Donnelly, 2008:100

Anolis chrysolepis; Beebe, 1944: 97; O'Shea, 1989: 69; Zimmerman & Rodrigues, 1990: 449; Martins, 1991: 182.

Anolis nitens: Boulanger, 1885:91; Beebe, 1944:200; Peters & Donoso Barros, 1970:61.

Norops nitens nitens Savage & Guyer, 1991:366

Anolis nitens nitens Avila-Pires, 1995:70; Vitt et al., 2008: 84.

Diagnosis: Maximum SVL 76 mm. A double row of enlarged vertebral scales from nape to base of tail; along back, a few to several rows of weakly keeled scales,

increasing in number posteriorly form a gradual transition between the double row of enlarged scales and the granules on flanks. Scales on upper arms markedly larger than vertebral scales. Supraorbital semicircles with enlarged scales, forming a pronounced ridge in some specimens. Supraocular region with a distinct group of enlarged scales, weakly keeled, surrounded in all their extension by smaller scales. Interparietal distinctly larger than adjacent scales. Postrostrals 4-7, loreals 6-9, 6-8 canthals, 8-14 scales between the second canthals, 1-3 scales between supraorbital semicircles, 1-3 scales between supraorbital semicircles and interparietal scale. There is no distinction between male and female color pattern. Usually, the specimens show many “V”-shape lines along back, directed to tail. A pair of triangular spots on sacral region is commonly present. Dewlap frequently red but as it vanishes very fast in preserved specimens, it usually appears in them as pale white, with light scales. (figure 7). But Myers and Donnelly (2008) described the color pattern of two adult males and one adult female as “orange with white or grayish white scales in basal rows, scales darker grey or blackish gray in distal rows.” They also found variation in four juvenile dewlaps, including a female that had “a large bluish black basal spot on the dewlap, which had a bright orange periphery and mostly white scales (only a few dark scales)”

Comparison with the other species of the group: This species has the longest toe IV, foot size, and tail in relation to svl, and the proportionately largest interparietal scale. It differs from *Anolis brasiliensis* mainly by dewlap color (usually red in *A. planiceps* and blue or grayish/blackish blue in *A. brasiliensis*) and body size (*A. planiceps* reaches 76 mm, while *A. brasiliensis* reaches 69 mm).

Distribution: Venezuela, Trinidad, Guyana and the states of Roraima and Amazonas, on the Northern part of Brazil.

***Anolis brasiliensis* Vanzolini & Williams, 1970**

Anolis chrysolepis; Amaral, 1937: 1722

Anolis chrysolepis brasiliensis Vanzolini & Williams, 1970:85 (holotype MUZUSP 10319, type-locality Barra do Tapirapés, Mato Grosso, Brazil); Williams & Vanzolini, 1980:99; Cunha et al, 1985:23; Vanzolini, 1986:3.

Norops nitens brasiliensis: Savage & Guyer, 1991:366

Anolis nitens brasiliensis: Avila-Pires, 1995:70

Diagnosis: Maximum SVL 69 mm. A double row of enlarged vertebral scales from nape to base of tail; along back a few to several rows of weakly keeled scales,

increasing in number posteriorly form a gradual transition between the double row of enlarged scales and the granules on flanks. Scales on upper arms markedly larger than vertebral scales. Scales on snout from moderately keeled to smooth, very heterogeneous in size, with no distinction between the anterior and posterior ones. Supraorbital semicircles with enlarged, generally smooth scales. Supraocular region with most scales large and weakly keeled, surrounded by small scales. Interparietal distinctly larger than adjacent scales. Postrostrals 5-7, loreals 6-10, 5-8 canthals, 8-14 scales between the second canthals, 0-3 scales between supraorbital semicircles, 1-4 scales between supraorbital semicircles and interparietal scale. Dorsal color grayish-brown or pale white, either uniform or not. A light vertebral band may be present, either narrow with undefined margins or wide, in both cases surrounded by a darker area. A pair of triangular spots on sacral region is commonly present, and may be accompanied by a second pair at the base of tail. Ventral region usually pale-white, but it can be marbled with darker spots. Dewlap colour blue or grayish-blue with light or grayish scales. (figure 8). No sexual dimorphism in colour pattern was observed.

Comparison with the other species of the group: This species presents the proportionally widest IV toe and longest snout. For differences between *A. brasiliensis* and *A. planiceps* see *Anolis planiceps* above.

Distribution: Brazil, in southern Pará, Tocantins, Piauí, Maranhão, Goiás, Minas Gerais and Distrito Federal. There are two individuals housed in MCZ under the numbers R-60580 and R-60581 and labeled as paratypes of *A. c. brasiliensis* but having as localities Rio Juruá, Brazil, and Loreto, Peru, respectively. Vanzolini & Williams (1970) didn't mention those individuals and even though they have all the *brasiliensis* characteristics, we decided not to include them on morphological analyses for considering their localities doubtful.

***Anolis scypheus* Cope, 1864**

Anolis chrysolepis; Guichenot, 1855:15

Anolis scypheus; Cope, 1864: 172 (holotype BM 1946.8.855, type-locality: "Caracas" according to Boulenger but considered an error by Vanzolini & Williams, 1970:85); Boulenger, 1885:90; Goeldi, 1902:16, 32; Cunha, 1961:67; Peters & Donoso-Barros, 1970:66;

Anolis incompertus incompertus; Barbour 1932:99 (holotype R-32309, type locality: Villavicencio, Meta, Colombia)

Anolis chrysolepis scypheus: Vanzolini & Williams, 1970:85; Vanzolini, 1986:3

Norops nitens scypheus: Savage & Guyer, 1991:366

Anolis nitens scypheus; Avila-Pires, 1995:78

Diagnosis: Maximum SVL 80 mm. Vertebral scales forming a weakly double row along back. Scales on upper arms relatively small when compared to the other species, but still larger than vertebral scales. Scales on snout relatively small, with raised surface. Supraorbital semicircles with enlarged scales, generally forming a pronounced ridge. A small group of enlarged supraocular scales, grading into granules posteriorly and laterally, anteriorly surrounded by smaller scales. Interparietal distinctly larger than surrounded scales. Postrostrals 5-7, loreals 7-10, canthals 6-9, 9-15 scales between the second canthals, 1-5 scales between supraorbital semicircles, 2-5 scales between supraorbital semicircles and interparietal scale. No sexual dimorphism in color pattern. This species frequently show the “V” shape lines directed to tail along the back, very similar to the ones described for *A. planiceps*. A broad band with lateral expansions (narrower at the nape and extending toward tail) may be present as well as vertebral ornamentations along the dorsal region. A pair of subtriangular darker spots may be present on sacral region. Dewlap color red along rim (it can be pale white in some specimens), with red or blackish scales, and blue with light scales in the center (figure 7).

Comparison with the other species of the group: This species presents the maximum relative values of head width and height, ear-diameter, and distance between nostrils. For differences among *A. bombiceps*, see *A. bombiceps* diagnosis below.

Distribution: Amazonian Colombia, Ecuador, Peru, and the northwestern part of Amazonas state in Brazil.

***Anolis bombiceps* Cope, 1876**

Anolis bombiceps Cope, 1876: 168 (type apparently lost, type-locality: Nauta, Peru); Goeldi, 1902:16, 32; Peters & Donoso-Barros, 1970: 49; Vanzolini & Williams, 1970: 86; Vanzolini, 1970: 38; Dixon & Soine, 1975: 25, 1986:28; Avila-Pires, 1995: 54.

Norops bombiceps; Savage & Guyer, 1989: 110.

Diagnosis: Maximum SVL 74 mm. Vertebral scales not or only slightly enlarged, not forming a double row of enlarged dorsals. Scales on upper arm subequal to or slightly

larger than vertebral scales. Scales on snout anteriorly small, weakly to distinctly keeled, posteriorly larger, flat, usually uni or multicarinate. Supraorbital semicircles with enlarged, flat scales. Supraocular region with a group of distinctly enlarged scales surrounded posteriorly and laterally by granules. Interparietal scale distinctly larger than adjacent scales. Postrostrals 5-9; loreals 4-7, minimum number of scales between the second canthals 8-13; minimum number of scales between supraorbital semicircles 1-2; minimum number of scales between the supraorbital semicircles and interparietal scale 1-3, postmentals 6-7. Color dorsal pattern usually brown, with irregular dark spots between hind limbs and irregular figures across the limbs. V-shaped lines along back, with apex directed posteriorly may be present. Vanzolini & Williams (1970) mentioned the presence of white spots laterally on head, usually on mouth. Dorsal deep blue or blackish, with light or dark scales. No sexual dimorphism evident.

Comparisons with the other species of the group: *A. bombiceps* is sympatric with *A. scypheus* and may be sympatric with *A. tandai*, of which it can be distinguished by dorsal color (deep blue or blackish in *A. bombiceps*, blue on central region and red along rim in *A. scypheus*, and blue on central region and cream along rim on females of *A. tandai*), number of loreals (4-7 in *A. bombiceps*, 7-9 in *A. tandai* and 7-10 in *A. scypheus*), number of scales between the second canthals (8-13 in *A. bombiceps*, 10-15 in *A. tandai* and 9-15 in *A. scypheus*), number of scales between supraorbital semicircles (1-2 in *A. bombiceps*, 1-4 in *A. tandai* and 1-5 in *A. scypheus*) and postmentals (6-7 in *A. bombiceps*; 4-8 in *A. tandai* and 4-7 in *A. scypheus*).

Distribution: According to Peters & Donoso-Barros, Vanzolini & Williams, 1970 and Avila-Pires, 1995, the species occurs on Amazonian Colombia, Ecuador and Peru, and in the State of Amazonas, Brazil. The species have been reported by Vanzolini & Williams in the Brazilian locality “Igarapé Belém”, in Amazonas state, and in the Colombian locality “Leticia”. In this study, we reported *A. bombiceps* in two Brazilian localities, both in Amazonas state: Apuí, very close to the Colombian border, and São Gabriel da Cachoeira, close to the borders of Colombia and Venezuela.

DISCUSSION

The phylogenetic hypothesis recovered in the present work identified six independent lineages within the *Anolis chrysolepis* complex (not including *A. meridionalis*). Lineages, in the sense described by de Queiroz (1998), are series of entities that form a single line of direct ancestry and descent, and, despite clades, lineages can be paraphyletic or even polyphyletic in terms of their lower level components. Taxonomy and phylogeny must be congruent and reflect the evolutionary history of a group. The congruence among our molecular and morphological data allowed us to elevate each of the five *Anolis chrysolepis* subspecies to species status, considering that each one of them plus *Anolis bombiceps* form the *Anolis chrysolepis* species complex.

Our results show no intergradation between the species. All of them are identifiable to one of the recognized species, despite what Vanzolini and Williams stated in 1970. The groups defined by molecular analysis can be morphologically distinguished, regardless of differences between populations in each species.

The large character overlap among these species was also demonstrated by Avila-Pires (1995). She also observed the similarity between *A. tandai* and *A. chrysolepis*. These two taxa appeared as the most similar in all analyses. In spite of that, they were recovered as separate clades in the molecular analyses, most specimens of each species could be correctly identified by meristic characters, and they also differ in female dewlap color. Finally, they are separated geographically. All this points unequivocally attest that they form distinct lineages.

The *A. tandai* population from Acre fits the *A. tandai* diagnose we present in this study. The apparent paraphyly of *Anolis tandai* may be the result of phylogenetic error (see topology tests) or incomplete lineage sorting. Incomplete lineage sorting can result in discordance between individual gene trees and the species tree due to the retention and/or sorting of ancestral polymorphisms, particularly when populations have diverged recently and have large effective population size (Ballard & Whithlock, 2004; Maddison, 1997; Maddison & Knowles, 2006). Further studies on population genetics and divergence time among *Anolis tandai* populations should clarify their relationships.

Both MP and ML analyses recovered *Anolis meridionalis* within the *Anolis chrysolepis* complex. This species is sympatric to *Anolis brasiliensis*, being a typical inhabitant of open formations densely covered by grass, while *A. brasiliensis* inhabits

dry and gallery forest, including igapó, in the Brazilian Cerrado (Mesquita et al, 2006; Vitt et al, 2008). The relationship of *A. meridionalis* with species of the group *A. chrysolepis* was previously reported by Nicholson et. al, (2005 and 2006). Even though the branching structure and relationships of the group formed by *A. onca*, *A. annectans*, *A. lineatus*, *A. auratus*, *A. meridionalis* and *A. chrysolepis* were not clearly resolved, the proximity of *A. meridionalis* and *A. tandai* was also observed (Nicholson et al. 2006). But considering morphological characters, Vanzolini & Williams (1970) compared *Anolis meridionalis* with *Anolis chrysolepis* species group and concluded that they were “not at all close to each other” and therefore they did not consider *A. meridionalis* as part of the *A. chrysolepis* group. Indeed, in *A. meridionalis* digital dilatations on phalanx ii and iii are continuous with the scales under phalanx i, while in species of the *A. chrysolepis* group the distal lamellae under phalanx ii forms a slightly prominent border. Certainly, *Anolis meridionalis* share several genetic characteristics with the *Anolis chrysolepis* species, but its position as sister taxa of the clade formed by *Anolis chrysolepis* and *Anolis tandai* was not well supported and may represent a phylogenetic inference error. Until additional analyses are performed with a larger *A. meridionalis* sample, we adopt the view that it could be part of the *A. chrysolepis* species group.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Jonathan Losos (Harvard Museum of Comparative Zoology – MCZ), Rafe Brown (University of Kansas – KU), and their assistants for the loan of specimens and tissues, Ken Kozak for the free pass to the molecular lab, Gustavo D’Angiolella helped with map construction. The first author was financially supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), and received an Ernst Mayr Travel Grant to visit the MCZ, where Jose Rosado was of great assistance. She wants also to thank Tuberio Burlamaqui for initial assistance with phylogenetic analyses.

LITERATURE CITED

Aleixo, A. (2007) Conceitos de espécie e o eterno conflito entre continuidade e operacionalidade: uma proposta de normatização de critérios para o reconhecimento

de espécies pelo Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos. *Revista Brasileira de Ornitologia* 15 (2), 297–310.

Amaral, A. (1937) Herpetological collection from Central Brazil. *Compte. Rendus XIIe. Congrès Intern. Zool. Lisbonne 1935*, 1720-1732.

Avila-Pires, T. C. S. (1995) *Lizards of Brazilian Amazonia (Reptilia: Squamata)*. Zoologische Verhandelingen Leiden 299, 1-706.

Avise, J.C., Walker, D., Johns, G.C. (1998) Speciation durations and Pleistocene: effects on vertebrate phylogeography. *Proceedings of the Royal Society London. B* 265, 1707-1712.

Avise, J. C. (2000) *Phylogeography: the history and formation of species*. Cambridge: Harvard University Press.

Ballard JW, Whitlock MC. (2004) The incomplete natural history of mitochondria. *Molecular Ecology*.13 (4), 729-44.

Barrowclough, G.F. & Zink, R.M. (2009) Funds enough, and time: mtDNA, nuDNA and the discovery of divergence. *Molecular Ecology*. 18, 2934–2936.

Brandley, M.C., Schmitz, A., & Reeder, T. W. (2005) Partitioned Bayesian Analysis, Partition Choice, and the Phylogenetic Relationships of Scincid Lizards. *Systematic Biology* 54 (3), 373-390.

Burbrink, F. T., Lawson, R., Slowinski, J. B. (2000) Mitochondrial DNA Phylogeography of the Polytypic North American Rat Snake (*Elaphe obsoleta*): A Critique of the Subspecies Concept. *Evolution*, 54(6), 2107–2118.

Castens, B.C. & Knowles, L. (2007) Estimating Species Phylogeny from Gene Tree Probabilities Despite Incomplete Lineage Sorting: An Example from *Melanoplus* Grasshoppers *Systematic Biology*. 56 (3), 400–411.

Cope, E. D., (1864) Contributions to the Herpetology of Tropical America. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 166-181.

Cunha, O.R. (1961) Lacertílios da Amazônia II. Os lagartos da Amazônia brasileira, com especial referência aos representados na coleção do Museu Goeldi. *Boletim do Museu Paraense Emilio Goeldi, Zool.*, Belém, Pará. 39:1-189.

Cunha, O.R. & F.P., Nascimento. (1985) Os Répteis da área de Carajás, Pará, Brasil (Testudines e Squamata). I. *Publicações Avulsas do Museu Paraense Emilio Goeldi*, 40, 9-92.

de Queiroz, K. (1998) The general Lineage concept of species, species criteria, and the process of speciation: a conceptual unification and terminological recommendation. In D. J. Howard and S. H. Berlocher (Eds.), *Endless forms: Species and speciation*. Oxford University Press.

de Queiroz, K. (1999) The general lineage concept of species and the defining properties of the species category. In Wilson, R. A. (Ed.), *Species: New interdisciplinary essays* MIT Press, Cambridge, Massachusetts. pp.49-89.

de Queiroz, K. (2005). Ernst Mayr and the modern concept of species. *Proceeding of the National Academy of Science*. 102, 6600-6607.

De Queiroz, K. 2007. Species concept and species delimitation. *Systematic Biology* 56(6): 879–886.

Fenwick, A. M., Gutberlet JR, R. L., Evans, J. A., Parkinson, C. L. (2009) Morphological and molecular evidence for phylogeny and classification of South American pitvipers, genera *Bothrops*, *Bothriopsis*, and *Bothrocophias* (Serpentes: Viperidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*. 156, 617–640.

Frost, D. R., & A. G. Kluge. (1994). A consideration of epistemology in systematic biology, with special reference to species. *Cladistics* 10, 259–294.

Gamble, T., Bauer, A. M., Greenbaum, E., Jackman, T. R. (2007). Evidence for Gondwanan vicariance in an ancient clade of gecko lizards. *Journal of Biogeography* Journal compilation. pp 1-17.

Gamble, T., Simons, A.M., Colli, G. R., Vitt, L. J. (2008) Tertiary climate change and the diversification of the Amazonian gecko genus *Gonatodes* (Sphaerodactylidae, Squamata). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 46, 269–277.

Gascon, C. & Pereira, O.S. (1993) Preliminary checklist of the herpetofauna of the upper Rio Urucu, Amazonas, Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia* 10 (1), 179-183.

Glor RE, Vitt LJ, Larson A. (2001) A molecular phylogenetic analysis of diversification in Amazonian *Anolis* lizards. *Molecular Ecology* 10, 2661–2668.

Goeldi, E. A.(1902) Lagartos do Brasil. *Boletim do Museu Paraense* 3, 499-560.

Grau, E. T., Pereira, S. L., Silveira, L.F., Höfling, E. and Wajntal, A. (2005) Molecular phylogenetics and biogeography of Neotropical piping guans (Aves: Galliformes): *Pipile* Bonaparte, 1856 is synonym of *Aburria* Reichenbach, 1853. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 35, 637-645.

Guyer, C. & Savage, J. M. (1986). Cladistic relationships among anoles (Sauria: Iguanidae). *Systematic Zoology* 35, 509–531.

Hoogmoed, M. S. & Avila-Pires, T. C. S. (1989) Observations on the nocturnal activity of lizards on a marshy área in Serra do Navio, Brazil. *Tropical Zoology*. 2, 165-173.

Hoogmoed, Marinus S. (1973) Notes on the herpetofauna of Surinam IV. The lizards and amphisbaenians of Surinam. The Hague: W. Junk. *Biogeographica* 4 (9), 419 pp.

Hudson, R. R. & Turelli, M. (2003). Stochasticity Overrides The “Three-Times Rule”: Genetic Drift, Genetic Draft, And Coalescence Times For Nuclear Loci Versus Mitochondrial DNA. *Evolution*, 57 (1), 182–190.

Jukes, T.H. (1987) Transitions, Transversions, and the Molecular Evolutionary Clock. *Journal of Molecular Evolution* 26, 87-98

Knowles, L. L. & Carstens, B. C., (2007) Delimiting Species without Monophyletic Gene Trees. *Systematic Biology* 56 (6), 887–895.

Lartillot, N., Brinkmann, H. and Philippe, H. (2007) Suppression of long-branch attraction artefacts in the animal phylogeny using a site-heterogeneous model. *BMC Evolutionary Biology*, 7 (1), 1-14.

Maddison, W.P. (1997) Gene Trees in Species Trees. *Systematic Biology* 46 (3), 523-536.

Maddison, W.P. & Knowles, L. L. (2006) Inferring Phylogeny Despite Incomplete Lineage Sorting. *Systematic Biology* 55 (1), 21–30.

Martins, M. (1991) The Lizards of Balbina, Central Amazonia, Brazil: a qualitative analysis of resource utilization. *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 26(3), 179-190.

Miller, M. A., Holder, M. T., Vos, R., Midford, P. E., Liebowitz, T., Chan, L., Hoover, P., Warnow, T. The CIPRES Portals. Available from:http://www.phylo.org/sub_sections/portal. (accessed: 04 October, 2009).

Mayr, E. (1942) *Systematic and the origin of specie*. Columbia University Press, New York.

Mayr, E. (1982) *The growth of biological thought: diversity, evolution, and inheritance*. Cambridge: Harvard University Press.

Mayr, E. (1988). *Toward a new Philosophy of Biology: observations of an Evolutionist*. Harvard University Press, Cambridge, MA.

Moritz, C., Patton, J. L., Schneider, C. J. e Smith T. B. (2000) Diversification of rainforest faunas: an integrated molecular approach. *Annual Review of Ecology and Systematics* 31, 533–563.

Myers, C.W., Donnelly, M.A. (2008) The summit herpetofauna of Auyantepui, Venezuela: report from the Robert G. Goelet American Museum – Terramar Expedition. *Bulletin of The American Museum of Natural History*. 308, 147 pp.

Nicholson, K.E., (2002) Phylogenetic analyzes and a test of the current Infrageneric classification of *Norops* (Beta *Anolis*). *Herpetological Monographs*. 16:93-120.

Nicholson K. E., Glor, R. E., Kolbe, J. J. , Larson, A., Hedges, S. B., Losos, J. B. (2005) Mainland colonization by island lizards. *Journal of Biogeography* 32, 929–938

Nicholson, K. E., Mijares-Urrutia, A. and Larson, A. (2006) Molecular Phylogenetics of the *Anolis onca* Series: A Case History in Retrograde Evolution Revisited. *Journal of Experimental Zoology (Molecular and Developmental Evolution)* 306 B, 450–459.

Nylander, J. A. A., Ronquist, F., Huelsenbeck, J. P., and Nieves-Aldrey, J. L. (2004) Bayesian Phylogenetic Analysis of combined data. *Systematic Biology* 53 (1), 47- 67.

O’Shea, M. (1989) The herpetofauna of Ilha de Maracá. State of Roraima, northern Brazil. *Proceedings of the 1988 U.K. Herpetological Societies*, Symposium on captive breeding, Reptiles:51-72.

Posada, D. (2008) jModelTest: Phylogenetic Model Averaging, *Molecular Biology and Evolution*. 25 (7), 1253–1256.

Poux, C., Chevret, P., Huchon, D., De Jong, W. W. & Douzery, E. J. P. (2006) Arrival and diversification of caviomorph rodents and platyrrhine primates in South America. *Systematic Biology* 55, 228–244.

Reis, S. F., Pessôa, L.M., Strauss, R.E., (1990) Application of size-free canonical discriminant analysis to studies of geographic differentiation. *Revista Brasileira de Genética, Ribeirão Preto* 13(3), 509-520.

Rodríguez Robles, J. A., Jeskova, T. and García, M. A. (2007) Evolutionary relationships and historical biogeography of *Anolis desechensis* and *Anolis monensis*, two lizards endemic to small islands in the Caribbean sea. *Journal of Biogeography* 34, 1546- 1558.

Santos-Jr, A.P.; Frota, J. G.; Ribeiro, F.R.V. 2007. Reptilia, Squamata, Polychrotidae, *Anolis nitens tandai*: Distribution extension, new State record, and geographic distribution map. *Check List* 3(1): 9-10.

Savage, J.M., Guyer, C., 1989. Infrageneric classification and species composition of the anole genera, *Anolis*, *Ctenotus*, *Dactyloa*, *Norops* and *Semiurus* (Sauria: Iguanidae). *Amphibia-Reptilia* 10: 105-116.

Savage, J. M., Guyer, C. (1991). Nomenclatural notes on anoles (Sauria: Polychridae): stability over priority. *Journal of Herpetology* 25(3): 365–366.

Stamatakis, A. (2006). RAxML-VI-HPC: Maximum Likelihood-based Phylogenetic Analyses with Thousands of Taxa and Mixed Models. *Bioinformatics* 22 (21): 2688–2690.

Shimodaira, H. & Hasegawa, M. (1999). Multiple comparisons of log-likelihoods with applications to phylogenetic inference. *Molecular Biology and Evolution* 16, 1114-1116.

Shimodaira, H. & Hasegawa, M. (2001). CONSEL: for assessing the confidence of phylogenetic tree selection. *Bioinformatics* 17, 1246-1247.

Shimodaira, H. (2002). An approximately unbiased test of phylogenetic tree selection. *Systematic Biology* 51, 492-508.

Strauss, R.E. (1985) Evolutionary allometry and variation in body form in the South American catfish genus *Corydoras* (Callichthyidae). *Systematic Zoology*. 34, 381–396.

Swofford, D. L. (2001) PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony (and other methods). Version 4.0 Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

Tabachnick, B.G. & Fidell, L.S. (2001) Using Multivariate Statistics, Fourth Edition. Allyn and Bacon, Boston, Massachusetts.

Troschel, F. H. (1848). Amphibien. *In*: Schomburgk R., Reisen in British Guiana, in den Jahren 1840-1844. Im Auftrag Sr. Majestat des Königs von Preussen ausgeführt von Richard Schomburgk. Vol 3. Versucheiner fauna und flora von British Guiana: 645-661.

Vanzolini, P. E. & Williams, E. E. (1970). South American anoles: the geographic differentiation and evolution of the *Anolis chrysolepis* species group (Sauria: Iguanidae). Part 1. *Arq. Zool. (São Paulo)* 19, 1-124.

Vanzolini, P. E. & Williams, E. E., (1970). South American anoles: the geographic differentiation and evolution of the *Anolis chrysolepis* species group (Sauria: Iguanidae). Part 2. *Ibid.* 19, 125-298.

Vanzolini, P.E., Williams, E.E, (1981). The Vanishing refuge: a mechanism for ecogeographic speciation. *Papéis Avulços de Zoologia (São Paulo)* 34:251-255.

Vanzolini, P.E.919860. Levantamento Herpetológico da área do estado de Rondônia sob a influência da rodovia BR 364. Programa Polonoeste, subprograma Ecologia Animal, Relatório de Pesquisa no. 1:1-50. MCT/CNPq.

Vitt, L.J., Shepard, D.B., Vieira, G.H.C., Caldwell, J.P., Colli, G.R., Mesquita, D.O. (2008). Ecology of *Anolis nitens brasiliensis* in Cerrado Woodlands of Cantão. *Copeia*, 1:144–153

Vitt, L.J., Avila-Pires, T.C.S, Magnussum, W. E. & Lima, A.P. (2008). .Guide to the Lizards of Reserva Adolpho Ducke, Central Amazônia-Manaus: Áttena Design Editorial. 176p.

Wagler, Johann Georg. (1830). *Natürliches System der Amphibien, mit vorangehender Classification der Saugthiere und Vogel*. Munich: J.G. Cotta, vi, pp. 354.

Williams, E. E. (1976). South American anoles: The species groups. *Papéis Avulsos de Zoologia* 29: 259-268.

Williams, E.E. & Vanzolini, P.E. (1980). Notes and biogeographic comments on anoles from Brasil. *Papéis Avulsos de Zoologia*, 34(6): 99-108.

Yoder, A. D., Vilgalys, R, & Ruvolo, M. (1996). Molecular Evolutionary Dynamics of Cytochrome b in Strepsirrhine Primates: The Phylogenetic Significance of Third-Position Transversions. *Molecular Biology and Evolution* 13 (10), 1339-1350.

Zink R. M. (2004). The role of subspecies in obscuring avian biological diversity and misleading conservation policy. *Proceedings of the Royal Society of London*. B 271: 561–564.

Zink, R. M. & Barrowclough, G. F. (2008). Mitochondrial DNA under siege in avian phylogeography. *Molecular Ecology* 17: 2107–2121.

Zimmerman, B.L. & Rodrigues, M.T. (1990). Frogs, snakes, and lizards of the INPA-WWF reserves near Manaus, Brazil. In: A.H. Gentry (ed.) *Four neotropical rainforests*:426-454. Yale Univ. Press, London.

Appendix 1:

Specimens analyzed (number of specimens of each species in parenthesis)

Anolis chrysolepis (44) **SURINAM:** Tafelberg Nature Reserve (MCZ 154861), SARAMACCA 1km from Coppename River (MCZ 155217). **FRENCH GUIANA:** SOPHIE trail S.from St. Elie gold pits (MCZ 77548), lower Matarony River, tributary of Approague River (MCZ 118644, 118641, 110388), SAUL (MCZ 146767), Guiana Francesa (MPEG 15829, 15845), **BRITISH GUIANA:** Onora (MCZ 63350), Shudikar-won (MCZ 65349), **BRAZIL: AMAPÁ:** Porto Platon (MCZ 85010), Serra do Navio (MCZ 79146, 85009; MPEG 19676, 19678, 19679, 19680, 19681, 19682, 19683, 19685, 19686, 19687, 19688, 19690), Mazagão (CHUNB 56761), Laranjal do Jari (CHUNB 56767), **PARÁ:** Oriximiná (MPEG 27114, 24216, 27217, 24218), Oriximiná, Serra do Acari (MPEG 26573, 27374, 27375, 27376, 27377, 26587, 26578), Porto Trombetas, Oriximiná (MPEG 26864), Faro, Flota Faro (MPEG 26593, 26597).

Anolis planiceps (71) **VENEZUELA:** Venezuela Portuguesa (MCZ 176492, 176491, 176493, 176494, 176495, 176496) Environs of Agua Blanca, Acarigua

(MCZ 123708), Puerto la Cruz, Distrito Federal (MCZ 48782), Pto Ayacucho, Amazonas state (MCZ 58328), Sucre, Cunamacoa, San Rafael (MCZ 48781), ARAGUA: Palsamencho Parque, HPittier between Portochuelo and Ocumare (MCZ 101817), Hacienda San Esteban, North of Puerto Cabello (MCZ 107688), DISTRITO ACOSTA: Pauji, Falcon (MCZ 49035, 48723, 49037, 48725, 48724, 49036), Riecito, Falcon (MCZ 49050), CARABOBO: Goaguaza, Miquija, (MCZ 121759, 121758, 121762, 121760, 121757), Las Quiguas, Municipio Salon (MCZ 121753, 81302), Guatapo (MCZ 100438), Ayacucho (MCZ 84073), Peninsula of Paria, Yacua (MCZ 43856, 43860 43857, 43858), Arabupu, Mt. Roraima (MCZ 34868). **TRINIDAD:** Nariva Swamp, Cascadoux Trace (MCZ 60800), Huevas Id. (MCZ 100119), Toco (MCZ 10746, 10747), La Seiva (MCZ 8998, 8999, 9000), Chacachacare (MCZ 100118), Maruga (MCZ 31495), PALMISTE: 3km S. San Feinando (MCZ 85011, 85012, 85013, 85014, 85015, 85016, 85017, 85018, 100120, 100121, 100122, 81303, 81304, 81501, 85474, 85475, 85473). **BRAZIL: AMAZONAS:** Serra da Neblina (MCZ 86763), Reserva Ducke, Manaus (MCZ 92682), Camp Gavião, approx. 100 Km. North of Manaus (MCZ 168987). **GUYANA:** Kamakusa (MCZ 65352), Dawa (MCZ 123745), Kaburi, 30miles from Bartica (MCZ 81306), Mazaruni River (MCZ 39690).

Anolys scypheus (39) **PERU:** LORETO (KU 222147), Rio Pacaya, Cahuana (MCZ 160775), GALICIA: West bank Rio Tapiche (MCZ 157245), AMAZONAS: Mouth of R.Santiago Maranon (MCZ 57371), PAMPA HERMOSA: near mouth Cuscbatey River (MCZ 57369, 57373, 57372), UCAYALI VALLEY: River Tamaya (MCZ 57374), MADRE DE DIOS: Cocha Cashu, NW of mouth of Rio Manu (MCZ 178177) **ECUADOR:** NAPO: Trail from Laguna Taracoa, S.bank Rio Napo, 30km down river from Coca (MCZ 154571), Hacienda 'Primavera' N bank Rio Napo 30km from Coca (MCZ 92612, 154567, 154568), Santa Cecilia (MCZ 92601, 92602, 92603, 92604, 92605, 92608), Santa Cecilia, Rio Agvaratis (MCZ 100010), Limon Cocha (MCZ 156822, 85098, 85099, 85100, 85101, 92610, 92611, 92612), Prov.S.side of Rio Napo, 6.5km ESE of Puerto Misahualli, at La Cruz Blanca on ASuarez's land (171889), RIOBAMBA (MCZ 29290). **COLOMBIA:** VILLAVICENCIO: San Martin (MCZ 32309, 32310, 32312, 32313, 32314, 32315, 32317).

Anolis tandai (34) **BRAZIL: RONDÔNIA:** Espigão do Oeste (MPEG 21479, 21483, 21488, 21899), **AMAZONAS:** Estirão do Equador (MPEG 901), Rio Urucu (MPEG 15850), Benjamin Constant (MPEG 15933, 15938, 15949, 15986, 15987, 15995), Madeireira Sheffer, Rio Ituxi (MPEG 20372, 20473, 20474), Careiro da varzea, estrada para Altazes (MPEG 18918, 18920, 18928, 18931, 18934, 18935), **ACRE:** Rio Juruá, Aprox. 30 Km of porto Walter (MPEG 20655, 20656, 20658, 20659, 20662, 20663, 20665), **PARÁ:** Parque nacional da Amazonia, Itaituba (MPEG 21986, 21987, 21988, 21989, 21990, 21991).

Anolis brasiliensis (98) **BRAZIL: MATO GROSSO:** Barra do Tapirapés (MCZ 98284, 98285, 98286, 98287, 98288, 98289), Porto Alegre do Norte (CHUNB 47842), **TOCANTINS:** Caseara (CHUNB 44989, 44992, 44499, 45000, 45009, 45036, 45028, 45026, 45022, 45030), Pium (CHUNB 24754, 24756), Palmas (CHUNB 25082, 24216, 11521, 11522, 24215, 16947, 25092, 11520, 24262, 15230, 16142, 16948), Peixe (CHUNB 52471, 52472, 52474), Porto Alegre do Tocantins (CHUNB 38918), Porto Nacional (CHUNB 47741, 47742, 47740), Mateiros (CHUNB 27161, 27158, 27162). **GOIÁS:** São Domingos (CHUNB 35282, 35257, 35288, 35319, 35285, 35314, 43823, 35315, 35311, 35258, 43824, 43832, 33020), Minaçu (CHUNB 11019, 11021, 10967, 10983, 49706, 48617, 10987, 49703, 10986, 10970, 10999, 08655, 29309), Colinas do Sul (CHUNB 50396, 50393, 50395, 44694), Valparaíso (CHUNB 08556, 08555), Luziânia (CHUNB 47427, 43408, 40865, 43407, 47426), Três Ranchos (CHUNB 44740), Goiânia (CHUNB 57318), **MINAS GERAIS:** Unaí (CHUNB 30888, 32873, 32867, 36287), **DISTRITO FEDERAL:** Brasília (CHUNB 49614), **PIAUÍ:** Ribeiro Golçalves (CHUNB 57028), **MARANHÃO:** Carolina (CHUNB 51972, 51973, 51974, 51975), **PARÁ:** Novo Progresso (CHUNB 34542), Parauapebas (CHUNB 08855, 11132), Itaituba, Jacareacanga (CHUNB 56398).

Anolis meridionalis (9) **BRAZIL: MINAS GERAIS:** Poracatu (CHUNB 26140, 26146), Buritizeiros (CHUNB 44522). **RONDÔNIA:** Vilhena (CHUNB 11715), **TOCANTINS:** Palmas (CHUNB 12022, 12026), **GOIÁS:** Luziânia (CHUNB 43404, 43405), **DISTRITO FEDERAL:** Brasília (CHUNB 43282).

Anolis bombiceps (4) **PERU: LORETO:** N.A. 1.5 Km N Teniente Lopez, 310 (KU 222145). **COLOMBIA:** 6 km NW of Leticia (MCZ R-112267). **BRAZIL: AMAZONAS:** Apuí (CHUNB 38340); Missão Taraquá, Rio Uapés, São Gabriel da Cachoeira (MPEG 17819).

Anolis onca (1) **VENEZUELA: FALCON:**Rio Seco on Caribbean sea, between Urumaco e Coro (MCZ R-132736).

Anolis lineatus (1) **NETHERLANDS ANTILLES: CURAÇAO:** Cos Cora (MCZ R-83027).

Anolis sagrei sagrei (1) **JAMAICA:** West moreland Savanna La Mar (MCZ R-161754).

Anolis auratus (1) **COLOMBIA:** Pozo Colorado, 11km W.Santa Maria (MCZ R-104546).

Figures

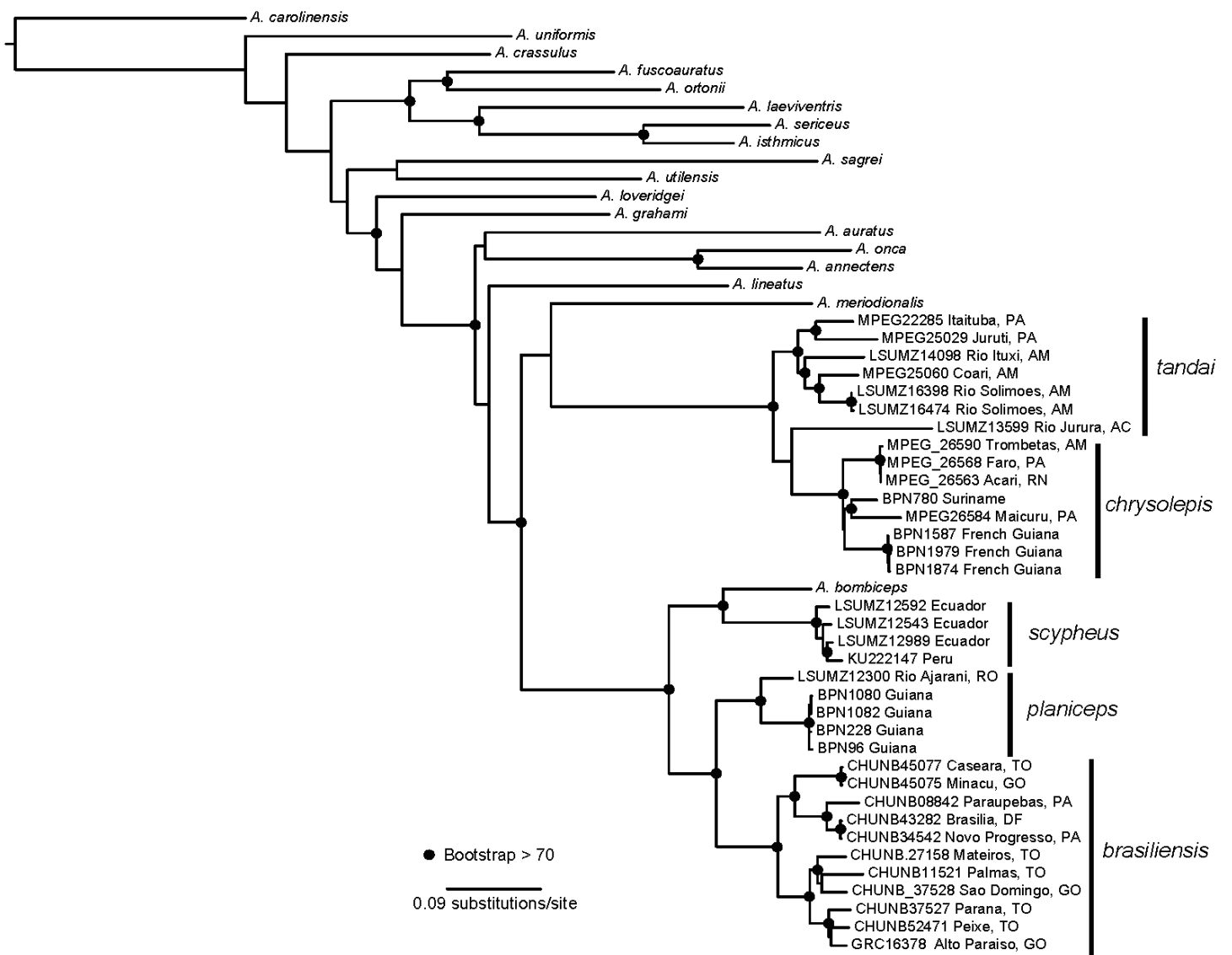


Figure 1: Partitioned Maximum Likelihood Phylogeny of *Anolis chrysolepis* species group and outgroups.

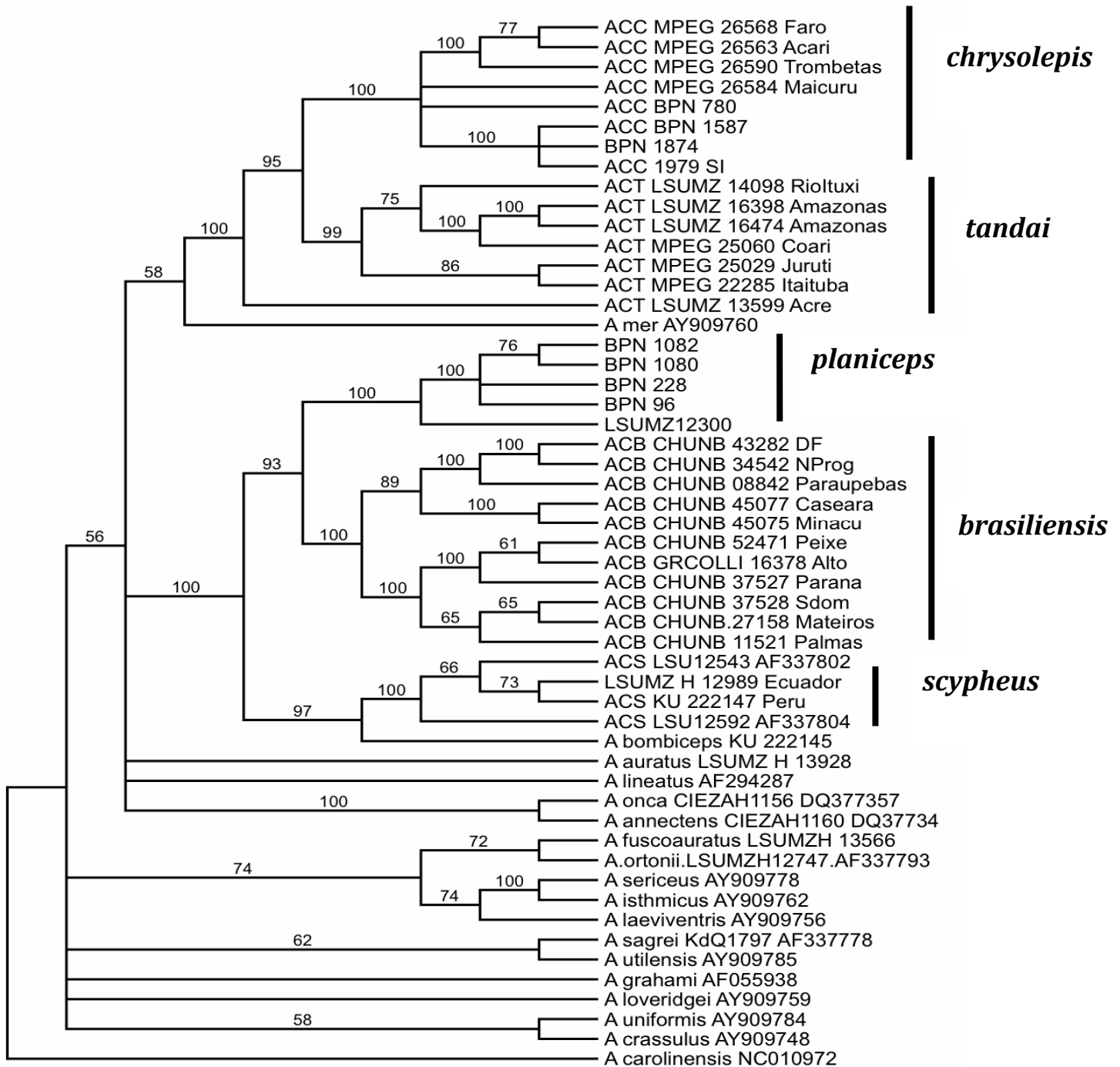


Figure 2: Maximum Parsimony Phylogeny of *Anolis chrysolepis* species group and outgroups. Numbers above nodes indicates bootstrap values.

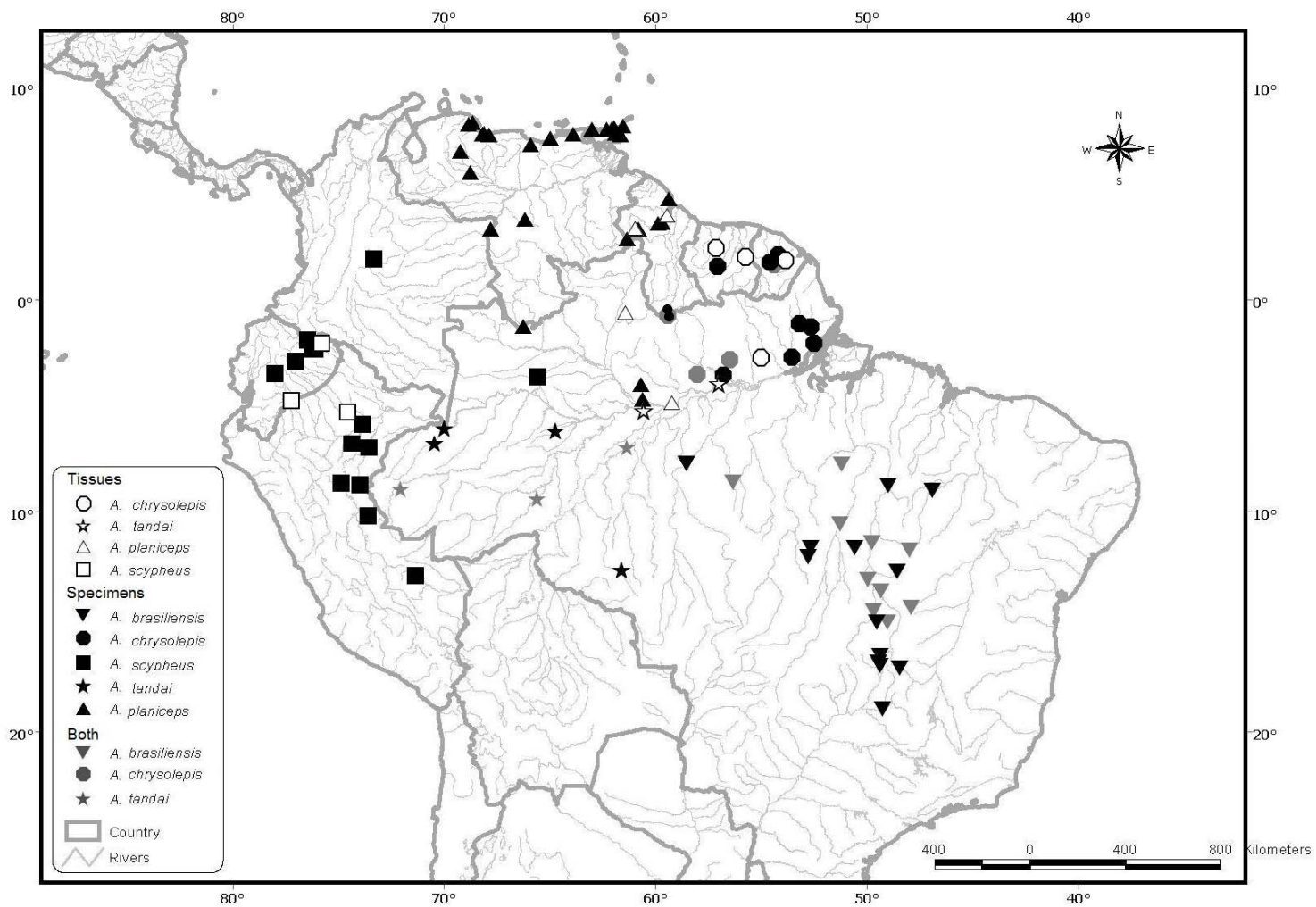


Figure 3: Distribution of material examined of *Anolis chrysolepis* species group (excluding *A. bombiceps*).

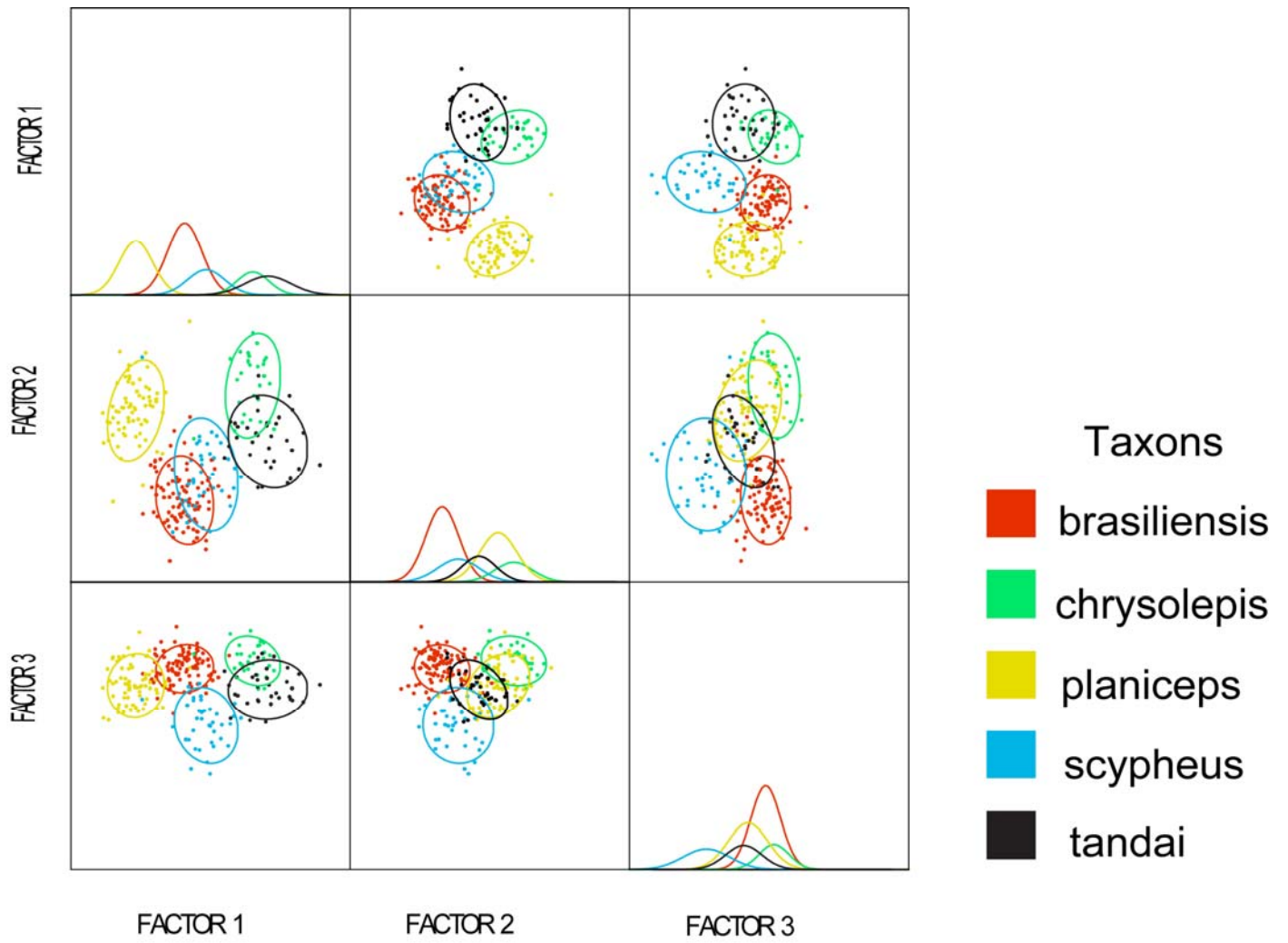


Figure 4: Canonical scores plot of Stepwise Discriminant Function Analyses of meristic characters from *Anolis chrysolepis* species group. The first three factors were responsible for 97% of the variation.

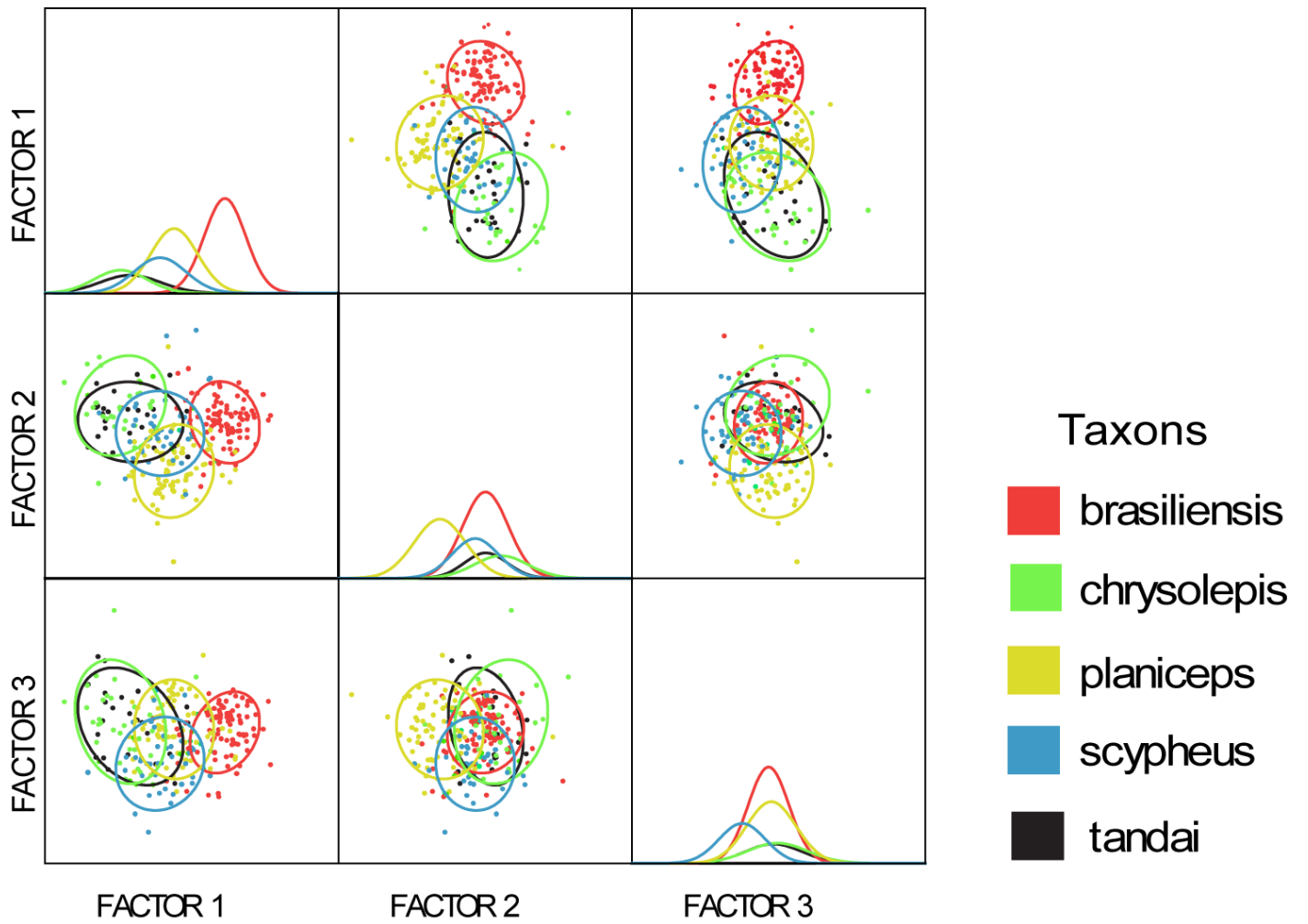


Figure 5: Canonical scores plot of Stepwise Discriminant Function Analyses of morphometry from *Anolis chrysolepis* species group. The first three factors were responsible for 97% of the variation.



Figure 6: *Anolis chrysolepis* species group. a) *Anolis chrysolepis* female from Nassau Plateau, Surinam (Robert Langstroth), b) *Anolis chrysolepis* male from Nassau Plateau, Surinam (Waldima Rocha), c) *Anolis tandai* female from Rio Juruá, Acre (Laurie J. Vitt), d) *Anolis tandai* male from Rio Juruá, Acre, Brazil (Laurie J. Vitt), e) *Anolis tandai* female from Amazonas, Brazil (Laurie J. Vitt), f) *Anolis tandai* male from Amazonas, Brazil (Laurie J. Vitt).

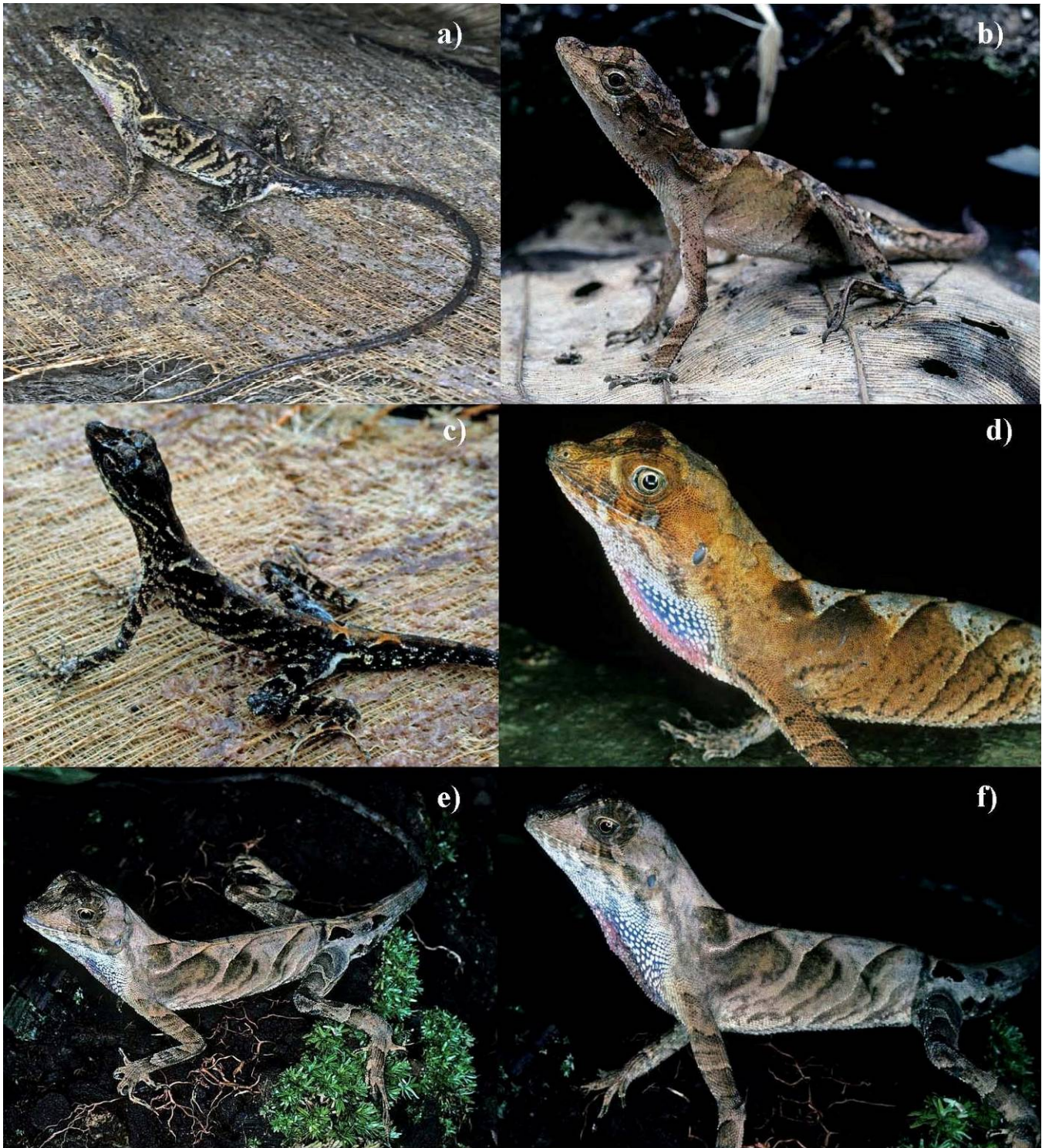


Figure 7: *Anolis chrysolepis* species group. a) *Anolis planiceps* from Roraima, Brazil (Laurie J. Vitt), b) *Anolis planiceps* from Guatopo, Venezuela (Laurie J. Vitt), c) *Anolis planiceps* from Roraima, Brazil (Laurie J. Vitt), d) *Anolis scypheus* from Ecuador (Laurie J. Vitt), e) *Anolis scypheus* from Ecuador (Laurie J. Vitt), f) *Anolis scypheus* from Ecuador (Laurie J. Vitt).

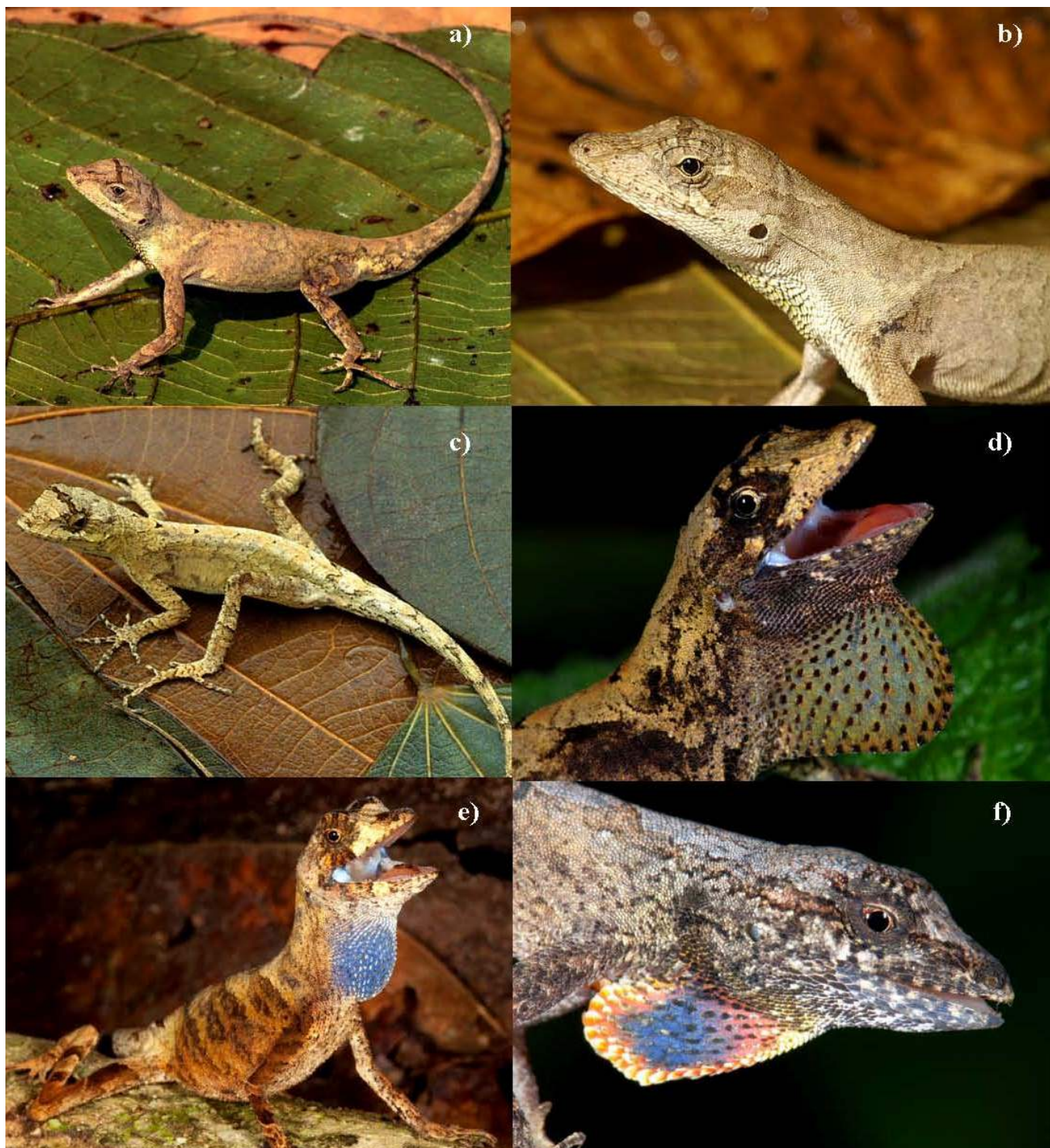


Figure 8: *Anolis chrysolepis* species group. a) *Anolis brasiliensis* from Cantão, Tocantins, Brazil (Laurie J. Vitt), b) *Anolis brasiliensis* from Cantão, Tocantins, Brazil (Laurie J. Vitt), c) *Anolis brasiliensis* from Jalapão, Tocantins, Brazil (Laurie J. Vitt), d) *Anolis brasiliensis* from Tocantins, Brazil (Itamar Tonial), e) *Anolis bombiceps* (Young Cage), f) *Anolis meridionalis* from Tocantins, Brazil (Itamar Tonial).

Tables

Table 1: Comparisons of tree scores and P values of SH and AU tests between out best ML tree and the constrained trees.

Hypothesis	-lnL	difference -lnL	SH test (P value)	AU test (P value)
Optimal tree	-16900,3198	n/a	n/a	n/a
Monophyletic <i>A. chrysolepis</i> group (excluding <i>A. bombiceps</i> and <i>A. meridionalis</i>)	-16963,9620	-63,6423	<0,001	<0,001
Monophyletic <i>A. chrysolepis</i> group + <i>A. bombiceps</i> (excluding only <i>A. meridionalis</i>)	-16900,9392	-0,6194	0,867	0,571
Monophyletic <i>A. tandai</i> (including the Acre population)	-16903,4524	-3,1326	0,726	0,420

Table 2: Classification matrix of Stepwise Discriminant Function Analyses of scale countings for *Anolis chrysolepis* species group.

	<i>Anolis brasiliensis</i>	<i>Anolis chrysolepis</i>	<i>Anolis scypheus</i>	<i>Anolis tandai</i>	<i>Anolis planiceps</i>	%correct
<i>Anolis brasiliensis</i>	95	0	1	0	2	97
<i>Anolis chrysolepis</i>	1	26	0	2	0	90
<i>Anolis scypheus</i>	1	0	35	0	1	95
<i>Anolis tandai</i>	0	1	0	33	0	97
<i>Anolis planiceps</i>	2	1	0	0	69	96
Total	99	28	36	35	72	96

Table 3: Stepping Summary of Stepwise Discriminant Function Analyses of meristic characters for *Anolis chrysolepis* species group, showing the most important characters in separating the species, following the order they were sorted.

	F(+ent,-rem)	Wilks's Lambda	Approx. F-ratio	p-value
CANTHALS	277,692	0,193	277,692	0
LAMA	86,823	0,083	162,832	0
SCABETCAN	60,633	0,043	132,052	0
PROS	21,956	0,032	104,95	0
MBODY	15,58	0,026	86,586	0
SCABETSEMI	12,542	0,022	75,542	0
ILAB	9,366	0,019	66,613	0
LAMD	9,015	0,017	61,256	0
LOREAL	8,055	0,015	55,524	0
INTERPSEMI	5,281	0,014	51,343	0

Table 4: Canonical discriminant functions of Stepwise Discriminant Function Analyses of meristic characters for *Anolis chrysolepis* species group.

	1	2	3	4
SLAB
ILAB	0,053	0,478	0,106	0,089
PROS	0,079	-0,305	-0,075	-0,892
LOREAL	-0,019	-0,417	0,064	0,152
CANTHALS	0,83	-0,433	0,331	0,125
SCABETCAN	0,221	0,167	-0,59	-0,128
SCABETSEMI	0,194	0,322	-0,181	-0,158
INTERPSEMI	0,156	-0,089	-0,249	0,3
PMENT
LAMD	0,126	-0,288	-0,336	0,103
LAMA	-0,587	-0,431	0,016	-0,094
MBODY	0,146	-0,026	-0,471	0,137

Table 5: Classification matrix of Stepwise Discriminant Function Analyses of morphometry for *Anolis chrysolepis* species group.

	<i>A. tandai</i>	<i>A. brasiliensis</i>	<i>A. chrysolepis</i>	<i>A. planiceps</i>	<i>A. scypheus</i>	%correct
<i>A. tandai</i>	14	1	6	1	4	54
<i>A. brasiliensis</i>	0	85	0	4	5	90
<i>A. chrysolepis</i>	6	1	18	0	4	62
<i>A. planiceps</i>	1	7	1	55	9	75
<i>A. scypheus</i>	1	4	6	4	29	66
Total	22	98	31	64	51	76

Table 6: Stepping Summary of Stepwise Discriminant Function Analyses of morphometry for *Anolis chrysolepis* species group, showing the most important characters in separating the species, following the order they were sorted.

	F(+ent,-rem)	Wilks's Lambda	Approx. F-ratio	p-value
INTERP	39,464	0,623	39,464	0
SNOUT	29,61	0,428	34,343	0
TIBIA	41,105	0,262	37,639	0
EAR	18,024	0,205	33,711	0
MOUTH	13,452	0,169	30,217	0
HEADW	6,81	0,153	26,589	0
ORBDIST	5,391	0,141	23,709	0
MOUTHEAR	4,911	0,131	21,708	0
SVL	5,106	0,121	19,959	0

Table 7: Canonical discriminant functions of Stepwise Discriminant Function Analyses of morphometry for *Anolis chrysolepis* species group.

	1	2	3	4
SVL	0,818	0,366	0,325	0,944
TIBIA	-2,224	-0,037	0,346	-1,373
MOUTH	0,757	-0,51	-0,399	0,888
HEADW	0,312	1,251	-1,215	0,573
HEADALT
ORBDIST	-0,256	-0,944	0,319	-0,154
EAR	0,412	0,004	-0,645	-0,718
NOSTRILS
MOUTHEAR	-0,293	-0,173	-0,416	0,267
SNOUT	0,448	0,701	0,984	-0,778
INTERP	0,55	-0,826	0,037	-0,158

Table 8: Comparisons of meristic characters, body proportions and measurements among the species of *Anolis chrysolepis* group (excluding *A. bombiceps*).

	<i>chrysolepis</i>	<i>tandai</i>	<i>scypheus</i>	<i>planiceps</i>	<i>brasiliensis</i>
n. exs.	44	34	37	72	98
max. svl	74 mm	70 mm	80 mm	76 mm	69 mm
midbody	101-156	118-148	110-174	110-149	112-155
	123.83 ± 12.80	134.06 ± 7.43	145.94 ± 14.98	125.84 ± 9.46	129.12 ± 10.78
slabials	11-15	11-14	9-14	10-14	10-14
ilabials	11-15	11-14	10-13	9-11	8-13
prostrals	4-7	6-9	5-7	4-7	5-7
loreal	5-10	7-9	7-10	6-9	6-10
canthals	6-9	6-10	6-9	6-8	5-8
scales bet 2 ^a canthal	9-14	10-15	9-15	8-14	8-14
scales bet semicircsorbit	1-3	1-4	1-5	1-3	0-3
interp - semicircsorbit	1-5	2-4	2-5	1-3	1-4
pmentals	4-8	4-8	4-7	4-8	4-8
lam-d	12-17	14-18	15-21	14-20	15-20
	14.72 ± 1.16	15.87 ± 1.03	18.35 ± 1.47	16.61 ± 1.52	17.18 ± 1.02
lam-a	21-26	20-28	26-35	19-34	25-32
	22.86 ± 1.15	24.45 ± 2.09	28.97 ± 2.16	28.32 ± 2.47	29.29 ± 1.43
tail/svl	1.23 - 2.17	1.54 - 2.17	1.66 - 2.53	1.33 - 3.27	1.22 - 2.54
mouth/svl	0.18 - 0.24	0.19 - 0.23	0.18 - 0.24	0.19 - 0.26	0.18 - 0.26
interp/head-w	0.10 - 0.19	0.09 - 0.23	0.11 - 0.25	0.16 - 0.32	0.11 - 0.30
tibia/svl	0.20 - 0.38	0.30-0.41	0.26-0.38	0.27-0.36	0.26-0.34

Table 9: Taxon, Identification Number and Locality of specimens sequenced and downloaded from Genbank.

Taxon	ID Number	Locality
<i>Anolis tandai</i>	MPEG 22285	Itaituba, Pará, Brazil
<i>Anolis tandai</i>	MPEG 25209	Juruti, Pará, Brazil
<i>Anolis tandai</i>	LSUMZ 14098	Rio Ituxi, Aazonas, Brazil
<i>Anolis tandai</i>	MPEG 25060	Coari, Amazonas, Brazil
<i>Anolis tandai</i>	LSUMZ 16398	Rio Solimões, Amazonas, Brazil
<i>Anolis tandai</i>	LSUMZ 16474	Rio Solimões, Amazonas, Brazil
<i>Anolis tandai</i>	LSUMZ 13599	Rio Juruá, Acre, Brazil
<i>Anolis chrysolepis</i>	MPEG 26590	Trombetas, Pará, Brazil
<i>Anolis chrysolepis</i>	MPEG 26568	Faro, Pará, Brazil
<i>Anolis chrysolepis</i>	MPEG 26563	Acari, Pará, Brazil
<i>Anolis chrysolepis</i>	BPN780	Suriname
<i>Anolis chrysolepis</i>	MPEG 26584	Maicuru, Pará, Brazil
<i>Anolis chrysolepis</i>	BPN 1587	French Guiana
<i>Anolis chrysolepis</i>	BPN 1979	French Guiana
<i>Anolis chrysolepis</i>	BPN 1874	French Guiana
<i>Anolis scypheus</i>	LSUMZ 12592	Ecuador
<i>Anolis scypheus</i>	LSUMZ 12543	Ecuador
<i>Anolis scypheus</i>	LSUMZ 12989	Ecuador
<i>Anolis planiceps</i>	LSUMZ 12300	Rio Ajarani, Roraima, Brazil
<i>Anolis planiceps</i>	BPN 1080	Guiana
<i>Anolis planiceps</i>	BPN 1082	Guiana
<i>Anolis planiceps</i>	BPN 228	Guiana
<i>Anolis planiceps</i>	BPN 96	Guiana
<i>Anolis brasiliensis</i>	CHUNB 45077	Caseara, Tocantins, Brazil
<i>Anolis brasiliensis</i>	CHUNB 45075	Minaçú, Goiás, Brazil
<i>Anolis brasiliensis</i>	CHUNB 08842	Paraupabas, Pará, Brazil
<i>Anolis brasiliensis</i>	CHUNB 43282	Brasilia, Distrito Federal, Brazil
<i>Anolis brasiliensis</i>	CHUNB 34542	Novo Progresso, Pará, Brazil
<i>Anolis brasiliensis</i>	CHUNB 27158	Mateiros, Tocantins, Brazil
<i>Anolis brasiliensis</i>	CHUNB 11421	Palmas, Tocantins, Brazil
<i>Anolis brasiliensis</i>	CHUNB 37528	São Domingos, Goiás, Brazil
<i>Anolis brasiliensis</i>	CHUNB 37527	Paraná, Tocantins, Brazil
<i>Anolis brasiliensis</i>	CHUNB 52471	Peixe, Tocantins, Brazil
<i>Anolis brasiliensis</i>	GRC 16378	Alto Paraiso, Goiás, Brazil
<i>Anolis auratus</i>	LSMUZ H-13928	Alter do Chão, Pará, Brasil.
<i>Anolis bombiceps</i>	KU 222145	Peru, Loreto, NA, 1.5 Km N Teniente Lopez, 310 Agropecuária Trevisto, LTDA, ca 101 km S, 18 km E, Santarem. Pará, Brasil
<i>Anolis ortonii</i>	LSUMZ H-12747	
<i>Anolis fuscoauratus</i>	LSUMZH 13566	Gen Bank
<i>Anolis meridionalis</i>	AY909760	Gen Bank

<i>Anolis lineatus</i>	AF294287	Gen Bank
<i>Anolis onca</i>	CIEZAH1156 DQ377357	Gen Bank
<i>Anolis annectens</i>	CIEZAH1160 DQ37734	Gen Bank
<i>Anolis sericeus</i>	AY909778	Gen Bank
<i>Anolis isthmicus</i>	AY909762	Gen Bank
<i>Anolis laeviventris</i>	AY909756	Gen Bank
<i>Anolis sagrei</i>	KdQ1797 AF337778	Gen Bank
<i>Anolis utilensis</i>	AY909785	Gen Bank
<i>Anolis grahami</i>	AF055938	Gen Bank
<i>Anolis loveridgei</i>	AY909759	Gen Bank
<i>Anolis uniformis</i>	AY909784	Gen Bank
<i>Anolis crassulus</i>	AY909748	Gen Bank
<i>Anolis carolinensis</i>	NC010972	Gen Bank
