



Pós-Graduação  
**ZOOLOGIA**  
MPEG/UFPA

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

**FILOGEOGRAFIA EM LAGARTOS NO BAIXO TOCANTINS, ILHA  
DO MARAJÓ E SUL DO AMAPÁ**

**ANA CARLA BARROS DE SOUZA**

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

**Orientador: Dra. Teresa C. S.  
de Ávila-Pires**

**Co-orientador: Evonnildo G.  
Costa**

**BELÉM-PA  
2008  
ANA CARLA BARROS DE SOUZA**

**FILOGEOGRAFIA EM LAGARTOS NO BAIXO TOCANTINS, ILHA  
DO MARAJÓ E SUL DO AMAPÁ**

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

**Orientador: Dra. Teresa C. S.  
Ávila-Pires**

**Co-orientador: Evonnildo G.  
Costa**

**BELÉM-PA**  
**2008**  
**i**  
**AGRADECIMENTOS**

À Dra. Teresa Ávila-Pires, orientadora, por todas as discussões e sugestões para realização deste trabalho, por ter acreditado em mim desde a iniciação científica e ter me dado às condições necessárias para que a dissertação fosse concluída.

Ao Dr. Evonnildo Costa, co-orientador pelas sugestões valiosas para a elaboração da dissertação e pelo auxílio nas análises moleculares.

Ao Dr. Marcelo Vallinoto pela ajuda nas análises estatísticas.

Aos colegas do Laboratório de Polimorfismo de DNA, Tibério e Leonardo, pela ajuda no alinhamento das seqüências e nas análises estatísticas e, as técnicas do mesmo, Silvanira, Socorro, Cíntia e Soraya pela ajuda nos procedimentos laboratoriais.

A todos que me ajudaram nas coletas: Fabrício, seu Rocha, Ramiro, Gleomar, Breno, André Barroso e Pedro.

Aos amigos do Laboratório de Herpetologia do MPEG: Alessandra (priminha), Darlan (conselheiro), Márcio, Crisalda, Janaína, Wáldima, Francílio, Marco Antonio e Luis Paulo, pela convivência e pelos bons momentos que passamos juntos.

Aos amigos Áderson e Márcio por toda a ajuda e agradáveis momentos desde o tempo da iniciação científica.

A amiga Alessandra pelo companheirismo desde a época de estagiaria.

A todos os colegas de pós-graduação pela troca de experiências durante as disciplinas do mestrado.

As secretárias Dorotéia e Anete pelo auxílio nas questões burocráticas e pela agradável convivência.

A Dra. Maria Paula Scheneider, coordenadora do Laboratório de Polimorfismo de DNA da Universidade Federal do Pará, por permitir que as análises moleculares deste trabalho fossem realizadas no laboratório.

Aos meus pais e irmãos, pelo carinho, incentivo e ajuda durante toda a minha vida acadêmica.

Ao Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá (IEPA) pela estrutura concedida na realização das coletas no estado e ao herpetólogo desta instituição Jucivaldo Dias Lima pela ajuda nas coletas de campo e pela acolhida em Macapá.

Ao programa BECA pelo financiamento da coleta de campo no Amapá.

A FAPESP pelo financiamento do projeto.

Ao CNPq pela concessão da bolsa.

Muito Obrigada!!!

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>iii</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>v</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>viii</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>ix</b>
<b>1. Introdução.....</b>	<b>1</b>
<i>O contexto geológico.....</i>	<i>3</i>
<i>Estudos filogeográficos.....</i>	<i>5</i>
<b>2. Objetivos.....</b>	<b>7</b>
<b>3. Material e Métodos.....</b>	<b>7</b>
<i>Amostragem.....</i>	<i>7</i>
<i>Procedimentos Laboratoriais.....</i>	<i>9</i>
<i>Análises Estatísticas.....</i>	<i>10</i>
<i>Diversidade Genética e História Demográfica.....</i>	<i>10</i>
<i>Diferenciação Genética.....</i>	<i>11</i>
<i>Análises filogenéticas.....</i>	<i>11</i>
<b>4. Resultados.....</b>	<b>12</b>
<i>Diversidade Genética.....</i>	<i>12</i>
<i>Relações Filogeográficas e Diferenciação Genética.....</i>	<i>15</i>
<i>História Demográfica.....</i>	<i>25</i>
<b>5. Discussão.....</b>	<b>28</b>
<i>O sinal filogeográfico do gene citocromo oxidase I .....</i>	<i>28</i>
<i>Diversidade Genética e Mudanças Demográficas.....</i>	<i>29</i>
<i>Diferenciação Genética e a Hipótese de Mudança de Curso do Rio Tocantins.....</i>	<i>31</i>
<b>6. Referências Bibliográficas.....</b>	<b>33</b>
<b>Anexo I.....</b>	<b>40</b>

## LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Áreas de amostragem do material estudado.....	8
Tabela 2. Número de exemplares por área de cada uma das espécies estudadas.....	9
Tabela 3. Diversidade genética ( $\pm$ DP) e testes de neutralidade para 611 pb do gene mitocondrial COI de <i>Gonatodes humeralis</i> da Amazônia oriental. $\pi$ = Diversidade nucleotídica; $h$ = Diversidade haplotípica; $P$ = probabilidade do valor de $R_2$ ser menor ou igual ao observado, baseado em 1000 simulações de coalescência. Ap = Amapá, Mj = Marajó, OT = oeste do Tocantins, LT = leste do Tocantins, It = Itaituba.....	14
Tabela 4. Diversidade genética ( $\pm$ DP) e testes de neutralidade para 546 pb do gene mitocondrial COI de <i>Kentropyx calcarata</i> da Amazônia oriental. $\pi$ = Diversidade nucleotídica; $H$ = Diversidade haplotípica; $P$ = probabilidade do valor de $R_2$ ser menor ou igual ao observado, baseado em 1000 simulações de coalescência. Ap = Amapá, Mj = Marajó, OT = oeste do Tocantins, LT = leste do Tocantins, It = Itaituba.....	15
Tabela 5. Distância $p$ não corrigida, em porcentagem, entre os diferentes haplótipos obtidos a partir de 611 pb do gene COI de 5 populações de <i>Gonatodes humeralis</i> da Amazônia oriental. H1 - H5 = Amapá, H6 - H10 = Marajó, H11 - H16 = oeste do Tocantins, H17 - H20 = leste do Tocantins e H21 - H24 = Itaituba. Os valores sombreados referem-se às comparações intrapopulacionais.....	19

**Tabela 6. Distância  $p$  não corrigida, em porcentagem, entre os diferentes haplótipos obtidos a partir de 546 pb do gene COI de 5 populações de *Kentropyx calcarata* da Amazônia oriental. H1 – H4 = Amapá, H5 – H6 = oeste do Tocantins, H7 – H8 = Marajó, H9 = leste do Tocantins e H10 – H12 = Itaituba. Os valores sombreados referem-se às comparações intrapopulacionais.....23**

**Tabela 7. Análise da variância molecular – AMOVA, baseada no gene mitocondrial COI, indicando variabilidade genética entre e dentro de cinco populações de *Gonatodes humeralis* da Amazônia oriental. Ap = Amapá, Mj = Marajó, OT = oeste do Tocantins, LT = leste do Tocantins, It = Itaituba.....24**

**Tabela 8. Análise da variância molecular – AMOVA, baseada no gene mitocondrial COI, indicando variabilidade genética entre e dentro de cinco populações de *Kentropyx calcarata* da Amazônia oriental. Ap = Amapá, Mj = Marajó, OT = oeste do Tocantins, LT = leste do Tocantins, It = Itaituba.....24**

**Tabela 9. Estimativas de  $F_{st}$  entre pares de populações de *Gonatodes humeralis* da Amazônia oriental. OT = oeste do Tocantins, LT = leste do Tocantins. Todos os valores foram significativos ( $P < 0,05$ ).....25**

**Tabela 10. Estimativas de  $F_{st}$  entre pares de populações de *Kentropyx calcarata* da Amazônia oriental. OT = oeste do Tocantins, LT = leste do Tocantins. Todos os valores foram significativos ( $P < 0,05$ ).....25**

## LISTA DE FIGURAS

## Página

**Figura 1. Evolução hipotética da área do baixo rio Tocantins e Ilha do Marajó, do Plio-Pleistoceno ao presente, segundo Rosseti & Valeriano, 2007. A) Curso hipotético do paleo rio Tocantins e respectivo paleovale, o qual resultou na deposição inicial dos sedimentos do Pós-Barreiras. B) Por reativação de falhas geológicas o paleo rio Tocantins altera seu curso para o sentido NE atual. Este evento tectônico foi também responsável pelo desenvolvimento inicial da área de Caxiuanã, ampliando o paleovale em direção oeste. C) Falhas no sentido E-W dão origem ao rio Pará, responsável pelo insulamento do Marajó. Contemporâneo a esse evento, ocorre uma ligeira subsidência no lado oriental do Marajó, criando um novo espaço para acumulação de sedimentos. Para maiores detalhes, ver Rosseti & Valeriano, 2007.....4**

**Figura 02. Mapa de sítios polimórficos e de frequência absoluta de haplótipos em 611 nucleotídeos do gene mitocondrial COI de 49 espécimes de *Gonatodes humeralis* da Amazônia oriental. Excetuando-se os sítios sombreados todos os outros são informativos para a parcimônia. Ap = Sul do Amapá, Mj = Ilha do Marajó, OT = Oeste do Tocantins, LT = Leste do Tocantins e It = Itaituba.....13**

**Figura 3. Mapa de sítios polimórficos e de frequência absoluta de haplótipos em 546 nucleotídeos do gene mitocondrial COI de 32 espécimes de *Kentropyx calcarata* da Amazônia. Todos os sítios polimórficos são informativos para a parcimônia. Ap = Sul do Amapá, OT = Oeste do Tocantins, Mj = Ilha do Marajó, LT = Leste do Tocantins e It = Itaituba.....14**

**Figura 4.** Árvore não enraizada de MP (70 passos, IC = 0,77, IR = 0,91) para os haplótipos obtidos de 611 pb do gene mitocondrial COI de cinco populações de *Gonatodes humeralis* da Amazônia oriental. H1 - H5 = Amapá, H6 - H10 = Marajó, H11 - H16 = oeste do Tocantins, H17 - H20 = leste do Tocantins e H21 - H24 = Itaituba.....16

**Figura 5–** Árvore não enraizada de MV (-lnL = 1289.04) para os haplótipos obtidos de 611 pb do gene mitocondrial COI de cinco populações de *Gonatodes humeralis* da Amazônia oriental. H1 - H5 = Amapá, H6 - H10 = Marajó, H11 - H16 = oeste do Tocantins, H17 - H20 = leste do Tocantins e H21 - H24 = Itaituba.....17

**Figura 6.** Rede de haplótipos obtidos de 611 pb do gene mitocondrial COI de cinco populações de *Gonatodes humeralis* da Amazônia oriental. Os círculos da cor verde correspondem aos haplótipos da população do Amapá, em preto da Ilha do Marajó, em branco do oeste do Tocantins e em cinza do leste do Tocantins e em azul de Itaituba.....18

**Figura 7.** Árvore não enraizada de MP (97 passos, IC = 0,87, IR = 0,93) para os haplótipos obtidos de 611 pb do gene mitocondrial COI de cinco populações de *Kentropyx calcarata* da Amazônia oriental. H1 - H4 = Amapá, H5 - H6 = oeste do Tocantins, H7 - H8 = Marajó, H9 = leste do Tocantins e H10 - H12 = Itaituba.....21

**Figura 8.** Árvore não enraizada de MV (-lnL = 1194.01) para os haplótipos obtidos de 546 pb do gene mitocondrial COI de cinco populações de *Kentropyx calcarata* da Amazônia oriental. H1 - H4 = Amapá, H5 - H6 = oeste do Tocantins, H7 - H8 = Marajó, H9 = leste do Tocantins e H10 - H12 = Itaituba.....22

**Figura 9.** Rede de haplótipos obtidos de 546 pb do gene mitocondrial COI de cinco populações de *Kentropyx calcarata* da Amazônia oriental. Os círculos da cor verde

correspondem aos haplótipos da população do Amapá, em preto da Ilha do Marajó, em branco do oeste do Tocantins, em cinza do leste do Tocantins e em azul do Itaituba.....23

vii

Figura 10. Distribuição “mismatch” baseada em seqüências do gene mitocondrial COI de cinco populações *Gonatodes humeralis* da Amazônia oriental. a) todas as populações, b) Amapá, c) Marajó, d) oeste do Tocantins, e) leste do Tocantins e f) Itaituba.....26

Figura 11. Distribuição das diferenças entre pares de seqüências do gene mitocondrial COI de *Kentropyx calcarata* da Amazônia oriental. a) todas as populações, b) Amapá, c) Marajó, d) oeste do Tocantins, e) Itaituba.....27

**RESUMO**

Estudos filogeográficos têm ajudado a esclarecer o contexto espacial e temporal da diversificação de organismos amazônicos, o que pode ser diretamente comparado com cenários geológicos específicos. O presente estudo visa fornecer informações que possam auxiliar na reconstituição da história recente do baixo Tocantins/Ilha do Marajó a partir de uma análise filogeográfica de *Gonatodes humeralis* e *Kentropyx calcarata*. Adicionalmente, a utilidade do gene *citocromo oxidase I* como marcador para estudos populacionais de lagartos foi avaliada. Dados de 49 exemplares de *G. humeralis* e 32 de *K. calcarata* de 14 localidades ao sul do Amapá, baixo Tocantins, Ilha do Marajó e de uma externa à área focal do estudo foram analisados. Além das medidas de diversidade e diferenciação genética, foram possíveis eventos de expansão demográfica recente nestas populações foram avaliados com uso da estatística  $R_2$ . As relações filogenéticas entre as populações foram avaliadas pela construção de árvores não enraizadas usando-se os métodos de máxima parcimônia (MP) e máxima verossimilhança (MV). Os resultados obtidos demonstram que embora o COI tenha sido raramente utilizado para esta finalidade, a variação observada entre seqüências de populações de *G. humeralis* e *K. calcarata* indicam que ele é um marcador útil para análises filogeográficas. As cinco populações de ambas as espécies aqui estudadas, são geneticamente estruturadas. Isso indica um baixo ou mais provavelmente inexistente fluxo gênico entre elas. As relações filogeográficas observadas, embora mais seguramente para *G. humeralis* que para *K. calcarata* indicam que ocorreram mudanças significativas em tempos relativamente recentes no sistema de drenagem na região do baixo rio Tocantins e Ilha do Marajó. Isto porque, há neste estudo, fortes indícios de que em tempos pretéritos recentes houve maior movimentação, ativa ou passiva, das espécies entre as regiões do Marajó e oeste do rio Tocantins que teriam sido as mais diretamente afetadas por estas mudanças.

**ABSTRACT**

Filogeographical studies have helped to clarify the spatial and temporal context of the diversification of organisms from Amazonian, which can be directly compared with specific geological scenarios. This study aims to contribute with the reconstitution of the recent history of low Tocantins/Marajó Island from a philogeographical analysis of *Gonatodes humeralis* and *Kentropyx calcarata*. The questions to be answered are whether there is a distinction among the population of the southern Amapá, Marajó Island, and each side of the Tocantins river, and how these populations interrelate one each other. In addition, this work also aims to assess the usefulness of the gene *cytochrome oxidase I* as a marker for studies of lizard populations. Data from 49 specimens of *G. humeralis* and 32 of *K. calcarata* from 14 localities in southern Amapá, low Tocantins, Marajó Island, and of an external population of the focal area of study, in the city of Itaituba, Pará, were analyzed. The molecular studies were based on mitochondrial gene *cytochrome oxidase I*. The levels of genetic variability were calculated: diversity of nucleotides ( $\pi$ ) and diversity of haplotypes ( $h$ ), the genetic differentiation through the analysis of molecular variance (AMOVA) and the estimates of  $F_{st}$  for pairs of populations and distribution of the differences between pairs of sequences. It was used a statistical test to detect possible  $R_2$  events of recent demographic expansion. The phylogenetic relations between populations were evaluated by the construction of non-rooted trees using the methods of maximum parsimony (MP) and maximum likelihood (MV). The results show that although the COI has been rarely used for this purpose, the observed variation in sequences of populations of *G. humeralis* and *K. calcarata* indicates that it is a useful marker for Phylogeographic analysis. The five populations of both species studied here, are genetically structured. This indicates a low or, more probably, inexistent gene flow among them. The observed Phylogeographic relations, although more certainly to *G. humeralis* than *K. calcarata*, indicates that significant changes have occurred in relatively recent times in the drainage system in the low Tocantins river and Marajo island. This is due strong indications, obtained in this

study, that in recent past there was more movement, active or passive, of the species between regions of Marajo and west of the Tocantins river that would have been the most directly affected by these changes.

## 1. Introdução

A região do baixo rio Tocantins e Ilha do Marajó apresenta uma fauna de lagartos composta predominantemente por (1) elementos amplamente distribuídos na Amazônia (23 espécies registradas) e (2) elementos das Guianas, região à qual pertence o Amapá (9 espécies, das quais duas chegam apenas à Ilha do Marajó). Além dessas espécies, abriga algumas outras, num total de 39 espécies registradas para a área como um todo (Nascimento *et al.*, 1991; Avila-Pires, 1995). Embora o baixo rio Tocantins não pareça constituir uma barreira geográfica para a maioria das espécies de lagartos, os registros atuais apontam alguma diferenciação a leste e a oeste do rio (Anexo I).

Quando se enfoca os lagartos que ocupam exclusivamente áreas de vegetação aberta, na Amazônia em geral existem dois padrões principais de distribuição: (1) Elementos que ocorrem nos enclaves de vegetação aberta ao norte do rio Amazonas, ocupando também ambientes propícios às margens (norte e sul) do rio Amazonas – por exemplo, *Kentropyx striata* e *Anolis auratus*, o primeiro registrado na Ilha do Marajó, o segundo até o momento apenas na Ilha Mexiana. (2) Elementos que ocorrem nos enclaves de vegetação aberta meridionais da Amazônia, sendo usualmente formas comuns à região dos Cerrados – por exemplo, *Hoplocercus spinosus* e *Polychrus acutirostris*. A maioria dessas espécies não é registrada para a área de estudo, mas há dois registros de *P. acutirostris* para o baixo rio Tocantins (localidades Mangabeira e Cameté). O interessante desse padrão é que ele vai contra a idéia de um contínuo de áreas abertas na Amazônia num passado recente. Por outro lado, uma única espécie de lagarto, *Tropidurus hispidus*, ocorre tanto ao norte como ao sul do Amazonas. Essa espécie atualmente ocupa grande parte do Nordeste brasileiro, chegando até o Maranhão, com distribuição disjunta em enclaves de áreas abertas ao norte do rio Amazonas. Já em Belém ocorre *Tropidurus oreadicus*, de ampla distribuição no Brasil Central (Rodrigues, 1987; Avila-Pires, 1995). A colonização das áreas ao norte do rio Amazonas, nesse caso, pode ter ocorrido via litoral, em épocas de nível do mar mais baixo. Existe um registro de *Tropidurus “torquatus”* (um nome que abrangia à época da publicação várias espécies) para a Ilha do Marajó, feita por Müller (1969), mas esse dado necessita ser confirmado.

Outro caso especial de lagartos de ambientes abertos refere-se à *Cnemidophorus* do grupo *lemniscatus*. É um grupo essencialmente amazônico, com algumas espécies bissexuadas e ao menos duas espécies unissexuadas, uma das quais – *C. cryptus* – bastante espalhada no leste da Amazônia, incluindo ambientes propícios no baixo Tocantins, Ilha do Marajó e Amapá (a outra é restrita à costa do Suriname). Sendo partenogenética, é uma espécie de características invasoras, com facilidade de colonizar novas áreas.

Somando-se todos esses dados, temos o seguinte cenário para a região do baixo rio Tocantins – Ilha do Marajó - Amapá: (1) Considerando a presença de várias espécies com distribuição predominantemente nas Guianas, que ocorre também no leste do Pará, o estuário do rio Amazonas parece atuar, ou ter atuado em algum momento do passado, como um filtro biogeográfico, permitindo a passagem de ao menos parte de sua fauna no sentido norte – sul. (2) Considerando os dados geológicos que evidenciam que a Ilha do Marajó era contínua com a área do baixo Tocantins em tempos relativamente recentes, poderíamos esperar um relacionamento, nessas espécies mencionadas acima, na seqüência Amapá (Marajó – baixo Tocantins). (3) Igualmente em algum momento do passado, ao menos uma espécie (*Tropidurus hispidus*) parece ter migrado de sul para norte, através do litoral, desaparecendo posteriormente de algumas das áreas intermediárias.

O presente estudo busca testar algumas dessas questões, especialmente o item 2, a partir de uma análise filogeográfica de dois dos componentes da fauna de lagartos encontrada na região – *Gonatodes humeralis* (Guichenot, 1855) e *Kentropyx calcarata* Spix, 1825.

*Gonatodes humeralis* pertence à família Gekkonidae, atingindo um comprimento rostro-cloacal máximo de 41,5 mm. Tem hábitos diurnos, sendo encontrado em ambiente de floresta de terra firme, várzea e igapó. É amplamente distribuído na Amazônia, ocorrendo no Brasil, Guiana Francesa, Suriname, Guyana, Venezuela, Colômbia, Equador, Peru, Bolívia, e ainda nas ilhas de Trinidad e Tobago. Estende-se ainda até o Mato Grosso do Sul, através de áreas florestadas dentro da região dos Cerrados (Ávila-Pires, 1995; Nogueira, 2006). O gênero *Gonatodes*, distribuído no norte e centro da

América do Sul, América Central e Antilhas, apresenta 20 espécies atualmente reconhecidas. Cinco dessas espécies estão presentes na Amazônia brasileira.

*Kentropyx calcarata* é um lagarto heliófilo que pertence à família Teiidae, atingindo um comprimento rostro-cloacal máximo de 110 mm. Tem hábitos diurnos, sendo encontrado em ambientes de floresta geralmente próximo a áreas que recebem insolação direta, como bordas de floresta, ao longo de estradas, vegetação secundária, e margens de rios, áreas que visita para se aquecer e forragear (Hoogmoed, 1973; Magnusson & Lima, 1984; Vitt, 1991). Por ser um lagarto heliófilo, apresenta plasticidade frente às alterações ambientais. Sofre aumento populacional em áreas alteradas devido ao aumento de sítios para termorregulação (Vitt *et al.*, 1997; Sartorius *et al.*, 1999). Esta espécie se distribui principalmente na Amazônia central e oriental (Brasil, Guyana, Guiana Francesa e Suriname) e é também encontrada na Floresta Atlântica (Ávila-Pires, 1995). O gênero *Kentropyx*, com um total de nove espécies conhecidas, se distribui na maior parte da América do Sul a leste dos Andes. A Amazônia brasileira abriga quatro espécies.

#### *O contexto geológico*

Sob o ponto de vista geológico, esta é uma área de grande relevância para a reconstituição de eventos a partir do Neógeno, por conter um variado registro sedimentar formado desde o Mioceno ao Recente. De acordo com os dados geológicos disponíveis, esta área é recoberta por um grande volume de depósitos plio-pleistocênicos, o que a torna particularmente atraente para os estudos de evolução da biodiversidade, uma vez que este intervalo de tempo pode ter testemunhado a explosão do processo de especiação de vários táxons da biota amazônica (p.e., Fjeldsa, 1993; Silva & Patton, 1993; Aleixo, 2004). A partir da cidade de Tucuruí, os estratos plio-pleistocênicos formam uma feição triangular em direção ao norte, sugerindo a existência pretérita de um sistema deltaico. O rio Tocantins, hoje direcionado para nordeste, pode ter ocupado então uma posição cerca de 130 km a oeste de sua localização atual (Figura 1), servindo possivelmente como fonte principal dos sedimentos plio-pleistocênicos desse sistema deltaico (Rossetti & Valeriano, 2007; Rossetti *et al.*, 2007).

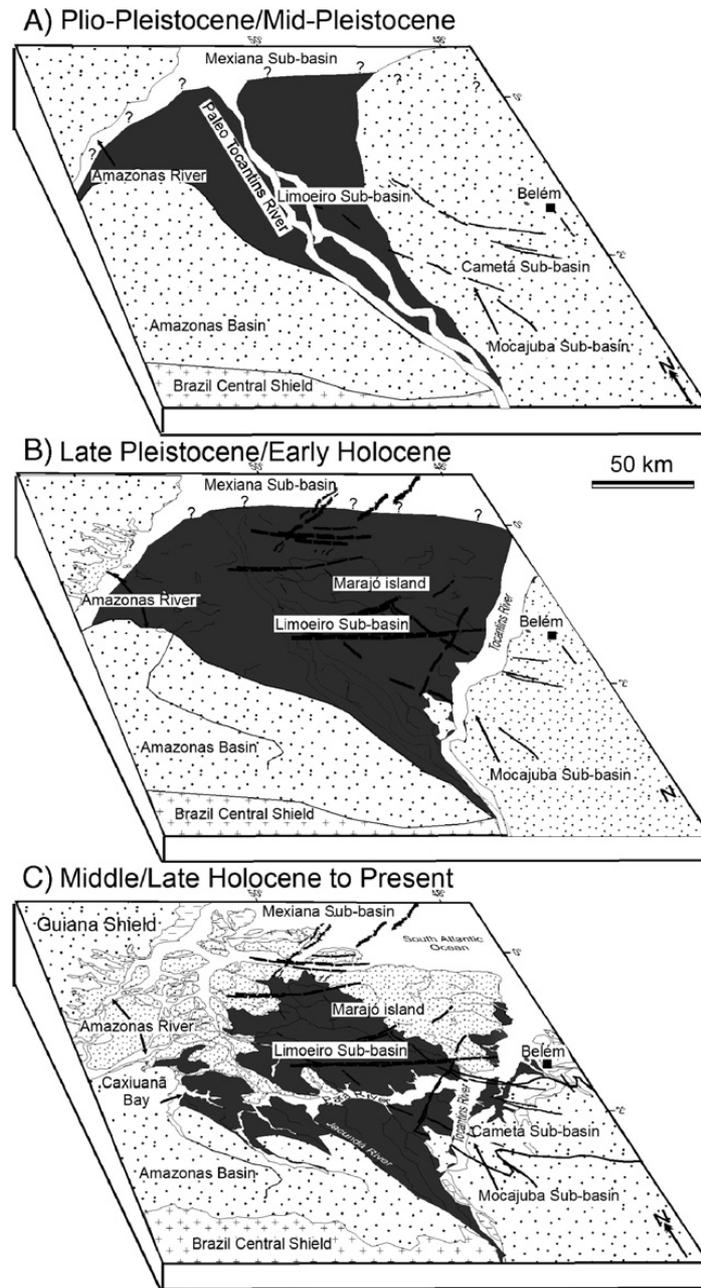


Figura 1. Evolu o hipotética da área do baixo rio Tocantins e Ilha do Marajó, do Plio-Pleistoceno ao presente, segundo Rosseti & Valeriano, 2007. A) Curso hipotético do paleo rio Tocantins e respectivo paleovale, o qual resultou na deposi o inicial dos sedimentos do Pós-Barreiras. B) Por reativa o de falhas geológicas o paleo rio Tocantins altera seu curso para o sentido NE atual. Este evento tect nico foi também responsável pelo desenvolvimento inicial da área de Caxiuanã, ampliando o paleovale em dire o oeste. C) Falhas no sentido E-W d o origem ao rio Pará, responsável pelo insulamento do Marajó. Contemporâneo a esse evento, ocorre uma ligeira subsidência no lado oriental do Marajó, criando um novo espaço para acumula o de sedimentos. Para maiores detalhes, ver Rosseti & Valeriano, 2007.

### *Estudos filogeográficos*

A filogeografia é uma disciplina que associa a biogeografia, a genética populacional e a filogenia molecular no estudo dos polimorfismos de genes em populações de uma espécie ou entre espécies próximas (Avice *et al.*, 1987; Avice, 1998). Estudos de filogeografia comparativa têm sido valiosos para o desenvolvimento e teste de hipóteses sobre processos evolutivos históricos com impacto na composição da biodiversidade atual.

As metodologias que utilizam DNA são muito eficazes para reconstrução filogenética e têm sido largamente empregadas em várias abordagens evolutivas, tais como nos estudos de fluxo gênico, especiação, sistemática e estrutura de populações (Avice, 1994). Por exemplo, estudos com o lagarto *Gymnodactylus darwinii* na Floresta Atlântica, na costa brasileira, demonstrou uma grande variabilidade genética que resultou na sua separação em duas espécies e no reconhecimento de populações geneticamente diferenciadas, aparentemente separadas pelos principais rios da região (Pellegrino *et al.*, 2005).

Na região amazônica estudos com lagartos não foram ainda realizados, mas estudos com outros vertebrados têm ajudado a esclarecer o contexto espacial e temporal da diversificação destes organismos na região, o que pode ser diretamente comparado com cenários geológicos específicos (Marks *et al.* 2002, Aleixo 2004). Aleixo (2004) utilizou um complexo de subespécies de aves de terra firme para testar três hipóteses de diversificação de espécies na Amazônia – rios como barreiras, refúgios e incursões marinhas. Os resultados indicaram que as hipóteses com maior apoio são as dos rios como barreiras e incursões marinhas. Os dados sugerem que uma interação entre geologia, mudanças no nível do mar e hidrografia criaram oportunidades para a cladogênese das espécies estudadas, em diferentes escalas temporais e geográficas. Patton e colaboradores (p.ex., Silva & Patton, 1998; Patton *et al.*, 2000; Patton & Costa, 2003) realizaram uma série de estudos filogeográficos com marsupiais e roedores, com o objetivo tanto de entender as conexões históricas entre Amazônia e Floresta Atlântica, como a diversificação desses grupos na Amazônia. Esses estudos mostram complexas relações entre áreas dentro da Amazônia e evidências de que, embora algumas linhagens

desses animais sejam recentes, a maioria delas possui uma história de diversificação antiga, sugerindo uma origem anterior ao Pleistoceno.

No presente estudo esperamos auxiliar na reconstituição da história recente do baixo Tocantins/Ilha do Marajó através de estudos filogeográficos, com base no gene mitocondrial *Citocromo Oxidase I* de dois lagartos que ocorrem em ambientes florestados nessas áreas.

O DNA mitocondrial é especialmente favorável a estudos filogeográficos por geralmente apresentar transmissão exclusivamente materna, ausência de recombinação, altas taxas evolutivas quando comparado ao genoma nuclear e variação intra-específica extensa, a maior parte da qual ocorre entre (e não dentro de) indivíduos (Avice, 2000). Assim, para o presente estudo, foi selecionado o gene mitocondrial citocromo oxidase subunidade I (COI). O gene citocromo b (*cit b*) tem sido mais comumente utilizado em análises filogenéticas, entretanto o uso do COI neste tipo de estudo tem ganho destaque a partir da publicação de Hebert *et al.* (2004).

O COI codifica uma proteína responsável pela catálise envolvida com o transporte de elétrons e com a translocação de prótons através da membrana (Saraste, 1990), e seu uso como marcador molecular deve-se à mescla de regiões nucleotídicas altamente conservadas com outras mais variáveis (Saraste, 1990; Gennis, 1992), o que é útil para análises de relações filogenéticas de grupos com tempos de divergência tanto antigos quanto recentes. Analisando os níveis de polimorfismo e diferenciação de seqüências parciais do COI, Cho *et al.* (2007) encontraram significativa diferenciação entre populações do molusco *Scapharca broughtonii* da Korea, China e Rússia. Corroborando o trabalho de Hebert *et al.* (2004), Tavares e Baker (2008) concluíram que a análise de uma região variável do COI, a mesma analisada neste estudo, é uma maneira rápida de se descobrir linhagens monofiléticas dentro de uma metapopulação que pode representar espécies crípticas não reconhecidas.

## 2. Objetivos

- Reconstituir as relações filogenéticas entre as populações dos lagartos *Gonatodes humeralis* (Guichenot, 1855) e *Kentropyx calcarata* Spix, 1825 que ocorrem nas áreas a leste e a oeste do baixo rio Tocantins, na Ilha do Marajó e no sul do Amapá, a partir de um fragmento do gene mitocondrial *Citocromo Oxidase I*;
- Avaliar a utilidade do *citocromo oxidase I* como marcador para estudos populacionais de lagartos;
- Testar a hipótese de que o tempo de separação entre essas populações é relativamente recente, sendo as populações do Marajó e baixo rio Tocantins mais próximas entre si, em relação àquelas do sul do Amapá, através da avaliação do grau de diferenciação genética entre as populações do Marajó, baixo rio Tocantins e sul do Amapá. .

## 3. MATERIAL E MÉTODOS

### Amostragem

Quatorze localidades situadas na região do baixo rio Tocantins, Ilha do Marajó e sul do Amapá (Tabela 1) foram visitadas, objetivando uma amostragem geral da fauna de lagartos de cada local.

Os espécimes coletados na Ilha do Marajó, a leste e a oeste do rio Tocantins foram depositados na coleção herpetológica do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG). Os espécimes coletados no sul do Amapá foram depositados na coleção Fauna do Amapá, do Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá (IEPA). Todos os tecidos, inclusive aqueles associados aos espécimes coletados no Amapá, foram depositados na coleção herpetológica do MPEG.

As coletas no sul do Amapá foram realizadas no mês de agosto de 2006, nos municípios de Macapá (4 localidades) e Serra do Navio (uma localidade). Em Macapá foram realizadas coletas em ambientes de floresta de terra firme, várzea e campo cerrado.

No município de Serra do Navio, apenas em floresta de terra firme. Na Ilha do Marajó as coletas ocorreram em novembro de 2005, no município de Santa Cruz do Arari, quando foram visitados ambientes de floresta, campo cerrado e pequenas manchas de floresta no campo cerrado, num total de quatro pontos amostrados. A oeste do Tocantins as coletas ocorreram em março de 2006, na Floresta Nacional de Caxiuanã e no seu entorno, tendo sido realizadas coletas somente em ambiente de floresta, em três diferentes pontos. Por fim, a leste do Tocantins as coletas ocorreram no período de junho de 2005 a março de 2006, no Parque Ecológico Gumma. O parque representa uma mancha de floresta remanescente localizada no município de Santa Bárbara, com 541 hectares (400 hectares de floresta).

Tabela 1. Áreas de amostragem do material estudado.

<b>Região</b>	<b>UF</b>	<b>Município</b>	<b>Localidade</b>	<b>Coordenadas</b>
Sul do Amapá	AP	Macapá	Parque Zoobotânico da Fazendinha	00°02'16,9"S 51°05'52,2"W
Sul do Amapá	AP	Macapá	APA da Fazendinha	00°03'01.1"S e 051°08'10.7"W
Sul do Amapá	AP	Macapá	Reg. do Goiabal/Área particular	00°00'39.7" S e 051°07'15.9"W
Sul do Amapá	AP	Macapá	Fazenda Seu Zezinho	00°05'32,2"S e 51°08'11,0"W
Sul do Amapá	AP	Macapá	APA do Rio Curiaú	00°09'6,8"S e 51°00'59,2"W
Sul do Amapá	AP	Serra do Navio	Serra do Navio	00°53'36,9"S e 052°00'24,8"W
Ilha do Marajó	PA	Santa Cruz do Arari	Vila Mocoons	00°38,84"S e 49°27,99"W
Ilha do Marajó	PA	Santa Cruz do Arari	Faixa Babaçual	00°26,89"S e 49°14,05"W
Ilha do Marajó	PA	Santa Cruz do Arari	Fazenda Apeú	00°28,32"S e 49°13,04"W
Ilha do Marajó	PA	Santa Cruz do Arari	Margem oeste do Lago Arari	00°27,96"S e 49°13,29"W
Oeste do Tocantins	PA	Melgaço	Itaperu	01°55'40,1"S e 51°22'28,7" W
Oeste do Tocantins	PA	Melgaço	Ilha do IBAMA	01°47'52,6"S e 51°25'93,9" W
Oeste do Tocantins	PA	Melgaço	Marinau	01°55'40,1"S e 51°22'28,7" W
Leste do Tocantins	PA	Santa Bárbara	Parque Ecológico Gunma	1°13'00,86"S e 48°17'41,18"W

As espécies *Gonatodes humeralis* e *Kentropyx calcarata* foram selecionadas para as análises filogeográficas por terem sido as mais bem representadas na amostragem obtida (Anexo I). Um total de 49 espécimes de *Gonatodes humeralis* e 32 de *Kentropyx calcarata* foram analisados neste estudo (Tabela 2), incluindo material procedente do leste e oeste do Rio Tocantins, sul do Amapá, Ilha do Marajó e de uma população externa à área focal do estudo, o Parque Nacional da Amazônia, Município de Itaituba, Pará.

Tabela 2. Número de exemplares por área de cada uma das espécies estudadas.

Espécie	Localidade					Total
	Sul do Amapá	Ilha do Marajó	Oeste do Tocantins	Leste do Tocantins	Itaituba	
<i>Gonatodes humeralis</i>	14	8	12	8	7	49
<i>Kentropyx calcarata</i>	6	4	4	11	7	32

### Procedimentos Laboratoriais

A extração do DNA foi obtida através do método fenol-clorofórmio, seguindo os procedimentos-padrões de Sambrook *et al.* (1989). O fragmento do gene mitocondrial COI de cada amostra foi amplificado através de reação em cadeia da polimerase – PCR, num volume total de reação de 50 µl contendo 10 ng de DNA genômico, 1,0 mM de cada DNTP, 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 1 unidade de Taq DNA polimerase e 10 pmol de cada um dos iniciadores A7988 e F7308 (Palumbi, 1996). O perfil de amplificação consistiu de trinta ciclos compostos dos seguintes passos: 1 minuto a 94°C; 1 minuto e 30 segundos a 60°C; e 1 minuto a 72°C, sendo estes precedidos por um passo inicial de 5 minutos a 94°C para a homogeneização da temperatura do bloco e seguidos por um passo final de 10 minutos, a 72°C para polimerização de eventuais moléculas das quais a polimerase tenha se dissociado antes do final da síntese total do fragmento.

Os produtos das amplificações foram seqüenciados no analisador automático de DNA MegaBace (GE Healthcare) usando o DYEnamic ET Dye Terminator kit (GE Healthcare), de acordo com as especificações do fabricante. Para confirmar as mutações

observadas, cada amostra foi seqüenciada com ambos os iniciadores, direto e reverso. As seqüências nucleotídicas obtidas foram editadas e alinhadas no programa BioEdit (Hall, 1999). Para verificar a possível amplificação de pseudogenes através da presença de códons de parada na matriz de leitura da proteína COI, todas as seqüências foram traduzidas em seqüências de aminoácidos com auxílio do programa DnaSP 4.10.3 (Rozas & Rozas, 2003).

## **Análises Estatísticas**

### **Diversidade Genética e História Demográfica**

O programa DnaSP 4.10.3 (Rozas & Rozas, 2003) foi utilizado para calcular os níveis de polimorfismo dentro das populações e testar a probabilidade de evolução neutra das seqüências nucleotídicas. Os níveis de variabilidade genética foram quantificados pela diversidade de nucleotídeos ( $\pi$ ) e haplótipos ( $h$ ). Em função do baixo número amostral de cada população, utilizou-se o teste estatístico  $R_2$  (Ramos-Onsins & Rozas 2002) para se detectar possíveis eventos de expansão demográfica recente.  $R_2$  leva em consideração o número de mutações únicas e a diversidade nucleotídica, sendo esperado baixos valores de  $R_2$  num cenário de expansão populacional recente. A significância desse teste foi determinada baseando-se em 1000 simulações de coalescência sob um modelo de tamanho populacional constante, associado a tamanhos amostrais e estimativas de  $\theta (= 4N\mu)$  empíricos.

Adicionalmente, a distribuição das diferenças entre pares de seqüências foi calculada para comparar as histórias demográficas das populações. Realizada no programa DnaSP 4.10.3 (Rozas & Rozas, 2003), esta análise tem como objetivo testar o modelo de expansão populacional “explosiva” formulado por Rogers & Harpending (1992), no qual populações que apresentam uma distribuição de diferenças entre pares de nucleotídeos unimodal experimentaram uma fase de expansão demográfica recente, ao passo que populações com distribuições multimodais são demograficamente estáveis, tendo atingido um equilíbrio entre deriva genética e mutação.

## **Diferenciação Genética**

O programa Arlequin 3.11 (Schneider et al., 2000) foi utilizado para medir a diferenciação genética entre as populações através da análise de variância molecular (AMOVA) e das estimativas de  $F_{st}$  (Wright, 1931) para pares de populações. A AMOVA usa frequências genotípicas e a quantidade de mutações entre diferentes haplótipos para testar a significância dos componentes de variância associados a três níveis hierárquicos de estrutura genética populacional: (1) intra-populacional, (2) inter-populacional entre populações de um mesmo grupo e (3) entre populações de dois grupos diferentes (Excoffier *et al.*, 1992). O índice de fixação ( $F_{st}$ ) foi elaborado para caracterizar o grau de diferenciação genética entre subpopulações e é igual à redução do número de heterozigotos esperados em um cruzamento ao acaso.

## **Análises filogenéticas**

As relações filogenéticas entre as populações foram avaliadas pela construção de árvores não enraizadas usando-se os métodos de máxima parcimônia (MP) e máxima verossimilhança (MV), com análises conduzidas no programa PAUP 4.0d (Swofford, 1998). O apoio estatístico para os clados hipotéticos foi obtido pela análise de *bootstrap* (Felsenstein 1985), com 1000 replicações tanto para MP quanto para MV.

Pelo método de máxima parcimônia, os cladogramas são construídos para todos os sítios informativos do banco de dados e ao final a árvore mais parcimoniosa é selecionada dentre todas as obtidas. O cladograma mais parcimonioso é aquele que requer o menor número possível de mudanças evolutivas para explicar toda variação obtida entre seqüências sob comparação. Este número mínimo de mudanças (ou passos) é denominado de escore da árvore. Para esta análise usou-se um algoritmo de busca heurística com 50 adições de seqüências ao acaso e pesos iguais para as transições e transversões.

A análise MV foi feita seguindo-se o modelo evolutivo especificado pelo programa MODELTEST 3.0 (Posada & Crandall, 1998), em uma análise prévia dos dados. O objetivo da MV em inferências filogenéticas é avaliar a probabilidade de que um determinado modelo de mudanças evolutivas possa explicar a origem dos dados

observados. Na metodologia de MV, os modelos de mudanças evolutivas são avaliados quanto à sua probabilidade de explicar um conjunto de dados de forma que reflita a história evolutiva mais próxima da realidade, ou seja, a história mais verossímil.

A relação entre os haplótipos foi, adicionalmente, analisada pela construção de uma rede de haplótipos através do programa Network 4.2.0.1 (Fluxus Technology Ltd. at [www.fluxus-engineering.com](http://www.fluxus-engineering.com)) e de estimativas de distâncias não corrigidas entre pares de seqüências, obtidas com auxílio do programa PAUP 4.0d (Swofford, 1998).

## 4. Resultados

### Diversidade Genética

Foram obtidos 611 nucleotídeos do gene mitocondrial COI de cada um dos 49 espécimes de *Gonatodes humeralis* e 546 nucleotídeos de cada um dos espécimes de *Kentropyx calcarata*. No alinhamento das seqüências das duas espécies não foram observados códons de parada nem inserções e deleções (indels), e a composição nucleotídica para *Gonatodes humeralis* foi constituída de 22,81% de adenina, 28,64% de citosina, 19,59% de guanina e 28,96% de timina ( $\chi^2 = 2,71$ , G.L. = 69,  $P = 1$ ), enquanto para *Kentropyx calcarata* estes valores foram iguais a, respectivamente, 27,24%, 21,96%, 17,77% e 33,02% ( $\chi^2 = 5,26$ , G.L. = 33,  $P = 0,99$ ).

Dentre as 49 seqüências de *G. humeralis* foi observado um total de 51 sítios polimórficos, dos quais 49 sítios foram informativos para a parcimônia, perfazendo um total de 24 haplótipos (Figura 2). Em *K. calcarata* ocorreram 81 sítios polimórficos, todos informativos para a parcimônia, distribuídos entre 12 haplótipos (Figura 3).

Na análise de *G. humeralis* o menor nível de diversidade nucleotídica (0,17%, no leste do Tocantins) foi aproximadamente cinco vezes menor que o maior (0,90%, no oeste do Tocantins), enquanto na análise de *K. calcarata*, esta diferença, desconsiderando o leste do Tocantins onde não foi observado polimorfismo, foi de quase trinta vezes entre Marajó (0,09%) e Itaituba (2,67%). Para ambas as espécies, as populações do leste do Tocantins foram responsáveis pela menor diversidade haplotípica. Em *G. humeralis* os valores da diversidade haplotípica se mostraram mais homogêneos que aqueles de diversidade nucleotídica, enquanto em *K. calcarata* eles se mostraram mais heterogêneos (Tabelas 3 e 4).

		1111111222222222222233333333334444444555555555555	Freqüência
		35778901234470145677791344557789224568900024678999	absoluta
		153684614925287108147234365839271727649125841273123	Ap Mj OT LT Pn
H_1	GGGGGAACGTGCGTACTGTGTTCCACATTTACCACTTGC	CGCTTCGGTTTAA	05
H_2	.....	C.....A.....	01
H_3	.....	.....A.....	04
H_4	.....	.....C.....	02
H_5	.....T.....	.....	02
H_6	A...GGA.....A.A.C.....C..GTTT...A...C.T.....		04
H_7	A...GGA.....A.A.C.....C..G.TT.....C.....		01
H_8	A...GGA.....A.A.C.....C..GTT.....CC..AC....		01
H_9	A...GGA.....ACA.C.....C..GTTT...A...C.....		01
H_10	A...GGA.....ACA.C.....C..GTTT...A...C.T.....		01
H_11	A..A.GGA...A...CA.A.C.....C.CG.T.....CC..AC....		01
H_12	A..A.GGA...A...CA.A.C.....C.CG.T..C.....CC..AC....		06
H_13	...AG.A...A...C..A.C.....C..G.T.T.....C.....		02
H_14	A..A.GGA...A...CA.A.C.....C.CG.T..C.....CC.AAC....		01
H_15	A...G.A.....C.....C..G.TT...A..AC.....		01
H_16	A..A.GGA...A...CA.A.C.....C.CG.T..C.....C...AC....		01
H_17	A.CA.G.A.....CTT.A.A.C.....C..G.TT..C.T..CC..A.....		02
H_18	A.CA.G.A.....CTT.A.A.C.....C..G.TT..C.T..C...A.....		04
H_19	A.CA.G.A.....CTT.A.A.C.....C..G.TT..C.T..C.....		01
H_20	A.CAAG.A.....CTT.A.A.C.....C..G.TT..C.T..CC..A.....		01
H_21	AA...G.A.C...C.....AGCTTGTGC..G.TC...T..C..C..AGGC		01
H_22	AA...G.A.C...C.....AGCTTGTGC..G.TC...T..C..C..GGC		01
H_23	AA...G.AACA..C.....AGCTT..GCC.G.TC...T..C..A..AGGC		03
H_24	AA...G.AACA..C.....AGCTT..GC..G.TC...T..C..A..CGGC		02

Figura 2 – Mapa de sítios polimórficos e de freqüência absoluta de haplótipos em 611 nucleotídeos do gene mitocondrial COI de 49 espécimes de *Gonatodes humeralis* da Amazônia oriental. Excetuando-se os sítios sombreados todos os outros são informativos para a parcimônia. Ap = Sul do Amapá, Mj = Ilha do Marajó, OT = Oeste do Tocantins, LT = Leste do Tocantins e It = Itaituba.



Tabela 4 – Diversidade genética ( $\pm$  DP) e testes de neutralidade para 546 pb do gene mitocondrial COI de *Kentropyx calcarata* da Amazônia oriental.  $\pi$  = Diversidade nucleotídica;  $H$  = Diversidade haplotípica;  $P$  = probabilidade do valor de  $R_2$  ser menor ou igual ao observado, baseado em 1000 simulações de coalescência. Ap = Amapá, Mj = Marajó, OT = oeste do Tocantins, LT = leste do Tocantins, It = Itaituba.

População	Diversidade		Teste de neutralidade
	$\pi$	$H$	$R_2 (P)$
Ap (n = 06)	0,0020 $\pm$ 0,0005	0,80 $\pm$ 0,17	0,27 (0,63)
Mj (n = 04)	0,0009 $\pm$ 0,0005	0,50 $\pm$ 0,27	0,43 (1,00)
OT (n = 04)	0,0122 $\pm$ 0,0037	0,67 $\pm$ 0,20	0,33 (0,72)
LT (n = 11)*	-	-	-
It (n = 07)	0,0267 $\pm$ 0,0050	0,76 $\pm$ 0,12	0,28 (0,97)

( $P$ ) é a probabilidade do valor de  $R_2$  ser menor ou igual ao observado, baseado em 1000 simulações de coalescência.

\* Ausência de polimorfismo

### Relações Filogeográficas e Diferenciação Genética

Em *Gonatodes humeralis*, a análise de máxima parcimônia gerou uma árvore com 70 passos (índice de consistência = 0,77 e índice de retenção = 0,91). Para a análise de máxima verossimilhança, o programa MODELTEST 3.0 (Posada & Crandall, 1998) selecionou o modelo de substituição TrN + I (-lnL = 1289.04) com as seguintes frequências empíricas de bases: A = 0,2350; C = 0,2890; G = 0,1898 e T = 0,2862; taxas de substituição: [A – C] = 1; [A – G] = 12,0606; [A – T] = 1; [C – G] = 1; [C – T] = 7,3517 e [G – T] = 1; e proporção de sítios invariáveis de 0,8458.

O mapa de sítios polimórficos do gene COI em *G. humeralis* é apresentado na Figura 2. As análises de MP e MV produziram árvores com topologias idênticas, sugerindo a existência de cinco clados filogenéticos: (1) ITAITUBA, (2) Amapá, (3) leste do Tocantins, (4) oeste do Tocantins – haplótipos 11, 12, 14 e 16, e (5) Marajó – haplótipos 6, 9 e 10 (Figuras 4 e 5). Estes resultados foram coerentes com a rede de haplótipos (Figura 6), indicando ser a população da Ilha do Marajó parafilética e a do

oeste do Tocantins polifilética. Ainda que o não enraizamento da árvore não permita dizer com certeza, há a possibilidade de que os haplótipos 11, 12, 14 e 16, do oeste do Tocantins, tenham se originado a partir dos haplótipos da Ilha do Marajó.

Examinando as distâncias não corrigidas entre os haplótipos (Tabela 5), observa-se que as populações do Marajó, oeste do Tocantins e Itaituba mostram algumas medidas similares a de algumas comparações entre haplótipos de diferentes populações. Estes resultados corroboram os resultados das análises anteriores, refletindo a maior diversidade haplotípica nessas áreas.

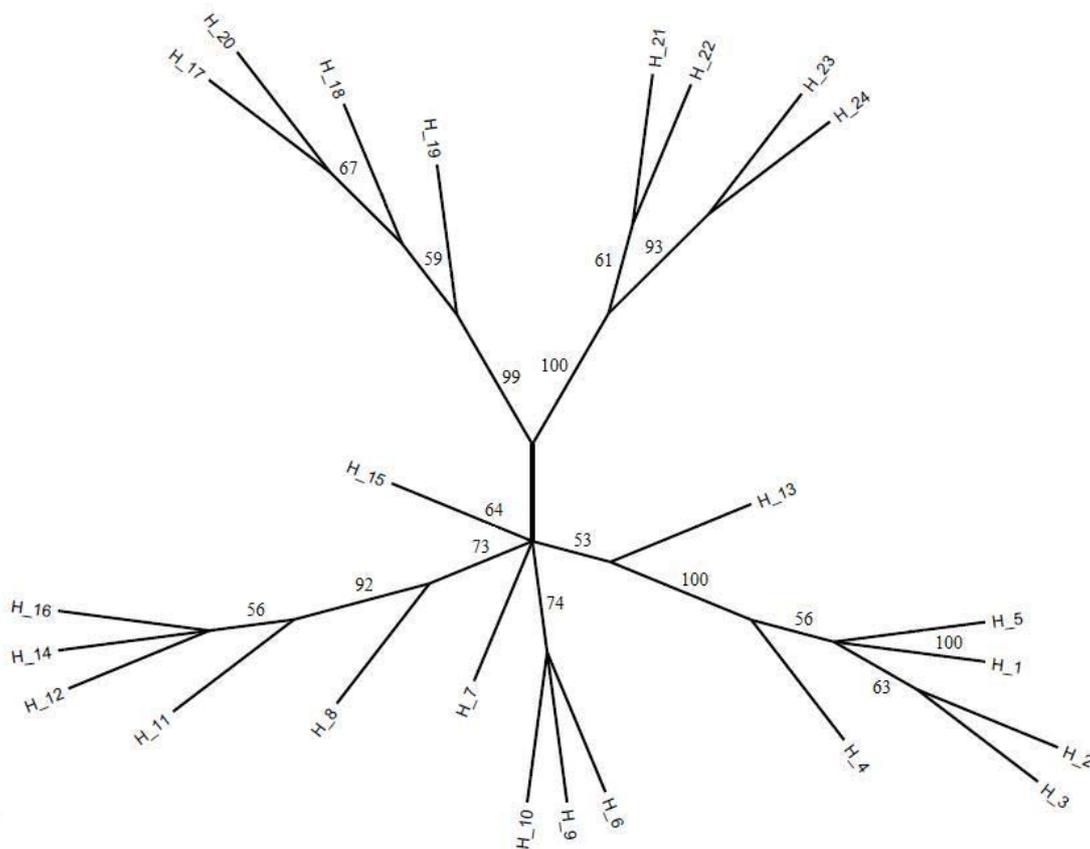


Figura 4 – Árvore não enraizada de MP (70 passos, IC = 0,77, IR = 0,91) para os haplótipos obtidos de 611 pb do gene mitocondrial COI de cinco populações de *Gonatodes humeralis* da Amazônia oriental. H1 - H5 = Amapá, H6 - H10 = Marajó, H11 - H16 = oeste do Tocantins, H17 - H20 = leste do Tocantins e H21 - H24 = Itaituba.

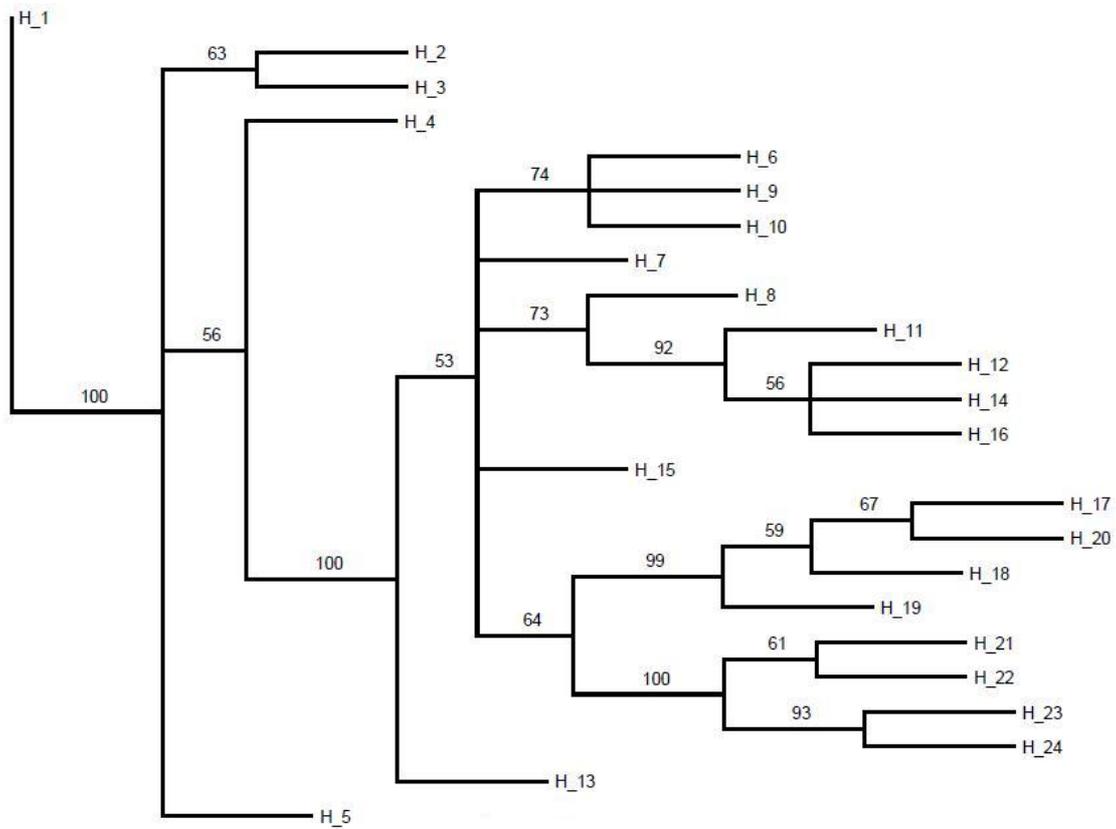


Figura 5– Árvore não enraizada de MV ( $-\ln L = 1289.04$ ) para os haplótipos obtidos de 611 pb do gene mitocondrial COI de cinco populações de *Gonatodes humeralis* da Amazônia oriental. H1 - H5 = Amapá, H6 - H10 = Marajó, H11 - H16 = oeste do Tocantins, H17 - H20 = leste do Tocantins e H21 - H24 = Itaituba.

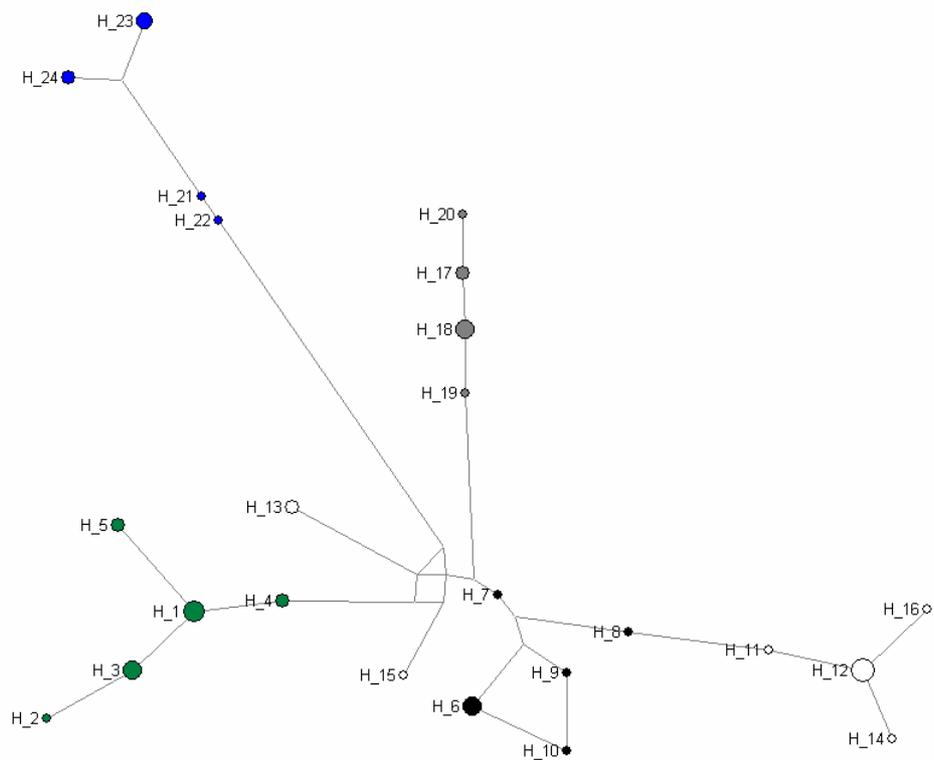


Figura 6- Rede de haplótipos obtidos de 611 pb do gene mitocondrial COI de cinco populações de *Gonatodes humeralis* da Amazônia oriental. Os círculos da cor verde correspondem aos haplótipos da população do Amapá, em preto da Ilha do Marajó, em branco do oeste do Tocantins e em cinza do leste do Tocantins e em azul de Itaituba.

Tabela 5 – Distancia p não corrigida, em porcentagem, entre os diferentes haplótipos obtidos a partir de 611 pb do gene COI de 5 populações de *Gonatodes humeralis* da Amazônia oriental. H1 - H5 = Amapá, H6 - H10 = Marajó, H11 – H16 = oeste do Tocantins, H17 – H20 = leste do Tocantins e H21 – H24 = Itaituba. Os valores sombreados referem-se às comparações intrapopulacionais.

	H_1	H_2	H_3	H_4	H_5	H_6	H_7	H_8	H_9	H_10	H_11	H_12	H_13	H_14	H_15	H_16	H_17	H_18	H_19	H_20	H_21	H_22	H_23	H_24	
H_2	0,30																								
H_3	0,20	0,20																							
H_4	0,20	0,50	0,30																						
H_5	0,20	0,50	0,30	0,30																					
H_6	2,50	2,90	2,70	2,30	2,70																				
H_7	2,00	2,30	2,20	1,80	2,20	0,50																			
H_8	2,50	2,50	2,30	2,30	2,70	1,00	0,80																		
H_9	2,50	2,90	2,70	2,30	2,70	0,30	0,50	1,00																	
H_10	2,70	3,00	2,90	2,50	2,90	0,20	0,70	1,20	0,20																
H_11	3,00	3,00	2,90	2,90	3,20	1,80	1,30	0,80	1,80	2,00															
H_12	3,20	3,20	3,00	3,00	3,40	2,00	1,50	1,00	2,00	2,20	0,20														
H_13	2,00	2,30	2,20	1,80	2,20	1,80	1,30	1,80	1,80	2,00	1,70	1,80													
H_14	3,40	3,40	3,20	3,20	3,60	2,20	1,70	1,20	2,20	2,30	0,30	0,20	2,00												
H_15	1,80	2,20	2,00	1,70	2,00	1,00	0,80	1,70	1,00	1,20	2,20	2,30	1,50	2,50											
H_16	3,00	3,00	2,90	2,90	3,20	1,80	1,30	1,20	1,80	2,00	0,30	0,20	1,70	0,30	2,20										
H_17	3,40	3,40	3,20	3,20	3,50	2,20	1,70	1,80	2,20	2,30	2,00	2,20	2,70	2,30	2,20	2,30									
H_18	3,20	3,20	3,00	3,00	3,40	2,00	1,50	2,00	2,00	2,20	2,20	2,30	2,50	2,50	2,00	2,20	0,20								
H_19	3,00	3,40	3,20	2,80	3,20	1,80	1,30	2,20	1,80	2,00	2,30	2,50	2,30	2,70	1,80	2,30	0,30	0,20							
H_20	3,50	3,50	3,40	3,40	3,70	2,30	1,80	2,00	2,30	2,50	2,20	2,30	2,50	2,50	2,30	2,50	0,20	0,30	0,50						
H_21	4,20	4,60	4,40	4,10	4,40	3,50	3,00	3,70	3,50	3,70	4,20	4,40	3,50	4,40	3,20	4,20	3,70	3,50	3,40	3,90					
H_22	4,10	4,40	4,20	3,90	4,20	3,40	2,80	3,50	3,40	3,50	4,10	4,20	3,40	4,20	3,00	4,10	3,50	3,40	3,20	3,70	0,20				
H_23	4,40	4,80	4,60	4,20	4,60	3,70	3,20	3,90	3,70	3,90	4,40	4,60	3,70	4,40	3,40	4,40	3,90	3,70	3,50	4,10	1,00	1,20			
H_24	4,20	4,60	4,40	4,10	4,40	3,50	3,00	3,70	3,50	3,70	4,20	4,40	3,50	4,20	3,20	4,20	3,70	3,50	3,40	3,90	1,00	1,00	0,30		

Em *Kentropyx calcarata* a análise de máxima parcimônia gerou uma árvore com 97 passos (índice de consistência = 0,87 e índice de retenção = 0,93). Para a análise de máxima verossimilhança, o programa MODELTEST 3.0 (Posada & Crandall, 1998) selecionou o modelo de substituição TIM + I (-lnL = 1194.01) com as seguintes frequências empíricas de bases: A = 0,2669; C = 0,2184; G = 0,1801; T = 0,3346; taxas de substituições: [A – C] = 1; [A – G] = 329883,1875; [A – T] = 22512,5488; [C – G] = 22512,5488; [C – T] = 615784,5625; [G – T] = 1; e proporção de sítios invariáveis de 0,6562.

O mapa de sítios polimórficos do gene COI em *K. calcarata* é apresentado na Figura 3. As topologias das árvores de MV e MP (Figuras 7 e 8) foram similares, sugerindo a existência de três clados filogenéticos: (1) Amapá; (2) Itaituba, haplótipos 11 e 12; e (3) Ilha do Marajó + leste do Tocantins. A relação dos dois haplótipos encontrados a oeste do Tocantins, assim como do haplótipo 10, de Itaituba, é incerta.

A rede de haplótipos (Figura 9) corrobora esses resultados, indicando uma separação clara dos haplótipos do Amapá com os demais. A relação entre os haplótipos

do leste do Tocantins e Ilha do Marajó é linear, indicando nítida ligação temporal entre eles. Considerando as distâncias genéticas entre haplótipos de diferentes populações (Tabela 6) a maior similaridade genética está entre Marajó e leste do Tocantins, cujas distâncias equivalem àquelas entre haplótipos de uma mesma população. Os haplótipos do oeste do Tocantins apresentam menores distâncias em relação aos haplótipos da Ilha do Marajó, enquanto o haplótipo H10, de Itaituba, apresenta a menor distância em relação ao haplótipo H6, do oeste do Tocantins. As distâncias entre os haplótipos do Amapá e de outras populações são bastante elevadas quando comparadas às distâncias entre outras populações e com os dados de *G. humeralis*.

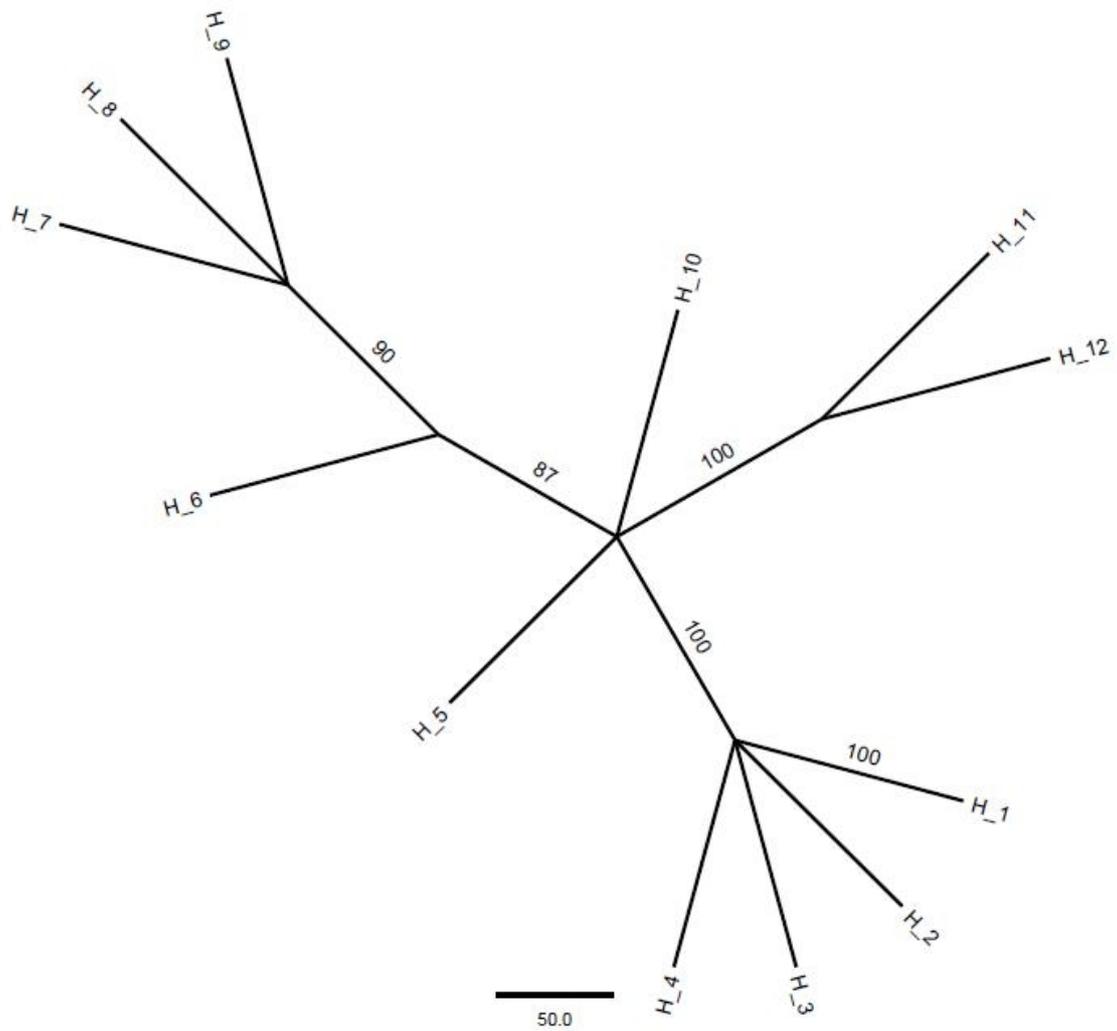


Figura 7– Árvore não enraizada de MP (97 passos, IC = 0,87, IR = 0,93) para os haplótipos obtidos de 611 pb do gene mitocondrial COI de cinco populações de *Kentropyx calcarata* da Amazônia oriental. H1 – H4 = Amapá, H5 – H6 = oeste do Tocantins, H7 – H8 = Marajó, H9 = leste do Tocantins e H10 – H12 = Itaituba.

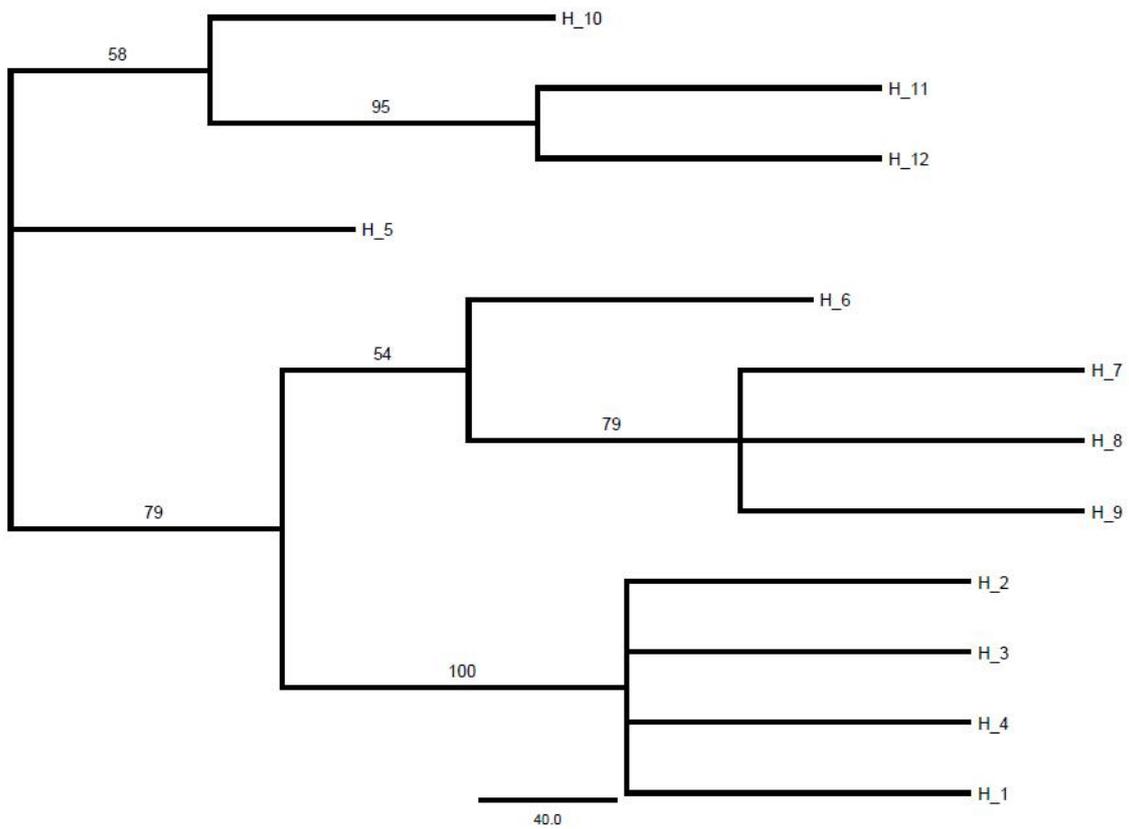


Figura 8 – Árvore não enraizada de MV ( $-\ln L = 1194.01$ ) para os haplótipos obtidos de 546 pb do gene mitocondrial COI de cinco populações de *Kentropyx calcarata* da Amazônia oriental. H1 – H4 = Amapá, H5 – H6 = oeste do Tocantins, H7 – H8 = Marajó, H9 = leste do Tocantins e H10 – H12 = Itaituba.

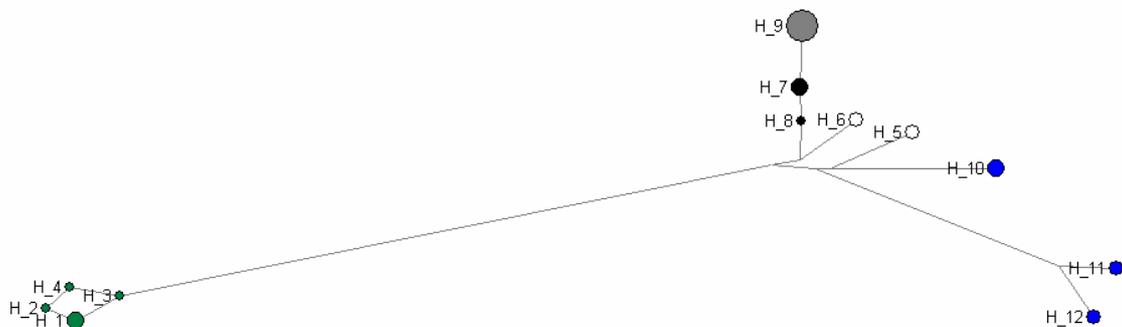


Figura 9- Rede de haplótipos obtidos de 546 pb do gene mitocondrial COI de cinco populações de *Kentropyx calcarata* da Amazônia oriental. Os círculos da cor verde correspondem aos haplótipos da população do Amapá, em preto da Ilha do Marajó, em branco do oeste do Tocantins, em cinza do leste do Tocantins e em azul do Itaituba.

Tabela 6 – Distância p não corrigida, em porcentagem, entre os diferentes haplótipos obtidos a partir de 546 pb do gene COI de 5 populações de *Kentropyx calcarata* da Amazônia oriental. H1 – H4 = Amapá, H5 – H6 = oeste do Tocantins, H7 – H8 = Marajó, H9 = leste do Tocantins e H10 – H12 = Itaituba. Os valores sombreados referem-se às comparações intrapopulacionais.

	H_1	H_2	H_3	H_4	H_5	H_6	H_7	H_8	H_9	H_10	H_11	H_12
H_2	0,20											
H_3	0,20	0,40										
H_4	0,40	0,20	0,20									
H_5	11,20	11,40	11,00	11,20								
H_6	10,70	11,00	10,50	10,70	1,90							
H_7	11,00	11,20	10,70	11,00	2,10	1,30						
H_8	11,20	11,40	11,00	11,20	2,20	1,10	0,20					
H_9	10,70	11,00	10,50	10,70	2,20	1,50	0,20	0,40				
H_10	11,80	12,00	11,60	11,80	2,60	3,40	4,00	4,20	4,20			
H_11	11,90	12,10	11,60	11,90	4,40	5,20	5,40	5,60	5,60	4,80		
H_12	12,60	12,80	12,30	12,60	4,20	5,00	5,20	5,40	5,40	4,60	0,60	

Tanto para *G. humeralis* quanto para *K. calcarata* a AMOVA mostrou uma divergência estatisticamente significativa em todas as combinações de grupos testadas, incluindo as cinco populações juntas (Tabelas 7 e 8), e na análise entre pares de populações (Tabelas 9 e 10).

Tabela 7 – Análise da variância molecular – AMOVA, baseada no gene mitocondrial COI, indicando variabilidade genética entre e dentro de cinco populações de *Gonatodes humeralis* da Amazônia oriental. Ap = Amapá, Mj = Marajó, OT = oeste do Tocantins, LT = leste do Tocantins, It = Itaituba.

Grupos	Fst	Fsc	Fct	% de variação			P
				entre grupos	Dentro das populações	entre populações dentro dos grupos	

{Ap, Mj, OT, LT, Pn}	0,843	-	-	-	15,70	84,30	< 0,001
{Mj, OT, Pn}, {LT}, {Ap}	0,846	0,835	0,064	6,36	15,45	78,20	< 0,001
{Pn, OT}, {LT}, {MJ}, {Ap}	0,838	0,878	-0,331	-33,15	16,16	116,99	< 0,001
{Mj, LT}, {Pn}, {OT}, {Ap}	0,846	0,783	0,290	29,05	15,39	55,56	< 0,001

Tabela 8– Análise da variância molecular – AMOVA, baseada no gene mitocondrial COI, indicando variabilidade genética entre e dentro de cinco populações de *Kentropyx calcarata* da Amazônia oriental. Ap = Amapá, Mj = Marajó, OT = oeste do Tocantins, LT = leste do Tocantins, It = Itaituba.

Grupos	<i>Fst</i>	<i>Fsc</i>	<i>Fct</i>	% de variação			<i>P</i>
				entre grupos	dentro das populações	entre populações dentro dos grupos	
{Ap, Mj, OT, LT, Pn}	0,866	-	-	-	13,41	86,59	< 0,001
{Mj, OT, Pn}, {LT}, {Ap}	0,879	0,746	0,522	52,22	12,13	35,65	< 0,001
{Pn, OT}, {LT}, {MJ}, {Ap}	0,871	0,727	0,527	52,68	12,91	34,41	< 0,001
{Mj, LT}, {Pn}, {OT}, {Ap}	0,879	0,075	0,869	86,92	12,11	0,98	< 0,001

Tabela 9 – Estimativas de *Fst* entre pares de populações de *Gonatodes humeralis* da Amazônia oriental. OT = oeste do Tocantins, LT = leste do Tocantins. Todos os valores foram significativos ( $P < 0,05$ ).

	Amapá	Marajó	OT	LT
Marajó	0,89			
OT	0,81	0,59		
LT	0,94	0,85	0,74	
Itaituba	0,92	0,85	0,81	0,90

Tabela 10 – Estimativas de *Fst* entre pares de populações de *Kentropyx calcarata* da Amazônia oriental. OT = oeste do Tocantins, LT = leste do Tocantins. Todos os valores foram significativos ( $P < 0,05$ ).

	Amapá	Marajó	OT	LT
--	-------	--------	----	----

Marajó	0,98			
OT	0,94	0,60		
LT	0,99	0,90	0,83	
Itaituba	0,86	0,63	0,45	0,77

### História Demográfica

Embora não tenham sido observados valores de  $R_2$  estatisticamente significativos, ou seja, pelo teste  $R_2$  não foi possível detectar sinais de expansão populacional recente, distribuições “mismatch” unimodais foram observadas para as populações do Amapá e leste do Tocantins de *G. humeralis* e Amapá e Marajó de *K. calcarata* (Figuras 10 e 11), o que indicariam expansão demográfica recente para estas populações. Esta discrepância pode ser uma função dos baixos tamanhos amostrais. Por outro lado, distribuições multimodais foram observadas para as populações do Marajó de *G. humeralis* e oeste do Tocantins e Itaituba de ambas as espécies, sugerindo populações estáveis ou que incluem linhagens previamente separadas geograficamente. Como esperado, o conjunto de todas as populações apresenta uma distribuição mismatch multimodal. Este padrão de distribuição é confirmado, por exemplo, pelos dados de amostragem no oeste do Tocantins, onde os dois conjuntos de haplótipos correspondem a amostras de duas ilhas diferentes da Baía de Caxiuanã. Das amostras de *G. humeralis* do Itaituba, o haplótipo 22 é de um indivíduo amostrado num ponto diferente dos outros que apresentam os haplótipos 21, 23 e 24, o mesmo ocorre para o haplótipo 12 que é diferenciado dos 10 e 11 de *K. calcarata* do mesmo parque, reforçando a visão da presença de linhagens genéticas distintas.

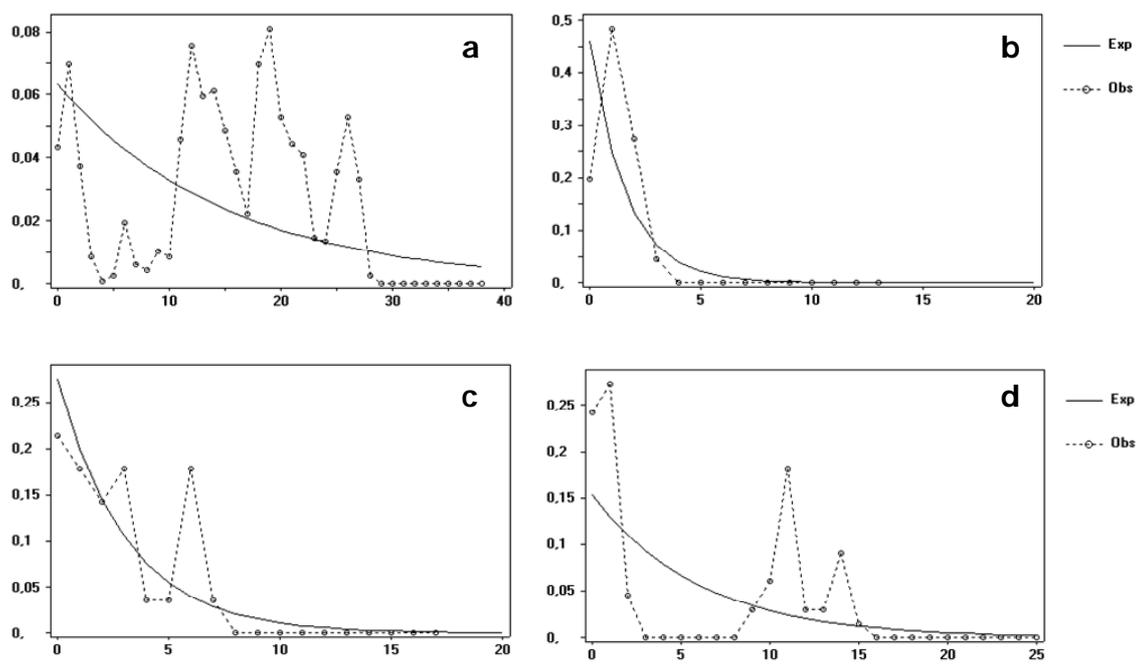


Figura 10 – Distribuição “mismatch” baseada em seqüências do gene mitocondrial COI de cinco populações *Gonatodes humeralis* da Amazônia oriental. a) todas as populações, b) Amapá, c) Marajó, d) oeste do Tocantins, e) leste do Tocantins e f) Itaituba.

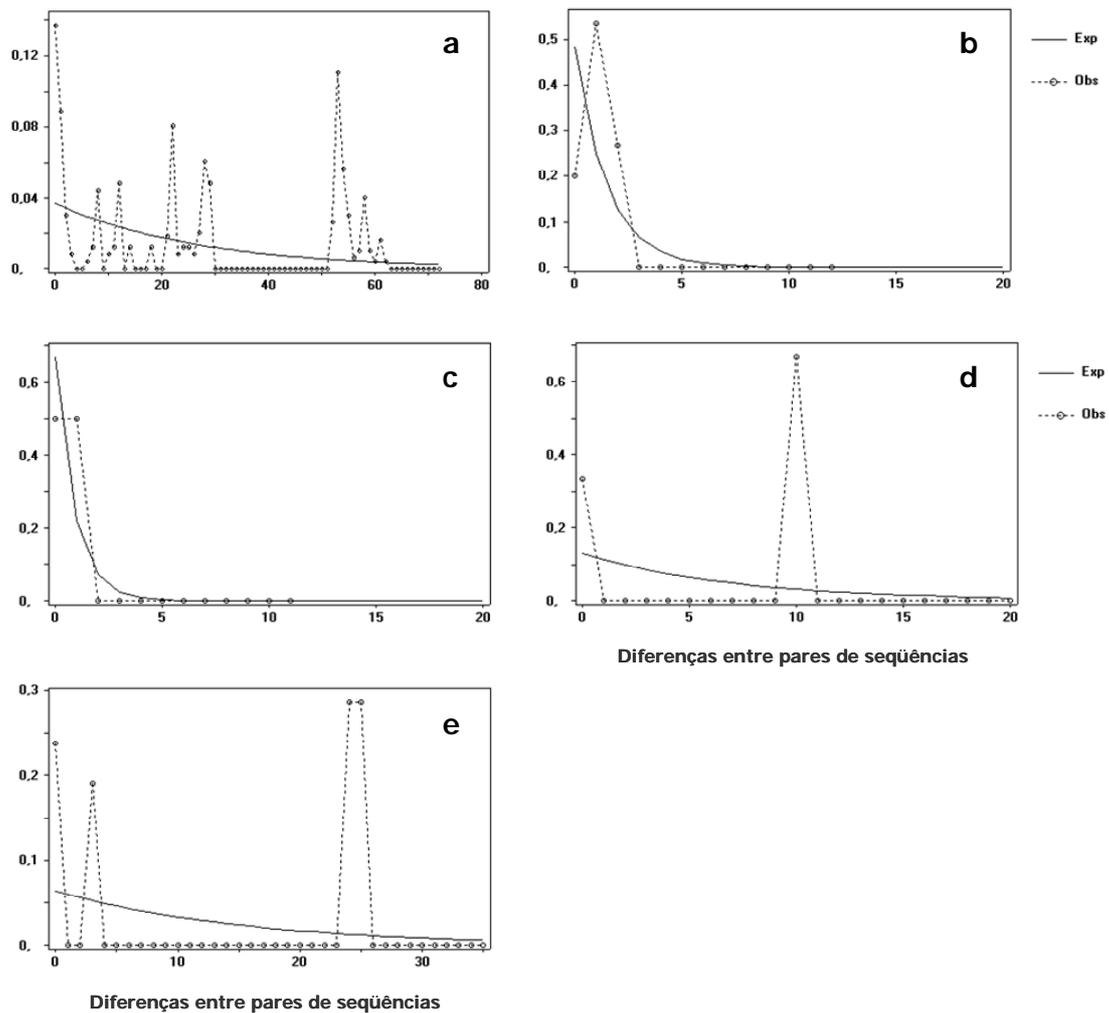


Figura 11 – Distribuição das diferenças entre pares de seqüências do gene mitocondrial COI de *Kentropyx calcarata* da Amazônia oriental. a) todas as populações, b) Amapá, c) Marajó, d) oeste do Tocantins, e) Itaituba.

## 5. Discussão

### O sinal filogeográfico do gene citocromo oxidase I

Embora o COI tenha sido raramente utilizado para esta finalidade, a variação observada entre seqüências de populações de *G. humeralis* e *K. calcarata* indicam que ele é um marcador útil para análises filogeográficas, o que corrobora os resultados de Cho et al. (2007) que, usando a mesma região do COI analisada neste estudo, também encontraram evidências de estrutura genética e de fluxo gênico em populações do bivalvo *Scapharca broughtonii*.

Provavelmente devido aos diferentes tempos de divergência entre esses grupos, as distâncias genéticas entre os haplótipos de *G. humeralis* e *K. calcarata* foram, em média, duas e seis vezes, respectivamente, maiores que aquelas observadas no trabalho de Cho et al. (2007). Os responsáveis por estes valores foram às populações do Itaituba para *G. humeralis* e do Amapá para *K. calcarata*. Esta última pode estar indicando uma diversidade críptica nessa espécie, uma vez que seus níveis de distância genética (Kimura 2 parâmetros - K2P), em relação às outras populações, variaram de 10,5 a 12,8%.

Usando a mesma região do COI deste estudo, Kasapidis et al. (2005) observaram valores de distâncias (*p* não corrigida) variando de 1,2 a 21,6% entre haplótipos de diferentes populações de *Cyrtopodion kotschy* (Gekkonidae, Saquamata), uma espécie que exibe ampla diferença morfológica associada às diferentes localizações

geográficas, e que tem pelo menos 25 subespécies conhecidas, 16 delas presentes no Arquipélago de Aegean (Baran & Gruber, 1982; Beutler & Gruber, 1977).

Com relação a estes valores, Johns & Avise (1998) detectaram distâncias genéticas (K2P) variando de 9 a > 25% entre seqüências de citocromo *b* de espécies congênicas de répteis. Tavares & Baker (2008) observaram distâncias médias (K2P) entre entidades taxonômicas possivelmente distintas de aves variando de 0,95 a 4,03%. É sabido que as distâncias genéticas entre gêneros e famílias de aves são mais baixas que aquelas de peixes, anfíbios, répteis e mamíferos (Johns & Avise, 1998), mas estas observações no mínimo apoiam a necessidade de maiores estudo para a avaliação dos níveis de diversidade nos lagartos deste estudo.

### **Diversidade Genética e Mudanças Demográficas**

Dada a escassez de dados de diversidade genética não é possível afirmar que este seja um padrão entre os lagartos amazônicos, mas de maneira geral os resultados deste estudo mostram que, a exceção das populações do Marajó, os níveis de diversidade nucleotídica de ambas as espécies conformam um padrão de menor diversidade para as populações do Amapá e leste do Tocantins e de maior diversidade para as populações do oeste do Tocantins e Itaituba.

Embora a contradição observada para o Marajó, isto é, diversidade nucleotídica moderada para *Gonatodes humeralis* e reduzida para *Kentropyx calcarata*, possa ser um resultado de diferentes histórias evolutivas e demográficas, em que o padrão de diversidade observado pode representar a manutenção da diversidade típica das populações fundadoras ou o resultado de efeitos diferenciais de processos evolutivos como deriva genética e migração, ela deve ser mais provavelmente um efeito dos diferentes tamanhos amostrais das duas espécies.

Isso porque, apesar do mapa de sítios polimórficos não mostrar tão claramente a presença de diferentes linhagens genéticas na população marajoara de *G. humeralis*, isto é sugerido pelo seu respectivo gráfico de distribuição “mismatch”. Zhang & Jiang (2006), na análise de populações de gazelas tibetanas (*Procapra picticaudata*), observaram distribuições “mismatch” semelhantes às deste estudo, e atribuíram o resultado ao contato secundário de linhagens genéticas previamente isoladas. Os altos níveis de diversidade haplotípica das populações do Marajó (*G. humeralis*), oeste do Tocantins e Itaituba, associados a seus respectivamente altos níveis de diversidade nucleotídica, corroboram os gráficos de distribuição “mismatch”, sugerindo mais

provavelmente um contato secundário entre linhagens alopátricas previamente separadas ou, menos provavelmente, a manutenção de grandes tamanhos populacionais por um longo período de sua história evolutiva. Grant & Bowen (1998) atribuíram a mesma explicação para a observação de semelhante padrão de diversidades nucleotídica e haplotípica em anchovas europeias ( $\pi = 1,6\%$ ,  $h = 0,86$ ) que tinham um par de linhagens mitocondriais divergentes, provavelmente originadas no isolamento.

Em relação às populações do leste do Tocantins, a baixa diversidade nucleotídica da população de *Gonatodes humeralis* e a completa ausência de polimorfismo de *Kentropyx calcarata* podem ser explicadas por dois fatores isolados ou mais possivelmente pela interação deles: (1) diferentemente da amostragem das outras populações, que foram correspondentes a vários pontos, a amostragem a leste do Rio Tocantins foi realizada em um único ponto, o parque Gunma, um fragmento remanescente de floresta, que por seu isolamento pode estar favorecendo a homogeneidade genética destas populações, (2) a região a leste do Rio Tocantins corresponde à porção mais degradada da Amazônia, o que possivelmente conduziu sua fauna à pobreza de diversidade genética em função de um declínio populacional generalizado.

Miranda et al. (2007), analisando duas espécies de aves endêmicas da região a leste do Rio Tocantins, também observou uma reduzida diversidade genética para ambas as espécies nos diferentes pontos de amostragem, incluindo o Parque Gunma. Isto sugere que, como um reflexo do maciço desmatamento que ocorreu na Amazônia oriental, baixos níveis de diversidade genética da fauna associada sejam atualmente um padrão, o que aponta para a necessidade de definição de políticas públicas que visem sua conservação.

A explicação para a baixa diversidade nucleotídica das populações a leste do Rio Tocantins não é plausível para a população do Amapá, que está localizada fora do Arco do Desmatamento, assim é provável que seus níveis de diversidade sejam mesmo resultantes de processos históricos e demográficos que afetaram estas populações. Isto deve incluir, após um ou vários eventos de gargalo, uma recente expansão populacional ocorrida não só para as populações do Amapá de ambas as espécies como também para aquela de *G. humeralis* do leste do Tocantins. Apesar da falha do teste de Ramos-Onsis & Rozas (2002), duas linhas de evidências apontam para este cenário: (1) os baixos níveis de diversidade nucleotídica associados a elevados níveis de diversidade

haplotípica, como sugerido por Grant & Bowen (1998) para alguns peixes marinhos, (2) distribuição “mismatch” unimodal.

### **Diferenciação Genética e a Hipótese de Mudança de Curso do Rio Tocantins**

A despeito dos baixos tamanhos amostrais, os resultados das análises de diferenciação genética deste estudo, onde os níveis de variabilidade entre populações excedem em muito aqueles dentro das populações, associados à completa ausência de haplótipos compartilhados, são evidências de que as cinco populações de *G. humeralis* e de *K. calcarata* aqui estudadas são geneticamente estruturadas. Isso indica um baixo ou mais provavelmente inexistente fluxo gênico entre elas, isto porque, em teoria, um fluxo gênico da ordem de um indivíduo por geração seria suficiente para a homogeneização genética entre populações de localidades geográficas distintas (Hartl & Clark, 1989).

Neste contexto, as relações filogeográficas aqui observadas, embora mais seguramente para *G. humeralis* que para *K. calcarata*, apóiam a hipótese de Rossetti & Valeriano (2006) de que ocorreram mudanças significativas no sistema de drenagem na região do baixo rio Tocantins e Ilha do Marajó. Isto porque, desconsiderando a similaridade genética entre as populações do Marajó e leste do Tocantins de *K. calcarata* que pode ser um resultado de um polimorfismo anterior à divergência destas populações, há, neste estudo, fortes indícios de que em tempos pretéritos recentes houve maior movimentação, ativa ou passiva, das espécies entre as regiões do Marajó e oeste do rio Tocantins que teriam sido as mais diretamente afetadas por estas mudanças.

Com base nos dados geológicos disponíveis para a região, que evidenciam que a Ilha do Marajó era contínua com a área do baixo Tocantins em tempos relativamente recentes (Rossetti *et al.*, 2007), já era esperado que as populações do Marajó e baixo Tocantins fossem mais próximas entre si, do que qualquer uma delas com aquelas do sul do Amapá. Este nível de divergência para o Amapá corrobora as relações filogenéticas observadas em outros grupos animais, Prum (1988), por exemplo, baseado na distribuição de aves, observou um isolamento mais antigo da região do Amapá em relação a outras áreas da ao sul da Amazônia. Silva & Oren (1996) utilizando análise de endemismo por parcimônia para relacionar as principais áreas de interflúvio na Amazônia, também observaram uma separação basal de primatas não humanos da

região do Amapá. Contudo, a falta de raízes nas árvores do presente estudo indica que conclusões a este respeito dependem de análises mais elaboradas que incluam uma maior amostragem do grupo interno, a inclusão de um grupo externo e talvez até a análise de outros marcadores moleculares, como o citocromo *b*, por exemplo. A vantagem da inclusão do citocromo *b* é que, por ser um marcador mais utilizado em estudos filogenéticos, há estimativas de taxas de evolução específicas para diferentes grupos animais, permitindo assim uma maior confiabilidade nas estimativas de tempos de divergência entre populações e suas correlações com os eventos que influenciaram sua história evolutiva.

## 6. 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, 86–100.

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

AVISE, J.C. 2000. **Phylogeography: The history and formation of species**. Harvard University Press; Cambridge, MA. 447p.

AVISE, J.C. 1998. The history and purview of phylogeography: a personal reflection. **Molecular Ecology** 7, 371 – 379.

AVISE, J.C. 1994. **Molecular markers, natural history and evolution**. Chapman & Hall, Inc.; USA. 511p.

AVISE, J.C.; ARNOLD, J.; BALL, R.M.Jr.; BERMINGHAM, E.; LAMB, T., NEIGEL, J.E.; REEB, C.A. & SAUNDERS, N.C. 1987. Intraespecific phylogeography: The mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. **Annual Review of Ecology and Systematics**, 18: 489 - 522.

BARAN, I., GRUBER, U., 1982. Taxonomische Untersuchungen an turkishen Gekkoniden. **Spixiana** 5: 109–138.

BEUTLER, A. & GRUBER, U. 1977. Intraspezifische Untersuchungen an *Cyrtodactylus kotschy* (Steindachner, 1870); Reptilia: Gekkonidae. **Spixiana** 1: 165–202.

CHO, E.S.; JUNG, C.G.; SOHN, S.G.; KIM, C.W. & HAN, S.J. 2007. Population Genetic Structure of the Ark Shell *Scapharca broughtonii* Schrenck from Korea, China, and Russia Based on COI Gene Sequences. **Marine Biotechnology** 9 (2): 203-216.

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

FELSENSTEIN, J. (1985) Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. **Evolution**, 39: 783–791.

FJELDSA, J. 1993. A comparison of African and South American avifaunas using molecular clocks. Proceedings **VIII Pan-African Ornithological Congress**: 67-75.

FU, Y. X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. **Genetics** 147: 915-925.

GASCON, C.; LOUGHEED, S.C.; BOGART, J.P. 1998. Patterns of genetic population differentiation in four species of Amazonian frogs: a test of the riverine barrier hypothesis. **Biotropica** 30:104-119.

GENNIS, R. B. 1992. Site-directed mutagenesis studies on subunit I of the aa3-type cytochrome c oxidase of *Rhodobacter aphaeroides*: a brief review of progress to date. **BBA - Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1101, p. 184 – 187.

GRANT, W.S. & BOWEN, B.W. 1998. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: Insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. **The Journal Heredity** 89: 415–427.

HALL, T. A. 1999. BioEdit: A User-friendly Biological Sequence Alignment Editor **And Analysis Program for Windows 95/98/NT**. Nucleic Acids Symposium Series, 41: 95-98.

HARTL, D.L. & CLARK, A.G. 1989. Principles of Population Genetics. **Sinauer Associates**, Sunderland, Mass., USA. , pp. 421–426

HEBERT, P.D.; STOECKLE, M.Y., ZEMLLAK, T.S. & FRANCIS, C.M. 2004. Identification of Birds through DNA Barcodes. **PloS Biology** 2 (10): 312.

HOOGMOED, M. S. 1973. Notes on the herpetofauna of Surinam. IV. The lizards and amphisbaenia of Surinam. **Biogeographica**, 4: 1-419.

JOHNS, G. C. & AVISE, J.C. 1998. A comparative summary of genetic distances in the vertebrates from the mitochondrial cytochrome b gene. **Molecular Biology and Evolution** 15:1481–1490

KASAPIDIS, P.; MAGOULAS, A.; MYLONAS, M. & ZOUROS, E. 2005. The phylogeography of the gecko *Cyrtopodion kotschy* (Reptilia: Gekkonidae) in the Aegean archipelago. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 35:612–623.

MACEY, J.R.; WANG, Y.; ANANJEVA, N.B.; LARSON, A. & PAPENFUSS, T.J. 1999. Vicariant patterns of fragmentation among Gekkonid lizards of the genus *Teratoscincus* produced by the Indian collision: a molecular phylogenetic perspective and an area cladogram for central Asia. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 12: 320–332.

MAGNUSSON, W. E. & LIMA, A. P. 1984. Perennial communal nesting by *Kentropyx calcarata*. **Journal of Herpetology**, 18(1): 73-75.

MARKS, B. D.; S. J. HACKETT & A. P. CAPPARELLA. 2002. Historical relationships among Neotropical lowland forest areas of endemism as determined by mitochondrial DNA sequence variation within the Wedge-billed Woodcreeper (Aves: Dendrocolaptidae: *Glyphorynchus spirurus*). **Molecular Phylogenetics and Evolution** 24: 153-167.

MIRANDA, L. S. ; SCHNEIDER, M. P. C. ; ALEIXO, A. L. P. ; GONCALVES, E. C. 2008. Variabilidade Genética em Populações de Aves Endêmicas Ameaçadas pela Fragmentação. In: XXVII Congresso Brasileiro de Zoologia, 2008, Curitiba. Anais XXVII Congresso Brasileiro de Zoologia, 2008.

MÜLLER, P. 1969. Herpetologische Beobachtungen auf der Insel Marajo. *D Aquar Terr z* 22 (4): 117 – 121.

NASCIMENTO, F. P.; AVILA-PIRES, T. C. S.; SANTOS, I. N. F. F. & LIMA, A. C. M. 1991. Répteis de Marajó e Mexiana, Pará, Brasil. I. Revisão bibliográfica e novos registros. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi**, Zoologia, 7 (1):25-41.

PALUMBI, S. R. 1996. Nucleic acids II: The polymerase chain reaction. In **Molecular Systematics**. 2<sup>a</sup> ed. Hillis, D. M.; Moritz, C. & B. K. Mable, B. K. (eds.). Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. p. 205–247.

PATTON, J. L.; SILVA, M. N. F. & MALCOLM, J. R. 2000. Mammals of the rio Juruá and the evolutionary and ecological diversification of Amazonia. **Bulletin of the American Museum of Natural History** 244: 1-306.

PELLEGRINO, K.C.M., M.T. RODRIGUES, A.N. WAITE, M. MRANDO, Y. YONENAGA-YASSUDA & J.W. SITES JR. 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 Linnean Society** 85: 13 - 26

POSADA, D. & CRANDALL, K. A. 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. **Bioinformatics** 14:817–818.

PRUM, R. 1988. Historical relationships among avian forest areas of endemism in the Neotropics. **Acta Congressus Internationalis Ornithologici** 19: 2662-2672.

RODRIGUES, M.T. 1987. Sistemática, ecologia e zoogeografia dos *Tropidurus* do grupo *torquatos* ao sul do Rio Amazonas (Sauria, Iguanidae). **Arquivo de Zoologia**, 31 (3): 105 – 230.

ROGERS, A., 1995 Genetic evidence for a Pleistocene population explosion. **Evolution** 49: 608-615.

ROGERS, A. R. & HARPENDING, H. 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. **Molecular Biology and Evolution** 9: 552-569.

ROSSETTI, D.F & VALERIANO, M.M. 2007. Evolution of the lowest Amazon basin modeled from the integration of geological and SRTM topographic data. **Catena**, 70: 253-265.

ROSSETTI, D.F; GÓES, A.M; VALERIANO, M.M & MIRANDA, M.C.C. 2007. Quaternary tectonics in a passive margin: Marajó Island, northern Brazil. **Journal of Quaternary Science** 22:1 - 15.

ROZAS, J. & ROZAS. 2003. DnaSP version 4: an integrated program for molecular population genetics and molecular evolution analysis. **Bioinformatics** 15: 174 – 175.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F. & MANIATIS, T. 1989. **Molecular Cloning: A Laboratory Manual**. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.

SARASTE, M. 1990. Structural features of cytochrome oxidase. **Quarterly Reviews of Biophysics.**, v. 23, p. 331 – 366.

SARTORIUS, S. S.; VITT, L. J. & COLLI, G. R. 1999. Use of naturally and anthropogenically disturbed habitats in Amazonian rain forest by the teiid lizard *Ameiva ameiva*. **Biological Conservation**, 90(2): 91-101.

SCHNEIDER, S., ROESSLI E. & EXCOFFIER L. 2000. Arlequin version 2.000: A software for population genetic data analysis. **Genetics and biometry laboratory**, University Of Geneva, Switzerland.

SILVA, M. & PATTON, J.L. 1993. Amazonian phylogeography: mtDNA sequence variation in arboreal echimyid rodents (Caviomorpha). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 2:343-355.

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

SWOFFORD, D. L. 1988. **PAUP\*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony And Other Methods**, Version 4.0d61. Sinauer, Sunderland, MA.

TAVARES, E.S. & BAKER, A. 2008. Single mitochondrial gene barcodes reliably identify sister-species in diverse clades of birds. **BMC Evolutionary Biology** 8 : 1-14

VITT, L. J.; ZANI, P. A. & LIMA, A. C. M. 1997. Heliotherms in tropical rain forest: the ecology of *Kentropyx calcarata* (Teiidae) and *Mabuya nigropunctata* (Scincidae) in the Curuá-Una of Brazil. **Journal of Tropical Ecology**, 13: 199-220.

VITT, L. J. 1991. Ecology and life history of the wide-foraging lizard *Kentropyx calcarata* (Teiidae) in Amazonian Brazil. **Canadian Journal of Zoology**, 69(11): 2791-2799.

WRIGHT, S. 1931. Evolution in Mendelian Population. **Genetics**, 16: 97 – 159.

### Anexo I

Espécie	Amapá	Ilha do Marajó	Oeste do Tocantins	Leste do Tocantins
<i>Alopoglossus angulatus</i>	x		X	X
<i>Amapasaurus tetradactylus</i>	x			
<i>Ameiva ameiva</i>	x	x	X	X
<i>Anolis auratus</i>	x	x		
<i>Anolis fuscoauratus</i>	x	x	X	X
<i>Anolis nitens chrysolepis</i>	x			
<i>Anolis ortonii</i>	x	x	X	X
<i>Anolis punctatus</i>	x	x	X	X
<i>Arthrosaura kockii</i>	x		X	X
<i>Arthrosaura reticulata</i>	x		X	X
<i>Bachia flavescens</i>	x	x	X	X
<i>Cercosaura argulus</i>	x			X
<i>Cercosaura ocellata</i>	x	x	X	X
<i>Cercosaura oshaughnessyi</i>	x			
<i>Cnemidophorus lemniscatus</i>	x	x	X	X
<i>Coleodactylus amazonicus</i>	x	x	X	X
<i>Colobosaura modesta</i>				X
<i>Crocodylus lacertinus</i>	x		X	X
<i>Dracaena guianensis</i>	x	x	X	X
<i>Gonatodes annularis</i>	x			
<i>Gonatodes humeralis</i>	x	x	X	X
<i>Hemidactylus mabouia</i>	x	x	X	X
<i>Hoplocercus spinosus</i>			X	X
<i>Iguana iguana</i>	x	x	X	X
<i>Iphisa elegans</i>	x			X
<i>Kentropyx calcarata</i>	x	x	X	X
<i>Kentropyx striata</i>	x	x		
<i>Lepidoblepharis heyerorum</i>	x	x	X	X
<i>Leposoma guianense</i>	x		X	X
<i>Leposoma percarinatum</i>	x	x	X	X
<i>Mabuya bistrriata</i>	x	x	X	X

<i>Mabuya nigropunctata</i>	x	x	X	X
<i>Micrablepharus maximiliani</i>				X
<i>Neusticurus bicarinatus</i>	x			X
<i>Neusticurus rudis</i>	x			
<i>Plica plica</i>	x	x	X	
<i>Plica umbra ochrocollaris</i>	x	x	X	X
<i>Polychrus acutirostris</i>			X	
<i>Polychrus marmoratus</i>	x	x	X	X
<i>Pseudogonatodes guianensis</i>	x			
<i>Stenocercus dumerilii</i>				X
<i>Thecadactylus rapicauda</i>	x	x	X	X
<i>Tretioscincus agilis</i>	x	x	X	
<i>Tropidurus hispidus</i>	x			X
<i>Tropidurus oreadicus</i>				X
<i>Tupinambis teguixin</i>	x	x	X	X
<i>Uracentron azureum</i>	x	x	X	X
<i>Uranoscodon superceliosus</i>	x	x	X	X

---