

This is an electronic appendix to the paper by Glor *et al.* 2004 Partial island submergence and speciation in an adaptive radiation: a multilocus analysis of the cuban green anoles. *Proc. R. Soc. Lond. B* **271**, 2257-2265. (doi: 10.1098/rspb.2004.2819)

Electronic appendices are refereed with the text. However, no attempt is made to impose a uniform editorial style on the electronic appendices.

---

## **Electronic Appendix A**

### **Molecular methods**

We used the VIOGENE DNA EXTRACTION MINIPREP SYSTEM (Viogene, Sunnyvale, CA, USA) to obtain genomic DNA from liver or tail tissue for five outgroup species, 95 *A. allisoni* from 24 localities, 69 *A. porcatius* from 20 localities, and 10 hybrids from two localities. PCR amplification was completed using the following general profile: 95° for 180 seconds followed by 30 cycles of 95° for 35 seconds, 52-60° for 35 seconds, and 72° for 150 seconds. Standard 25-50 µl PCR reactions included 1-2 µl of genomic DNA and a mixture of 49.5% H<sub>2</sub>O, 10% 10X buffer, 25 mM MgCl<sub>2</sub>, dNTPs, and 2 pmol primer mix, and 0.5% PROMEGA TAQ DNA polymerase (Promega Corporation, Madison, WI). We cleaned amplified products with the VIOGENE GEL-M™ GEL EXTRACTION SYSTEM. Sequencing reactions were run with BIG-DYE TERMINATOR READY-REACTION KITS (PerkinElmer, Wellesley, MA, USA) on an MJ RESEARCH BASESTATION automated sequencer (MJ Research, South San Francisco, CA).

For rhodopsin, primers in the third (Rod3, 5'-AGGTACATCCCAGAAGGCATGCAC-3') and fourth (Rod4, 5'-CAGGATTGTAGATGGCTGAGCT-3') exons amplified the third intron and flanking exon sequence. We ran 25 µl PCR reactions at 60° followed by purification on 2.5% low-melt agarose gels and reamplification in 50 µl reactions. We sequenced this product using Rod3, Rod4, and, for individuals whose intron sequence contained a large insert, a third primer Rod5 (5'-CTCTGGACTACCAGGGCTTT-3').

For mtDNA we amplified a 1,200-bp fragment using one previously published primer L4437 (Macey *et al.* 1997) and one new primer H5730 (5'-AGCGAATRGAAGCCCGCTGG-3'). We ran a single 50 µl PCR reaction with an annealing temperature of 52° and used the primers above and one of two additional primers, L4882a (Macey *et al.* 2000) or L4882c (5'-ACATGACAAAACTTGCNCC-3'). Sequences were aligned manually using structural models for tRNAs (Kumazawa & Nishida 1993; Macey *et al.* 1997).

### **References**

Kumazawa, Y. & Nishida, M. 1993 Sequence evolution of mitochondrial transfer-RNA genes and deep-branch animal phylogenetics. *J. Mol. Evol.* **37**, 380-398.

Macey, J. R., Larson, A., Ananjeva, N. B. & Papenfuss, T. J. 1997 Evolutionary shifts in three major structural features of the mitochondrial genome among iguanian lizards. *J. Mol. Evol.* **44**, 660-674.

Macey, J. R., Schulte, J. A., Larson, A., Ananjeva, N. B., Wang, Y. Z., Pethiyagoda, R., Rastegar-Pouyani, N. & Papenfuss, T. J. 2000 Evaluating trans-tethys migration: An example using acrodont lizard phylogenetics. *Syst. Biol.* **49**, 233-256.

**Electronic Appendix B:** Specimen voucher, locality, and GENBANK accession numbers. Voucher numbers from R. E. Glor field series deposited at the Instituto de Ecología y Sistemática, Havana, Cuba. The final column denotes samples included in the analysis of rhodopsin PCR fragments.

Species	Voucher #	Locality	Individual #	GenBank (mtDNA)	GenBank (rhodopsin)	Rhod. Fragment
<i>A. allisoni</i>	2242	12				
<i>A. allisoni</i>	2243	12	6	XXXX	XXXX	X
<i>A. allisoni</i>	2244	12	7	XXXX	XXXX	X
<i>A. allisoni</i>	2245	12	8	XXXX	XXXX	X
<i>A. allisoni</i>	2246	12	9	XXXX	XXXX	X
<i>A. allisoni</i>	2247	12	10	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2970	13				
<i>A. allisoni</i>	2971	13				
<i>A. allisoni</i>	2273	18				
<i>A. allisoni</i>	2274	18				
<i>A. allisoni</i>	2297	14				
<i>A. allisoni</i>	2298	14				
<i>A. allisoni</i>	2324	11	7	XXXX	XXXX	X
<i>A. allisoni</i>	2325	11	8	XXXX	XXXX	X
<i>A. allisoni</i>	2348	16	3	XXXX	XXXX	X
<i>A. allisoni</i>	2349	16	4	XXXX		
<i>A. allisoni</i>	2350	16	5	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2360	28	4	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2361	28	5	XXXX	XXXX	X
<i>A. allisoni</i>	2362	28	6	XXXX		
<i>A. allisoni</i>	2363	28	7	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2364	28	8	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2377	29	2	XXXX	XXXX	X
<i>A. allisoni</i>	2378	29	3	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2379	29	4	XXXX		
<i>A. allisoni</i>	2380	29	5	XXXX		
<i>A. allisoni</i>	2381	29	6	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2382	29	7	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2388	30	1	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2389	30	2	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2390	30	3	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2391	30	4	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2392	30	5	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2412	33	1	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2413	33	2	XXXX		
<i>A. allisoni</i>	2414	33	3	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2415	33	4	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2416	33	5	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2417	33				
<i>A. allisoni</i>	2418	33				
<i>A. allisoni</i>	2419	33				

---

<i>A. allisoni</i>	2420	33				
<i>A. allisoni</i>	2421	33				
<i>A. allisoni</i>	2434	35	1	XXXX	XXXX	X
<i>A. allisoni</i>	2435	35	2	XXXX	XXXX	X
<i>A. allisoni</i>	2436	35	3	XXXX	XXXX	X
<i>A. allisoni</i>	2437	35	4	XXXX		
<i>A. allisoni</i>	2438	35	5	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2443	34				
<i>A. allisoni</i>	2444	34				
<i>A. allisoni</i>	2445	34				
<i>A. allisoni</i>	2446	34				
<i>A. allisoni</i>	2447	34				
<i>A. allisoni</i>	2468	36	1	XXXX		
<i>A. allisoni</i>	2469	36	2	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2470	36	3	XXXX	XXXX	X
<i>A. allisoni</i>	2471	36	4	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2472	36	5	XXXX	XXXX	X
<i>A. allisoni</i>	2484	47				
<i>A. allisoni</i>	2485	47				
<i>A. allisoni</i>	2486	47				
<i>A. allisoni</i>	2487	47				
<i>A. allisoni</i>	2488	47				
<i>A. allisoni</i>	2489	47	1	XXXX	XXXX	X
<i>A. allisoni</i>	2490	47	2	XXXX	XXXX	X
<i>A. allisoni</i>	2491	47	3	XXXX	XXXX	X
<i>A. allisoni</i>	2492	47	4	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2493	47	5	XXXX	XXXX	X
<i>A. allisoni</i>	2500	45				
<i>A. allisoni</i>	2501	45				
<i>A. allisoni</i>	2502	45				
<i>A. allisoni</i>	2503	45				
<i>A. allisoni</i>	2504	45				
<i>A. allisoni</i>	2505	45	1	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2506	45	2	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2507	45	3	XXXX	XXXX	X
<i>A. allisoni</i>	2508	45	4	XXXX		
<i>A. allisoni</i>	2509	45	5	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2552	42				
<i>A. allisoni</i>	2553	42				
<i>A. allisoni</i>	2567	37	1	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2568	37	2	XXXX	XXXX	X
<i>A. allisoni</i>	2569	37	3	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2570	37	4	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2571	37	5	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2572	37				
<i>A. allisoni</i>	2573	37				
<i>A. allisoni</i>	2574	37				

---

---

<i>A. allisoni</i>	2575	37				
<i>A. allisoni</i>	2576	37				
<i>A. allisoni</i>	2596	39				
<i>A. allisoni</i>	2597	39				
<i>A. allisoni</i>	2598	39				
<i>A. allisoni</i>	2599	39				
<i>A. allisoni</i>	2600	39				
<i>A. allisoni</i>	2601	39	1	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2602	39	2	XXXX		
<i>A. allisoni</i>	2603	39	3	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2604	39	4	XXXX		
<i>A. allisoni</i>	2605	39	5			
<i>A. allisoni</i>	2780	44				
<i>A. allisoni</i>	2781	44				
<i>A. allisoni</i>	2782	44				
<i>A. allisoni</i>	2783	44				
<i>A. allisoni</i>	2784	44				
<i>A. allisoni</i>	2785	44				
<i>A. allisoni</i>	2793	40	1	XXXX		
<i>A. allisoni</i>	2794	40	2			X
<i>A. allisoni</i>	2795	40	3	XXXX	XXXX	X
<i>A. allisoni</i>	2796	40	4	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2797	40	5	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2803	41				
<i>A. allisoni</i>	2804	41				
<i>A. allisoni</i>	2805	41				
<i>A. allisoni</i>	2806	41				
<i>A. allisoni</i>	2807	41				
<i>A. allisoni</i>	2816	38	1	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2817	38				
<i>A. allisoni</i>	2818	38	2	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2819	38	3	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2820	38	4	XXXX		
<i>A. allisoni</i>	2821	38	5	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2828	31				
<i>A. allisoni</i>	2829	31				
<i>A. allisoni</i>	2830	31				
<i>A. allisoni</i>	2831	31				
<i>A. allisoni</i>	2832	31				
<i>A. allisoni</i>	2844	32	1	XXXX	XXXX	X
<i>A. allisoni</i>	2852	25	1	XXXX	XXXX	X
<i>A. allisoni</i>	2853	25	2	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2854	25	3	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2855	25	4	XXXX	XXXX	X
<i>A. allisoni</i>	2856	25	5	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2867	24				
<i>A. allisoni</i>	2868	24	1	XXXX		

---

---

<i>A. allisoni</i>	2869	24	2	XXXX		
<i>A. allisoni</i>	2870	24	3	XXXX		
<i>A. allisoni</i>	2871	24	4	XXXX		
<i>A. allisoni</i>	2872	24				
<i>A. allisoni</i>	2873	24				
<i>A. allisoni</i>	2879	20	1	XXXX	XXXX	X
<i>A. allisoni</i>	2880	20	2	XXXX	XXXX	X
<i>A. allisoni</i>	2881	20	3	XXXX		
<i>A. allisoni</i>	2882	20	4	XXXX	XXXX	X
<i>A. allisoni</i>	2883	20	5	XXXX	XXXX	X
<i>A. allisoni</i>	2913	21				
<i>A. allisoni</i>	2914	21				
<i>A. allisoni</i>	2915	21				
<i>A. allisoni</i>	2916	21				
<i>A. allisoni</i>	2917	21				
<i>A. allisoni</i>	2924	17	1	XXXX	XXXX	X
<i>A. allisoni</i>	2925	17	2	XXXX	XXXX	X
<i>A. allisoni</i>	2933	19	1	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2934	19	2	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2935	19	3	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2936	19	4	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2937	19	5	XXXX	XXXX	X
<i>A. allisoni</i>	2943	26				
<i>A. allisoni</i>	2944	26				
<i>A. allisoni</i>	2945	26				
<i>A. allisoni</i>	2946	26				
<i>A. allisoni</i>	2947	26				
<i>A. allisoni</i>	2954	27				
<i>A. allisoni</i>	2955	27				
<i>A. allisoni</i>	2956	27				
<i>A. allisoni</i>	2957	27				
<i>A. allisoni</i>	2958	27				
<i>A. allisoni</i>	2964	22	1	XXXX	XXXX	X
<i>A. allisoni</i>	2965	22	2	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2966	22	3	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2967	22	4	XXXX		X
<i>A. allisoni</i>	2968	22	5	XXXX		X
<i>A. porcatus</i>	2202	9	1			
<i>A. porcatus</i>	2203	9	2	XXXX		X
<i>A. porcatus</i>	2204	9				
<i>A. porcatus</i>	2205	9	3	XXXX		X
<i>A. porcatus</i>	2206	9	4	XXXX	XXXX	X
<i>A. porcatus</i>	2207	9	5	XXXX		X
<i>A. porcatus</i>	2237	12	1			X
<i>A. porcatus</i>	2238	12	2	XXXX	XXXX	X
<i>A. porcatus</i>	2239	12	3	XXXX	XXXX, XXXX	X
<i>A. porcatus</i>	2240	12	4	XXXX	XXXX	X

---

---

<i>A. porcatus</i>	2241	12	5	XXXX		X
<i>A. porcatus</i>	2268	18				
<i>A. porcatus</i>	2269	18				
<i>A. porcatus</i>	2270	18				
<i>A. porcatus</i>	2271	18				
<i>A. porcatus</i>	2272	18				
<i>A. porcatus</i>	2287	15				
<i>A. porcatus</i>	2292	14				
<i>A. porcatus</i>	2293	14				
<i>A. porcatus</i>	2294	14				
<i>A. porcatus</i>	2295	14				
<i>A. porcatus</i>	2296	14				
<i>A. porcatus</i>	2318	11	1	XXXX	XXXX	X
<i>A. porcatus</i>	2319	11	2			X
<i>A. porcatus</i>	2320	11	3	XXXX		X
<i>A. porcatus</i>	2321	11	4	XXXX	XXXX	X
<i>A. porcatus</i>	2322	11	5	XXXX	XXXX	X
<i>A. porcatus</i>	2323	11	6	XXXX	XXXX	X
<i>A. porcatus</i>	2346	16	1	XXXX		X
<i>A. porcatus</i>	2347	16	2	XXXX		
<i>A. porcatus</i>	2357	28	1	XXXX	XXXX	X
<i>A. porcatus</i>	2358	28	2	XXXX	XXXX	X
<i>A. porcatus</i>	2359	28	3	XXXX	XXXX	X
<i>A. porcatus</i>	2376	29	1	XXXX	XXXX	X
<i>A. porcatus</i>	2494	47	6	XXXX		X
<i>A. porcatus</i>	2536	46				
<i>A. porcatus</i>	2537	46	1	XXXX	XXXX	X
<i>A. porcatus</i>	2538	46	2	XXXX	XXXX	X
<i>A. porcatus</i>	2539	46	3	XXXX	XXXX	X
<i>A. porcatus</i>	2540	46	4	XXXX	XXXX	X
<i>A. porcatus</i>	2541	46	5	XXXX	XXXX	X
<i>A. porcatus</i>	2626	43	1	XXXX	XXXX	X
<i>A. porcatus</i>	2641	50	1	XXXX	XXXX	X
<i>A. porcatus</i>	2642	50	2			X
<i>A. porcatus</i>	2643	50	3	XXXX		X
<i>A. porcatus</i>	2650	51	1	XXXX	XXXX	X
<i>A. porcatus</i>	2651	51	2	XXXX		X
<i>A. porcatus</i>	2652	51	3	XXXX		X
<i>A. porcatus</i>	2653	51	4	XXXX		X
<i>A. porcatus</i>	2654	51	5	XXXX	XXXX, XXXX	X
<i>A. porcatus</i>	2683	54	1	XXXX	XXXX	X
<i>A. porcatus</i>	2684	54	2	XXXX		X
<i>A. porcatus</i>	2685	54	3	XXXX		X
<i>A. porcatus</i>	2686	54	4	XXXX		X
<i>A. porcatus</i>	2687	54	5	XXXX		X
<i>A. porcatus</i>	2699	53	1	XXXX		X
<i>A. porcatus</i>	2700	53	2	XXXX	XXXX	X

---

---

<i>A. porcatus</i> 2701	53	3	XXXX		X
<i>A. porcatus</i> 2702	53	4	XXXX		X
<i>A. porcatus</i> 2703	53	5	XXXX		X
<i>A. porcatus</i> 2711	52				
<i>A. porcatus</i> 2712	52				
<i>A. porcatus</i> 2713	52				
<i>A. porcatus</i> 2714	52				
<i>A. porcatus</i> 2715	52				
<i>A. porcatus</i> 2845	32	2	XXXX	XXXX	X
<i>A. porcatus</i> 2884	20	6	XXXX		X
<i>A. porcatus</i> 2885	20	7	XXXX		X
<i>A. porcatus</i> 2886	20	8	XXXX		X
<i>A. porcatus</i> 2887	20	9	XXXX		X
<i>A. porcatus</i> 2888	20	10	XXXX		X
<i>A. porcatus</i> 2900	23				
<i>A. porcatus</i> 2901	23				
<i>A. porcatus</i> 2902	23				
<i>A. porcatus</i> 2903	23				
<i>A. porcatus</i> 2904	23				
<i>A. porcatus</i> 2918	21				
<i>A. porcatus</i> 2926	17	3	XXXX		X
<i>A. porcatus</i> 2927	17	4	XXXX		X
<i>A. porcatus</i> 2978	10	1	XXXX	XXXX	X
<i>A. porcatus</i> 2979	10	2	XXXX		X
<i>A. porcatus</i> 2980	10	3	XXXX		X
<i>A. porcatus</i> 2981	10	4	XXXX		X
<i>A. porcatus</i> 2982	10	5	XXXX		X
<i>A. porcatus</i> 2990	7				
<i>A. porcatus</i> 2991	7				
<i>A. porcatus</i> 3008	8	1	XXXX		
<i>A. porcatus</i> 3009	8	2	XXXX		X
<i>A. porcatus</i> 3010	8	3	XXXX	XXXX	X
<i>A. porcatus</i> 3011	8	4	XXXX		X
<i>A. porcatus</i> 3012	8	5	XXXX		X
<i>A. porcatus</i> 3018	5				
<i>A. porcatus</i> 3019	5				
<i>A. porcatus</i> 3020	5				
<i>A. porcatus</i> 3021	5				
<i>A. porcatus</i> 3022	5				
<i>A. porcatus</i> 3023	5				
<i>A. porcatus</i> 3024	5				
<i>A. porcatus</i> 3032	6				
<i>A. porcatus</i> 3033	6				
<i>A. porcatus</i> 3034	6				
<i>A. porcatus</i> 3035	6				
<i>A. porcatus</i> 3036	6				
<i>A. porcatus</i> 3037	6				

---

---

<i>A. porcatus</i>	3038	6				
<i>A. porcatus</i>	3044	3	1			
<i>A. porcatus</i>	3045	3	2	XXXX	XXXX, XXXX	X
<i>A. porcatus</i>	3046	3	3	XXXX		X
<i>A. porcatus</i>	3047	3	4	XXXX		X
<i>A. porcatus</i>	3048	3	5	XXXX		X
<i>A. porcatus</i>	3049	3				
<i>A. porcatus</i>	3050	3				
<i>A. porcatus</i>	3059	4				
<i>A. porcatus</i>	3060	4				
<i>A. porcatus</i>	3061	4				
<i>A. porcatus</i>	3062	4				
<i>A. porcatus</i>	3063	4				
<i>A. porcatus</i>	3074	1				
<i>A. porcatus</i>	3080	2	1	XXXX	XXXX	X
<i>A. porcatus</i>	3081	2	2	XXXX		
<i>A. porcatus</i>	3082	2	3	XXXX		
<i>A. porcatus</i>	3083	2	4	XXXX		
<i>A. porcatus</i>	3084	2	5	XXXX		
Hybrid	2767	48	1	XXXX	XXXX, XXXX	X
Hybrid	2768	48	2	XXXX	XXXX	X
Hybrid	2769	48	3	XXXX	XXXX	X
Hybrid	2770	48	4	XXXX	XXXX	X
Hybrid	2771	48	5	XXXX	XXXX	X
Hybrid	2739	49	1	XXXX		X
Hybrid	2740	49	2	XXXX	XXXX	X
Hybrid	2741	49				
Hybrid	2742	49	3			X
Hybrid	2743	49	4	XXXX	XXXX, XXXX	X
Hybrid	2744	49	5	XXXX	XXXX, XXXX	X
Hybrid	2745	49	6	XXXX	XXXX	X
Hybrid	2746	49				

---