

# *Apostila de Biologia Evolutiva - BIO312*

*Diogo Melo*

*Laboratório de evolução de mamíferos · Universidade de São Paulo*

*diogro@cecm.usp.br*

*Monique Simon*

*Laboratório de evolução de mamíferos · Universidade de São Paulo*

*monique.nouailhetas@gmail.com*

*Novembro de 2014*

## *Introdução*

O objetivo dessa apostila é explorar os princípios da Genética Quantitativa, passando pelos tipos de dados tratados, sua descrição e análise, e como isso se insere na teoria evolutiva moderna. A teoria da Genética Quantitativa refere-se à herança de caracteres contínuos, nos quais as diferenças entre indivíduos são quantitativas e não qualitativas. Como exemplo, podemos pensar no caráter “altura” em uma determinada população, e verificar que ele possui uma distribuição contínua de valores individuais, não apenas tipos distintos separados em classes bem definidas (como textura por exemplo, lisa ou rugosa). A compreensão da herança dos caracteres contínuos é de fundamental importância para a teoria evolutiva, pois diferenças individuais quantitativas constituem a base na qual a seleção natural pode atuar e promover mudanças entre as gerações de uma população.

## *Um pouco de história*

Antes de adentrarmos nos princípios e conceitos da Genética Quantitativa, vamos aprender um pouco sobre o contexto histórico no qual a teoria se desenvolveu. O desabrochar da Genética Quantitativa está intimamente relacionado com a elaboração da própria Síntese Moderna e grandes nomes da biologia participaram nesse desenrolar da área. Os princípios da teoria foram desenvolvidos por volta da década de 1920, em resposta a uma histórica controvérsia na teoria evolutiva referente à aparente incompatibilidade entre a genética mendeliana e a escola biométrica. A primeira lidava com a herança de caracteres discretos por meio da segregação independente dos alelos, de um ou mais loci, e o cálculo de razões mendelianas para expressar as proporções de diferentes genótipos da prole gerada a partir de combinações particulares de genótipos parentais. Os mendelianos defendiam que o aparecimento de novas macromutações (mutações de grande efeito) propiciava variação nos caracteres discretos e sua evolução. Já a escola biométrica, liderada por Karl Pearson e W.F.R. Weldon, focava na herança de caracteres contínuos e na ideia de evolução como resultado da seleção natural atuando em sua distribuição. Pearson elaborou diversos métodos para se estudar a variação de caracteres contínuos, como as teorias de regressão e de correlação. O grande debate entre as duas linhas de pensamento recaía sobre a dúvida de os caracteres discretos possuírem as mesmas propriedades de hereditariedade e evolução que os caracteres contínuos <sup>1</sup>. A reconciliação foi alcançada pelos trabalhos independentes de Ronald Fisher, J.B.S. Haldane e Sewall Wright, culminando na elaboração da Síntese Moderna da teoria evolutiva. Fisher (1918)

<sup>1</sup> M. Lynch and B. Walsh. *Genetics and analysis of quantitative traits*. Sinauer, Sunderland, MA., 1998

demonstrou que os resultados obtidos pelos biometricistas podiam ser derivados de princípios mendelianos, postulando a existência de múltiplos alelos atuando sobre um único caráter (Fig. 1). Nesse artigo, ele introduz o conceito de partição de variância, que permite a discriminação de efeitos genéticos e ambientais na distribuição dos caracteres, extensivamente utilizado na genética quantitativa. Os trabalhos clássicos em genética de populações de Fisher, Haldane e Wright demonstraram que a seleção natural pode funcionar com os tipos de variação observados em populações naturais e com as leis de herança mendelianas. Com o debate entre mendelianos e biometricistas resolvido, a biologia pôde ser unificada no eixo comum da teoria evolutiva, permitindo o aprofundamento dos estudos em genética de populações e genética quantitativa em temas macroevolutivos, como especiação por exemplo.

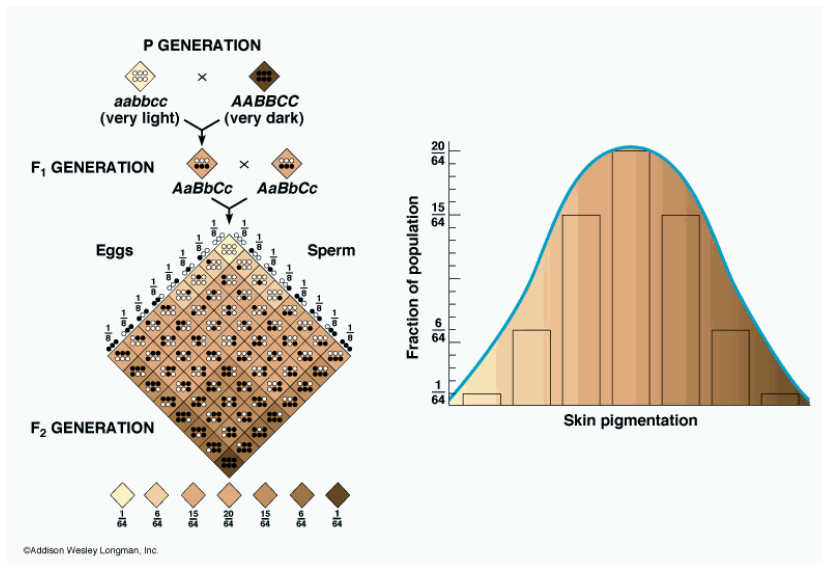


Figura 1: Vários loci podem atuar sobre o mesmo caráter, dando a este uma variação contínua na população.

### *Princípios matemáticos em Genética Quantitativa*

Para podermos usar a teoria da Genética Quantitativa no estudo das propriedades genéticas e da evolução de caracteres contínuos em populações, precisamos lançar mão de certos princípios matemáticos relacionados com variação, como média, variância e covariância, e relacionados com a representação destes em um morfoespaço, como vetores e matrizes.

### *Caracteres contínuos*

Agora que temos uma noção do que são e como podem ser herdados os caracteres contínuos, podemos pensar em quais critérios podemos utilizar para escolher os caracteres em um estudo. É preciso garantir que as medidas que se realizam em um indivíduo (ou em indivíduos de uma espécie) representem os mesmos caracteres nos outros indivíduos (ou nos indivíduos das outras espécies, no caso de estudos macroevolutivos). Esse cuidado precisa ser tomado para que a variação que se observa nos dados (que é o foco dos estudos quantitativos) não tenha uma fonte a mais de erro referente a heterogeneidade de caracteres medidos entre indivíduos ou entre espécies. O critério fundamental para garantirmos que são os mesmos caracteres em todos os indivíduos é o de homologia. Nós reconhecemos estruturas homólogas por serem discretas e reconhecíveis em todos os indivíduos. Homologia implica em uma mesma origem ancestral do caráter, e dessa maneira, podemos estudar diferenças em caracteres homólogos em um contexto evolutivo usando de informações de parentesco dos indivíduos amostrados.

### *Distâncias e Vetores*

Uma vez escolhidos quais serão os caracteres usados no estudo, precisamos fazer as medidas e representar esses dados de forma conveniente. Existem diversas formas de tomar dados quantitativos: para distâncias podemos usar paquímetros, réguas, programas de computador que podem obter distâncias de imagens bidimensionais ou representações tridimensionais, digitalizadores digitais; além disso, podemos tomar medidas como peso, com uma balança; expressão gênica, quantidade de RNA mensageiro, concentração de proteínas, atividade enzimática, todos com técnicas de biologia molecular; pigmentação ou brilho podem ser quantificados digitalmente. Todos esses dados representam medidas contínuas, potencialmente herdáveis, que portanto podem ser estudadas dentro do paradigma da genética quantitativa.

Com os dados em mão, podemos representá-los matematicamente. A maneira mais conveniente de fazer isso é utilizando o conceito de um vetor. A figura 2 ilustra a representação de um par de medidas utilizando um vetor bidimensional. A partir dessa abstração, podemos construir uma teoria bastante completa.

No plano  $(x, y)$  representado na figura 2, podemos representar qualquer combinação de tamanhos do braço e do antebraço. Por exemplo, na convenção da figura 2, um indivíduo com 15 cm de braço e 20 cm de antebraço é representado pelo vetor  $(20, 15)$ . Qual-

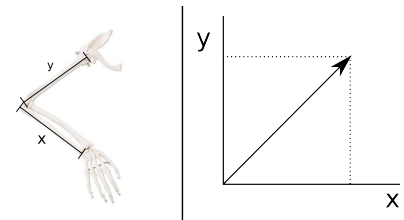


Figura 2: Representação de medidas reais na forma vetorial. Vemos duas medidas de tamanho linear de ossos do braço representadas num vetor.

quer fenótipo do tamanho desses dois ossos pode ser descrito por um par de números. Como todos os fenótipos possíveis estão representados nesse plano, ele é chamado de morfoespaço.

No morfoespaço bidimensional, ou mesmo tridimensional, os vetores representando os fenótipos podem ser visualizados com facilidade. Porém, em genética quantitativa, é comum trabalharmos com um número muito maior de medidas, chegando até centenas variáveis observadas em cada indivíduo. Ainda assim, podemos continuar representando nossos indivíduos por vetores, agora compostos por muito mais números, representando todas as medidas tomadas. Para 4 medidas, por exemplo, os vetores são listas de 4 números, como (4.94, 9.94, 15.11, 20.17), cada um representando um dado caráter de um indivíduo. O morfoespaço nesse caso seria um hiperplano com 4 dimensões.

Vetores podem representar também mudanças em fenótipos. Suponha que a média bivariada de uma população tenha se alterado entre os momentos a e b, passando de  $\bar{z}_a = (10, 50)$  para  $\bar{z}_b = (15, 47)$ . Essa mudança pode ter uma série de motivos, um episódio de seleção direcional ou um gargalo populacional, por exemplo. Podemos representar essa mudança na média como um vetor:

$$\bar{z}_b - \bar{z}_a = \Delta\bar{z}_{ba} = (15, 47)_b - (10, 50)_a = (5, -3)$$

Ou seja, o primeiro caráter aumentou em 5 unidades na sua média, enquanto o segundo caráter diminuiu em 3 unidades. O vetor de mudança,  $\Delta\bar{z}$ , representa matematicamente o evento evolutivo.

### Comparação de Vetores

Frequentemente estaremos interessados em comparar vetores. Por exemplo, será que as mudanças nas médias de duas populações foram na mesma direção do morfoespaço? Caso não tenham sido, quão diferentes são elas? Nas próximas seções, veremos casos onde essas perguntas aparecem de forma bastante natural em outros contextos. Para isso, precisamos de uma forma de comparar vetores, tanto em suas magnitude quando em suas direção. A figura 3 mostra algumas possibilidades para as diferenças entre vetores de mudanças evolutivas de duas populações.

Vemos, então, que uma forma natural de comparar vetores é representando-os pela sua magnitude e direção.

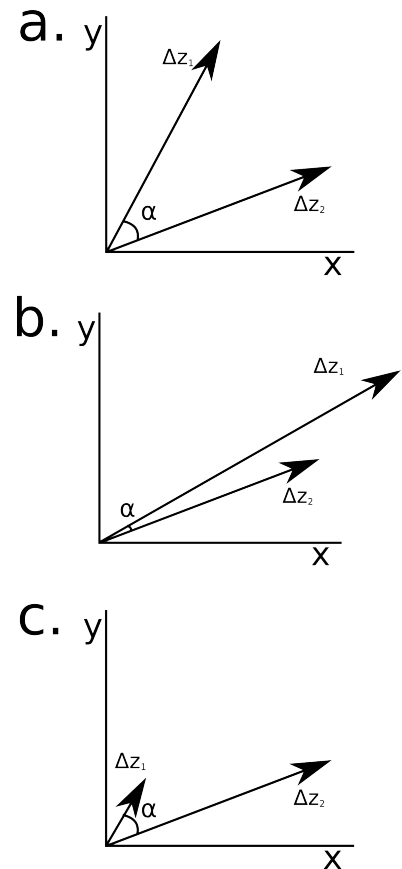


Figura 3: Possíveis mudanças nas médias de duas populações. No caso (a) magnitudes de mudança iguais mas direções diferentes. (b) direções iguais mas magnitudes diferentes e (c) magnitudes e direções diferentes.

### Magnitude ou norma de vetores

Para calcular a magnitude de um vetor, podemos nos valer da teorema de Pitágoras para triângulos retângulos (figura 4). Para um vetor  $\Delta z$  com componentes  $(\Delta z_x, \Delta z_y)$ , podemos calcular sua norma (ou magnitude)  $|\Delta z|$  como:

$$|\Delta z| = \sqrt{\Delta z_x^2 + \Delta z_y^2}$$

A boa notícia é que essa formula continua valendo para dimensionalidades altas. Suponha que queiramos calcular a norma de um vetor em 4 dimensões  $\Delta z = (\Delta z_x, \Delta z_y, \Delta z_z, \Delta z_w)$ . A conta seria simplesmente:

$$|\Delta z| = \sqrt{\Delta z_x^2 + \Delta z_y^2 + \Delta z_z^2 + \Delta z_w^2}$$

Para um vetor de dimensionalidade arbitrária  $\mathbf{x} = (x_1, x_2, \dots, x_p)$ , sua norma pode ser expressa como:

$$|\mathbf{x}| = \sqrt{\sum_{i=1}^p x_i^2}$$

### Correlação de vetores

Além de comparações de magnitudes, podemos comparar vetores pelo ângulo formado entre eles, ou seja, a diferença em suas direções. Uma escala bastante conveniente é a do cosseno do ângulo formado entre dois vetores. Caso eles tenham a mesma direção, o cosseno do ângulo entre eles é um, caso eles tenham direções completamente ortogonais, ou seja, um ângulo de 90 graus entre eles, o cosseno do ângulo é zero. Caso os vetores apontem para direções opostas, formando um ângulo de 180 graus, o cosseno do ângulo entre eles é -1. O cosseno do ângulo entre dois vetores também é chamado de correlação de vetores. Para calcular o cosseno do ângulo entre dois vetores a partir de suas componentes, devemos fazer uso da lei dos cossenos (figura 5). Utilizando a notação da figura 5, a correlação entre os vetores  $\Delta z_1 = (\Delta z_{11}, \Delta z_{12})$  e  $\Delta z_2 = (\Delta z_{21}, \Delta z_{22})$  seria:

$$\text{Corr}(\Delta z_1, \Delta z_2) = \cos(\alpha) = \frac{(\Delta z_{11}\Delta z_{21}) + (\Delta z_{12}\Delta z_{22})}{|\Delta z_1||\Delta z_2|} = \frac{(\Delta z_{11}\Delta z_{21}) + (\Delta z_{12}\Delta z_{22})}{\sqrt{\Delta z_{11}^2 + \Delta z_{12}^2}\sqrt{\Delta z_{21}^2 + \Delta z_{22}^2}}$$

Em outras palavras, o cosseno do ângulo  $\alpha$  é calculado como a soma dos produtos cruzados entre os dois vetores dividido pela sua norma. O termo de soma dos produto cruzados,  $(\Delta z_{11}\Delta z_{21}) +$

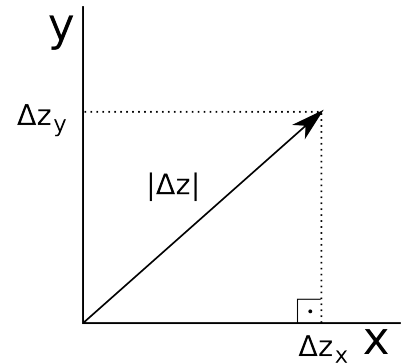


Figura 4: Calculando a norma ou magnitude de um vetor pelo Teorema de Pitágoras.

$(\Delta z_{12}\Delta z_{22})$ , é conhecido como o produto escalar entre dos vetores, e pode ser generalizado para um numero arbitrário de dimensões. Para dois vetores  $\mathbf{x} = (x_1, x_2, \dots, x_p)$  e  $\mathbf{y} = (y_1, y_2, \dots, y_p)$ , o seu produto escalar é definido como:

$$\mathbf{x} \cdot \mathbf{y} = \sum_{i=1}^p x_i y_i$$

Com isso, podemos definir a correlação de vetores de qualquer dimensão como:

$$\text{Corr}(\mathbf{x}, \mathbf{y}) = \frac{\mathbf{x} \cdot \mathbf{y}}{|\mathbf{x}| |\mathbf{y}|}$$

### Normalização de vetores

Para populações uma mesma espécie, onde os indivíduos são relativamente parecidos, a magnitude de um vetor de mudança evolutiva traz informações importantes quando comparamos populações nas suas mudanças evolutivas. No entanto, se vamos trabalhar com espécies de tamanhos e níveis de variações muito diferentes, comparar a magnitude da resposta passa a ser pouca informativa. Esse efeito é claro quando pensamos, por exemplo, na escala geral das diferentes espécies. Um variação de 1cm no tamanho médio do antebraço de uma população de cavalos pode ser insignificante, mas uma mudança de mesmo tamanho em uma população de camundongos é brutal. Portanto, comparar a norma da resposta evolutiva entre populações com escalas diferentes é uma métrica que não faz sentido biológico. Quando estamos interessados somente na direção dos vetores estudados, é conveniente, então, padronizar a magnitude dos vetores de todas as populações ou espécies envolvidas na análise. Normalmente modificamos os vetores para que eles tenham magnitude unitária, ou seja, igual a 1. Esse procedimento é chamado de normalização, e se  $\mathbf{x}_N$  é normalizado, então  $|\mathbf{x}_N| = 1$ .

Suponha que  $\mathbf{x}$  seja um vetor não normalizado (então  $|\mathbf{x}| \neq 1$ ), como fazemos para obter sua versão normalizada  $\mathbf{x}_N$ ? Basta dividir todos os elementos de  $\mathbf{x}$  por  $|\mathbf{x}|$ ! Note que:

$$|\mathbf{x}| = \sqrt{\sum_{i=1}^p x_i^2}$$

Então:

$$|\mathbf{x}_N| = \left| \frac{\mathbf{x}}{|\mathbf{x}|} \right| = \sqrt{\sum_{i=1}^p \left( \frac{x_i}{|\mathbf{x}|} \right)^2} = \frac{1}{|\mathbf{x}|} \sqrt{\sum_{i=1}^p x_i^2} = \frac{|\mathbf{x}|}{|\mathbf{x}|} = 1$$

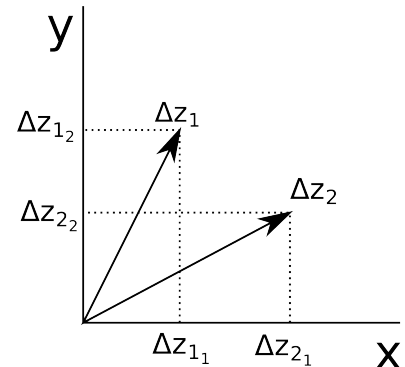


Figura 5: Utilizando a lei dos cossenos para calcular o cosseno do ângulo  $\alpha$  entre dois vetores.

Outra vantagem de usar vetores normalizados é na hora do cálculo de suas correlações. Se  $\mathbf{x}$  e  $\mathbf{y}$  são normalizados, sua correlação é simplesmente seu produto interno (ou a soma dos seus produtos cruzados), pois:

$$\text{Corr}(\mathbf{x}, \mathbf{y}) = \frac{\mathbf{x} \cdot \mathbf{y}}{|\mathbf{x}| |\mathbf{y}|} = \frac{\mathbf{x} \cdot \mathbf{y}}{1 \cdot 1} = \mathbf{x} \cdot \mathbf{y} = \sum_{i=1}^p x_i y_i$$

### *Variâncias, Covariâncias e Correlações*

#### *Um caráter*

O estudo dos caracteres contínuos é centrado em sua variação, uma vez que é em termos de variação que as questões genéticas primárias são formuladas. A quantidade de variação é medida e expressa como a variância. A variância é uma medida comum, que quantifica desvios de cada indivíduo em relação à média global. A variância de um caráter contínuo  $z$ , expresso em uma população com  $n$  indivíduos  $z_1$  a  $z_n$ , e média  $\bar{z}$ , é dada por:

$$\text{var}(z) = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (z_i - \bar{z})^2$$

O procedimento para cálculo da variância é, então, bastante simples: basta calcular a diferença de cada indivíduo da média, elevar essas diferenças ao quadrado, somar todas e dividir pelo número de indivíduos menos um.

Como as diferenças da média são elevadas ao quadrado, a variância tem unidades quadráticas em relação às unidades iniciais. Ou seja, se estamos trabalhando com distâncias, e medindo os caracteres em cm, a variância tem unidades de  $\text{cm}^2$ . Alternativamente, podemos trabalhar com a raiz quadrada da variância, chamada desvio padrão, que tem unidades iguais às medidas originais e frequentemente é mais simples de ser interpretada intuitivamente. Em uma distribuição normal, 95% dos indivíduos se encontra a uma distância de, no máximo, 2 desvios padrões da média. Ainda outra possibilidade, caso queiramos comparar populações com escalas muito distintas, é medir variação em uma escala adimensional. Um exemplo de estatística adimensional de variação é o coeficiente de variação, que nada mais é que a razão entre o desvio padrão e a média da população. Para caracteres ósseos de mamíferos, esperamos um coeficiente de variação por volta de 0.1, ou seja, o desvio padrão é cerca de 10% da média. Essas regras gerais podem ser bastante úteis quando confrontados com dados pela primeira vez, pois permitem rapidamente identificar particularidades ou erros nas medidas.



### Mais de um caráter

Quando trabalhamos com mais de um caráter, além de quantificar a variância individual de cada um, devemos também medir a interação entre eles. Esse tipo de medida é fundamental no estudo de modularidade, como veremos nas próximas seções.

De forma análoga ao cálculo da variância, a covariância mede a variação conjunta de dois caracteres. Para dois caracteres  $z_1$  e  $z_2$ , expressos em uma população com  $n$  indivíduos, com médias  $\bar{z}_1$  e  $\bar{z}_2$ , a covariância entre eles é dada por:

$$\text{cov}(z_1, z_2) = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (z_{1i} - \bar{z}_1)(z_{2i} - \bar{z}_2)$$

Ou seja, a média do produto entre as diferenças da média para os caracteres de cada indivíduo.

Se os desvios da média dos dois caracteres forem na mesma direção, ou seja, se um crescer ou diminuir junto com o outro em cada indivíduo, a covariação será alta. Ou, se os desvios forem em direções opostas, com um aumentando e o outro diminuindo, a covariação será negativa. Se, ainda, os desvios não tiverem relação nenhuma, desvios coordenados e opostos tendem a se cancelar, e a covariação será próxima de zero.

Suponha agora que estivéssemos estudando um grande número de caracteres métricos, numerados de 1 a  $p$ , que descrevem de forma completa alguma estrutura anatômica. O fenótipo de cada um dos  $n$  indivíduos da população estudada pode ser representado por um vetor  $\mathbf{z}_j = (z_{1j}, z_{2j}, \dots, z_{pj})$ . Como podemos descrever a variação nessa população? Primeiro, calculamos o vetor de médias da população,  $\bar{\mathbf{z}} = (\bar{z}_1, \bar{z}_2, \dots, \bar{z}_p)$ , onde:

$$\bar{z}_i = \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n z_{ij}$$

Lembre-se que  $z_{ij}$  significa o caráter  $i$  do indivíduo  $j$ .

Com as médias, podemos calcular a variância de cada caráter na população:

$$\text{var}(z_i) = \frac{1}{n-1} \sum_{j=1}^n (z_{ij} - \bar{z}_i)^2$$

E, como são muitos caracteres, devemos também calcular a covariâncias entre eles:

$$\text{cov}(z_i, z_k)_{i \neq k} = \frac{1}{n-1} \sum_{j=1}^n (z_{ij} - \bar{z}_i)(z_{kj} - \bar{z}_k)$$

Vale notar que a fórmula da covariância se torna igual a da variância quando  $i = k$ .

### Correlação

Assim como no caso da variância, a covariância sofre efeitos da escala da medida em questão. Caracteres maiores tendem a ter covariâncias mais altas que caracteres menores. Para contornar esse problema, podemos escalonar as covariâncias pelas variâncias, dividindo a covariância pela raiz do produto das variâncias.

$$\text{Corr}(x, y) = \frac{\text{cov}(x, y)}{\sqrt{\text{var}(x)\text{var}(y)}} = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{(\sum_{j=1}^n (x_j - \bar{x})^2 \sum_{j=1}^n (y_j - \bar{y})^2)^{1/2}}$$

Como ambas as quantidades são representadas em unidades quadráticas, a estatística resultante, chamada correlação, é adimensional e varia de -1 a 1. Correlação zero indica que as variáveis não tem relação linear, enquanto correlação de 1 ou -1 indica total dependência entre as variáveis, variando da mesma direção no caso de correlação positiva, e variando em sentido oposto no caso de correlação negativa. Por ser adimensional e sempre variar entre -1 e 1, a correlação pode ser comparada entre pares de caracteres ou entre populações diferentes.

Vale ressaltar que, caso as médias das variáveis sejam zero, a fórmula apresentada para correlação entre medidas se reduz à fórmula de correlação ou cosseno entre vetores, justificando o uso do mesmo nome para a correlação entre medidas e a correlação de vetores.

### Matrizes

Variâncias, covariâncias e correlações são formas de descrever a variação de caracteres morfológicos, e, frequentemente, estudamos um grande número de caracteres descrevendo uma estrutura complexa. Como podemos organizar todas essas estatísticas de forma a representar a variação de uma estrutura formada de vários caracteres? A representação matricial resolve esse problema, além de fornecer muitas facilidades matemáticas e computacionais no estudo da variação em populações biológicas.

Suponha que estejamos trabalhando com dois caracteres,  $x$  e  $y$ , medidos em uma população qualquer que descrevem uma estrutura  $z$ . Após a medição, calculamos as médias,  $\bar{x}$  e  $\bar{y}$ , as variâncias,  $\text{var}(x)$  e  $\text{var}(y)$ , e, por fim, as covariâncias e correlações  $\text{cov}(x, y)$  e  $\text{corr}(x, y)$ . Como esses dados seriam representados? As médias seriam um vetor  $\bar{z} = (\bar{x}, \bar{y})$ . Já as variâncias e covariâncias seriam organizadas em uma

matriz, chamada matriz de variância-covariância, ou, simplesmente, matriz de covariância. A estrutura dessa matriz seria:

$$Var(z) = \begin{pmatrix} var(x) & cov(x,y) \\ cov(x,y) & var(y) \end{pmatrix}$$

Ou seja, na diagonal, temos as variâncias de cada medida, e, fora da diagonal, as covariâncias. A matriz de correlação tem exatamente a mesma forma, porem com 1 na diagonal, representando a correlação de uma medida com ela mesma.

$$Corr(z) = \begin{pmatrix} 1 & corr(x,y) \\ corr(x,y) & 1 \end{pmatrix}$$

Essas representações de estendem trivialmente para dimensões mais altas. Por exemplo, se medirmos  $p$  distâncias de uma estrutura  $z = (z_1, z_2, \dots, z_n)$ , sua matriz de covariância seria:

$$Var(z) = \begin{pmatrix} var(z_1) & cov(z_1, z_2) & \cdots & cov(z_1, z_p) \\ cov(z_1, z_2) & var(z_2) & \cdots & cov(z_2, z_p) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ cov(z_1, z_p) & cov(z_1, z_p) & \cdots & var(z_p) \end{pmatrix}$$

### Operações com Matrizes

Para trabalhar com matrizes, precisamos relembrar algumas regras de operação matricial. A mais simples é a soma de matrizes, que é feita simplesmente somando os elementos equivalentes. Para somar matrizes duas matrizes **A** e **B**, elas devem ter a mesma dimensão. Por exemplo, se **A** e **B** forem matrizes 2 por 2:

$$\mathbf{A} + \mathbf{B} = \begin{pmatrix} A_{11} & A_{12} \\ A_{21} & A_{22} \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} B_{11} & B_{12} \\ B_{21} & B_{22} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} A_{11} + B_{11} & A_{12} + B_{12} \\ A_{21} + B_{21} & A_{22} + B_{22} \end{pmatrix}$$

Outra operação comum é a de multiplicação de matrizes. Essa operação já é mais complicada, e NÃO se resume apenas a multiplicar os elementos equivalentes. Na multiplicação de matrizes, uma dada posição é definida como o produto escalar entre a linha equivalente da primeira matriz com a coluna da segunda. Ou seja, a posição  $ij$  da matriz produto é o produto escalar da linha  $i$  da primeira matriz com a coluna  $j$  da segunda. Isso significa que, em geral,  $\mathbf{AB}$  pode ser diferente de  $\mathbf{BA}$ . Para que essa operação seja possível, a primeira matriz deve ter o mesmo numero que linhas que a segunda tenha de colunas. A matriz desultante terá o mesmo numero de linhas que a primeira e o mesmo numero de colunas que a segunda. Se **A** for uma matriz 3 por 2 e **B** uma matriz 2 por 3, o produto entre elas seria a seguinte matrix 3 por 3:

$$\mathbf{AB} = \begin{pmatrix} A_{11} & A_{12} \\ A_{21} & A_{22} \\ A_{31} & A_{32} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} B_{11} & B_{12} & B_{13} \\ B_{21} & B_{22} & B_{23} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} A_{11}B_{11}+A_{12}B_{21} & A_{11}B_{12}+A_{12}B_{22} & A_{11}B_{13}+A_{12}B_{23} \\ A_{21}B_{11}+A_{22}B_{21} & A_{21}B_{12}+A_{22}B_{22} & A_{21}B_{13}+A_{22}B_{23} \\ A_{31}B_{11}+A_{32}B_{21} & A_{31}B_{12}+A_{32}B_{22} & A_{31}B_{13}+A_{32}B_{23} \end{pmatrix}$$

Na verdade, o caso mais interessante para nós será o de multiplicação de uma matriz por um vetor, que pode ser pensado como uma matriz de uma coluna. A mesma regra vale, e temos, para uma matriz  $\mathbf{A}$  e um vetor  $\mathbf{x}$ :

$$\mathbf{Ax} = \begin{pmatrix} A_{11} & A_{12} & A_{13} \\ A_{21} & A_{22} & A_{23} \\ A_{31} & A_{32} & A_{33} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} x_1 \\ x_2 \\ x_3 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} A_{11}x_1 + A_{12}x_2 + A_{13}x_3 \\ A_{21}x_1 + A_{22}x_2 + A_{23}x_3 \\ A_{31}x_1 + A_{32}x_2 + A_{33}x_3 \end{pmatrix}$$

Uma última operação importante, que geralmente é feita de forma exclusivamente computacional, devido à sua dificuldade operacional, é a de inversão de matrizes. A inversão permite definir o análogo matricial de divisão. A inversa de uma matriz  $\mathbf{A}$  é denominada  $\mathbf{A}^{-1}$  e definida pela propriedade:

$$\mathbf{AA}^{-1} = \mathbf{A}^{-1}\mathbf{A} = \mathbf{I}$$

onde  $\mathbf{I}$  representa a matriz identidade, que tem apenas 1 na diagonal e zero fora dela. A matriz identidade é o elemento neutro da multiplicação de matrizes, ou seja:

$$\mathbf{AI} = \mathbf{IA} = \mathbf{A}$$

Isso é exatamente análogo à divisão nos números reais, por exemplo:

$$aa^{-1} = a^{-1}a = a \frac{1}{a} = 1$$

como exercício, verifique que as seguintes matrizes são inversas uma da outra:

$$\begin{pmatrix} 1 & 2 \\ 2 & 1 \end{pmatrix} \text{ e } \begin{pmatrix} -1/3 & 2/3 \\ 2/3 & -1/3 \end{pmatrix}$$

### *Comparação de Matrizes*

Nas próximas seções, vamos abordar como a estrutura de covariação das populações pode alterar suas propriedades evolutivas. Como os padrões de covariação variam entre populações, precisamos de técnicas para comparar padrões de populações e espécies diferentes que tragam informações sobre as propriedades evolutivas das mesmas.

Para matrizes de covariância, podemos usar a técnica de *Random Skewers* <sup>2</sup>, baseada na equação de resposta à seleção de Lande, que veremos em detalhes nas próximas seções. Operacionalmente, essa técnica é baseada em multiplicar duas matrizes a serem comparadas pelo mesmo vetor de seleção e calcular a correlação entre os vetores resultantes. Repetindo esse procedimento para milhares de vetores de entrada, temos uma estatística que mede a semelhança de duas matrizes num contexto evolutivo. Para duas matrizes **A** e **B**, a correlação de *Random Skewers* é definida como:

$$RS(\mathbf{A}, \mathbf{B}) = E[\text{Corr}(Ax, Bx)]_x$$

onde  $E[\cdot]_x$  representa o valor esperado, ou média, para todos os valores de vetores aleatórios  $x$ .

Já para as matrizes de correlação, podemos tratar cada entrada da matriz como uma observação e simplesmente correlacionar os valores entre as duas matrizes.

### *Propriedades genéticas de populações*

Antes de usarmos os princípios matemáticos acima descritos para estudarmos a herança e evolução dos caracteres contínuos em populações, vamos olhar as propriedades genéticas dos caracteres nas populações. Para tanto, precisamos conseguir fazer a conexão entre frequência de genes e genótipos com as diferenças quantitativas observadas em caracteres contínuos. Essa conexão é feita com a compreensão dos conceitos de valores genotípico e fenotípico, efeito médio de um alelo, valor de acasalamento e partição de variância. Nas seções seguintes veremos as definições desses conceitos. O texto a seguir foi adaptado de Falconer e Mackay <sup>3</sup>.

### *Valores genotípico e fenotípico*

O valor observado para um caráter medido em um indivíduo qualquer é o valor fenotípico desse indivíduo. Para podermos analisar as propriedades genéticas de populações, temos que dividir o valor fenotípico em componentes atribuídos a diferentes causas: influência do genótipo e influência do ambiente (considerando todas as circunstâncias não-genéticas que influenciam o fenótipo). Podemos pensar que o genótipo confere um determinado valor de um caráter ao indivíduo, e o ambiente causa um desvio desse valor (ao fazer isso, estamos ignorando interações genótipo-ambiente):

$$P = G + E,$$

<sup>2</sup> J. M. Cheverud and G. Marroig. Comparing covariance matrices: Random skewers method compared to the common principal components model. *Genetics and Molecular Biology*, 30:461–469, 2007

<sup>3</sup> D. S. Falconer and T. F. Mackay. *Introduction to Quantitative Genetics*. Benjamin Cummings, London, 4th edition, 1996

sendo  $P$  o valor fenotípico,  $G$  o valor genotípico e  $E$  o desvio ambiental. Assume-se que o desvio ambiental médio em uma população é zero, pois consideramos que os desvios individuais ocorrerem em diversas direções de forma independente do genótipo, e, na média, se cancelam. Assim, o valor médio fenotípico é equivalente ao valor médio genotípico em uma população. Essa suposição é fundamental, pois permite que estudemos as propriedades genéticas das populações por meio de seus fenótipos, que é, na prática, o que pode ser mensurado nos indivíduos.

Para definir os conceitos de efeito médio de um alelo e valor de acasalamento, podemos utilizar valores arbitrários para os genótipos de um único locus com dois alelos,  $A_1$  e  $A_2$ , sendo  $+a$ , valor genotípico do homozigoto  $A_1A_1$ ;  $-a$ , valor do homozigoto  $A_2A_2$ ; e finalmente  $d$ , valor do heterozigoto  $A_1A_2$  (Fig. 6).

Portanto, ao medirmos uma amostra de indivíduos de uma população qualquer, e, conhecendo seus genótipos, podemos chegar nos seus valores genotípicos correspondentes. Por exemplo, digamos que o gene  $P$ , com dois alelos, determine o peso em uma determinada população de ratos, e ao pesarmos uma amostra encontramos:  $P_1P_1 = 14g$ ;  $P_1P_2 = 12g$ ; e  $P_2P_2 = 6g$ . Então, para calcularmos o ponto zero, temos que achar o valor intermediário entre os dois homozigotos:  $(14 + 6)/2 = 10$ . Sendo  $10g$  o ponto zero, o valor de  $a$  é:  $14 - 10 = 4g$ ; o valor de  $-a$  é:  $6 - 10 = -4g$ ; e o valor de  $d$  é:  $12 - 10 = 2g$ .

Uma questão fundamental a se compreender sobre os valores genotípico e fenotípico é que suas médias populacionais dependem das frequências gênicas. Considerando a população em equilíbrio de Hardy-Weinberg (acasalamento aleatório em relação aos loci em questão), podemos calcular o valor médio populacional de um determinado caráter determinado por um único locus multiplicando as frequências genotípicas pelos valores genotípicos e somando os resultados para os três genótipos (Tabela 1).

Genótipo	Frequência	Valor	Freq. $\times$ Valor
$A_1A_1$	$p^2$	$+a$	$p^2a$
$A_1A_2$	$2pq$	$d$	$2pqd$
$A_2A_2$	$q^2$	$-a$	$-q^2a$
soma =			$a(p - q) + 2dpq$

Podemos ver, então, que a contribuição de qualquer locus para a média populacional tem dois termos:  $a(p - q)$  atribuído aos homozigotos, e  $2dpq$  atribuído aos heterozigotos. Se o alelo  $A_1$  fosse fixado na população ( $p = 1$ ), a média populacional seria  $a$ ; se o alelo  $A_2$  fosse fixado ( $q = 1$ ), a média seria  $-a$ . Vamos voltar ao exemplo do gene  $P$ , que determina o peso nos ratos, e calcular a média populacional.



Figura 6: Valores genotípicos arbitrários. O valor intermediário entre os dois homozigotos foi denominado como zero. Os valores genotípicos  $a$ ,  $-a$  e  $d$  são calculados em relação a esse ponto zero.

Tabela 1: Dependência da média populacional das frequências gênicas. A frequência dos genótipos é determinada pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg e os valores genotípicos são calculados em relação ao ponto equidistante dos dois homozigotos.

onal. Digamos que a frequência de  $P_1$  seja  $p = 0,6$ , e lembrando que  $a = 4$  e  $d = 2$ , então:

$$M = (0,6)^2 4 + 2(0,6)(0,4)2 + (0,4)^2 - 4 = 1,76g$$

Se o caráter peso fosse determinado por mais de um locus, teríamos que computar a contribuição de todos os loci e achar seu efeito combinado na média populacional. Supondo que essa combinação é aditiva, ou seja, que o efeito de um locus sobre a média é independente do efeito dos outros loci, e que todos os loci sejam bialélicos, a média populacional será:

$$M = \sum_i a_i(p_i - q_i) + 2d_i p_i q_i$$

ou seja, a soma das médias de todos os loci.

### *Efeito médio de um alelo*

Para entendermos a herança de caracteres quantitativos, temos que lidar com a transmissão de valor dos pais para a prole. Isso não pode ser feito somente com o uso dos valores genotípicos, pois os pais passam seus genes e não seu genótipo para sua prole. O efeito médio de um alelo é justamente uma medida associada com os genes e não com os genótipos. Essa medida depende dos valores genotípicos,  $a$  e  $d$ , e, também, das frequências gênicas. Trata-se, portanto, de uma propriedade não só dos genes, mas também da população. O efeito médio de um alelo particular é o valor médio dos indivíduos que receberam esse alelo de um dos pais descontado da média populacional, sendo o outro alelo proveniente ao acaso da população (Tabela 2). Dito de uma outra maneira: vamos considerar um número de gametas carregando o alelo  $A_1$  unindo-se ao acaso com gametas da população. O genótipo médio produzido desvia da média populacional por uma quantidade que é o efeito médio do alelo  $A_1$ . A dependência do efeito médio de um alelo das frequências gênicas está na junção ao acaso do alelo específico com os provenientes da população. A chance desse alelo se unir a um outro qualquer é determinada pelas frequências gênicas desses outros alelos na população.

**Tabela 2 .** Efeito médio dos alelos  $A_1$  e  $A_2$ . Cada gameta pode produzir dois genótipos distintos (homozigoto e heterozigoto) conforme as frequências dos outros gametas na população. Somando-se os valores genotípicos multiplicados por suas frequências e descontando a média populacional, obtemos os efeitos médios dos alelos  $A_1$  e  $A_2$ .

Tipo de gameta	Valores e Freq. dos genótipos produzidos			Valor médio dos genótipos produzidos	Média populacional a ser descontada	Efeito médio do alelo
	$A_1A_1$ $a$	$A_1A_2$ $d$	$A_2A_2$ $-a$			
$A_1$	$p$	$q$		$pa + qd$	$-[a(p - q) + 2dpq]$	$q[a + d(q - p)]$
$A_2$		$p$	$q$	$-qa + pd$	$-[a(p - q) + 2dpq]$	$-p[a + d(q - p)]$

O efeito médio de um alelo é representado pelo símbolo  $\alpha_1$ , para o alelo  $A_1$ , e  $\alpha_2$  para o alelo  $A_2$ . Quando trabalhamos com apenas dois alelos, podemos também calcular o efeito médio da substituição de um alelo. Isso significa que se todos os genes  $A_2$  fossem mutados para o gene  $A_1$ , o efeito médio produzido será o efeito médio da substituição, representado pelo símbolo  $\alpha$ :

$$\alpha = a + d(q - p)$$

O valor de  $\alpha$  é obtido seguindo o raciocínio de que ao mudarmos o genótipo  $A_1A_2$  pelo genótipo  $A_1A_1$ , mudaremos o valor  $d$  para o  $+a$ , e o efeito será  $(a - d)$ . Ao mudarmos  $A_2A_2$  para  $A_1A_2$ , mudaremos o valor de  $-a$  para  $d$ , e o efeito será  $(d + a)$ .

### Valor de acasalamento

Os efeitos médios de todos os alelos parentais influenciando um caráter determinam o valor genotípico médio de sua prole para esse caráter. Porém, é impossível medir o efeito médio de cada alelo nos indivíduos, pois os efeitos médios são propriedades populacionais, envolvendo a associação de cada alelo com todas as diferentes combinações genéticas possíveis em cada indivíduo. Felizmente, o que podemos medir é o valor de acasalamento (simbolizado pela letra  $A$ ): o valor fenotípico de um indivíduo julgado pelo valor médio do caráter em sua prole. Ou seja, podemos pegar um indivíduo e realizar



cruzamentos com outros indivíduos sorteados da população e tirar a média do valor fenotípico do caráter em sua prole. Se um indivíduo se reproduz com um número de parceiros retirados ao acaso da população, seu valor de acasalamento é duas vezes o desvio médio de sua prole da média populacional. É necessário multiplicar por dois pois o pai em questão passa somente metade dos seus genes a sua prole, a outra metade vindo ao acaso da população. Essa é a definição prática de valor de acasalamento, o valor que os pais efetivamente passam à sua prole. No entanto, pela teoria, assumimos que o valor de acasalamento é na verdade a soma dos efeitos médios de todos os alelos que um indivíduo carrega. O valor de acasalamento, portanto, pode ser expresso em termos dos efeitos médios dos alelos (ou efeito médio de uma substituição de alelo), como mostrado na tabela 3.

A extensão para vários loci é direta: o valor de acasalamento para um genótipo particular é a soma dos valores de acasalamento atribuídos a cada loci separado (assumindo que os efeitos dos alelos são aditivos).

### *Desvio de dominância*

O valor de acasalamento é componente aditivo do valor genotípico de um indivíduo. O restante do valor genotípico é denominado desvio de dominância:

$$G = A + D$$

Esse desvio tem origem na propriedade de dominância entre alelos de um mesmo locus, ou seja, na interação dentro do locus. O desvio de dominância, portanto, aparece quando os alelos são unidos para formar um genótipo. Esse efeito não pode ser previsto pelos efeitos dos alelos separadamente. Dado que os efeitos médios dos alelos e os valores genotípicos dependem da frequência gênica, o desvio de dominância também possui essa dependência, sendo uma propriedade tanto dos genes quanto da população. A relação entre valores genotípicos, valores de acasalamento e desvios de dominância está representada graficamente na figura 7. Nesta figura, os valores genotípicos estão plotados contra o número de alelos  $A_1$  no genótipo. Uma reta de regressão pelo método de quadrados mínimos está ajustada aos valores genotípicos e os pontos apresentam pesos conforme a frequência do genótipo que ele representa. A posição dessa reta dá os valores de acasalamento de cada genótipo. As diferenças entre valores de acasalamento e valores genotípicos correspondem aos desvios de dominância.

Tabela 2: Valores de acasalamento para os genótipos de um locus com dois alelos. O valor de acasalamento está apresentado em função dos efeitos médios dos alelos ( $\alpha_1$  e  $\alpha_2$ ) e do efeito médio de uma substituição ( $\alpha$ ).

Genótipo	Valor de acasalamento
$A_1A_1$	$2\alpha_1 = 2q\alpha$
$A_1A_2$	$\alpha_1 + \alpha_2 = (q - p)\alpha$
$A_2A_2$	$2\alpha_2 = -2p\alpha$

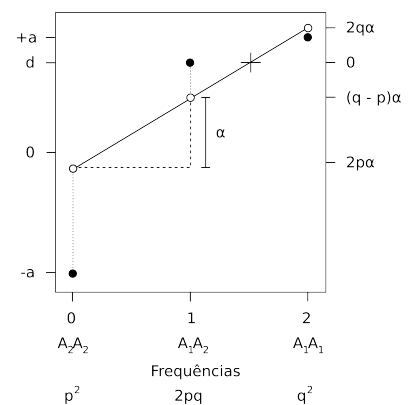


Figura 7: Valores genotípicos, valores de acasalamento e desvios de dominância para um locus com dois alelos. Os círculos abertos representam os valores de acasalamento para os genótipos apresentados no eixo da abscissa. Esse eixo indica o número de alelos  $A_1$  no genótipo. Os círculos preenchidos representam os valores genotípicos observados. Os desvios de dominância são as linhas pontilhadas que conectam os valores de acasalamento com os valores genotípicos. A cruz representa a média populacional. O eixo vertical à esquerda mostra os valores genotípicos, enquanto o eixo à direita mostra os valores de acasalamento correspondentes aos genótipos na abscissa.

### *Desvio de interação*

Quando apenas um locus é considerado, apenas o efeito da interação entre os alelos desse locus é adicionado ao valor de acasalamento para a determinação do valor genotípico. Porém, quando mais loci são considerados, o valor genotípico pode ter um componente a mais, o desvio de interação, relacionado com a interação entre alelos de diferentes loci (epistasia):

$$G = A_A + D_A + A_B + D_B + I_{AB}$$

$I_{AB}$  é o desvio da combinação aditiva dos valores genotípicos  $G_A$  e  $G_B$ , o desvio epistático. Interações epistáticas são fundamentais na formação de associações gênicas funcionais e modulares, como veremos nas próximas seções. Além disso, epistasia pode funcionar como uma forma de armazenar variação críptica, liberada em eventos seletivos intensos ou gargalos populacionais <sup>4</sup>.

### *Partição de variância*

Valores genotípicos, fenotípicos e de acasalamento e desvios de dominância e de interação são medidas associadas a indivíduos. Porém, quando lidamos com a evolução de populações, usamos a combinação dessas quantidades expressada em termos de variação em torno da média. Como vimos anteriormente, a variação dos caracteres contínuos é expressa em termos de variância. A ideia básica no estudo de variação, introduzida por Fisher <sup>5</sup>, é de sua partição em componentes atribuídos a diferentes causas. A magnitude relativa desses componentes determina as propriedades genéticas de uma população, em particular o grau de semelhança entre parentes. Os componentes nos quais a variância é particionada são os mesmos nos quais o valor fenotípico foi dividido:

$$V_P = V_A + V_D + V_I + V_E$$

sendo  $V_P$  a variância dos valores fenotípicos,  $V_A$  a variância dos valores de acasalamento (chamada de variância aditiva),  $V_D$  a variância dos desvios de dominância,  $V_I$  a variância dos desvios epistáticos, e finalmente  $V_E$  a variância dos desvios ambientais. A importância relativa de uma determinada fonte de variação é a variância devida a essa fonte, como uma proporção da variância fenotípica.

<sup>4</sup> J. M. Cheverud and E. J. Routman. Epistasis as a Source of Increased Additive Genetic Variance at Population Bottlenecks. *Evolution*, 50(3):1042, June 1996

<sup>5</sup> R. Fisher. The Correlation between Relatives on the Supposition of Mendelian Inheritance. *Transactions of the Royal Society of Edinburgh*, 52:399–433, 1918

### *Variância aditiva*

A variância aditiva, ou a variância devida aos valores de acasalamento, é a causa principal de semelhança entre parentes, sendo, portanto, o determinante das propriedades genéticas da população e de sua resposta à seleção natural. A razão  $V_A/V_P$  expressa a extensão na qual os fenótipos são determinados pelos genes transmitidos pelos pais, e é denominada herdabilidade.

### *Seleção Natural e Genética Quantitativa*

Agora que fizemos a conexão entre efeito médio dos alelos, valor de acasalamento, variância aditiva e herdabilidade, podemos estudar a resposta à seleção natural de um caráter ou de vários caracteres simultaneamente. As propriedades genéticas de uma população são um produto da seleção natural que atuou no passado, junto de mutação, recombinação e deriva genética. É por meio desses processos que existe variabilidade genética, e é principalmente pela ação da seleção natural que os caracteres diferem, alguns tendo proporcionalmente mais variação genética aditiva que outros. A teoria da genética quantitativa fornece duas equações pelas quais podemos compreender a resposta à seleção natural em um único caráter - Equação do Criador - e de vários caracteres simultaneamente - Equação de Lande.

### *Um caráter: Equação do Criador*

Quando estamos trabalhando com apenas um caráter, podemos calcular sua resposta à seleção natural ( $R$ ) conforme o diferencial de seleção aplicado ( $S$ ) e a herdabilidade ( $h^2$ ) desse caráter. Essa resposta univariada à seleção natural foi nomeada como Equação do Criador ("Breeder's equation"), em referência a criadores de animais e de plantas que aplicavam seleção artificial com intuito de atingir maior produtividade:

$$R = h^2 S$$

Nessa equação, podemos notar a relevância da herdabilidade, ou da proporção de variância devida aos valores de acasalamento, na determinação da resposta à seleção natural. Quanto maior for essa proporção, maior será a resposta à seleção para um mesmo diferencial de seleção.

## Médias

Apesar de um episódio de seleção alterar as frequências alélicas do caráter, os efeitos da seleção passíveis de observação restringem-se às mudanças mensuradas na média da população. Portanto, a resposta à seleção ( $R$ ) é uma diferença entre as médias fenotípicas do caráter na prole dos pais selecionados e na geração parental antes da seleção.

## Diferencial de Seleção

O diferencial de seleção é definido como a diferença na média dos indivíduos selecionados e a média populacional antes da seleção. Na figura 8 podemos ver um evento de seleção de truncamento, ou seja, apenas indivíduos com fenótipo acima de um certo valor sobrevivem. O diferencial de seleção  $S$  está relacionado com a intensidade de seleção, quando maior o  $S$  mais intensa é a seleção. Como o diferencial de seleção é expresso na escala da medida original, podemos padronizá-lo pelo desvio padrão fenotípico. A quantidade resultante é usualmente chamada de intensidade de seleção ( $i$ ) e é adimensional.

$$\frac{S}{\sigma_P} = i$$

## Herdabilidade

Olhando para a regressão pais-prole da figura 8, podemos ver que a razão  $R/S$  é equivalente à inclinação da reta de regressão. Na Equação do Criador, podemos notar que essa razão corresponde à herdabilidade do caráter em questão. Lembrando que herdabilidade representa a proporção de variância aditiva em relação à variância fenotípica, vemos que a seleção atua sobre variação fenotípica da população, mas a resposta na próxima geração é proporcional à variação aditiva dos pais, ou seja, proporcional à variação nos seus valores de acasalamento. Quanto mais próxima de 1,0 for a inclinação da reta de regressão pais-prole, maior a semelhança entre pais e prole (maior a herdabilidade), e, portanto, mais eficiente a resposta à seleção.

## Mais de um caráter: Equação de Lande

Sabemos que, quando trabalhamos com mais de um caráter, temos que considerar não somente a variância dos caracteres, mas também a covariância ou a correlação dos mesmos. A principal causa genética de covariação entre caracteres é o padrão pleiotrópico dos genes, ou

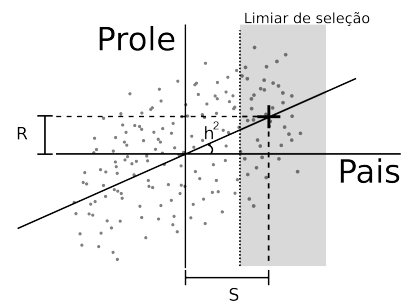


Figura 8: Resposta à seleção ilustrada na regressão dos resíduos em torno da média do caráter dos pais pelos resíduos da prole. Cada ponto é um par dos desvios do caráter dos pais e de sua prole em relação à média populacional. A origem do gráfico (0,0) representa a média populacional e assume-se que é a mesma nas duas gerações. A área sombreada representa os indivíduos da geração parental que foram selecionados. A cruz é a média dos pais e da prole selecionados. A diferença da origem (média populacional) para a média dos pais selecionados corresponde ao diferencial de seleção ( $S$ ). A diferença da origem para a média da prole corresponde à resposta à seleção ( $R$ ).

seja, um gene afetando dois ou mais caracteres ao mesmo tempo. Portanto, se um gene pleiotrópico está segregando na população, isso causa variação correlacionada nos caracteres que ele afeta. Por exemplo, genes que aumentam a taxa de crescimento de indivíduos aumentam tanto a altura quanto o peso destes, causando uma correlação genética entre esses caracteres. A intensidade da correlação genética entre dois caracteres indica a força da associação genética herdável entre eles. O padrão de pleiotropia está relacionado com o sistema de desenvolvimento dos organismos, ou seja, caracteres que compartilham uma mesma via de desenvolvimento, e com o desempenho de uma determinada função, garantindo a coesão dos caracteres. Isso será melhor explicado na próxima seção de Modularidade e Integração Morfológica.

Paralelo aos efeitos genéticos, a seleção natural atua em vários caracteres simultaneamente, e a associação genética entre esses caracteres pode alterar a resposta à seleção natural <sup>6</sup>. A correlação entre caracteres causa uma resposta indireta: se X e Y são correlacionados, a seleção direta em X causará uma seleção correlacionada em Y, e uma resposta direta de X e indireta de Y. Como vimos na Equação do Criador, a resposta direta de X é proporcional à variância nos valores de acasalamento dos indivíduos selecionados. Já a resposta indireta de Y pode ser prevista quando conhecemos o valor da correlação genética entre X e Y e as herdabilidades dos dois caracteres. A expansão da equação univariada para a multivariada foi elaborada por Russel Lande <sup>7</sup>. A equação de resposta multivariada à seleção direcional é análoga à equação do criador, e pode ser escrita como:

$$\Delta z = GP^{-1}S = G\beta$$

Onde  $\Delta z$  representa mudança na média entre duas gerações após um evento de seleção na geração parental;  $G$  representa a matriz de covariância genética aditiva, ou seja, a matriz de covariância dos efeitos médios dos alelos para cada um dos caracteres em questão;  $P^{-1}$  representa a inversa da matriz de covariância fenotípica da população; e, finalmente,  $S$  representa o vetor do diferencial de seleção, ou seja, a diferença na média dos indivíduos parentais selecionados e a média populacional antes da seleção. O produto  $P^{-1}S$  também é chamado de gradiente de seleção, ou  $\beta$ . Vamos detalhar individualmente cada uma dessas quantidades.

### *Vetor de Resposta à Seleção · $\Delta z$*

Como agora estamos trabalhando com vários caracteres, nossa representação passa a ser vetorial. Cada entrada do vetor de médias de

<sup>6</sup> R. Lande and S. J. Arnold. The measurement of selection on correlated characters. *Evolution*, 37(6):1210, Nov. 1983

<sup>7</sup> R. Lande. Quantitative Genetic Analysis of Multivariate Evolution, Applied to Brain: Body Size Allometry. *Evolution*, 33(1):402, Mar. 1979

uma população representa a média de um caráter. O vetor  $\Delta z$ , portanto, é somente a diferença nas médias de duas gerações, após um evento de seleção na geração parental. Ele é exatamente equivalente ao  $R$  na equação do criador.

### Diferencial e Gradiente de Seleção · $S$ e $\beta$

O vetor  $S$  é análogo ao  $S$  da equação do criador, e representa a diferença na média dos parentais antes e depois da seleção, mas agora para todos os caracteres simultaneamente. No caso multivariado, os diferenciais de seleção não são restritos ao caráter selecionado, pois, caso haja covariação entre o caráter selecionado e um segundo caráter não selecionado, um diferencial de seleção indireto se manifesta (Fig. 9):

Podemos, então, descontar a correlação fenotípica encontrada na população para obter um valor de seleção que seja apenas devido a seleção direta em cada caráter.

Isso é feito multiplicando o diferencial de seleção pelo inverso da matriz de covariação fenotípica, obtendo o gradiente de seleção (Fig. 10). O vetor resultante,  $\beta$ , representa apenas a seleção direta em cada caráter, em unidades de variância fenotípica.

### Matriz Genética

A matriz genética ou  $G$  possui como entradas em sua diagonal os valores de variância aditiva ( $V_A$ ) para cada caráter, que é o numerador do cálculo de herdabilidade ( $h^2 = V_A/V_P$ ). Ou seja, a diagonal da  $G$  determina as respostas diretas dos caracteres ao gradiente de seleção. Fora das diagonais, as entradas são as covariâncias genéticas aditivas entre todos os caracteres considerados, que determinam as respostas indiretas dos mesmos.

Para entender melhor o efeito das correlações genéticas na resposta à seleção, vamos olhar para a equação de Lande no caso de 3 caracteres e abrir o produto do gradiente de seleção com a matriz  $G$  em todos os seus termos.

$$G\beta = \begin{pmatrix} G_{11} & G_{12} & G_{13} \\ G_{21} & G_{22} & G_{23} \\ G_{31} & G_{32} & G_{33} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \beta_1 \\ \beta_2 \\ \beta_3 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} G_{11}\beta_1 + G_{12}\beta_2 + G_{13}\beta_3 \\ G_{21}\beta_1 + G_{22}\beta_2 + G_{23}\beta_3 \\ G_{31}\beta_1 + G_{32}\beta_2 + G_{33}\beta_3 \end{pmatrix} \quad (1)$$

$$= \begin{pmatrix} \Delta z_1 \\ \Delta z_2 \\ \Delta z_3 \end{pmatrix} = \Delta z \quad (2)$$

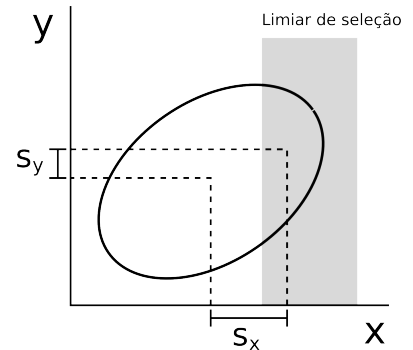


Figura 9: Diferencial de seleção correlacionado. Apenas o caráter  $X$  está sujeito à seleção de truncamento, porém vemos um diferencial correlacionado em  $Y$ , devido à covariação fenotípica entre as duas variáveis. A elipse representa um intervalo de confiança de 95% da distribuição fenotípica das duas variáveis.

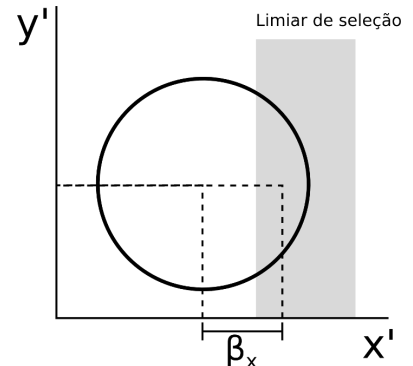


Figura 10: Gradiente de seleção correlacionado. A partir da situação na figura 9, descontamos o efeito da covariação fenotípica entre duas variáveis e obtemos os gradientes de seleção. Como não existe seleção direta sobre  $y$ , sua componente do gradiente de seleção é nula.

Os termos  $G_{11}\beta_1$ ,  $G_{22}\beta_2$  e  $G_{33}\beta_3$  representam a resposta à seleção direta em cada caráter. Mas, vemos que, além dos termos diretos, temos também todos os termos indiretos, que são termos de resposta correlacionada devido à covariação genética entre os caracteres. Ou seja, o efeito que a seleção em um caráter provoca em todos os outros que estão correlacionados com ele. A presença de respostas indiretas a um dado gradiente de seleção faz com a resposta observada ( $\Delta z$ ) não seja na mesma direção que o vetor de seleção. Esse desvio da direção de seleção foi denominado restrição evolutiva (fig. 11). Portanto, os componentes de covariância da  $G$  podem restringir a evolução de uma população na direção da seleção, enquanto que os componentes de variância aditiva podem restringir a taxa de evolução, no caso de pouca variância. Apesar da relevância da  $G$  em evolução, sua estimativa não é uma tarefa simples, pois são necessários delineamentos de cruzamento entre os indivíduos de uma população e criação de sua prole para a determinação do parentesco entre eles (pais-filhos, irmãos, meio-irmãos).

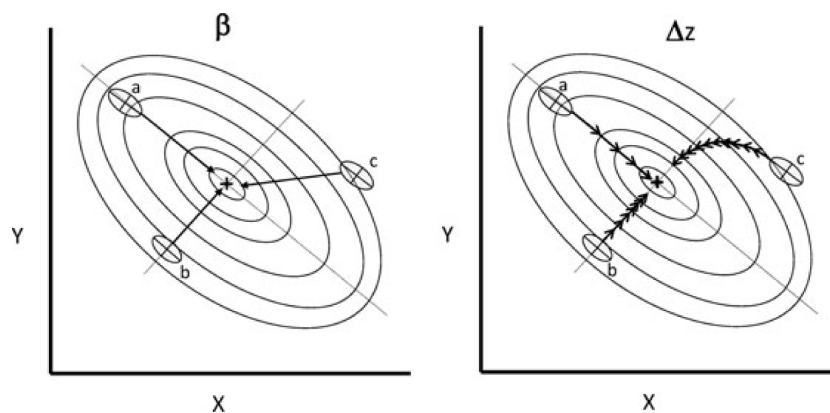


Figura 11: Trajetórias evolutivas de populações com estruturas de covariação orientadas de formas distintas na paisagem adaptativa. Estão apresentadas três matrizes  $G$  (elipses cinzas) dispostas em uma paisagem adaptativa, na qual as elipses concêntricas representam diferentes valores de aptidão. A cruz ao centro da paisagem indica o ótimo adaptativo, e portanto a direção para qual as matrizes são puxadas pela seleção. As matrizes  $a$  e  $b$  respondem de maneira linear (sem desvios) à seleção, pois possuem um de seus eixos de variação alinhados com a paisagem. Já a matriz  $c$ , que não está alinhada com a paisagem, apresenta uma resposta curva à seleção, ou seja, sua trajetória evolutiva está restringida pela sua estrutura de covariância genética aditiva.

### Matriz Fenotípica

A matriz  $P$  é muito mais simples de ser obtida, pois não precisamos ter acesso ao grau de parentesco entre os indivíduos amostrados. A amostragem pode ser feita em indivíduos de coleções de museu, por exemplo, e grandes amostras podem ser obtidas garantindo uma boa estimativa da  $P$ . A  $P$  é semelhante em seu arranjo à  $G$ , apenas tendo no lugar das variâncias e covariâncias genéticas aditivas, as variâncias e covariâncias fenotípicas. Portanto, a  $P$  contabiliza tanto os efeitos genéticos aditivos quanto os ambientais. Mas, uma vez que a  $G$  reflete as relações entre caracteres determinadas pelo desenvolvimento/função dos organismos, as variações ambientais devem atuar

pelas mesmas vias de desenvolvimento que as variações genéticas, e portanto o padrão de correlações ambientais também deve refletir as restrições de desenvolvimento<sup>8</sup>. Sendo assim, as correlações fenotípicas seriam similares às correlações genéticas. A similaridade entre matrizes **G** e **P** foi testada empiricamente em espécies de mamíferos por diferentes autores e verificou-se que quando a matriz **G** é melhor estimada (ou seja, quando o número de indivíduos amostrados é superior a 40), a similaridade com sua matriz **P** correspondente é alta<sup>9</sup>. A expectativa de similaridade entre **G** e **P** é denominada “Conjectura de Cheverud”, pois foi esse autor que a propôs e a testou em primeiro lugar. Portanto, dada a Conjectura de Cheverud, podemos substituir as matrizes **G** das espécies por suas respectivas matrizes **P** e realizar estudos macro-evolutivos, isto é, podemos estudar a evolução de caracteres ao longo de uma filogenia.

A Equação de Lande pode ser estendida para sua forma macro-evolutiva:

$$\beta = G^{-1}(\bar{z}_{atual} - \bar{z}_{ancestral})$$

na qual  $(\bar{z}_{atual} - \bar{z}_{ancestral})$  representa a diferença na média das espécies atuais e ancestrais, e o gradiente de seleção  $\beta$  representa o padrão de seleção cumulativo sofrida por cada linhagem independentemente<sup>10</sup>. A aplicação dessa forma macro-evolutiva da Equação de Lande só pode ser feita se existir constância da **G** (ou, no caso, da **P**). Essa premissa está relacionada com homogeneidade de variâncias e covariâncias genéticas aditivas entre as espécies estudadas e a reconstrução de matrizes ancestrais dos nós mais internos da filogenia.

### Modularidade e Integração

Na imensa maioria dos organismos, conseguimos identificar partes relativamente discretas e separadas, frequentemente envolvidas no desempenho de alguma função. Em organismos unicelulares podemos distinguir organelas desempenhando funções específicas, bem como regiões internas ou na membrana responsáveis por processos distintos. Já nos multicelulares, tipos celulares são organizados em tecidos espacialmente separados, formando órgãos de funções distintas, que por sua vez são organizados em sistemas responsáveis por funções distintas. Modularidade se refere a esse padrão de organização dos seres vivos, onde algumas partes são mais relacionadas entre si do que com outras partes do mesmo organismo. Podemos descrever, e entender, a organização entre partes constituintes dos organismos através das relações entre elas, sendo cada tipo de relação adequada a um nível de complexidade ou organização. As partes do organismo as quais nos referimos podem ser as bases nitrogenadas

<sup>8</sup> J. M. Cheverud. Quantitative genetics and developmental constraints on evolution by selection. *Journal of theoretical biology*, 110(2):155–71, Sept. 1984

<sup>9</sup> J. M. Cheverud. A Comparison of Genetic and Phenotypic Correlations. *Evolution*, 42(5):958, Sept. 1988

<sup>10</sup> G. Marroig and J. M. Cheverud. Size as a line of least evolutionary resistance: diet and adaptive morphological radiation in New World monkeys. *Evolution; international journal of organic evolution*, 59(5):1128–42, May 2005



de uma molécula de RNA, genes, proteínas, ou caracteres morfológicos, como temos visto até agora <sup>11</sup>. Essas relações podem ser medidas de diversas formas, como interação física entre proteínas, padrões de expressão conjunta entre genes, ou, no nosso caso, correlação entre caracteres quantitativos. Esse grupo de características muito relacionadas entre si constituem um módulo, como esquematizado na figura 12. Módulos, então, são caracterizados por uma alta conectividade interna e relativa independência de outros módulos.

Podemos classificar os tipos de módulos de acordo com o tipo de interação que os define <sup>12</sup>. Porém, todos os níveis de modularidade estão relacionados, e não podemos tratar de um sem considerar o outro.

*Módulo funcional:* Alguns caracteres agem conjuntamente no desempenho de funções biológicas. Pensando no crânio de mamíferos, os ossos da região da face estão envolvidos em diversas funções, como mastigação, olfação ou visão. No caso da mastigação, por exemplo, se espera que as mandíbulas inferiores e superiores trabalhem de forma conjunta no desempenho dessa função, e isso impõem restrições na forma e tamanho dos ossos envolvidos nessa tarefa. Já os ossos que compõem o neurocrânio estão relacionados com a proteção do cérebro dos mamíferos, e não tem relação direta com a mastigação. Essa separação em regiões funcionais diferentes tem consequências para o organismo.

*Módulo de desenvolvimento:* Durante o desenvolvimento, caracteres podem se comportar de forma quase autônoma dentro de um embrião com relação aos seus processos de crescimento e diferenciação. Ou ainda, genes e proteínas podem estar envolvidos em uma cascata autônoma de sinalização que faz parte do desenvolvimento do organismo. Voltando ao exemplo acima dos dois módulos funcionais nos mamíferos, estes mesmos módulos possuem origem embrionária distinta. O desenvolvimento da face dos mamíferos provém do crescimento e da diferenciação de células da mesoderme paraxial, enquanto que o desenvolvimento do neurocrânio se dá a partir das células da crista neural. Esses dois tecidos embrionários não influenciam o desenvolvimento um do outro, portanto são partes praticamente autônomas do embrião. Assim, os dois módulos funcionais, face e neurocrânio dos mamíferos, também são dois módulos de desenvolvimento distintos.

*Módulo variacional:* Os módulos variacionais são caracterizados por correlações altas entre caracteres dentro do módulo e correlações baixas entre caracteres de módulos diferentes. Enquanto as definições de módulos funcionais e de desenvolvimento referem-se a

<sup>11</sup> G. P. Wagner, M. Pavlicev, and J. M. Cheverud. The road to modularity. *Nature reviews. Genetics*, 8(12):921–31, Dec. 2007

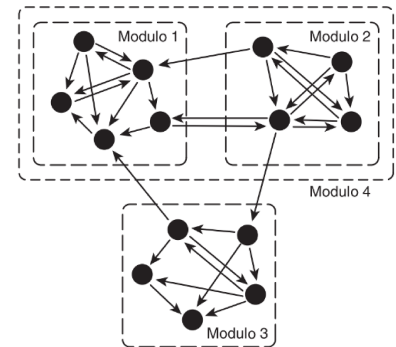


Figura 12: Representação esquemática da organização modular dos seres vivos. As setas representam qualquer tipo de relação entre as partes de um indivíduo. Adaptado de Klingenberg 2008.

<sup>12</sup> G. P. Wagner, M. Pavlicev, and J. M. Cheverud. The road to modularity. *Nature reviews. Genetics*, 8(12):921–31, Dec. 2007

fenômenos do indivíduo, o módulo variacional é um fenômeno populacional. Apesar dos caracteres pertencerem a organismos individuais, suas correlações só podem ser determinadas em um estudo populacional. As correlações encontradas refletem organizações modulares tanto no desenvolvimento quanto na estrutura genética dos indivíduos, e são moldadas por demandas evolutivas<sup>13</sup>.

### *Integração Morfológica*

No contexto de caracteres contínuos, a teoria da integração morfológica foi inicialmente elaborada por Olson e Miller em seu livro “Integração Morfológica”. Neste livro, os autores apresentam a integração morfológica como uma forma de estudar a evolução dos animais como organismos totais, concebendo-os como uma abstração, baseada em associações entre medidas<sup>14</sup>. Estas associações de medidas são representadas por correlações fenotípicas e organizadas em módulos variacionais. A relevância em se investigar complexos de caracteres em vez de caracteres isolados está na visão de que mudanças em um caráter podem não ser independentes de mudanças em outros caracteres do organismo. Olson e Miller já ponderavam sobre as relações entre magnitude de integração e evolução. Seria a intensidade de integração, ou seja, o quão fortemente os caracteres estão associados entre si, capaz de influenciar a evolução de organismos mais complexos e seu grau de adaptabilidade? Pensando em magnitudes de integração, esses autores compreenderam a importância da dualidade integração-modularidade no potencial de evolução morfológica, ou seja, que esses dois conceitos são os dois lados de uma mesma moeda. Modularidade permite com que caracteres se comportem de forma independente, enquanto integração garante que mudanças em um caráter sejam coordenadas com mudanças nos demais caracteres que interagem com o primeiro. Na próxima seção vamos discutir essa dualidade em detalhes num contexto evolutivo.

Günter P. Wagner<sup>15</sup> ressaltou que é preciso haver uma razão biológica para que o plano corpóreo dos organismos seja organizado de maneira tão obviamente modular, tornando facilmente reconhecíveis suas unidades naturais (como mostrado pela nossa capacidade de apontar estruturas homólogas). Para ele, considerar as unidades naturais como unidades de transformação evolutiva (ou seja, a modularidade como uma propriedade variacional do genoma) traz o sentido biológico dessa organização. Segundo ele, três critérios precisam ser satisfeitos para um complexo de caracteres ser considerado como uma unidade modular: (1) servir a uma função primária; (2) ser integrado por efeitos pleiotrópicos; e (3) ser relativamente independente

<sup>13</sup> C. P. Klingenberg. Morphological Integration and Developmental Modularity. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 39:115–132, 2008

<sup>14</sup> R. Olson and E. Miller. *Morphological integration*. University of Chicago Press, Chicago, 1958

<sup>15</sup> G. P. Wagner. Homologues, Natural Kinds and the Evolution of Modularity. *Integrative and Comparative Biology*, 36(1):36–43, 1996

de outras unidades. A visão de Wagner leva a uma estrutura particular do mapa genótipo-fenótipo dentro de um indivíduo, no qual genes estariam divididos em grupos com efeitos pleiotrópicos localizados, restritos a caracteres envolvidos com uma determinada função. Essa organização modular do mapa genótipo-fenótipo seria responsável pela organização dos caracteres em módulos variacionais.

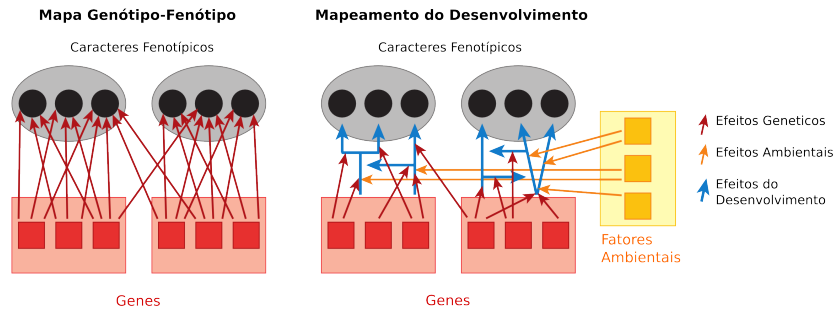


Figura 13: Mapa genótipo-fenótipo modular clássico, e mapa incluindo efeitos do desenvolvimento. Adaptado de Klingenberg 2008.

### *Consequências Evolutivas*

A organização modular do genoma e do desenvolvimento e a consequente estrutura variacional modular leva a consequências evolutivas importantes. Quando grupos de caracteres constituem um módulo e provavelmente funcionam de forma integrada no desempenho de uma função, seleção sobre um dos caracteres, produzindo mudanças em uma parte do módulo, poderia ocasionar uma disrupção na composição harmoniosa desse conjunto de características. Porém, a alta correlação entre caracteres de um módulo impede que isso aconteça, pois respostas correlacionadas são observadas nos caracteres que não estão sobre seleção, e todos os caracteres do módulo acabam por se modificarem de forma conjunta, mantendo sua harmonia interna.

De forma complementar, se todos os caracteres do organismo fossem integrados, seleção em um caráter provocaria mudanças em todos os outros, até aqueles relacionados com outras funções ou em partes distantes do organismo. A divisão em módulos permite que partes diferentes se modifiquem de forma relativamente independente. Evolutivamente, então, integração e modularidade permitem que grupos de características funcionalmente ou ontogeneticamente ligadas se modifiquem de forma harmoniosa; e que características em módulos diferentes possam se alterar de forma relativamente independente.

### Autovalores e Autovetores

Quando trabalhamos com muitos caracteres, avaliar ao mesmo tempo a evolução e a variação de todos simultaneamente se torna pouco factível. Para sanar essa dificuldade, podemos nos valer de alguns tipos de transformação das variáveis que tragam simplificações ou características marcantes das populações estudadas. Uma forma de transformação é a análise de componentes principais, também conhecida como decomposição de autovalores e autovetores.

Os autovetores, ou componentes principais, nada mais são que as direções de maior variação não correlacionadas (Fig. 14).

A quantidade de variação em cada direção dos componentes principais é medida pelo seu autovalor correspondente. O primeiro autovetor é associado ao maior autovalor. O autovalor nada mais é que a variância na direção do autovetor correspondente.

O número de autovetores e autovalores é dado pela dimensão do espaço que estamos trabalhando, ou seja, o número de caracteres estudados. Para cada  $p$  caracteres, teremos  $p$  autovetores. Porém, na maior parte dos sistemas morfológicos, grande parte da variação está concentrada nos primeiros componentes principais, e portanto podemos caracterizar de forma bastante completa a variação na população utilizando estes primeiros componentes.

### Tamanho e Linhas de Menor Resistência Evolutiva

Os componentes principais trazem uma informação importante sobre a distribuição de variação no morfoespaço. Lembrando que a seleção natural sempre atua sobre variação existente na população, podemos pensar no primeiro componente principal, o eixo de maior variação, como uma direção especialmente favorável para a resposta à seleção. Por esse motivo, essa direção ficou conhecida como linha de menor resistência evolutiva <sup>16</sup>. Frequentemente, vemos a linha de menor resistência evolutiva enviesando o vetor de resposta à seleção, mesmo quando o gradiente de seleção está orientado em outra direção <sup>17</sup>. Esse desvio se dá pela ação da seleção indireta, descrita nas seções anteriores (fig. 11). Quando maior for a porção da variação presente no primeiro componente principal, maior será o desvio da seleção em direção à linha de menor resistência evolutiva.

Na maior parte dos mamíferos, podemos identificar o primeiro componente principal com uma característica bastante simples: Tamanho. Essa identificação vem do fato de todos os componentes do primeiro autovetor terem, frequentemente, o mesmo sinal. Mudanças evolutivas ao longo desse eixo do morfoespaço representam, portanto, alteração coordenada entre todos os caracteres avaliados, ou

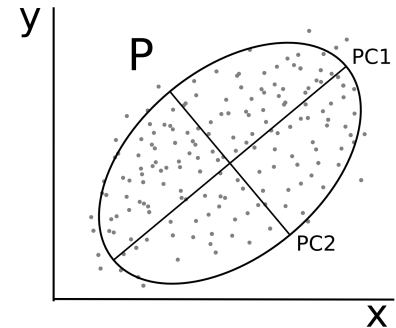


Figura 14: Autovetores da distribuição dos caracteres X e Y. PC1 representa o primeiro componente principal da matriz P, ou primeiro autovetor, e corresponde ao eixo de maior variação fenotípica. PC2, então, representa o segundo eixo de maior variação ortogonal ao primeiro.

<sup>16</sup> D. Schluter. Adaptive Radiation Along Genetic Lines of Least Resistance. *Evolution*, 50(5):1766, Oct. 1996

<sup>17</sup> G. Marroig and J. M. Cheverud. Size as a line of least evolutionary resistance: diet and adaptive morphological radiation in New World monkeys. *Evolution; international journal of organic evolution*, 59(5):1128–42, May 2005

seja, todos aumentam ou diminuem juntos. Assim, essas mudanças representam mudanças de tamanho, e o principal eixo de variação dentro de populações é no tamanho dos indivíduos <sup>18</sup>.

<sup>18</sup> A. Porto, F. B. Oliveira, L. T. Shirai, V. Conto, and G. Marroig. The Evolution of Modularity in the Mammalian Skull I: Morphological Integration Patterns and Magnitudes. *Evolutionary Biology*, 36(1):118–135, Oct. 2009

## Referências

- [1] J. M. Cheverud. Quantitative genetics and developmental constraints on evolution by selection. *Journal of theoretical biology*, 110(2):155–71, Sept. 1984.
- [2] J. M. Cheverud. A Comparison of Genetic and Phenotypic Correlations. *Evolution*, 42(5):958, Sept. 1988.
- [3] J. M. Cheverud and G. Marroig. Comparing covariance matrices: Random skewers method compared to the common principal components model. *Genetics and Molecular Biology*, 30:461–469, 2007.
- [4] J. M. Cheverud and E. J. Routman. Epistasis as a Source of Increased Additive Genetic Variance at Population Bottlenecks. *Evolution*, 50(3):1042, June 1996.
- [5] D. S. Falconer and T. F. Mackay. *Introduction to Quantitative Genetics*. Benjamin Cummings, London, 4th edition, 1996.
- [6] R. Fisher. The Correlation between Relatives on the Supposition of Mendelian Inheritance. *Transactions of the Royal Society of Edinburgh*, 52:399–433, 1918.
- [7] C. P. Klingenberg. Morphological Integration and Developmental Modularity. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 39:115–132, 2008.
- [8] R. Lande. Quantitative Genetic Analysis of Multivariate Evolution, Applied to Brain: Body Size Allometry. *Evolution*, 33(1):402, Mar. 1979.
- [9] R. Lande and S. J. Arnold. The measurement of selection on correlated characters. *Evolution*, 37(6):1210, Nov. 1983.
- [10] M. Lynch and B. Walsh. *Genetics and analysis of quantitative traits*. Sinauer, Sunderland, MA., 1998.
- [11] G. Marroig and J. M. Cheverud. Size as a line of least evolutionary resistance: diet and adaptive morphological radiation in New World monkeys. *Evolution; international journal of organic evolution*, 59(5):1128–42, May 2005.

- [12] R. Olson and E. Miller. *Morphological integration*. University of Chicago Press, Chicago, 1958.
- [13] A. Porto, F. B. Oliveira, L. T. Shirai, V. Conto, and G. Marroig. The Evolution of Modularity in the Mammalian Skull I: Morphological Integration Patterns and Magnitudes. *Evolutionary Biology*, 36(1):118–135, Oct. 2009.
- [14] D. Schluter. Adaptive Radiation Along Genetic Lines of Least Resistance. *Evolution*, 50(5):1766, Oct. 1996.
- [15] G. P. Wagner. Homologues, Natural Kinds and the Evolution of Modularity. *Integrative and Comparative Biology*, 36(1):36–43, 1996.
- [16] G. P. Wagner, M. Pavlicev, and J. M. Cheverud. The road to modularity. *Nature reviews. Genetics*, 8(12):921–31, Dec. 2007.