

JOSEILME FERNANDES GOUVEIA

INTERFERÊNCIA CLONAL EM POPULAÇÕES SEXUADAS

RECIFE-PE - JANEIRO/2010

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOMETRIA E ESTATÍSTICA APLICADA

INTERFERÊNCIA CLONAL EM POPULAÇÕES SEXUADAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biometria e Estatística Aplicada como exigência parcial à obtenção do título de Mestre.

Área de Concentração: Modelagem Estatística e Computacional

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto de Araújo Campos

RECIFE-PE - JANEIRO/2010.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOMETRIA E ESTATÍSTICA APLICADA

INTERFERÊNCIA CLONAL EM POPULAÇÕES SEXUADAS

Joseilme Fernandes Gouveia

Dissertação julgada adequada para obtenção do título de mestre em Biometria e Estatística Aplicada, defendida e aprovada por unanimidade em 15/01/2010 pela Comissão Examinadora.

Orientador:

Prof. Dr. Paulo Roberto de Araújo Campos
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Tatijana Stosic
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. Ernande Barbosa da Costa
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. Caio Veloso Sátiro
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Unidade Acadêmica de Garanhuns

Dedico, a todos que de alguma forma tornaram a realização deste trabalho possível.

Agradecimentos

Primeiramente a Deus, pelo dom da vida.

Ao meu orientador professor Dr. Paulo Roberto de Araújo Campos por sua dedicação, competência e atenção dedicada a esta dissertação.

A todos meus amigos do mestrado pela interação produtiva e harmoniosa durante nosso convívio.

Aos professores e funcionários do Departamento de Estatística e Informática pela convivência agradável durante esse período.

Muitas foram as pessoas que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho. A todas elas, meu sincero agradecimento. Todavia, agradeço de forma especial.

A minha mãe, pessoa que sempre foi exemplo de coragem, amor, determinação, retidão e perseverança.

A minha esposa Cidia e ao meu filho Arthur que foram importantes para realização desse trabalho.

Carlos que foi amigo e companheiro durante toda a graduação e o mestrado.

Aos colegas de curso pelo companheirismo e amizade, em especial a Kleber, Patrícia, Ulisses, Marcio, Cícero Carlos, Luis, Rozilda, Rita e Rodrigo que foram amigos e companheiros durante todo o curso.

"Nada na vida é mais excitante e gratificante do que um pensamento introspectivo, inesperado que faz de você uma pessoa modificada - não apenas mudada, como também melhor."

Albert Einstein

Resumo

Nós investigamos a taxa de substituição de mutações vantajosas em populações de organismos haplóides, assumindo que o mecanismo de recombinação está fixo, com a ocorrência de mutações benéficas e deletérias. Propomos um modelo de população finita de indivíduos em que permitiu a recombinação com taxa r e quantificamos o sexo no modelo. Verificamos que o sexo e a recombinação aumentam a taxa de adaptação por permitir a recombinação das mutações originalmente benéficas em linhagens distintas da população e, assim, reduz a intensidade da interferência clonal. A vantagem do sexo é maior até quando ocorrem mutações deletérias, pois a recombinação possui um papel importante, porque eliminam as mutações deletérias com maior eficiência. Porém, nossos resultados de simulação demonstram também a ocorrência de evidências da interferência clonal em populações sexuadas. Observamos que, comparando a população sexuada com a assexuada, a interferência clonal ocorre para taxas mais elevadas de mutação benéfica. Notamos claramente a redução no ritmo de crescimento da taxa de fixação das mutações benéficas juntamente com o aumento do efeito médio seletivo das mutações que se fixam. E determinamos as distribuições que melhor descrevem a distribuição do efeito seletivo das mutações benéficas que conseguem se fixar em uma população.

Palavras-chave: interferência clonal, mutação benéfica, recombinação, sexo e taxa de adaptação.

Abstract

We have investigated the rate of substitution of advantageous mutations in populations of haploid organisms where the rate of recombination can be controlled. We have verified that in all the situations recombination speeds up adaptation through recombination of beneficial mutations from distinct lineages in a single individual, and so reducing the intensity of clonal interference. The advantage of sex for adaptation is even stronger when deleterious mutations occur since now recombination can also restore genetic background free of deleterious mutations. However, our simulation results demonstrate that evidence of clonal interference, as increased mean selective effect of fixed mutations and reduced likelihood of fixation of small-effect mutations, are also present in sexual populations. What we see is that this evidence is delayed when compared to asexual populations.

Palavras-chave: clonal interference, beneficial mutations, recombination, sex and rate of fixation.

Lista de Figuras

- 1 Função de densidade da distribuição exponencial. p. 13
- 2 Função de densidade da distribuição normal inversa. p. 14
- 3 Função de densidade da distribuição gama. p. 16
- 4 Função de densidade da distribuição Weibull. p. 17
- 5 Função de densidade da distribuição log normal. p. 18
- 6 Esquematização do processo de geração de uma nova população. p. 21
- 7 Esquema de como a recombinação atua. p. 24
- 8 Taxa de fixação das mutações vantajosas, K_{fix} , como função da taxa de mutações benéficas. Neste gráfico consideramos o tamanho da população $N = 10000$, $\alpha = 20$, e taxa de recombinação, $r = 0$ (círculo cheio), $r = 0.5$ (círculo vazio), $r = 1.0$ (triângulo). A taxa e o efeito seletivo das mutações deletérias foram: Parte (a) $U_d = 0$; Parte (b) $U_d = 0.2$ e $s_d = 0.1$. A linha sólida na parte (a) indica aproximação da forte seleção e baixa mutação de acordo com a equação 4.1, a linha tracejada refere-se à predição teórica da equação 4.2. Na parte (b), a linha sólida refere-se à solução numérica da equação 4.4, enquanto que a linha tracejada representa o limite superior para a taxa de fixação na ocorrência de recombinação, $K_{fix}^{upper} = 2NU_b f_r / \alpha$ p. 27
- 9 Efeito seletivo médio das mutações benéficas que alcançaram a mutação s_{fix} em função da taxa de mutação U_b . Nesta Figura, consideramos tamanho da população $N = 10000$, $\alpha = 20$ e taxa de recombinação, $r = 0$ (círculo cheio), $r = 0.5$ (círculo vazio), $r = 1.0$ (triângulo). A taxa e o efeito seletivo das mutações deletérias foram: parte (a) $U_d = 0$, parte (b) $U_d = 0.2$, e $s_d = 0.1$ p. 29

10	Distribuição de probabilidade dos efeitos seletivos das mutações benéficas que alcançaram a fixação, $P(s_{fix})$. Os valores dos parâmetros foram $N = 10000$, $U_d = 0$, e taxa de mutação benéfica $U_b = 10^{-5}$ (parte (a)), $U_b = 10^{-3}$ (parte (b)) e $U_b = 10^{-2}$ (parte (c)). Taxa de recombinação, $r = 0$ (círculo cheio), $r = 0.5$ (círculo vazio), $r = 1.0$ (triângulo).	p. 30
11	Histograma das densidades de distribuições para o comportamento das mutações benéficas que se fixam. Os parâmetros são $N = 10000$, $U_d = 0$, $U_b = 0,00001$, $s_d = 0$ e $r = 0.5$	p. 35
12	Histograma das densidades de distribuições para o comportamento das mutações benéficas que se fixam. Os parâmetros são $N = 10000$, $U_d = 0$, $U_b = 0,00001$, $s_d = 0$ e $r = 0$	p. 35
13	Histograma das densidades de distribuições para o comportamento das mutações benéficas que se fixam. Os parâmetros são $N = 10000$, $U_d = 0$, $U_b = 0,00001$, $s_d = 0$ e $r = 1.0$	p. 36
14	Histograma das densidades de distribuições para o comportamento das mutações benéficas que se fixam. Os parâmetros são $N = 10000$, $U_d = 0$, $U_b = 0,001$, $s_d = 0$ e $r = 0$	p. 37
15	Histograma das densidades de distribuições para o comportamento das mutações benéficas que se fixam. Os parâmetros são $N = 10000$, $U_d = 0$, $U_b = 0,001$, $s_d = 0$ e $r = 0.5$	p. 37
16	Histograma das densidades de distribuições para o comportamento das mutações benéficas que se fixam. Os parâmetros são $N = 10000$, $U_d = 0$, $U_b = 0,001$, $s_d = 0$ e $r = 1.0$	p. 38
17	Histograma das densidades de distribuições para o comportamento das mutações benéficas que se fixam. Os parâmetros são $N = 10000$, $U_d = 0$, $U_b = 0,01$, $s_d = 0$ e $r = 0$	p. 38
18	Histograma das densidades de distribuições para o comportamento das mutações benéficas que se fixam. Os parâmetros são $N = 10000$, $U_d = 0$, $U_b = 0,01$, $s_d = 0$ e $r = 0.5$	p. 39
19	Histograma das densidades de distribuições para o comportamento das mutações benéficas que se fixam. Os parâmetros são $N = 10000$, $U_d = 0$, $U_b = 0,01$, $s_d = 0$ e $r = 1.0$	p. 39

Lista de Tabelas

- 1 Estimativas dos parâmetros dos modelos das mutações benéficas que se fixam. Os parâmetros são $N = 10000$, $U_d = 0$, $U_b = 0,00001$, $r = 0.5$ e $s_d = 0$ p.34
- 2 Estatísticas para seleção dos modelos. Os parâmetros são $N = 10000$, $U_d = 0$, $U_b = 0,00001$, $r = 0.5$ e $s_d = 0$ p.34
- 3 Escolha do melhor modelo para os diversos parâmetros. p.40

Sumário

1	INTRODUÇÃO	p. 1
2	REVISÃO DE LITERATURA	p. 4
2.1	Dinâmica Adaptativa	p. 4
2.2	Mutações	p. 5
2.2.1	Mutações benéficas	p. 6
2.2.2	Mutações deletérias	p. 7
2.3	Fixação de mutações benéficas	p. 7
2.4	Relevo Adaptativo	p. 8
2.5	Evolução de Bactérias	p. 9
2.6	População Sexuada	p. 10
2.7	Sexo e Recombinação	p. 11
2.8	Distribuições de probabilidades	p. 13
2.8.1	Exponencial	p. 13
2.8.2	Normal inversa	p. 14
2.8.3	Distribuição Gama	p. 15
2.8.4	Distribuição Weibull	p. 16
2.8.5	Distribuição Log-normal	p. 17
2.8.6	Distribuição Poisson	p. 18
2.8.7	Distribuição Uniforme	p. 19
3	MODELO COMPUTACIONAL	p. 20

4 RESULTADOS	p. 25
5 DISTRIBUIÇÃO DAS MUTAÇÕES BENÉFICAS	p. 31
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	p. 41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	p. 43

1 INTRODUÇÃO

Recentemente, tem havido um interesse renovado no estudo da dinâmica de adaptação em organismos assexuados (LEVIN et al., 2000; ORR, 2000; ELENA & LENSKI, 2003; BACHTROG & GORDO, 2004; SANJUAN et al., 2004; ORR, 2005; GORDO & CAMPOS, 2006; HEGRENESS et al. 2006; EYRE-WALKER & KEIGHTLEY, 2007). Com novos e importantes *insights* nas estimativas das taxas de mutações de novos alelos benéficos e na distribuição de seus efeitos na adaptação (EYRE-WALKER & KEIGHTLEY, 2007), particularmente em micróbios e, principalmente, em condições de laboratório (GILLESPIE et al., 1983; DESAI & FISHER, 2007; DESAI et al., 2007), um cenário de um massivo fluxo de mutações benéficas sobre curtos períodos de tempo de evolução foi identificado. Esse novo cenário dificulta, essencialmente, a habilidade na previsão das taxas esperadas de evolução por meio da acumulação de mutações adaptativas usando a suposição simplista de forte-seleção fraca-mutação. Nesse contexto, a adaptação consiste em mutações benéficas que, por meio de rápidas varreduras seletivas, alcançam fixação na população. Tais eventos de fixação são alternados por períodos de inatividade, onde nenhuma mutação benéfica é fixada.

O aspecto fundamental que torna esta hipótese relativamente fácil de lidar é que, se as mutações são raras e seus efeitos seletivos positivos são fortes, então as taxas de variação evolucionária resultam de um tempo de espera para que novas mutações surjam e, por meio de uma rápida varredura seletiva, alcancem fixação. Mas se as taxas de produção de novas mutações e/ou tamanhos de população não são pequenas e/ou os efeitos dessas mutações não são grandes, então o tempo de espera pode se tornar extremamente pequeno e o tempo de fixação grande. Como consequências, as mutações não se acumularão de forma independente e sucessiva, mas sim irão interferir umas com as outras ou potencialmente alcançar fixação de forma conjunta. O primeiro é um caso especial do

efeito Hill-Robertson (HILL-ROBERTSON, 1966) comumente conhecido como interferência clonal, enquanto que, o último caso identificado, recentemente, recebe o nome de múltiplas mutações (DESAI & FISHER, 2007; DESAI et al., 2007). Uma quantidade considerável de resultados de experimentos desenvolvidos em condições controladas de laboratório têm sido interpretados como uma assinatura da interferência clonal. As recentes análises em populações de leveduras, que ao se adaptarem as condições de laboratórios, fornecem também evidências para o papel das múltiplas mutações. A interferência clonal retarda a fixação e, conseqüentemente, resulta em taxas menores de adaptação em populações assexuadas. O fenômeno da interferência clonal foi extensivamente estudado tanto em uma abordagem teórica (CAMPOS & OLIVEIRA, 2004; ORR, 2000; GERRISH & LENSKI, 1998), como também, em diversos experimentos (GERRISH & LENSKI, 1998; CUEVAS et al. 2002; MIRALLES et al. 1999). Esses estudos levaram a uma melhor compreensão dos mecanismos evolucionários que afetam a importância da interferência clonal em populações naturais.

Todas essas análises sobre a adaptação em populações foram feitas considerando populações assexuadas. Entre os mecanismos que afetam a intensidade da interferência clonal mencionamos as mutações deletérias (ORR, 2000; CAMPOS & OLIVEIRA, 2004; WILKE, 2004), a estruturação da população (GORDO & CAMPOS, 2006; GOLÇALVES et al., 2007; HABETS et al., 2007), a heterogeneidade do ambiente (CAMPOS, et al. 2008; PEPIN & WICHMAN, 2008) e os protocolos experimentais como o engarrafamento (CAMPOS & WAHL, 2009).

Nesta dissertação estudaremos como o sexo e a recombinação podem alterar a intensidade da interferência clonal, como também, o regime de múltiplas mutações. O sexo e a recombinação são mecanismos evolucionários que foram apontados por contribuir para uma rápida adaptação e por permitir combinação de mutações benéficas que surgem em linhagens distintas em um único indivíduo, de forma a melhorar a adaptação do organismo. Isso constitui uma possível explicação para a evolução do sexo e da recombinação. O sexo tem também um papel crucial na eliminação das mutações deletérias e, assim, restituir a classe de organismos mais bem adaptados. Em populações pequenas podem até mesmo parar a “catraca de Muller” (GORDO & CAMPOS, 2008; OLIVEIRA et al., 2008), que é a perda gradativa dos indivíduos mais adaptados responsável pela redução contínua da adaptação da população (GORDO & DIONISIO, 2005; CAMPOS et al., 2006).

Portanto, nossa pesquisa apresenta como principal meta comparar como é a transição de uma população completamente assexuada para uma sexuada e como isso altera a taxa de adaptação das populações. Adicionalmente, queremos verificar se a interferência clonal

persiste em uma população sexuada. Para tanto, faremos a análise estatística da taxa de fixação de mutação benéficas, bem como, da distribuição dos efeitos seletivos médios das mutações benéficas que alcançaram a fixação.

Esta dissertação está organizada da seguinte forma.

No Capítulo 2 temos uma revisão da literatura, na qual são apresentadas algumas definições importantes para o melhor entendimento desta pesquisa. Definimos dinâmica adaptativa, mutações e suas classificações, relevo multiplicativo e, posteriormente, discutimos a fixação das mutações e a evolução das bactérias. Ainda neste momento, realizamos uma discussão sobre populações sexuadas e a vantagem do sexo e recombinação. Por fim, trazemos uma revisão das distribuições de probabilidades utilizadas em nosso estudo.

No Capítulo 3, apresentamos o modelo computacional, no qual está baseado nossa investigação. Já no Capítulo 4, mostraremos os resultados das simulações junto com algumas predições analíticas.

No capítulo 5, determinamos as distribuições de probabilidades que melhor se ajustam à distribuição das mutações benéficas que se fixam. Por fim, no Capítulo 6, concluímos o estudo com as considerações finais, onde resumimos os principais resultados e conclusões.

As simulações computacionais desta dissertação foram desenvolvidas em linguagem de programação C++ e os resultados estatísticos foram obtidos no programa R Development Core Team.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Dinâmica Adaptativa

Os organismos vivos estão em contínua busca por seu aprimoramento genético que tem por único objetivo permitir uma maior adaptação do ser vivo ao meio em que este reside (RIDLEY, 2006). Devido á nossa escala de tempo de vida ou mesmo a da maioria dos animais e organismos complexos, o termo adaptação é um tanto difícil de quantificar, uma vez que o mesmo está diretamente relacionado à altas taxas de reprodução, como é o caso dos vírus e bactérias. Assim, diz-se que uma bactéria que se replica muito rapidamente está muito adaptada ao meio e, portanto, possui um alto valor seletivo (fitness). O processo evolutivo se dá pela ação conjunta de duas forças antagônicas: seleção natural e mecanismos de geração de diversidade genética. Entre os mecanismos de geração de diversidade genética destacam-se as mutações. Enquanto a seleção natural tende a reduzir a diversidade genética, com a sobrevivência do mais apto, as mutações geram diversidade. A evolução se dá quando existe um equilíbrio entre essas duas forças antagônicas, já que sem diversidade não há seleção natural (GONÇALVES, 2007).

Em populações finitas, um mecanismo evolucionário torna-se muito atuante: esse mecanismo é denominado de deriva genética. A deriva genética também atua no sentido de reduzir a diversidade genética nas populações reais, sendo um mecanismo que, atuando em consonância com a seleção natural, modifica as características das espécies ao longo do tempo. É um processo estocástico, atuante sobre as populações, modificando as frequências dos alelos e a predominância de certas características na população, ocorrendo com mais frequência em populações com tamanhos reduzidos. A deriva genética e a seleção natural raramente ocorrem independentemente, pois estão sempre a atuar em uma

mesma população (GONÇALVES, 2007).

No entanto, o grau em que cada alelo é afetado por esses dois fenômenos pode variar em função das circunstâncias. Em uma população com tamanho elevado, a deriva ocorre muito lentamente e a seleção atuante sobre um alelo pode ocorrer de uma maneira relativamente rápida, aumentando ou diminuindo a sua frequência (dependendo da viabilidade do alelo). Em uma população com tamanho reduzido, o efeito da deriva genética predomina. Nesse caso, o efeito da seleção natural é menos visível, pois o efeito da deriva muitas vezes se sobrepõe. A deriva genética pode ter efeitos dramáticos na evolução das populações, quando ocorre o efeito gargalo (redução significativa no tamanho da população de uma espécie por morte ou por interrupção no processo reprodutivo), a deriva genética pode resultar em rápidas e drásticas alterações nas frequências alélicas. Esse fato ocorre de maneira independente da seleção natural. Dessa forma, muitas mutações benéficas poderão ser eliminadas da população. Assim sendo, adiante faremos uma discussão mais detalhada sobre as mutações e suas classificações.

2.2 Mutações

Mutação é uma modificação casual ou induzida na informação genética. A mutação só é passada para descendentes de organismos complexos se ocorrer em células germinativas. Para que haja mutação é necessário, primeiro, que ocorra um dano na sequência de nucleotídeos do DNA. Porém, as células possuem um arsenal de mecanismos de reparação do DNA encarregados de anular o possível dano. Ocasionalmente, pode ocorrer uma falha nesses mecanismos (ou o dano é simplesmente irreparável) e as células replicam-se nestas condições. As células replicadas com danos no DNA raramente persistem, e apenas uma pequena proporção sobrevive carregando os danos genéticos da célula-mãe, passando a apresentar tais características. Nestas circunstâncias, podemos dizer que ocorreu uma mutação (GONÇALVES, 2007).

As mutações podem ocorrer devido a pequena probabilidade de erro espontâneo no momento da duplicação do DNA, durante a mitose ou a meiose. Elas podem ser provocadas por agentes mutagênicos de origem eletromagnética, química ou biológica; ou, ainda, podem ser induzidas em laboratório com o uso intencional destes mesmos agentes sobre organismos vivos. As bactérias são ótimos modelos para estudar mecanismos genéticos, por que além de se reproduzirem rapidamente, a maioria tem uma cópia de cada gene. Portanto, qualquer mutação conduz diretamente a uma alteração fenotípica (GONÇALVES,

2007).

As mutações atuam, de forma crucial, na evolução das espécies. As alterações morfológicas, nas quais a teoria da seleção natural baseia-se, devem-se a mutações que promovem o surgimento de novas características em determinada população, que por um motivo ou outro faz com que seus portadores sejam mais bem sucedidos que seus concorrentes e predecessores. Da mesma forma, mutações que produzem indivíduos menos adaptáveis ao seu meio tendem a ser rapidamente eliminados por seus concorrentes, já que a probabilidade de um indivíduo menos adaptado reproduzir é menor. As mutações podem ser classificadas como mutações benéficas e deletérias (GONÇALVES, 2007).

2.2.1 Mutações benéficas

Uma parte das mutações possui efeito positivo. Essas mutações conduzem a novas versões das proteínas que ajudam um dado organismo e suas gerações futuras melhor se adaptarem às mudanças em seu ambiente.

Além do fato de que apenas uma fração das mutações tem efeito positivo, a grande maioria delas conduzem a pequenas variações de vantagem seletiva. Na verdade, as vantagens seletivas das mutações benéficas são distribuídas exponencialmente (ROZEN et al., 2002; PRISTO et al., 2005; KASSEN & BATAILLON, 2006). Além disso, a geração de mutações benéficas não garante sua propagação na população. Uma parte das mutações benéficas é eliminada por deriva genética, que são efeitos estocásticos decorrentes da finitude das populações. Alguns experimentos demonstram que, mudanças no meio em que uma população está inserida, podem levar a uma produção contínua de mutações benéficas. Entretanto, mutações benéficas são também importantes em meios estáveis. Se mutações deletérias de pouco efeito ocorrem regularmente, então é esperado que algumas destas se fixem na população. Esse processo levará a um permanente declínio na adaptação dos indivíduos, a menos que mutações reversas ou mutações compensatórias também surjam e se fixem regularmente. Nesse contexto, mutações reversas e mutações compensatórias também são consideradas benéficas. Parece ser bastante provável que alguns desses processos realmente ocorram em populações reais. Pois, existe evidência substancial de que as mutações deletérias de pequeno efeito são bastante comuns (OHTA, 1992). Além do mais, as mutações benéficas desempenham papel fundamental no aprimoramento genético de espécies e organismos em geral em meios estáveis (GONÇALVES, 2007).

2.2.2 Mutações deletérias

As mudanças no DNA causadas pelas mutações podem gerar erros na sequência de proteínas, criando proteínas parcial ou totalmente não-funcionais. Para um bom funcionamento, cada célula depende de milhares de proteínas para funcionar nos lugares certos e no tempo certo. Quando uma mutação altera uma proteína que desempenha um papel crítico no corpo, pode resultar em uma condição médica. Uma circunstância causada por mutações em um ou mais genes é chamada de desordem genética. Entretanto, somente uma percentagem pequena de mutações causa desordem genética, a maioria não tem nenhum impacto na saúde. Por exemplo, algumas mutações alteram a sequência primária do DNA de um gene, mas não mudam a função da proteína fabricada pelo gene. Se uma mutação estiver em uma célula germinal pode fazer com que a prole carregue a mutação em todas as suas células. Esse é o caso de doenças hereditárias. Por outro lado, uma mutação pode ocorrer numa célula somática de um organismo. Tais mutações estarão em todos os descendentes desta célula e, determinadas mutações, podem fazer com que a célula se torne maligna e desencadear como consequência, o câncer. Frequentemente, as mutações do gene que poderiam causar desordem genética são reparadas pelo sistema de reparo do DNA da célula. Cada célula tem certo número de possibilidades em que as enzimas reconhecem e reparam erros do DNA. Como o DNA pode ser danificado ou pode sofrer mutações de muitas maneiras, o processo de reparo do DNA é uma forma importante com que um corpo se protege de doenças (GONÇALVES, 2007).

2.3 Fixação de mutações benéficas

A adaptação de populações acontece com a ocorrência e subsequente fixação de mutações que conferem alguma vantagem seletiva aos indivíduos que as adquirem. Por essa razão, o estudo de processo de fixação de mutações vantajosas tem uma longa história na literatura de genética de populações. As investigações têm focado em analisar as principais forças evolucionárias que afetam o alcance da seleção natural em populações (GONÇALVES, 2007).

Adaptação, em seu cenário mais simples, consiste em mutações benéficas que, por meio de rápidas varreduras seletivas, alcançam fixação na população. O fato de uma mu-

tação benéfica ter sido gerada não garante sua fixação na população. Nesse processo, a deriva genética, como também o fluxo de mutações deletérias, desempenham papéis importantes. A fixação ocorre quando a mutação está presente em todos os indivíduos ou na maioria deles. Uma medida importante é a taxa de fixação que é determinada pelo número de eventos de fixação em um determinado intervalo de tempo dividido pelo tempo.

2.4 Relevância Adaptativa

O valor adaptativo (correspondente ao fitness, segundo (FUTUYMA, 1997)) de um indivíduo a um certo ambiente, é uma medida da capacidade conjunta de sobrevivência (viabilidade) e reprodução do organismo em dadas condições, um “sucesso relativo esperado”.

Em modelos de tempo contínuo, o valor adaptativo normalmente é associado à diferenças entre as taxas de nascimento e morte do indivíduo. Quando o tempo é discreto e não há superposição de geração, muitas vezes o valor adaptativo é dado pelo tamanho médio da prole que um organismo deixa para a geração seguinte. Isso não quer dizer que a viabilidade seja desconsiderada, pois dois indivíduos com a mesma fecundidade podem ter chances de sobrevivência distintas e, conseqüentemente, aquele com maior viabilidade tem maior número médio de descendentes (MAIA, 2004).

Esse conceito de valor adaptativo foi adotado por S. Wright e, atualmente, é denominado valor adaptativo absoluto. Na verdade, excetuando-se casos como aqueles em que uma população inteira pode se extinguir, a seleção depende apenas da adaptação relativa de um indivíduo. Portanto, em geral, a dinâmica evolucionária não é afetada se os valores adaptativos absolutos dos membros de uma população forem multiplicados por um mesmo fator de escala, quase sempre escolhido de modo que o indivíduo, mais apto tenha valor adaptativo igual a um. A determinação do valor adaptativo é um problema empírico. Face às imensas dificuldades experimentais, especialmente na associação de estimativas de valores adaptativos a genótipos específicos, muitos trabalhos teóricos têm analisado diversas funções que associam um valor adaptativo a cada configuração do espaço de genótipos, esperando descobrir fenômenos já observados empiricamente e propriedades universais desses mapeamentos. Uma função com essa finalidade é denominada um relevo adaptativo. Esse conceito foi introduzido por S. Wright (1932) e pode ser entendido com um tipo de “energia potencial” inerente à dinâmica adaptativa de otimização evolucionária. É importante esclarecer que, embora Wright tenha usado o termo “adaptive land-

scape” originalmente, esta expressão tem outro sentido atualmente (GAVRILETS, 1997). Assim, relevo adaptativo, ou paisagem adaptativa (FUTUYMA, 1997), equivale ao termo em inglês *fitness landscape* (MAIA, 2004).

Os relevos de replicação são expressões matemáticas utilizadas para representar o processo seletivo através das mutações sofridas ao longo das gerações pelos indivíduos e as suas diferentes formas de interação com o meio-ambiente. Podemos utilizar tais relevos para definir o quão benéficas ou prejudiciais são essas mutações e como isso pode afetar a linhagem dos indivíduos (COLATO, 2004). Neste estudo foi utilizado o relevo multiplicativo, que será apresentado com mais detalhes na descrição do modelo.

2.5 Evolução de Bactérias

Bactérias são seres procariontes que apresentam uma célula primitiva, ou seja, não tem núcleo organizado. Na estrutura bacteriana temos a presença da membrana esquelética que dá resistência à bactéria, também conhecida como parede celular, membrana plasmática e região interna denominada de hialoplasma, onde encontramos a presença da cromatina, material genético das bactérias e os ribossomos, estrutura responsável pela síntese das proteínas das bactérias. No material genético das bactérias existe o DNA e o plasmídeo que é o DNA independente, utilizado pela engenharia genética, ou seja, para a produção de várias substâncias protéicas, entre elas a insulina.

As bactérias possuem um tempo de geração extremamente curto e podem ser facilmente identificadas. O crescimento de algumas bactérias mutantes depende da presença de uma determinada substância no meio de cultura. Nesses seres pode ocorrer a troca da informação genética entre diferentes linhagens. Isso corresponde a um tipo de sexualidade que leva à recombinação genética.

Estudos experimentais mostraram que o controle da taxa de adaptação em evolução de populações da bactéria *Escherichia coli*, com ausência de DNA e reparação do gene, aumenta 30 vezes mais a velocidade do surgimento de novas mutações. Por utilizar as mesmas estirpes e as condições ambientais foi definida alta e baixa taxa de mutação para tratamentos que diferem apenas no fornecimento de novas mutações e, portanto, o grau de competição entre mutações benéficas. Todos os outros aspectos do ambiente, incluindo o tamanho da população, foram mantidos constantes (COLOGRAVE, 2002).

Os resultados relatados no estudo de Cooper (2007) têm implicações importantes para

a adaptação bacteriana. A competição entre diferentes linhagens de mesma espécie pode ser comum em alguns ambientes, por exemplo, em laboratórios onde a adaptação pode selecionar um novo hospedeiro com alta taxa de mutação (OLIVER, A. et al., 2000; SMITH et al., 2006). Na ausência de recombinação, a interferência clonal se intensifica, o aumento da taxa de mutação não significa geralmente em aumento proporcional da taxa de adaptação (GERRISH & LENSKI, 1998; WILKE, 2004; VISSER & ROZEN, 1999). Entretanto, a conjugação de plasmídeos é comumente encontrada em isolados clínicos e podem reduzir essa interferência através da recombinação e das mutações benéficas (WIRTH, T. et al., 2006). A transferência dos plasmídeos entre linhagens com diferentes mutações benéficas colabora para continuar a seleção de plasmídeos próprios (BERGSTROM C. T. et al., 2000). A conjugação possibilita o aumento da variabilidade genética da população bacteriana, que contribui para a sua adaptação a determinado ambiente.

2.6 População Sexuada

Em uma população sexuada ocorre troca e mistura do material genético entre os indivíduos, aumentando a variabilidade genética dentre os organismos. Esse ponto é, sem dúvida, muito importante para a manutenção da espécie, principalmente, em um meio que está em constante modificação, pois um determinado genótipo pode se destacar em relação aos demais e por seleção natural se sobrepor aos seus concorrentes, enquanto que uma população que se reproduz assexuadamente levaria mais tempo para produzir um indivíduo melhor adaptado ao meio. Porém, os estudos nessa área costumam associar diferentes custos a um determinado tipo de reprodução (BELL, 1982; OTTO & LENORMAND, 2002; OTTO, 2003; DOLGIN & OTTO, 2003; OTTO & NUISMER, 2004).

O sexo ainda produz um aumento na adaptação nas mudanças de diferentes ambientes, através da eficiência na seleção das mutações benéficas que se fixam (FISHER, 1958; MULLER, 1932; OTTO & BARTON, 1997; BURT, 2000). Entretanto, esse efeito benéfico depende do tamanho da população, ou seja, em populações grandes o efeito mostrou-se substancial devido à eficiência da seleção e com maior número de mutações benéficas, enquanto que, em populações menores diferem pouco do controle assexuado (COLEGRAVE, 2002). Assim, em populações grandes, o sexo é capaz de liberar o limite de velocidade de adaptação fixado pela interferência clonal, já que em populações assexuadas, a interferência clonal tem um importante limite sobre a velocidade de adaptação (GERRISH & LENSKI, 1998).

2.7 Sexo e Recombinação

Existem vários aspectos da Biologia Evolucionária que são constantemente discutidos pela comunidade científica. Os principais questionamentos são sobre a manutenção da diversidade genética (TAJIMA, 1989; CHARLESWORTH, 1998; GORDO & CAMPOS, 2007), a origem da vida (EIGEN, 1971; EIGEN et al., 1989; MICHOD, 1983; CAMPOS, et al. 2000) e a evolução do sexo e recombinação (MAYNARD SMITH, 1978; KONDRASHOV, A. S., 1994; GORDO & CAMPOS, 2008; KEIGHTLEY & OTTO, 2006; TANNENBAUM, 2008; LEE & TANNENBAUM, 2007; TANNENBAUM, 2006).

Conforme já citado anteriormente, nosso objetivo é estudar a dinâmica de fixação de mutações em uma população sujeita ao mecanismo do sexo e recombinação, descrito a seguir.

De acordo com Cooper (2007), o sexo é bom, porque permite que mutações benéficas de diferentes linhagens se recombinem. O sexo reduz a competição entre as mutações em uma população e pode aumentar a velocidade com que a população possa adaptar-se a diferentes ambientes. Utilizando um sistema simples microbiano, o modelo de Fisher Müller, mostrou que a recombinação aumenta a taxa de fixação das mutações benéficas, quando essas mutações são comuns na população e quando há competição para alcançar a fixação (COOPER, 2007). Na ausência de recombinação, as mutações levam mais tempo a propagar-se e possuem menor vantagem competitiva, indicando interferência devido à competição entre mutações benéficas.

Cooper (2007) verificou que a taxa de mutação e recombinação interagem de forma a determinar conjuntamente a velocidade de adaptação da evolução. Essa constatação apóia-se no modelo de Fisher Muller para a evolução do sexo. Comparando-se a dinâmica da mutação sobre o tratamento da recombinação, permitiu-se demonstrar que a recombinação reduz a interferência entre mutações benéficas, como também, encurta o tempo necessário para a mutação fixar na população.

A recombinação é um mecanismo que reorganiza os genes já existentes nos cromossomos. O mecanismo primário de recombinação genética é a reprodução sexuada, que se realiza em duas fases consecutivas: gametogênese (formação de gametas) e fecundação (união do gameta masculino com o feminino), ou seja, recombinação é a troca aleatória de material genético durante a meiose (GRIFFITHS, 2006).

A recombinação afeta a velocidade de evolução. Em uma população sexuada, a recombinação pode agrupar, no mesmo genoma, mutações benéficas que ocorreram em dois organismos diferentes, enquanto em uma população assexuada, esse genótipo pode ser criado apenas quando a segunda mutação ocorre em um genótipo que já tem a primeira mutação. Assim, evoluções adaptativas podem ocorrer em uma velocidade bem maior em populações sexuadas do que em populações assexuadas.

Atualmente, foram propostos alguns modelos para investigar os cenários em que o modo sexual de replicação traz algum ganho evolucionário. Modelos estocásticos têm sido formulados (GORDO & CAMPOS, 2008; KEIGHTLEY & OTTO, 2006). Essas formulações propõem modelos de população finita para identificar os mecanismos que favorecem a fixação de um alelo modificador da recombinação em uma dada população. Começando com uma população completamente assexuada, esses modelos assumem que um simples alelo modificador da recombinação, que aumenta a taxa de recombinação ou que ativa recombinação, invade a população assexuada e, então, o número de eventos nos quais o alelo modificador é bem sucedido, é medido (SILVA, 2009).

Gordo & Campos (2008) demonstraram que a catraca de Muller é uma força evolucionária de maior relevância ditando a vantagem da recombinação, enquanto que Keightley & Otto (2006) argumentam que é o efeito Hill-Robertson (HILL & ROBERTSON, 1966) que favorece o sexo. O efeito Hill-Robertson descreve que a ligação entre diferentes sítios (genes) sob seleção reduzirá a eficiência da seleção natural em todo o genoma em populações finitas, provocando uma redução do tamanho efetivo da população. Neste contexto, recombinação pode trazer uma grande vantagem desde que permita que essa correlação entre diferentes mutações seja reduzida.

Baseando-se nesse modelo proposto por Gordo & Campos (2008), porém agora assumindo que o mecanismo de recombinação está fixo, vamos investigar a dinâmica adaptativa do processo evolutivo e comparar com resultados esperados para uma população assexuada. O modelo a ser utilizado será discutido em detalhes no próximo capítulo.

2.8 Distribuições de probabilidades

Um passo importante na dinâmica adaptativa em uma população é compreender como estas mutações afetam a distribuição das mutações que se fixam. Assim sendo, trazemos uma revisão sobre algumas distribuições de probabilidade trabalhadas em nosso estudo. Entre as distribuições estão a exponencial, log-normal, normal inversa, gama e Weibull que foram ajustadas para descrever as mutações benéficas que se fixaram. A distribuição uniforme foi usada para geração de números aleatórios e a distribuição Poisson serviu para encontrar o número de mutações deletérias e benéficas surgidas no processo de reprodução.

2.8.1 Exponencial

Sua função densidade de probabilidade é especificada por

$$f(x; \alpha) = \alpha e^{-\alpha x}, \quad x > 0$$

em que $\alpha > 0$ é o parâmetro da distribuição. Se a variável aleatória X tem distribuição exponencial, ela pode ser escrita como $X \sim Exp(1/\alpha)$.

Sua função de distribuição, média e variância são dadas por:

$$F(x) = 1 - e^{-\alpha x} \quad E(X) = \frac{1}{\alpha} \quad V(X) = \frac{1}{\alpha^2}.$$

A Figura 1 ilustra o gráfico da densidade da distribuição exponencial.

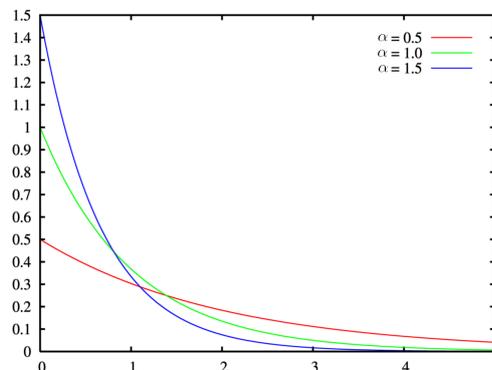


Figura 1: Função de densidade da distribuição exponencial.

2.8.2 Normal inversa

A distribuição normal inversa (ou Gaussiana inversa) foi deduzida por Wald e Tweedie em dois artigos publicados independentemente em 1947. Também conhecida por “Wald distribution”, foi utilizada para estudo do movimento Browniano de partículas, análise de regressão com dados consideravelmente assimétricos, testes de confiabilidade, análise sequencial e análogo de análise de variância para classificações encaixadas. A sua função de densidade é especificada por

$$f(x; \alpha, \beta) = \left(\frac{\beta}{2\pi x^3} \right)^{1/2} e^{-\frac{\beta(x-\alpha)^2}{2\alpha^2 x}} \quad x > 0, \quad \alpha, \beta > 0$$

em que α é a média e β é parâmetro de forma.

Quando β tende a infinito, esta distribuição aproxima-se de uma distribuição normal. A distribuição normal inversa tem várias propriedades idênticas a normal. Enquanto a normal descreve a distância de um movimento fixo browniano, a normal inversa descreve o tempo em que um movimento browniano com vento positivo alcança um nível positivo. Sua função de distribuição, média e variância são especificadas por:

$$F(x) = \frac{\beta}{\alpha} \left[1 - \sqrt{1 - \frac{2\alpha^2 x}{\beta}} \right]$$

$$E(x) = \alpha, \quad V(x) = \frac{\alpha^3}{\beta}.$$

Na Figura 2, verifica-se as curvas da função de densidade da distribuição normal inversa, variando a média e o parâmetro de forma.

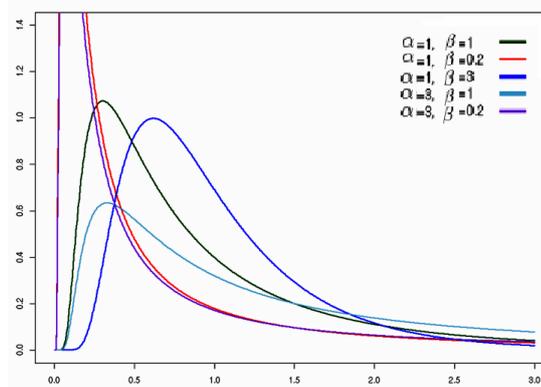


Figura 2: Função de densidade da distribuição normal inversa.

2.8.3 Distribuição Gama

Proposta por Laplace em 1836, a distribuição gama, que também inclui a exponencial como um caso especial, foi usada por Brown e Flood (1947) para descrever o tempo de vida de copos de vidro circulando em uma cafeteria e, também, por Birnbaum e Saunders (1958) para descrever o tempo de vida de materiais eletrônicos. É aplicada a variáveis positivas por definição, típicas de medidas físicas e econômicas. Desde então, essa distribuição tem sido usada em problemas de confiabilidade, pois a mesma se ajusta adequadamente a uma variabilidade de fenômenos nessa área. Entretanto, em problemas de área médica, sua utilização na descrição de tempo de vida de pacientes é mais recente.

Várias funções e distribuições importantes resultam da particularização dos parâmetros α e β , como a de Poisson, a qui-quadrado, a função fatorial (se n é inteiro $\Gamma(\alpha + 1) = \alpha!$) e até o número $\pi = [\Gamma(1/2)]^2$. Sua curva é assimétrica, unilateral, unimodal e com pico em $x = 0$ se $\alpha < 1$ e em $x = \beta(\alpha - 1)$ se $\alpha > 1$.

Assim, X tem distribuição gama com parâmetros α e β , denotando-se $X \sim G(\alpha, \beta)$, se sua função de densidade é especificada por

$$f(x; \alpha, \beta) = \frac{\beta^\alpha}{\Gamma(\alpha)} x^{\alpha-1} e^{-\beta x}, \quad x > 0, \quad \alpha, \beta > 0$$

em que a função gama incompleta é $\Gamma(\alpha) = \int_0^x t^{\alpha-1} e^{-t} dt$. Sua média e variância são respectivamente,

$$E(X) = \frac{\alpha}{\beta} \quad e \quad V(X) = \frac{\alpha}{\beta^2}.$$

Casos particulares da distribuição gama são a distribuição de Erlang $G(\alpha, 1)$, a distribuição exponencial $G(1, \beta)$ e a distribuição qui-quadrado com v graus de liberdade $G(v/2, 1/2)$.

A distribuição gama é usada na análise de dados contínuos não-negativos que apresentam uma variância crescente com a média e mais, fundamentalmente, quando o coeficiente de variação dos dados for, aproximadamente, constante.

Na Figura 3, é possível observar algumas curvas da função densidade de probabilidade gama, variando os parâmetros de forma α e de escala β . Através desta, é possível observar que a medida que α aumenta e β também aumenta, a distribuição de probabili-

dade assume um comportamento mais simétrico.

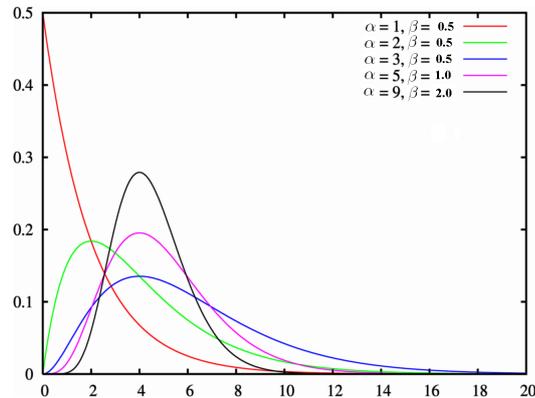


Figura 3: Função de densidade da distribuição gama.

2.8.4 Distribuição Weibull

Foi proposta originalmente por Weibull (1939) e com primeiras aplicações em 1951 e 1954. Seu uso é frequente em estudos biomédicos e industriais. Muito utilizada em aplicações práticas devido a grande variedade de formas, todas com uma propriedade básica: a sua taxa de falha é monótona (crescente, decrescente ou constante) (COLOSIMO & GIOLO, 2005). Para uma variável aleatória X tem-se que a sua função de densidade é especificada por

$$f(x; \alpha, \beta) = \frac{\beta}{\alpha^\beta} x^{\beta-1} \exp \left\{ - \left(\frac{x}{\alpha} \right)^\beta \right\}, \quad x \geq 0, \quad \alpha, \beta \geq 0$$

em que β é o parâmetro de forma e α de escala. Sua média e variância são respectivamente,

$$E(X) = \alpha \Gamma \left[1 + \left(\frac{1}{\beta} \right) \right]$$

$$Var(X) = \alpha^2 \left[\Gamma \left[1 + \left(\frac{2}{\beta} \right) \right] - \Gamma \left[1 + \left(\frac{1}{\beta} \right) \right]^2 \right].$$

A distribuição Weibull inclui como casos especiais as distribuições exponencial e a Rayleigh. Esse modelo é bastante utilizado para caracterizar o tempo de vida de equipamentos, em dados de confiabilidade, na teoria do valor extremo, em análise de sobrevivência e etc. Na Figura 4, observa-se as curvas da função densidade de probabilidade Weibull, variando

os parâmetros de forma e o de escala.

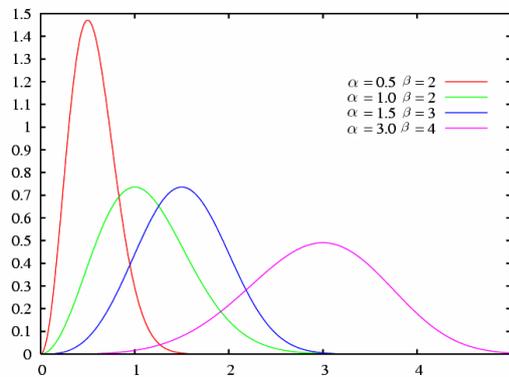


Figura 4: Função de densidade da distribuição Weibull.

2.8.5 Distribuição Log-normal

A log-normal é uma transformação da distribuição normal, se $X \sim N(\alpha, \beta^2)$, então $Y = \exp(x)$, assim a distribuição log-normal é $\log Y \sim N(\alpha, \beta^2)$. Os primeiros a trabalhar com a log-normal foram Galton (1879), McAlister(1879) e Kapteyn (1903). Essa distribuição é muito utilizada na agricultura, entomologia, biologia e em situações financeiras. Como a distribuição Weibull, a log-normal é muito utilizada para caracterizar tempos de vida de produtos e indivíduos, incluindo fadiga de metal, semicondutores, diodos e isolamento elétrica. Também é bastante utilizada para descrever situações clínicas como o tempo de vida de pacientes com leucemia. A função densidade é especificada por

$$f(x; \alpha, \beta) = \frac{1}{\sqrt{2\pi x\beta}} \exp\left\{-\frac{1}{2} \left(\frac{\log(x) - \alpha}{\beta}\right)^2\right\}, \quad x > 0$$

em que α é a média do logaritmo do tempo de falha e β é o desvio padrão. Sua média e variância são respectivamente,

$$E(X) = \exp\left\{\alpha + \frac{\beta^2}{2}\right\}$$

$$Var(X) = \exp\{2\alpha + \beta^2\} (\exp\{\beta^2\} - 1)$$

A Figura a seguir apresenta o gráfico da função de densidade da distribuição log normal.

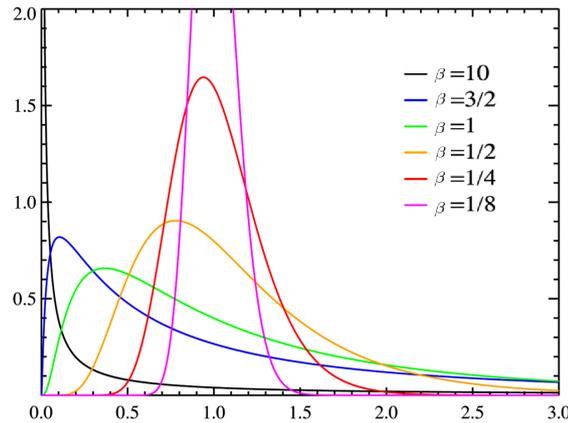


Figura 5: Função de densidade da distribuição log normal.

2.8.6 Distribuição Poisson

Em 1837, Poisson publicou a distribuição que leva seu nome, obtendo-a como uma distribuição limite da distribuição binomial. O modelo de Poisson tem um importante papel na análise de dados em forma de contagens. Suas características principais são: oferecer, em geral, uma descrição satisfatória de dados experimentais cuja variância é proporcional à média; pode ser deduzido, teoricamente, a partir de princípios elementares com um número mínimo de restrições; se eventos ocorrem independente e aleatoriamente no tempo, com taxa média de ocorrência constante, o modelo determina o número de eventos, em um intervalo de tempo especificado. Se a variável X tem distribuição de Poisson, com parâmetro α , denotando-se $X \sim Poisson(\alpha)$, então sua função de probabilidade é expressa por

$$f(x; \alpha) = \frac{e^{-\alpha} \alpha^x}{x!}, \quad x = 0, 1, \dots \quad \text{para } \alpha > 0.$$

Sua média e variância são respectivamente,

$$E(X) = V(X) = \alpha$$

Quando $\alpha \rightarrow \infty$, tem-se que $(X - \alpha)\alpha^{-1/2} \sim N(0, 1) + O_p(\alpha^{-1/2})$. Em geral, para $\alpha > 9$, a aproximação da distribuição de Poisson $P(\alpha)$ pela distribuição normal $N(\alpha, \alpha)$ é satisfatória.

2.8.7 Distribuição Uniforme

Em algumas situações, sabe-se que a variável aleatória se distribui uniformemente pelo espaço amostral, em outras nada indica que um valor particular seja preferível, mais frequente ou mais provável que os outros. Neste caso, a distribuição adequada é a uniforme, isto é, aquela em que a variável aleatória se distribui por igual dentro do intervalo. Ela é largamente usada como a base para geração de números aleatórios para outras distribuições estatísticas. Sua função de densidade é dada por

$$f(x) = \frac{1}{b-a}, \quad a \leq x \leq b.$$

Sua média e variância são respectivamente,

$$E(X) = \frac{a+b}{2} \quad e \quad V(X) = \frac{(b-a)^2}{12}.$$

3 MODELO COMPUTACIONAL

Analisaremos a evolução adaptativa em uma população sexuada ou assexuada de tamanho constante N composta por organismos haplóides¹, que evolui de acordo com o modelo padrão de Wright-Fisher (FISHER, 1930), isto é, indivíduos mais adaptados têm maior chance de produzir descendentes. A probabilidade de geração de descendentes é proporcional ao *fitness* dos indivíduos. Para realizar este procedimento, utilizou-se idéias do algoritmo genético padrão. A população desenvolve-se de acordo com o seguinte ciclo de vida: reprodução, mutação e seleção. Todo indivíduo é representado por um genoma de L genes, em que cada gene é suposto ser infinitamente longo, isto é, ele se comporta como um modelo de infinitos sítios. O modelo assume a ocorrência de ambas as mutações, benéficas e deletérias, que ocorrem a taxas constantes U_b e U_d , respectivamente. Assim, durante a reprodução, os descendentes herdam as mutações (benéficas e deletérias) do genoma do pai mais uma quantidade n , a qual é obtida de uma distribuição de Poisson com média U_b (mutações benéficas) e U_d (mutações deletérias). O efeito da taxa de adaptação de cada mutação deletéria é assumido ter valor constante s_d . Por outro lado, consideramos que os efeitos seletivos das mutações benéficas são dadas por uma distribuição exponencial com média $1/\alpha$, ou seja,

$$P(s_b) = \alpha \exp(-\alpha s_b).$$

A escolha dessa distribuição de efeito benéfico foi sustentada em evidências empíricas (ROZEN et al, 2002; PRISTO et al, 2005; KASSEN & BATAILON, 2006) e, também, baseada na teoria do valor extremo (GILLESPIE, 1991; ORR, 2003). Entretanto, outras distribuições podem ser utilizadas (BARRET et. al, 2006; KASSEN & BATAILON, 2006; FOGLE et al., 2008). Esse é um assunto de maior interesse na genética de populações e na literatura da biologia evolucionária com consequências sobre vários aspectos adap-

¹Indivíduos cujas características genéticas sejam dadas por apenas um cromossomo.

tativos. O maior desafio é inferir diretamente a distribuição do efeito das mutações com baixas frequências na população. Assim, a idéia é inferir $P(s_d)$ pela distribuição das mutação fixadas, que são usualmente bem ajustadas.

De uma forma geral, inicializamos as simulações com uma população de N indivíduos, com todos sem mutação em seu genoma. Na fase da seleção ocorre, como o próprio nome já diz, uma seleção dos indivíduos mais aptos da geração atual, os quais são usados para gerar uma nova população. Para criar uma nova geração a partir da atual, assume-se que cada indivíduo terá um descendente no tempo $t + 1$ com probabilidade (P_i) proporcional ao seu fitness, ou seja,

$$P_i = \frac{\omega_i}{\sum_{i=1}^N \omega_i}$$

em que ω_i é o fitness do i -ésimo indivíduo da população e $\sum_{i=1}^N P_i = 1$. Esse tipo de seleção é aplicado no método denominado de amostragem universal estocástica em que os indivíduos cujas “regiões possuem maior área” (com maior fitness) terão maior probabilidade de serem selecionados.

O procedimento que se utiliza é escolher, aleatoriamente, um número $r \in (0, 1]$ e o primeiro indivíduo a reproduzir será aquele que atender a seguinte condição: $\sum_{i=1}^{i-1} P_i < r < \sum_{i=1}^i P_i$. Esse processo é repetido, ou seja, escolhemos outro valor de r e verificamos se ele atende a condição necessária até que a geração no tempo $t + 1$ esteja formada. Na figura 6 verificamos esquematização do processo de geração de uma nova população.

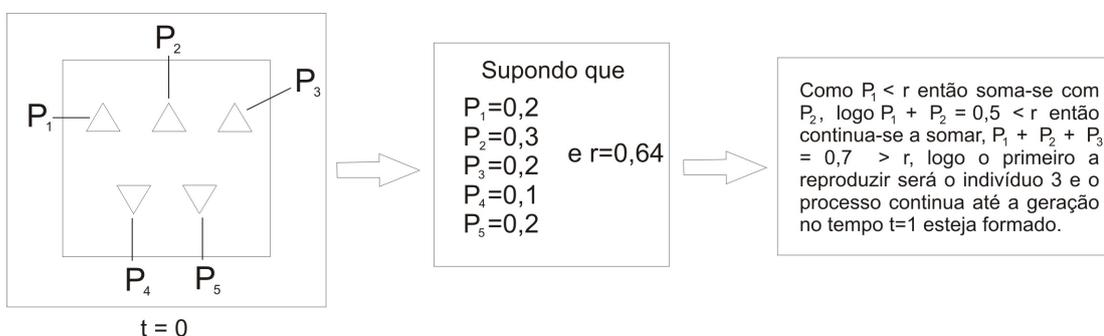


Figura 6: Esquematização do processo de geração de uma nova população.

Durante a reprodução, o indivíduo a ser gerado pode não ser exatamente idêntico ao pai, devido à ocorrência de mutações. As mutações são importantes, pois permitem a

geração de diversidade.

Cada indivíduo é representado por um genoma de tamanho L , em que cada locus é caracterizado pelo número de mutações deletérias e benéficas $S = \{n_b^1, n_d^1, n_b^2, n_d^2, \dots, n_b^L, n_d^L\}$, onde n_b^i e n_d^i correspondem ao número de mutações deletérias e benéficas no locus i , respectivamente. Para o relevo multiplicativo, considera-se aqui que o valor de adaptação de cada indivíduo é estimado como

$$\omega = \left[\prod_{i=1}^L (1 - s_d)^{n_d^i} \right] \left[\prod_{i=1}^L \prod_{j=1}^{n_b^i} (1 + s_b^j) \right],$$

em que s_b^j é a vantagem seletiva da j -ésima mutação do gene i .

Consideramos o seguinte ciclo de vida: recombinação, mutação e seleção. Durante a recombinação $N/2$ pares de indivíduos são formados aleatoriamente e recombinados com probabilidade r . Se cada par de indivíduo é representado por $S_1 = \{n_{1b}^1, n_{1d}^1; n_{1b}^2, n_{1d}^2; \dots; n_{1b}^L, n_{1d}^L\}$ e $S_2 = \{n_{2b}^1, n_{2d}^1; n_{2b}^2, n_{2d}^2; \dots; n_{2b}^L, n_{2d}^L\}$, depois da recombinação os indivíduos 1 e 2 tornam-se $S_1 = \{n_{1b}^1, n_{1d}^1; n_{1b}^2, n_{1d}^2; \dots; n_{2b}^{L_{exc}}, n_{2d}^{L_{exc}}; \dots; n_{2b}^L, n_{2d}^L\}$ e $S_2 = \{n_{2b}^1, n_{2d}^1; n_{2b}^2, n_{2d}^2; \dots; n_{1b}^{L_{exc}}, n_{1d}^{L_{exc}}; \dots; n_{1b}^L, n_{1d}^L\}$, respectivamente, com seus valores de adaptação reavaliados, em que L_{exc} é a posição escolhida aleatoriamente a partir do qual os organismos permitem a troca do material genético. Esse modelo é semelhante ao proposto por Keightley e Otto (2006); entretanto, o modelo deles não assume a ocorrência de mutações benéficas, bem como, o número de eventos da recombinação não é necessariamente igual ao assumido aqui.

A recombinação gênica nos gametas é um fato de marcante importância biológica, pois é ela que permite a diversidade entre os indivíduos de uma mesma espécie, fenômeno chamado *variabilidade*. Em termos evolutivos, a *estabilidade* de uma espécie depende diretamente do grau da variabilidade observada entre os indivíduos. Em um clone², quando ocorre a presença de um fator de destruição (químico, físico ou biológico), todos os indivíduos poderão ser atingidos, determinando, com isso, o desaparecimento do clone. Mas, se em uma população há grande variabilidade entre os seus integrantes, isso dificilmente ocorrerá.

Em uma população pode-se encontrar duas ou mais versões diferentes de gene para

²Indivíduos geneticamente idênticos entre si.

um locus particular. Essas formas alternativas de gene são chamadas alelos.

A recombinação resulta em uma nova “arrumação” dos alelos materno e paterno em um mesmo cromossomo. Embora os mesmos genes apareçam na mesma ordem, os alelos são diferentes. Esse processo explica o fato de descendentes de mesmos pais poderem ser tão diferentes. É teoricamente possível ter alguma combinação de alelos pais em uma prole e o fato de dois alelos aparecerem juntos em uma prole não têm nenhuma influência na probabilidade estatística de outra prole ter a mesma combinação. Essa teoria de “classificação independente” dos alelos é fundamental para a herança genética.

A frequência de recombinação não é a mesma para todas as combinações de gene. Isso acontece porque a recombinação é bastante influenciada pela proximidade de um gene em relação ao outro. Se dois genes estão localizados próximos um ao outro em um cromossomo, a probabilidade de que um dado evento de recombinação os separe é menor do que se eles estiverem mais distante.

A taxa de recombinação é proporcional à distância entre os *loci* quando se tem um par de genes em um mesmo cromossomo. Quando há dois pares de alelos, a *taxa de recombinação* entre eles depende, principalmente, da distância que os separa no cromossomo. Se estiverem muito próximos entre si, a taxa será muito pequena (poderá ser até nula). Se a distância for maior, também maior será a taxa de recombinação (SILVA, 2009).

Pela taxa de recombinação, pode-se avaliar a distância que guarda os *loci* de determinados genes num mesmo cromossomo. Isso tem permitido aos geneticistas estabelecer verdadeiros “mapas cromossômicos”, em que se determinam os pontos de localização de diversos genes em um mesmo cromossomo.

A Figura 7 apresenta o esquema de como a recombinação atua. Antes da recombinação, o primeiro indivíduo tem seis mutações (retângulos tracejados), e o segundo tem apenas cinco mutações. Após a recombinação, o primeiro indivíduo passa a ter então cinco mutações, enquanto que o segundo passa a ter seis. A linha vertical tracejada indica a posição a partir da qual ocorre a troca genética.

Antes de realizarmos as nossas medidas de interesse, primeiramente, permitimos que a população evolua de tal maneira a alcançar um regime de equilíbrio, antes de considerar a ocorrência das mutações benéficas. Ao final da trajetória evolutiva da população, verificamos quais mutações benéficas alcançaram a fixação. A fixação ocorre quando a mutação está presente em todos os indivíduos. A medida da taxa de fixação é determinada pelo número de eventos de fixação em um determinado intervalo de tempo dividido pelo tempo. Na simulação, a população evolui até encontrar a fixação de 50 mutações, exceto

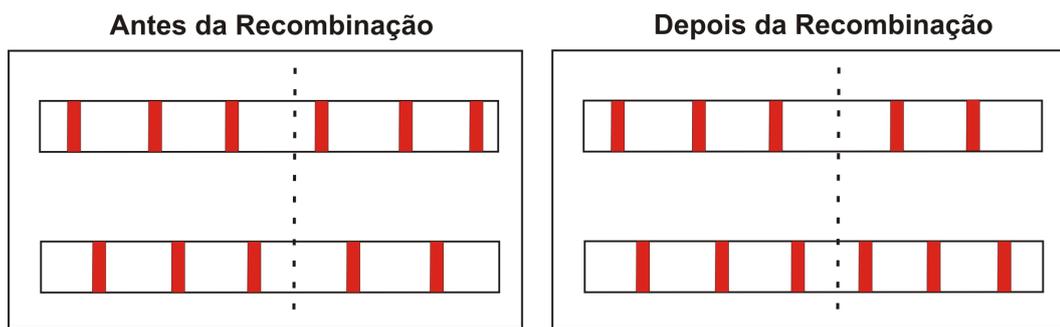


Figura 7: Esquema de como a recombinação atua.

quando a taxa de mutações benéficas for pequena, onde seria necessário um tempo de simulação extremamente grande.

4 RESULTADOS

Apresentaremos neste capítulo os resultados de extensivas simulações junto com algumas predições teóricas. Na Figura 8, exibimos a taxa de fixação das mutações benéficas K_{fix} como função da taxa de mutação benéfica U_b . Como esperado, K_{fix} é uma função crescente monótona de U_b em todas as situações. Na parte (a), exibimos K_{fix} para diferentes taxas de recombinação sem a ocorrência de mutação deletéria, ou seja, ($U_d = 0$). Nessa Figura, percebemos que o modo reprodução sexuado tem taxa de adaptação mais alta a partir de $U_b \cong 10^{-5}$. Para esse valor, começam a surgir coexistência de mutações benéficas segregantes e em populações assexuadas ($r = 0$) esta coexistência leva a competição entre as mutações benéficas distintas, de forma que, só uma alcance a fixação. Os resultados corroboram a existência do regime da interferência clonal e reduz a taxa de fixação das mutações vantajosas. Esse processo também foi estudado por HILL & ROBERTSON, 1966; ORR, 2000; CAMPOS & OLIVEIRA, 2004; GORDO & CAMPOS, 2006; CAMPOS & WAHL, 2009. Para um valor pequeno de U_b , K_{fix} pode ser expresso por

$$K_{fix} = NU_b \int_0^{\infty} 2s_b \alpha e^{-\alpha 2s_b} ds_b = \frac{2NU_b}{\alpha} \quad (4.1)$$

em que NU_b é o número esperado de mutações benéficas por geração e $2s_b$ é a probabilidade de fixação de determinada mutação de efeito seletivo s_b (HALDANE, 1927). Espera-se que essa aproximação funcione no regime de forte-seleção e de fraca-mutação, onde a taxa de adaptação é delimitada pela disponibilidade de mutação benéfica (GILLESPIE, 1983). Para a reprodução sexuada, a equação 4.1 ajusta-se bem para os resultados de simulações em um intervalo mais largo de U_b , e a divergência da expectativa teórica só começa a acontecer quando NU_b está próximo de um, que corresponde a um regime de forte competição, várias mutações benéficas segregantes envolvidas em linhagens distin-

tas (GOUVEIA et al., 2009).

Uma aproximação teórica para taxa de fixação de mutação no regime de inferência clonal foi proposto por Gerrish & Lenski (1998). De acordo com Gerrish & Lenski, K_{fix} pode ser obtido

$$K_{fix} = NU_b \int_0^{\infty} 2s_b \alpha e^{-\alpha s_b} e^{-I(s_b)} ds_b \quad (4.2)$$

em que

$$I(s_b) = \frac{1}{2} T_{fix} NU_b \int_{s_b}^{\infty} 2s \alpha e^{-\alpha s} ds. \quad (4.3)$$

$I(s_b)$ corresponde ao número esperado de mutações que irão interferir com as mutações benéficas de efeito seletivo s_b em seu caminho para a fixação. Assumindo que o surgimento de mutações que interferem segue um processo de Poisson, então o termo $\exp(-I)$ representa a probabilidade de não encontrar mutações que interferem durante o processo. De acordo com a teoria, mutações que interferem são aquelas que escaparam da deriva genética e que também conferem um maior efeito benéfico que as mutações em foco. Na equação 4.3, T_{fix} refere-se ao tempo de fixação das mutações benéficas de efeito s_b , conforme Kimura $T_{fix} = (2/s_b) \ln N$ (CHARLESWORT, 1978).

Na Figura 8(a), comparamos a aproximação teórica da equação 4.2 com resultados de simulação em populações assexuadas. Verificamos que para valores pequenos e intermediários de U_b a predição foi bastante satisfatória. Divergência entre o resultado das simulações e a predição teórica só começam a surgir no momento em que $U_b(NU_b > 1)$, pois a teoria menospreza a ocorrência de fixação simultânea de mais de uma mutação. Nesta fase, nomeada regime de múltiplas mutações (BARRETT, 2006; DESAI et al., 2007), podem ocorrer simultaneamente a fixação conjunta de mutações benéficas no mesmo indivíduo, fato que é negligenciado na teoria Gerrish-Lenski's (GOUVEIA et al., 2009).

Na parte (b) da Figura 8, apresentamos K_{fix} como função de U_b , mas agora considerando a ocorrência de mutações deletérias com $U_d = 0.2$ e efeito seletivo $s_d = 0.1$. O cenário é quantitativamente similar ao da parte (a), em que o incremento da taxa de recombinação resulta em taxas de substituições de mutações vantajosas mais elevadas. Entretanto, aqui já observamos que a razão entre a taxa de fixação para populações sexuadas e assexuadas já é bastante grande para valores pequenos de U_b . Nesse caso, a recombinação tem duas consequências distintas: combinar as mutações benéficas que surgem em

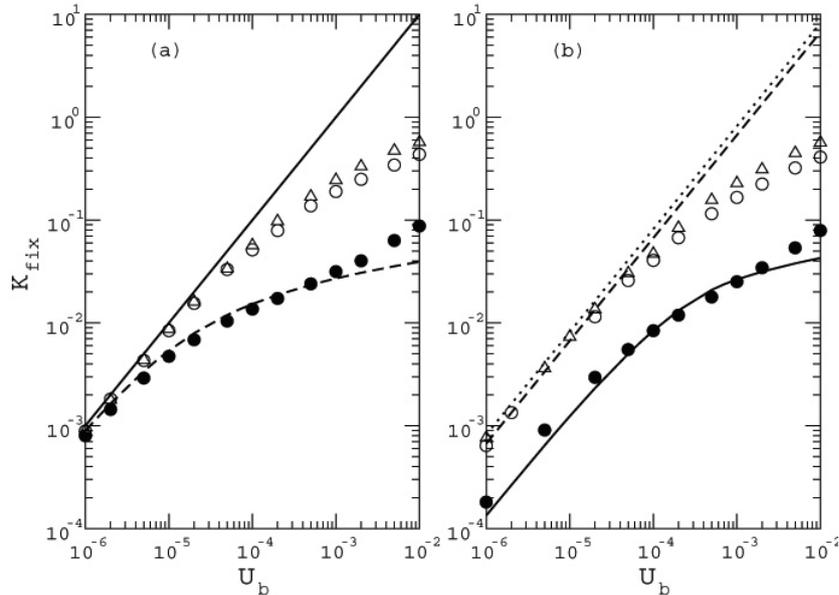


Figura 8: Taxa de fixação das mutações vantajosas, K_{fix} , como função da taxa de mutações benéficas. Neste gráfico consideramos o tamanho da população $N = 10000$, $\alpha = 20$, e taxa de recombinação, $r = 0$ (círculo cheio), $r = 0.5$ (círculo vazio), $r = 1.0$ (triângulo). A taxa e o efeito seletivo das mutações deletérias foram: Parte (a) $U_d = 0$; Parte (b) $U_d = 0.2$ e $s_d = 0.1$. A linha sólida na parte (a) indica aproximação da forte seleção e baixa mutação de acordo com a equação 4.1, a linha tracejada refere-se à predição teórica da equação 4.2. Na parte (b), a linha sólida refere-se à solução numérica da equação 4.4, enquanto que a linha tracejada representa o limite superior para a taxa de fixação na ocorrência de recombinação, $K_{fix}^{upper} = 2NU_b f_r / \alpha$.

linhagens distintas e restabelecer o fundo genético¹ livre de mutações deletérias (GOUVEIA et al., 2009).

Como as mutações deletérias provocam uma redução drástica no tamanho da população, é esperado que sua ocorrência reduza severamente a taxa de adaptação (ORR, 2000; OLIVEIRA & CAMPOS, 2004; CAMPOS & OLIVEIRA, 2004; GORDO & CAMPOS, 2006). Quando s_d é maior que o efeito benéfico conferido pelas mutações benéficas, como é considerado na Figura 8, pode-se simplesmente assumir que as mutações benéficas, que surgem no fundo genético livre de mutações deletérias são as que contribuem à adaptação. Neste caso, podemos estimar K_{fix} , a taxa de fixação esperada de uma população assexuada substituindo N por $f_0 N$ nas equações 4.2 e 4.3, onde $f_0 = \exp(-U_d/s_d)$ é a frequência dos indivíduos livres de mutações deletérias (HAIGH, 1978; CHARLESWORTH, 1978). Assim, para uma população assexuada K_{fix} é igual

¹É o conjunto de indivíduos de uma determinada espécie que num dado momento ocupam uma determinada área geográfica que trocam livremente entre si os seus genes.

$$K_{fix} = N f_0 U_b \int_0^{\infty} 2 s_b \alpha e^{-\alpha s_b} e^{-I(s_b)} ds_b, \quad (4.4)$$

em que

$$I(s_b) = \frac{1}{2} T_{fix} N f_0 U_b \int_{s_b}^{\infty} 2 s \alpha e^{-\alpha s} ds. \quad (4.5)$$

Para uma população sexuada, nós podemos encontrar um limite superior para a taxa de adaptação, desconsiderando a competição entre as mutações benéficas. O efeito combinado do *background* genético e da recombinação provocam uma redução efetiva no tamanho da população, que é determinada por $f_r = \exp(-U/r)$ (CHARLESWORTH, 1978; NORDBORG et al., 1996), quando $r \gg s_d$. Nesse caso, escrevemos a taxa de fixação das mutações vantajosas como $K_{fix}^{upper} = 2N U_b f_r / \alpha$. Observamos na parte (b) da Figura 7 que existe uma concordância entre a simulação e a predição K_{fix}^{upper} para um intervalo grande de valores de U_b . Esperamos que para U_b muito grande, a teoria superestime a taxa esperada, desde que negligenciamos a competição entre mutações distintas (GOUVEIA et al., 2009).

Uma medida importante para identificar a ação da interferência clonal é o efeito médio seletivo dessas mutações benéficas que alcançaram a fixação, que aqui foi denotada por s_{fix} . A evidência mais importante para interferência clonal é que ela reduz a velocidade da taxa de substituição de mutações vantajosas, conjuntamente com a ocorrência de efeitos seletivos maiores para as mutações que se fixam.

Na Figura 9, mostramos os resultados das simulações computacionais para o efeito seletivo médio das mutações benéficas que alcançaram a fixação s_{fix} como função da taxa de mutação U_b . As duas figuras correspondem ao mesmo conjunto de parâmetros da Figura 8. Para taxa de mutação deletéria nula $U_d = 0$ na parte (a), para a população assexuada s_{fix} sofre um contínuo crescimento com o aumento de U_b . Quando $U_b = 10^{-6}$ obtém-se $s_{fix} \cong 0,1$, que corresponde ao valor esperado dos efeitos das mutações benéficas quando a interferência clonal não ocorre e, também, quando se assume a forma exponencial da densidade de probabilidade das mutações benéficas (OLIVEIRA & CAMPOS, 2004). A partir deste ponto, s_{fix} apresentou crescimento com o incremento de U_b , comprovando que a força da interferência clonal tornou-se mais intensa. Quando $U_b = 10^{-3}$, s_{fix} alcança um máximo e, então, apresenta uma redução com o aumento de U_b . Nesse caso, temos um regime, onde as mutações de efeito pequeno pegam carona com as mutações de efeito grande para alcançar a fixação. Este é o regime de múltiplas mutações (DESAI, et

al., 2007). Para a taxa de recombinação não nula, verificamos que o aumento de s_{fix} com U_b também ocorre. Entretanto, esta fase é deslocada para valores maiores de U_b em comparação com o caso assexuado. Isso é uma evidência de que mesmo com recombinação, a competição entre mutações está presente. Contudo, esta competição não ocorre apenas entre mutações únicas, mas entre múltiplas mutações em linhagens distintas (GOUVEIA et al., 2009).

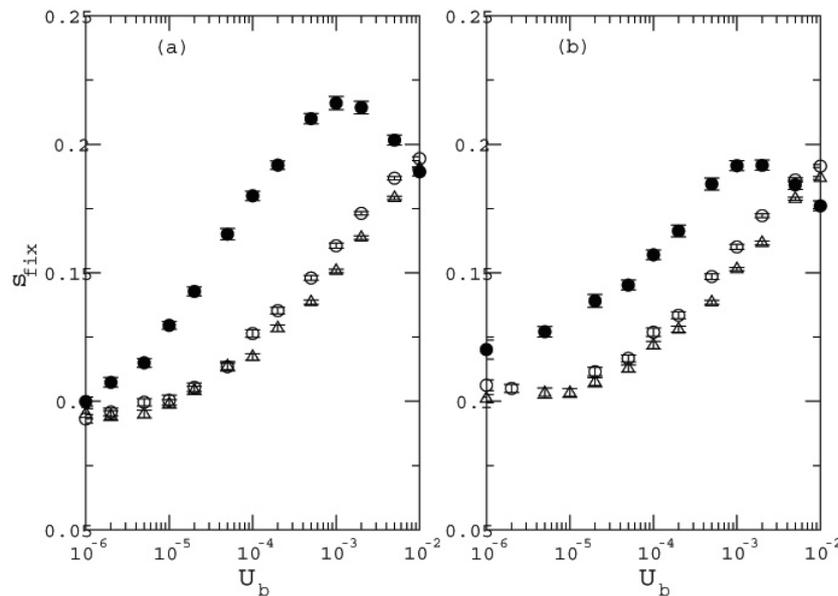


Figura 9: Efeito seletivo médio das mutações benéficas que alcançaram a mutação s_{fix} em função da taxa de mutação U_b . Nesta Figura, consideramos tamanho da população $N = 10000$, $\alpha = 20$ e taxa de recombinação, $r = 0$ (círculo cheio), $r = 0.5$ (círculo vazio), $r = 1.0$ (triângulo). A taxa e o efeito seletivo das mutações deletérias foram: parte (a) $U_d = 0$, parte (b) $U_d = 0.2$, e $s_d = 0.1$.

Na parte (b) da Figura 9, onde consideramos a taxa de mutação deletéria não nula, s_{fix} apresentou um crescimento contínuo com o incremento de U_b semelhante a parte (a), porém as mutações deletérias têm efeito severo sobre a probabilidade de fixação das mutações benéficas, e só as mutações de efeito grande têm probabilidade favorável de fixarem, e isto é verificado para valores pequenos e intermediário de U_b . Para U_b muito alto, notamos que s_{fix} torna-se independente da taxa de recombinação r e taxa mutação deletéria U_d (GOUVEIA et al., 2009).

Na Figura 10, mostramos a distribuição dos efeitos seletivos das mutações benéficas que alcançaram fixação ($P_{S_{fix}}$). Na referida Figura, verificamos claramente o papel da recombinação para o processo de adaptação. Todos os resultados correspondem a $U_d = 0$. No painel (a), consideramos uma taxa de mutação pequena $U_b = 10^{-5}$. Da Figura notamos que as mutações de pequena vantagem seletiva têm uma maior chance de fixação para $r > 0$ comparando com o caso assexuado. Para $U_b = 10^{-3}$ (Painel (b)), esse efeito se

torna ainda mais evidente. Além disso, a distribuição para o caso $r = 0$ é deslocada para valores maiores de s_{fix} , uma consequência clara da interferência clonal. Já na parte (c) da Figura, onde $U_b = 10^{-2}$, o regime de múltiplas mutações é evidente para a população assexuada. Aqui mutações de pequeno efeito são promovidas à fixação “pegando carona” nas mutações de grande efeito. Por isto, essas mutações são sobre-representadas na distribuição. Para $r > 0$, a distribuição é deslocada para valores maiores de s_{fix} , uma assinatura da interferência clonal, e as mutações de pequeno efeitos são aparentemente removidas (GOUVEIA et al., 2009).

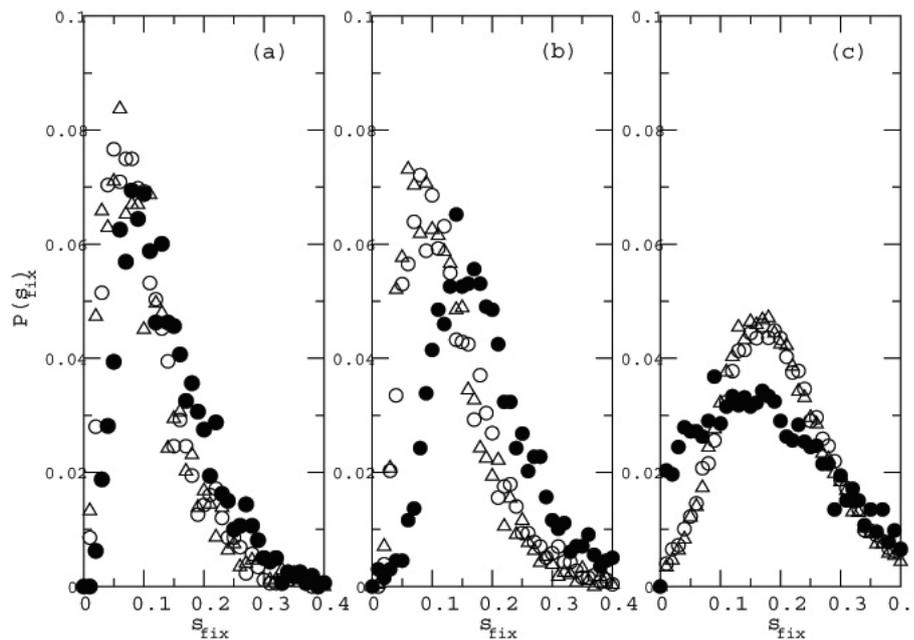


Figura 10: Distribuição de probabilidade dos efeitos seletivos das mutações benéficas que alcançaram a fixação, $P(s_{fix})$. Os valores dos parâmetros foram $N = 10000$, $U_d = 0$, e taxa de mutação benéfica $U_b = 10^{-5}$ (parte (a)), $U_b = 10^{-3}$ (parte (b)) e $U_b = 10^{-2}$ (parte (c)). Taxa de recombinação, $r = 0$ (círculo cheio), $r = 0.5$ (círculo vazio), $r = 1.0$ (triângulo).

Dois suposições restritivas foram realizadas nesse modelo: (1^o) que todas mutações deletérias possuem mesmo efeito e (2^o) que o número crossovers² é igual a 1 para cada evento de recombinação. A primeira suposição estará provavelmente incorreta, embora ainda estejamos longe de ter uma descrição correta para distribuição de efeito seletivo de s_d em populações naturais (BATAILLON, 2000). Entretanto, resultados não publicados de Gordo e Campos para o estudo dos fatores (efetuados) a vantagem do sexo e recombinação não demonstraram qualquer mudança (GOUVEIA et al., 2009).

²troca de segmentos entre cromatídios de cromossomas homólogos, dando-lhes assim uma nova combinação de genes.

5 DISTRIBUIÇÃO DAS MUTAÇÕES BENÉFICAS

Primeiramente, permitimos que a população evolua, de tal maneira, a alcançar um regime de equilíbrio, antes de considerar a ocorrência das mutações benéficas. Ao final da trajetória evolutiva da população, verificamos quais mutações alcançaram a fixação. Por fixação queremos dizer, que a mutação está presente em todos os indivíduos. Posterior a isso, verificamos como se distribuem as mutações benéficas que se fixam, e logo em seguida, escolhemos qual melhor modelo ajusta-se a essa distribuição, seguindo alguns critérios.

O processo de inferir a partir dos dados observados sobre parâmetros desconhecidos é parte fundamental da inferência estatística. A função de verossimilhança $L(\theta)$ é definida com sendo igual a função do modelo, que é interpretada diferentemente como função de θ para x desconhecido. A função de verossimilhança resume toda a informação relevante sobre um vetor de parâmetros e, em especial, o quociente ou diferenças entre log-verossimilhanças expressa as plausibilidades relativas de dois vetores de parâmetros especificados. Assim, a verossimilhança retira dos dados toda informação relevante para inferir sobre os parâmetros de interesse e a sua “inspeção” possibilita responder questões específicas sobre tais parâmetros.

A função de verossimilhança é definida por

$$L(\theta) = \prod_{i=1}^n f(x_i; \theta). \quad (5.1)$$

O propósito da máxima verossimilhança é encontrar o valor do vetor θ de parâmetros que fornece a chance mais provável de ocorrer novamente os mesmos dados que ocor-

reram. Desse modo, o estimador de máxima verossimilhança de θ é o valor $\hat{\theta} \in \Theta$ que maximiza a função de verossimilhança $L(\theta; x)$. Usualmente, trabalhamos com a log-verossimilhança $\ell(\theta; x) = \log L(\theta; x)$, também chamada de função suporte.

Como a função logaritmo é monótona, o valor de θ que maximiza a função de verossimilhança $L(\theta; x)$, também maximiza $\ell(\theta; x)$. Além disso, no caso uniparamétrico onde Θ é o espaço paramétrico e $\ell(\theta; x)$ é derivável, o estimador de máxima verossimilhança pode ser obtido como a raiz da equação de verossimilhança

$$\ell'(\theta; x) = \frac{\partial \ell(\theta; x)}{\partial \theta} = 0. \quad (5.2)$$

Em alguns exemplos simples, a solução da equação de verossimilhança pode ser encontrada explicitamente. Em situações complicadas, a solução da equação 5.2 será em geral obtida por procedimentos numéricos. Para se concluir que a solução da 5.2 é o ponto de máximo, é necessário verificar se

$$\ell''(\hat{\theta}; x) = \frac{\partial^2 \ell(\theta; x)}{\partial^2 \theta} \Big|_{\theta=\hat{\theta}} < 0.$$

O gráfico de $\ell(\theta)$ versus θ em Θ é chamado superfície suporte. Esse gráfico é bastante informativo (BOLFARRINE & SANDOVAL, 2001; DEGROOT & SCHERVISH, 2002).

Para comparação entre os modelos que descrevem as distribuições benéficas que se fixaram utilizou-se o método proposto por Neyman e Pearson em 1928. Esse método é baseado na razão de verossimilhança maximizada segundo ambas hipóteses. Seja, então, uma partição do vetor de parâmetros θ dada por $\theta = (\theta_1^T, \theta_2^T)^T$, no teste de $H_0 : \theta_1 = \theta_1^{(0)}$ versus $H_A : \theta_1 \neq \theta_1^{(0)}$. O teste da razão de verossimilhança envolve a comparação dos valores do logaritmo da função de verossimilhança maximizada $\hat{\ell}$ e $\tilde{\ell}$ sob H_A (hipótese alternativa) e H_0 (hipótese nula), respectivamente. A estatística para esse teste é especificada por:

$$w = 2 \left[\ell(\hat{\theta}) - \ell(\tilde{\theta}) \right] \quad (5.3)$$

que tem, assintoticamente e sob certas condições de regularidade, distribuição χ^2 com graus de liberdade q igual a dimensão do vetor θ que está sendo testado. Rejeita-se H_0 , se $w \geq \chi_{q,1-\alpha}^2$, em que χ_q^2 é o ponto crítico da distribuição qui-quadrado correspondente ao nível de significância α (NADARAJAH & KOTZ, 2005).

Vários procedimentos de identificação e comparação de modelos têm sido propostos na literatura. Uma nova perspectiva do problema de identificação é obtida pela análise do método de máxima verossimilhança. O fato de que, sob certas condições de regularidade, o estimador de máxima verossimilhança é assintoticamente eficiente, mostra que a função de verossimilhança tende a ser um critério mais sensível a pequenos desvios dos parâmetros do modelo de seus valores verdadeiros. Baseado nessa idéia, Akaike (1972) apresentou um método de identificação de modelos. Em 1974, Akaike descreveu como o problema de seleção de modelos pode sistematicamente ser manuseado pelo uso do critério de informação introduzido em 1972. Esse critério de informação de Akaike (AIC) é uma estatística bem conhecida e de fácil interpretação para seleção de modelos. Dessa forma, para comparar os principais modelos que se ajustam as mutações benéficas que se fixam, pode-se usar também o critério de informação de Akaike definido por:

$$AIC = -2\hat{\ell} + 2p$$

em que $\hat{\ell}$ é a log-verossimilhança maximizada e p é o número de parâmetros da distribuição. O modelo com o menor valor do AIC, entre todos os modelos ajustados, pode ser considerado como o que melhor explica o comportamento das mutações benéficas que se fixam.

A Tabela 1 apresenta as estimativas dos parâmetros α e β das distribuições de probabilidade com os respectivos erros padrão, considerando os seguintes parâmetros $N = 10000$, $U_d = 0$, $U_b = 0,00001$, $r = 0.5$ e $s_d = 0$. Percebemos que todos os parâmetros foram significativos de acordo com a estatística T-Student e o p -valor, ao nível de $100(1 - \alpha)\%$ de confiança.

$$\text{Estatística de Teste: } T_0 = \frac{\hat{\beta}}{\text{Var}(\hat{\beta})^{\frac{1}{2}}}$$

$$\text{Região de rejeição: } |t_0| > t_t = t_{\alpha/2} [n - p]$$

Para escolher a distribuição que melhor se ajustou aos dados utilizamos o teste da razão de verossimilhanças 5.3, as hipóteses seguidas das estatísticas foram H_0 : Normal inversa x H_A : Gama, H_0 : Log - normal x H_A : Gama, H_0 : Weibull x H_A : Gama e H_0 : Exponencial x H_A : Gama 39.21, 19.49, 6.33 e 92.42, respectivamente. Comparando esses valores com $\chi_{2,0.95}^2 = 5,99$, rejeitamos todas as hipóteses nulas ao nível de 95% de confiança, ou seja, o modelo gama foi o que melhor descreveu as distribuições benéficas que se fixam. O que claramente foi confirmado através do histograma das densidades de

Tabela 1: Estimativas dos parâmetros dos modelos das mutações benéficas que se fixam. Os parâmetros são $N = 10000$, $U_d = 0$, $U_b = 0,00001$, $r = 0.5$ e $s_d = 0$.

Distribuições	$\hat{\alpha}$	Erro padrão	$p - valor$	$\hat{\beta}$	Erro padrão	$p - valor$
Exponencial	9.112	0.541	0.000	–	–	–
Weibull	6.139	0.319	0.000	1.603	0.072	0.000
Gama	21.214	1.861	0.000	2.328	0.183	0.000
Log-normal	-2.439	0.043	0.000	0.728	0.031	0.000
Normal inversa	0.153	0.013	0.000	0.109	0.005	0.000

probabilidade da Figura 11.

Outras evidências utilizadas para a escolha do melhor modelo foram a log-verossimilhança maximizada $\hat{\ell}$ e o critério AIC que estão descritos na tabela 2. A distribuição gama foi a que apresentou maior log-verossimilhança (383,56) e o menor AIC (-775,46), sendo assim, o modelo mais indicado para representar as mutações benéficas que se fixam de acordo com esses critérios, apesar da distribuição Weibull, ajustar-se bem a essas mutações e competir com o modelo gama.

Tabela 2: Estatísticas para seleção dos modelos. Os parâmetros são $N = 10000$, $U_d = 0$, $U_b = 0,00001$, $r = 0.5$ e $s_d = 0$.

Distribuições	$\hat{\ell}$	AIC
Exponencial	343,52	-683,04
Weibull	386,56	-769,13
Gama	389,73	-775,46
Log-normal	379,98	-755,97
Normal inversa	370,13	-736,25

Com a Figura 11, mostramos os histogramas das densidades de distribuições para as mutações benéficas, considerando os mesmos parâmetros da Tabela 1. Nota-se que, todas as distribuições de probabilidade se ajustam bem com a distribuição das mutações benéficas que se fixam, com a exceção da distribuição exponencial. Porém a que melhor ajustou-se nesse caso foi o modelo gama.

A partir da Figura 12, apresentamos os histogramas das densidades de distribuições para as mutações benéficas que alcançaram a fixação. Os parâmetros são $N = 10000$, $U_d = 0$, $U_b = 0,00001$, $s_d = 0$ e $r = 0$. Realizando o teste da razão de verossimilhanças para comparar os modelos tendo o modelo log-normal como hipótese alternativa,

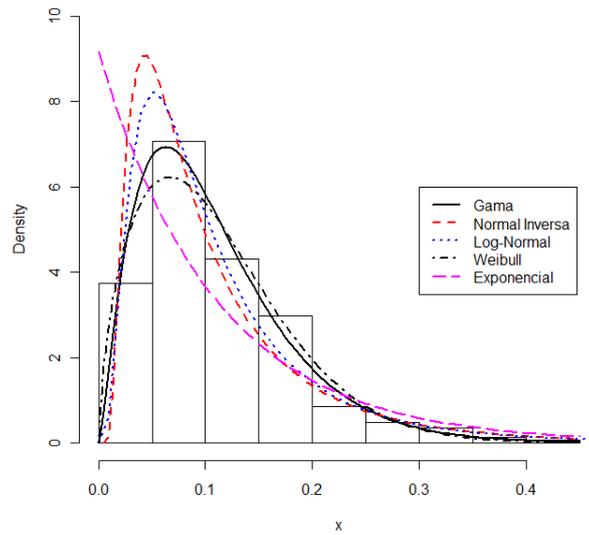


Figura 11: Histograma das densidades de distribuições para o comportamento das mutações benéficas que se fixam. Os parâmetros são $N = 10000$, $U_d = 0$, $U_b = 0,00001$, $s_d = 0$ e $r = 0.5$.

rejeitamos todas as hipóteses nulas, com exceção do modelo normal inversa. Utilizando o critério da maior log-verossimilhança e menor AIC, a distribuição log-normal foi a que melhor ajustou-se às distribuições das mutações benéficas que se fixam. Porém, ambos os modelos log-normal e normal inversa podem ser utilizados para ajustar essas mutações, são modelos que competem entre si e apresentaram bons ajustes.

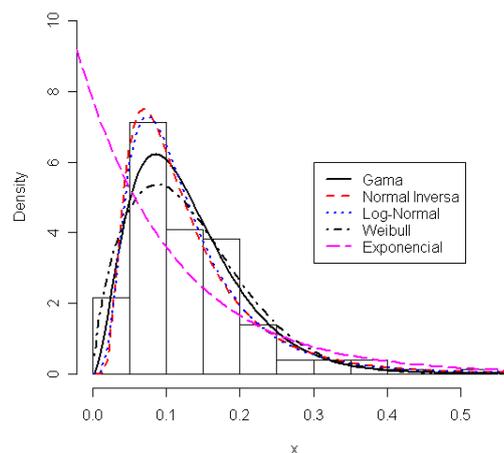


Figura 12: Histograma das densidades de distribuições para o comportamento das mutações benéficas que se fixam. Os parâmetros são $N = 10000$, $U_d = 0$, $U_b = 0,00001$, $s_d = 0$ e $r = 0$.

Na Figura 13, verificamos os histogramas das densidades de distribuições para as mutações benéficas que se fixam. Os parâmetros são $N = 10000$, $U_d = 0$, $U_b = 0,00001$,

$s_d = 0$ e $r = 1.0$. Nota-se que, ambas distribuições gama e Weibull apresentaram bons ajustes, mas a que melhor se ajustou foi a distribuição gama, de acordo com os critérios de maior log-verossimilhança e menor AIC, apesar da distribuição Weibull também indicar um bom ajuste pela ilustração gráfica. Foi realizado o teste da razão de verossimilhanças considerando a hipótese alternativa o modelo gama, comparando com todas as distribuições normal inversa, Weibull, exponencial e log-normal rejeitamos a hipótese nula, ou seja, o modelo gama foi o melhor que descreveu a distribuição dessas mutações, ao nível de 95% de confiança.

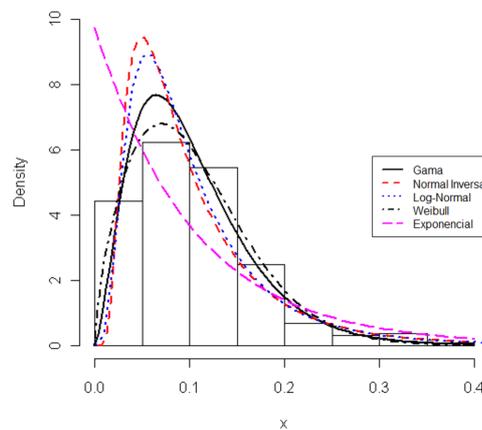


Figura 13: Histograma das densidades de distribuições para o comportamento das mutações benéficas que se fixam. Os parâmetros são $N = 10000$, $U_d = 0$, $U_b = 0,00001$, $s_d = 0$ e $r = 1.0$.

Na Figura 14, observamos que a distribuição Weibull foi a que melhor ajustou-se às mutações benéficas que alcançaram a fixação, para a população assexuada $r = 0$, os parâmetros foram $N = 10000$, $U_d = 0$, $U_b = 0,001$ e $s_d = 0$. Já nas Figuras 15 e 16, verificamos que a distribuição que melhor ajustou-se foi a gama, para populações sexuais com taxa de recombinação $r > 0$, considerando os mesmos parâmetros da Figura 13. Foram realizados os testes da razão de verossimilhanças para comprovar os resultados das Figuras 14, 15 e 16. Em todos os casos, rejeitamos a hipótese nula ao nível de 95% de confiança.

Nas Figuras 17, 18 e 19, apresentamos os histogramas das densidades de distribuições para as mutações benéficas que se fixam, com taxa de mutação benéfica $U_b = 0.01$, verificamos claramente que a distribuição Weibull foi a que melhor ajustou-se para as seguintes taxa de recombinação $r = 0$, $r = 0.5$ e $r = 1$. Foram adotados os mesmos critérios

para seleção do modelo para esses histogramas, ou seja, realizamos o teste da razão de máxima verossimilhanças, maior log-verossimilhança e menor AIC.

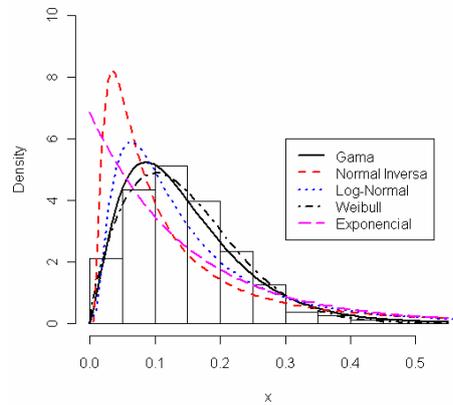


Figura 14: Histograma das densidades de distribuições para o comportamento das mutações benéficas que se fixam. Os parâmetros são $N = 10000$, $U_d = 0$, $U_b = 0,001$, $s_d = 0$ e $r = 0$.

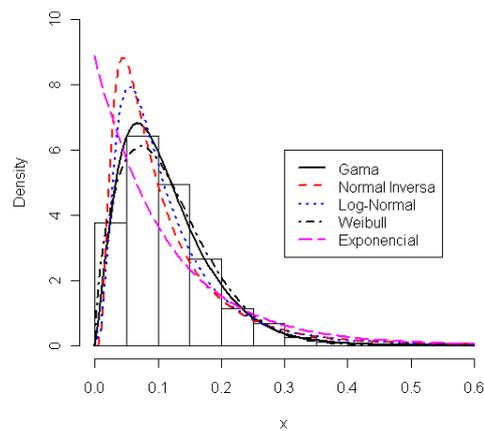


Figura 15: Histograma das densidades de distribuições para o comportamento das mutações benéficas que se fixam. Os parâmetros são $N = 10000$, $U_d = 0$, $U_b = 0,001$, $s_d = 0$ e $r = 0.5$.

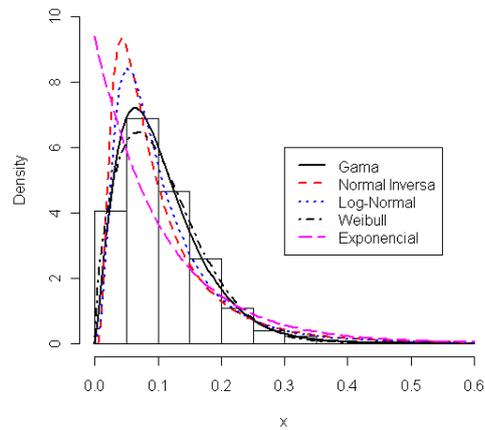


Figura 16: Histograma das densidades de distribuições para o comportamento das mutações benéficas que se fixam. Os parâmetros são $N = 10000$, $U_d = 0$, $U_b = 0,001$, $s_d = 0$ e $r = 1.0$.

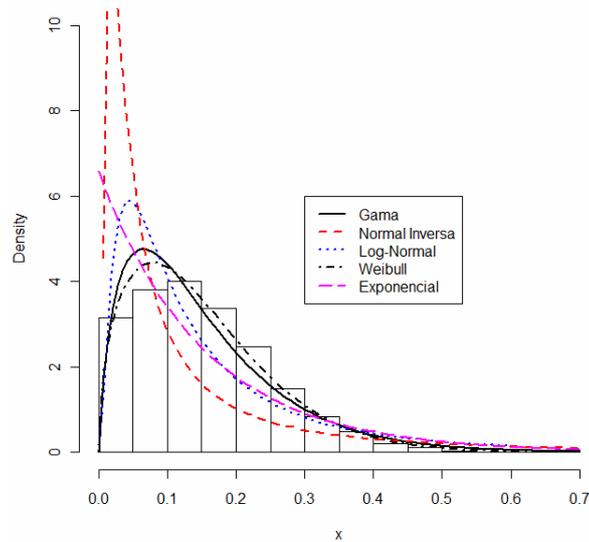


Figura 17: Histograma das densidades de distribuições para o comportamento das mutações benéficas que se fixam. Os parâmetros são $N = 10000$, $U_d = 0$, $U_b = 0,01$, $s_d = 0$ e $r = 0$.

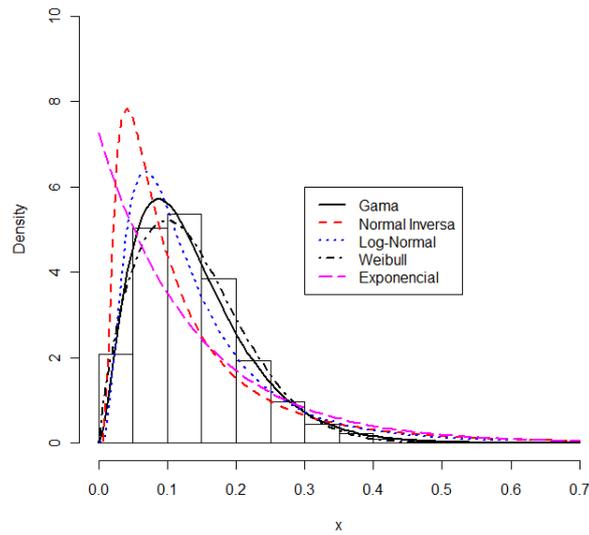


Figura 18: Histograma das densidades de distribuições para o comportamento das mutações benéficas que se fixam. Os parâmetros são $N = 10000$, $U_d = 0$, $U_b = 0,01$, $s_d = 0$ e $r = 0.5$.

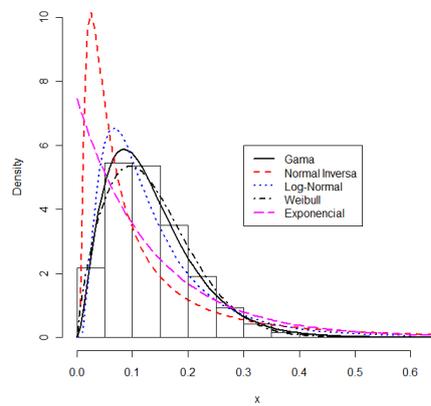


Figura 19: Histograma das densidades de distribuições para o comportamento das mutações benéficas que se fixam. Os parâmetros são $N = 10000$, $U_d = 0$, $U_b = 0,01$, $s_d = 0$ e $r = 1.0$.

Na tabela 3, apresentamos um resumo para os diversos parâmetros das mutações benéficas que se fixam, com a escolha da melhor distribuição para representar essas mutações, seguindo os mesmos critérios do modelo anterior. Para uma taxa de mutação benéfica $U_b = 0,00001$, o modelo escolhido para uma população assexuada foi o log-normal, e na população sexuada, o modelo gama. No caso em que $U_b = 0,001$, a distribuição Weibull e gama foram escolhidas, para a população assexuada e sexuada, respectivamente. Analisando o caso em que $U_b = 0,01$, a distribuição Weibull foi a que melhor representou as mutações benéficas que se fixam. Vale salientar que tanto os modelos gama, log-normal, normal inversa e Weibull são distribuições que competem entre si e servem para dados assimétricos. Analisando todos os histogramas da densidade de distribuição para o comportamento das mutações que se fixam, percebemos que de maneira geral, o modelo gama se ajustou bem considerando todos os parâmetros, assim, podemos dizer que esse modelo pode ser utilizado para todos os cenários estudados aqui, tanto para populações assexuadas como sexuadas.

Tabela 3: Escolha do melhor modelo para os diversos parâmetros.

Parâmetros	Modelo
$N = 10000, U_d = 0, U_b = 0.00001, r = 0.0, s_d = 0$	Log Normal
$N = 10000, U_d = 0, U_b = 0.00001, r = 0.5, s_d = 0$	Gama
$N = 10000, U_d = 0, U_b = 0.00001, r = 1.0, s_d = 0$	Gama
$N = 10000, U_d = 0, U_b = 0.001, r = 0.0, s_d = 0$	Weibull
$N = 10000, U_d = 0, U_b = 0.001, r = 0.5, s_d = 0$	Gama
$N = 10000, U_d = 0, U_b = 0.001, r = 1.0, s_d = 0$	Gama
$N = 10000, U_d = 0, U_b = 0.01, r = 0.0, s_d = 0$	Weibull
$N = 10000, U_d = 0, U_b = 0.01, r = 0.5, s_d = 0$	Weibull
$N = 10000, U_d = 0, U_b = 0.01, r = 1.0, s_d = 0$	Weibull

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesse estudo, investigamos a taxa de adaptação em populações sujeitas ao sexo e à recombinação, com a ocorrência de mutações benéficas e deletérias. Foi proposto um modelo de população finita de indivíduos haplóides em que permitiu a recombinação com taxa r e quantificou o sexo no modelo.

Comparando as populações sexuadas e assexuadas, verificamos que as populações sexuadas sempre se adaptam mais rapidamente devido à recombinação, permitindo a recombinação das mutações originalmente benéficas em linhagens distintas da população. A vantagem da população sexuada sobre a assexuada é maior até quando ocorrem mutações deletérias, pois a recombinação possui um papel importante, porque elimina as mutações deletérias com maior eficiência.

Foi possível identificar a ocorrência da interferência clonal em populações sexuadas. Observou-se que, comparando a população sexuada com assexuada, a interferência clonal é deslocada para taxas mais altas de mutação U_b . Nota-se claramente uma redução na taxa de crescimento de K_{fix} junto com o aumento de s_{fix} . Mais surpreendente é a distribuição assimétrica para as distribuições de efeitos benéficos das mutações que alcançaram a fixação. Em populações estritamente assexuadas, a interferência clonal reduz a chance de fixação das mutações de efeito pequeno.

Determinamos as distribuições que melhor descrevem a distribuição do efeito seletivo das mutações benéficas que conseguem se fixar em uma população. Em geral, a distribuição gama pode ser utilizada para ajustar essas mutações, considerando os diversos parâmetros. Assim, esperamos que esse estudo tenha contribuído para o melhor entendimento das mutações benéficas que conseguem se fixar em uma população, vencendo assim a deriva genética e a competição com outras mutações benéficas.

Para o futuro sugerimos a investigação de relevos de adaptação mais complexos, como o relevo de adaptação NK. Neste problema as taxas de mutações benéficas e deletérias surgem naturalmente como consequência da dinâmica adaptativa. O objetivo é verificar como a reprodução sexuada permite a exploração do espaço de genótipos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKAIKE, H. Use of an information theoretic quantity for statistical model identification. **Proceedings of 5th Hawaii International Conference on System Sciences**, p. 249-250, 1972.

AKAIKE, H. A new look at the statistical model identification. **IEEE Trans. Auto Cntl AC-19**, 6, 716–723, 1974.

BARRETT, R. D. H.; CONIGLE, L. K. & OTTO, S. P. The Distribution of Beneficial Mutant Effects Under Strong Selection. **Genetics** **174**, 2071, 2006.

BACHTROG, D. & GORDO I. Adaptive evolution of asexual populations under Muller's ratchet. **Evolution** **58**(7):, 1403-1413, 2004.

BARTON, N. H & OTTO, S. P. Evolution of Recombination Due to Random Drift. **Genetic**. 169, 2353-237, 2005.

BATAILLON, T. Estimation of spontaneous genome-wide mutation rate parameters: whither beneficial mutations? **Heredity** **84**, 497, 2000.

BELL, G. **The Masterpiece of Nature: The Evolution and Genetics of Sexuality**. University of California Press. Berkeley, 1982.

BERGSTROM C. T.; LIPSITH M. LEVIN B. R. Natural selection, infectious transfer and the existence conditions for bacterial plasmids. **Genetics** **155**:1505-1519, 2000.

BOLFARINE H. & SANDOVAL M. C. **Introdução à Inferência Estatística**. Sociedade Brasileira de Matemática. Rio de Janeiro, 2001.

BURT A. Perspective: sex, recombination, and the efficacy of selection—was Weis-

mann right?. **Evolution**. 54(2):337-51, 2000.

CAMPOS, P. R. A. ; FONTANARI, J. F. & STADLER, P. F. Error propagation in the hypercycle. **Physical Review E** 61: 2996-3002, 2000.

CAMPOS, P. R. A. & OLIVEIRA, V. M. Mutational effects on the clonal interference phenomenon. **Evolution**,v. 58, n. 5, p. 932-937, 2004.

CAMPOS, P. R. A.; COMBADÃO, J.; DIONISIO, F. & GORDO. Muller's ratchet in random graphs and scale-free networks. **Physical Review E** 74, 042901, 2006.

CAMPOS, P. R. A.; NETO, P. S. C. A.; OLIVEIRA, V. M. & GORDO, I. Environmental Heterogeneity Enhances Clonal Interference. **Evolution** 62, 1390, 2008.

CAMPOS, P. R. A. WAHT, L. The effects of population bottlenecks on clonal interference, and the adaptation effective population size. **Evolution Lawrence, Kans** 63, 950 2009.

CHARLESWORTH, B. Model for evolution of Y chromosomes and dosage compensation. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.** 75, 5618, 1978.

CHARLESWORTH, B. Some evolutionary consequences of deleterious mutations. **Genetic** 102/103 3-19, 1998.

COLEGRAVE, N. Sex releases the speed limit on evolution. **Letters to Nature**. 10, 1038, 2002.

COLOSIMO E. A. & GIOLO, S. R. **Análise de sobrevivência aplicada**. Ed. Blucher, 2005.

COLATO A. **Acúmulo de mutações em linhagens assexuadas: uma abordagem via experimentos computacionais**. Tese de doutorado, UFSC-USP, 2004.

COOPER, T. F. Recombination Speeds Adaptation by Reducing Competition between Beneficial Mutations in Populations of *Escherichia coli*. **Plos Biology**. 5(9): 225, 2007.

CUEVAS, J.M; MOYA, A; SANJUÁN, R. Following the very initial growth of biological RNA viral clones. **J Gen Virol**, 86, 435-443, 2002.

DARWIN, C. **On the origin of species by means of natural selection, or the preservation of favoured races in the Struggle for life**. London, 1859.

DEGROOT, M. H. & SCHERVISH M. J. **Probability and Statistics**. 3rd ed. Addison Wesley, 2002.

DESAI, M. M.; FISHER, D. S. Adaptation in Sexuals vs. Asexuals: Clonal Interference and the Fisher-Muller Model. **Genetics**. 176, 1759, 2007.

DESAI, M. M.; FISHER, D. S. & MURRAY, W. The Speed of Evolution and Maintenance of Variation in Asexual Populations. **Curr. Biol.** 17, 385, 2007.

DE VISSER J. A. G. M; et al. Diminishing returns from mutation supply rate in asexual populations. **Science** 283: 404406, 1999.

DOLGIN, E. S. & OTTO, S. P. Segregation and the evolution of sex under overdominant selection. **Genetics** 164 1199-1128, 2003.

ELENA, S. F. & LENSKI, R. E. Evolution experiments with microorganisms: The dynamics and genetic bases of adaptation, **Nature Review Genetics** 4 457-469, 2003.

EIGEN, M. Selforganization of matter and the evolution of biological macromolecules. **Naturwissenschaften** 58(10): 465-523, 1971.

EIGEN, M; McCASKILL, J. & SCHUSTER, P. The Molecular Quasispecies. **Adv. Chem. Phys.** 75, 149-263, 1989.

EYRE-WALKER, A. & KEIGHTLEY, P.D. The distribution of fitness effects of new mutations. **Nature Reviews Genetics** 8, 610-618, 2007.

FISHER, R. A. **The Genetical Theory of Natural Selection**. Press Oxford, 1930.

FISHER, R. A. **The genetical theory of natural selection**. 2 ed. Dover, New York, 1958.

FOGLE C. A; NAGLE; J. L., & DESAI M. M. Clonal Interference, Multiple Mutations and Adaptation in Large Asexual Populations. **Genetics**, December 1; 180(4): 2163 - 2173, 2008.

FUTUYMA, D. **Biologia Evolutiva**. Sociedade Brasileira de Genética/CNPq, Ribeirão Preto, 2^a . edição, 1997.

GALTON, F. Psychometric experiments. **Brain: A Journal of Neurology**, II, 149-162, 1879.

GAVRILETS, S. Evolution and speciation on holey adaptive landscapes. **TREE**, 12: 307-312, 1997.

GERRISH, P. J. & LENSKI, R. E. The fate of competing beneficial mutations in an asexual population. **Genetic** 127, 102-103, 1998.

GILLESPIE, J. H. A simple stochastic gene substitution process. **Theor. Popul. Biol.** 23, 202, 1983.

GILLESPIE, J. H. **The Causes of Molecular Evolution Oxford**. University Press, New York, 1991.

GONÇALVES, E. A.; OLIVEIRA, V. M.; ROSAS, A & CAMPOS, P. R. A. **Eur. Phys. J. B** 59, 127, 2007.

GONÇALVES E. A. **Evolução Adaptativa em Populações Estruturadas**. Dissertação de mestrado, UFRPE, 2007.

GORDO, I & DIONISIO, F. Nonequilibrium model for estimating parameters of deleterious mutations. **Physical Review E** 71, 031907, 2005.

GORDO, I & CAMPOS, P. R. A. Adaptive evolution in a spatially structured asexual population. **Genetic** 127, 217, 2006.

GORDO, I. & CAMPOS, P. R. A. . Patterns of genetic variation in populations of infectious agents. **BMC Evolutionary Biology**, 7:116, 2007.

GORDO, I & CAMPOS, P. R. A. Sex and Deleterious Mutations. **Genetic** 179, 621, 2008.

GOULD S. J. **The Structure of Evolutionary Theory**. Cambridge: Belknap Press (Harvard University Press), 2002.

GOUVEIA, J. F; OLIVERIA, V. M; SATIRO, C; CAMPOS, P. R. A. Rate of fixation of beneficial mutations in sexual populations. **Physical Review E** 79. 061915 2009.

GRIFFITHS, A. J. F. **Introdução à genética**. 8.edição . Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

HABETS, M. G.; CZARAN, T.; HOENKSTRA, R. F. & VISSER, J. A. Spatial structure inhibits the rate of invasion of beneficial mutations in asexual populations. **Proc. R. Soc. London, Ser. B** 274, 2139, 2007.

HAIGH, J. Accumulation of deleterious mutations: Muller's ratchet. **Theor Popul. Biol.** 14, 251, 1978.

HALDANE, J. B. S. A mathematical theory of natural and artificial selection, part v: Selection and mutation **Proc. Cambridge Philos. Soc.** 26, 220, 1927.

HEGRENESS M; SHORESH N.; HARTL D. & KISHONY R. An equivalence principle for the incorporation of favorable mutations in asexual populations. **Science** 311, 1615-1617, 2006.

HILL, W. G & ROBERTSON, A. The effect of linkage on limits to artificial selection. **Genet. Res.** 8: 269-294, 1966.

LAPLACE, P. S. **Theorie Analytique des Probabilites**. Supplement to third edition, 1836.

LEE, B. & TANNENBAUM, E. . Assexual and sexual replication in sporulating organisms. **Physical Review E**: 76, 2007.

LEVIN, B. R.; PERROT, V. & WALKER, N. **Genetics** **154**, 985, 2000.

KASSEN, R & BATAILLON, T. Distribution of fitness effects among beneficial mutations before selection in experimental populations of bacteria. **Nat. Genet.** 38, 484, 2006.

KAPTEYN, J. C. **Skew Frequency Curves in Biology and Statistics, Gronningen: Astronomical Laboratory**, Noordhoft, 1903.

KEIGHTLEY, P. D. & OTTO, S. P. Interference among deleterious mutations favours sex and recombination in finite populations. **Nature London** **443**, 89, 2006.

KIMURA, M. Diffusion models in population genetics. **J. Appl. Probab.** 1, 177 1964.

KONDRASHOV, A. S. Mullers ratchet under epistatic selection. **Genetics** **136** 1469-1473, 1994.

MAIA L. P. **Dinâmica Adaptativa, Genealogias e Testes Estatísticos de Neutralidade em Evolução Molecular**. Tese de doutorado, UFSC-USP, 2004.

MAYNARD SMITH, J. **The Evolution of Sex**. Cambridge University Press. Cambridge, UK, 1978.

MCALISTER, D. The law of the geometric mean, **Proceedings of the Royal Society of London**, 29, 367-375, 1879.

MIRALLES R, et. Clonal Interference and the Evolution of RNA Viruses. **Scienc.** Vol. 285. no. 5434, pp. 1745 - 1747, 1999.

MICHOD R. E. Population biology of the first replicators: On the origin of the genotype, phenotype and organism. **Amer. Zool**, 23:5-14, 1983.

MULLER, H. J. Some genetic aspects of sex. **American Naturalist**. 66: 118138, 1932.

NADARAJAH S. & KOTZ S. The beta exponential distribution. **Reliability Engineering and System Safety**,91, 689-697, 2005.

NORDBORG, M.; CHARLESWORTH, B. & CHARLESWORTH, D. The effect of recombination on background selection. **Genet.Res.** 67, 159, 1996.

OHTA, T. The nearly neutral theory of molecular evolution. **Annual Review of Ecology and Systematics** 23, 263.286, 1992.

OLIVEIRA, V. M. & CAMPOS, P. R. A. Dynamics of fixation of advantageous mutations. **Physica A** 337, 546 2004.

OLIVEIRA, V. M.; SILVA, J. K. & CAMPOS, P. R. A. Epistasis and the selective advantage of sex and recombination. **Physical Review E** v.78, 031905, 2008.

OLIVER A.; CANTON R.; CAMPO P.; BAQUERO F. & BLANQUEZ J. **High frequency of hypermutable Pseudomonas aeruginosa in cystic fibrosis lung infection**. Science 288: 12511253, 2000.

ORR, H. A. The Rate of Adaptation in Asexual. **Genetics** 155, 961 2000.

ORR, H. A. The Distribution of Fitness Effects Among Beneficial Mutations. **Orr, Genetics** 163, 1519, 2003.

ORR, H. A. The genetic theory of adaptation: a brief history Export. **Nat. Rev. Genet.** 6, 119, 2003.

OTTO, S. P. & BARTON N. H. The evolution of recombination: removing the limits to natural selection. **Genetics** 147:879-906, 1997.

OTTO, S. P. & LENORMAND, T. Resolving the paradox of sex and recombination, **Nature Review Genetics** 3, 252-261, 2002.

OTTO, S. P. The advantages of segregation and the evolution of sex. **Genetics** 164 1099-1118, 2003.

OTTO, S. P. NUISMER, S. L. Species interactions and the evolution of sex. **Science** 304 1018-1020, 2004.

PEPIN, H. M. & WCHIMAN. Experimental evolution and genome sequencing reveal variation in levels of clonal interference in large populations of bacteriophage X174 **BMC Evol. Biol.** 8, 85, 2008.

PRISTO, M. A.; WEINREICH, D. M. & HARTL, D. Mutational reversions during adaptive protein evolution. **Nature Review Genetics.** 6, 678, 2005.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing.** <http://www.R-project.org>, ISBN 3-900051-07-0, 2008.

RIDLEY, M.; tradução: FERREIRA, H.;PASSAGLIA, L. & FISCHER, RIVO. **Evolução.** 3ª ed. Porto Alegre: 752 p. Artmed, 2006.

ROZEN, D. E.; VISSER, J.; GERRISH, P. J. Fitness effects of fixed beneficial mutations in microbial populations. **Curr. Biol.** 12, 1040, 2002.

SANJUAN R., MOYA A. & ELENA S. F. The distribution of fitness effects caused by single-nucleotide substitutions in an RNA virus. **PNAS**; 101(22): 8396 - 8401, 2004.

SILVA, J. K. **Uma abordagem estocástica da evolução do sexo e recombinação.** Dissertação de mestrado, UFRPE, 2009.

SMITH E. E; BUCKLEY D. G; WU Z; SAENPHIMMACHAK C; HOFFMAN L. R; D'ARGENIO D. A; MILLER S. I; RAMSEY B. W; SPEERT D. P; MOSKOWTZ S. M; BURNS J. L; KAUL R. Genetic adaptation by *Pseudomonas aeruginosa* to the airways of cystic fibrosis patients. **Proc Natl Acad Sci U S A** 103: 84878492, 2006.

TAJIMA, Fumio. The Effect of Change in Population Size on DNA Polymorphism. **Genetics.** 123: 585, 1989.

TANNENBAUM, E. Selective advantage for sexual reproduction. **Physical Review E**:73, 2006.

TANNENBAUM, E. Comparison of three replication strategies in complex multicellular organisms: Asexual replication, sexual replication with identical gametes, and sexual replication with distinct sperm and egg gametes. **Physical Review E** 77, 2008.

TWEEDIE, M. . Statistical properties of inverse gaussian distributions ii. **Ann. Math. Statist.**, 28, 696705, 1947.

VISSER, J.A.G.M; ROZEN, E. D. High Deleterious Genomic Mutation Rate in Stationary Phase of *Escherichia coli*. **Science**, Vol. 304. no. 5670, p. 518, 1999.

WALD, A. Tests of statistical hypotheses concerning several parameters when the number of observations is large. **Trans. Amer. Math. Soc.**, 54, 426-482, 1947.

WEIBULL, W. A statistical theory of the strength of material, **Ingeniors Vetenskap Akademiens Handligar, Stockholm**. Report No. 151, 1939.

WEIBULL, W. A statistical distribution function of wide applicability. **J. Appl. Mech.-Trans. ASME** 18 (3): 293-297, 1951.

WILKE, C. O. The speed of adaptation in large asexual populations. **Genetics** 167, 2045, 2004.

WIRTH T; FALUSH D; LAN R; COLLES F; MENSA P; WIELER L. H; KARCH H; REEVES R. P; MAIDEN J. C. M; OCHMAN H; ACHTMAN M. Sex and virulence in *Escherichia coli*: An evolutionary perspective. **Mol Microbiol** 60: 11361151, 2006.

WRIGHT, S. The roles of mutation, inbreeding, crossbreeding and selection in evolution. In D. F. Jones, editor, **Int. Proceedings of the Sixth International Congress on Genetics**, volume 1, pages 356-366. Ithaca, 1932.