

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
MESTRADO EM BIOMETRIA**

**DEPENDÊNCIA DA VELOCIDADE DA CATRACA DE  
MULLER COM FLUXO DE MUTAÇÕES BENÉFICAS:  
UMA AVALIAÇÃO ESTOCÁSTICA**

**OSCAR FELIPE FALCÃO RAPOSO**

**Recife, Outubro de 2006**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
MESTRADO EM BIOMETRIA**

**DEPENDÊNCIA DA VELOCIDADE DA CATRACA DE  
MULLER COM FLUXO DE MUTAÇÕES BENÉFICAS: UMA  
AVALIAÇÃO ESTOCÁSTICA**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biometria da Universidade Federal Rural de Pernambuco, para obtenção do título de Mestre em Biometria.

**Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto de Araújo Campos**

**Co-orientador: Prof. Dr. Adauto José Ferreira de Souza**

**Mestrando: Oscar Felipe Falcão Raposo**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
MESTRADO EM BIOMETRIA**

**DEPENDÊNCIA DA VELOCIDADE DA CATRACA DE  
MULLER COM FLUXO DE MUTAÇÕES BENÉFICAS: UMA  
AVALIAÇÃO ESTOCÁSTICA**

**Dissertação defendida e aprovada pela banca examinadora em 24 de  
Outubro de 2006.**

**ORIENTADOR:**

---

Prof. Dr. Paulo Roberto de Araújo Campos – UFRPE / DFM

**CO-ORIENTADOR:**

---

Prof. Dr. Adauto José Ferreira de Souza – UFRPE / DFM

**EXAMINADORES:**

---

Prof. Dr. Ernande Barbosa da Costa – UFRPE / DFM

---

Prof. Dr. Gauss Moutinho Cordeiro – UFRPE / DEINFO

---

Prof. Dr. José Fernando Fontanari – USP / IFSC

"A MELHOR MANEIRA DE TER UMA BOA IDÉIA É TER MUITAS IDÉIAS".

Linus Pauling, (químico americano, Prêmio Nobel de Química em 1954 e Nobel da Paz em 1962, 1901-1994).

"A PERSISTÊNCIA É O CAMINHO DO ÊXITO".

Charles Chaplin (nasceu no dia 16 de abril de 1889 às 20 horas, em um subúrbio de Londres, um dos maiores gênios do cinema "sétima arte" de todos os tempos).

## **Agradecimentos:**

- Agradeço primeiro a Deus, pois sem ele não fazemos nada.
- Agradeço ao programa de pós-graduação pelo apoio no desenvolvimento deste trabalho em particular ao professor Doutor Eufrásio de Souza Santos, pela confiança depositada em minha pessoa.
- Ao Professor Dr. Paulo Campos pela dedicação, paciência e respeito na orientação deste trabalho.
- Ao Professor Dr. Borko Stosic, pelos conselhos e incentivos que recebi durante o desenvolvimento deste mestrado.
- Ao Professor Dr. Gauss Moutinho Cordeiro, por ter tido a honra de ter sido seu aluno na disciplina de Inferência Estatística.
- Aos meus familiares: meu Pai Paulo Marcelo, meus irmãos Bruno e Adriana e, em especial, a minha mãe Maria Cristina Falcão Raposo, por ter me orientado e sempre me incentivado a continuar na vida acadêmica.
- Aos meus amigos Petrônio Carvalho e Dulcenina Lima, e em especial Deusdedit Junior, pelo apoio incondicional nos momentos mais difíceis deste mestrado.
- A todos os meus colegas do curso de mestrado, especialmente Luciano, Richarlyson e Valter, pelo convívio, amizade e dedicação, sempre se mostrando disponível para qualquer tipo de ajuda.
- Agradeço também ao Conselho de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	7
ABSTRACT .....	8
1. INTRODUÇÃO.....	9
2. CATRACA DE MULLER.....	13
2.1. O modelo de infinitos sítios .....	15
2.1.1. Descrevendo o modelo.....	15
2.1.2. População Infinita.....	17
2.1.3. Simulações computacionais.....	18
2.1.4. Algoritmos Genéticos.....	18
2.1.5. População Finita.....	19
2.2. Resultados das simulações.....	20
3. DINÂMICA DE FIXAÇÃO EM MUTAÇÕES BENÉFICAS.....	30
3.1. O modelo em mutações benéficas.....	33
3.2. Probabilidade de fixação – Predição teórica.....	35
3.2.1. Processo de Ramificação de Galton - Watson.....	36
3.3. Processo de Ramificação em um fundo genético heterogêneo.....	38
4. POPULAÇÕES FORA DO EQUILÍBRIO.....	42
4.1. Simulações da Dependência da Velocidade da Catraca de Muller.....	43
5. CONCLUSÕES.....	43
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	53
APÊNDICE – COPIA DO ARTIGO PUBLICADO.....	57

## **Resumo**

Nós investigamos a evolução das populações assexuadas sujeita à ocorrência de um fluxo contínuo de mutações deletérias, onde a Catraca de Muller opera. Neste regime, a acumulação de mutações deletérias ocorre continuamente com a conseqüente perda da classe de indivíduos mais adaptados. Na nossa dissertação nós estudamos o efeito das mutações benéficas na velocidade da catraca. Nós examinamos como a taxa de substituição das mutações benéficas como também o efeito seletivo médio das mutações favoráveis que alcançam a fixação é comparada àquelas que supõem uma população em equilíbrio. Nós observamos que sob o regime de não-equilíbrio, a taxa de fixação das mutações vantajosas é mais elevada do que aquela estimada para uma população em equilíbrio. A diferença entre a taxa que supõe um regime de equilíbrio e aquela para um regime de não-equilíbrio torna-se maior quando aumentamos a taxa de mutações deletérias. Por outro lado, o efeito seletivo médio das mutações benéficas que alcançam a fixação é menor do que o valor previsto para a situação de equilíbrio.

**Palavras Chaves: Catraca de Muller, Genética de Populações, Interferência Clonal.**

## **Abstract**

We investigate the evolution of asexual populations subject to a large supply of deleterious mutations such that Muller's ratchet operates. In this regime, the accumulation of deleterious mutations takes place continuously with the resulting loss of the least-loaded class of individuals. In the current work, we study the effect of the supply of beneficial mutations on the ratchet's speed. We also examine how the rate of substitution of favorable mutations as well as the mean selective effect of favorable mutations that reach fixation is compared to those assuming a population at equilibrium. We observe that under Muller's ratchet, the rate of fixation of advantageous mutations is higher than that predicted for an equilibrium population. The difference between the rate supposing an equilibrium regime and that for the non-equilibrium case becomes larger as we increase the rate of deleterious mutations. On the other hand, the mean selective effect of beneficial mutations that reach fixation is smaller than the expected value for the equilibrium situation.

**Key Words: Muller Ratchet, Populations Genetics, Clonal Interference.**

## 1 - Introdução

A teoria de evolução é certamente a grande teoria unificadora em Biologia. A diversidade de organismos, similaridades e diferenças entre tipos distintos de organismos, padrões de distribuição e comportamento, adaptação e interação, eram todos um mero conjunto de fatores até serem convenientemente analisados e compreendidos pela teoria evolucionária. Em todas as áreas da Biologia, a teoria evolucionária funciona como um princípio de ordenamento.

Apesar dessa universalidade em sua aplicação, a teoria encontrou muitas dificuldades visto que, como o processo evolucionário apresenta diversas facetas, isso gerou as mais diversas formas de interpretação por parte dos pesquisadores. Pelo menos assim era até o início do século XX, quando muitas teorias foram então unificadas em uma única teoria, que posteriormente ficou conhecida como a Teoria Moderna. Muitas das teorias evolucionárias anteriores eram caracterizadas por uma forte ênfase em um único fator, ou seja, assumiam que a dinâmica de evolução era determinada pela ação de uma única força evolucionária. A teoria moderna selecionou os aspectos mais relevantes das hipóteses anteriores e combinou em uma forma nova e original. Em essência, uma teoria de dois fatores que considera a diversidade e, a adaptação harmoniosa do mundo orgânico, como o resultado de uma produção constante de variação e dos efeitos seletivos do meio.

A tentativa de explicar evolução por um único fator foi fatal para o enfraquecimento das teorias evolucionárias pré-Darwinianas.

A concepção da teoria atual de evolução deve-se principalmente a Charles Darwin. A teoria é construída em torno dos conceitos essenciais. No entanto, ela incorpora muito do que é distintamente pós-Darwiniano. Os conceitos de mutação, variação, população, hereditariedade, isolamento e espécies, ainda bastante incompreendidos na época de Darwin, são agora bem entendidos e mais rigorosamente definidos.

O desenvolvimento da teoria atual foi realizado de forma bastante lenta, desde que a quantidade de dados e sua diversificação eram abundantes para serem organizadas em uma única e compreensível teoria. Como salientado anteriormente, o pilar de sustentação da teoria é a afirmação de que o processo de evolução é basicamente um fenômeno que compreende dois estágios: a

produção de variação e a classificação desses variantes por meio da seleção natural.

Ainda que exista uma concordância geral nas argumentações básicas da teoria evolucionária, isto não implica que o trabalho dos evolucionistas esteja esgotado. A teoria básica representa, na grande maioria dos casos, não mais que um postulado e, sua aplicação, dá origem a numerosas questões em quase todos os casos concretos. Como exemplo, abaixo citamos algumas questões que ainda não são inteiramente compreendidas e que dão margem as mais diversas respostas por parte dos pesquisadores contemporâneos:

Qual a importância dos eventos aleatórios na evolução?

Que proporção de novas mutações são realmente benéficas, ou seja, conferem uma vantagem seletiva para o indivíduo que a adquire?

Que proporção de variabilidade genética deve-se ao polimorfismo entre seqüências?

Todas essas questões relevantes são diferentemente compreendidas na genética populacional, e suas diferentes formas de manifestação, na grande variedade de sistemas estudados, levam a uma indefinição e uma pobre compreensão do problema. Outras questões onde ainda existe uma grande divergência de opiniões são, por exemplo, o entendimento sobre os caminhos que determinam a adaptação, os mecanismos evolucionários em organismos mais evoluídos e menos evoluídos, a origem da sexualidade e sua importância, e a origem da vida. Entretanto, é importante salientar que contribuições importantes têm sido realizadas em todos os ramos da Biologia. Durante o último século, a maioria das investigações se concentrou em um número de áreas discretas em que o progresso alcançado foi bastante heterogêneo. Como exemplo de questões que obtiveram avanço significativo citamos: o estabelecimento de filogenias, a origem de discontinuidades (especiação), as causas e mecanismos de evolução, e as taxas de evolução, entre tantas outras.

A atenção dada a cada uma dessas questões tem mudado com o tempo. Cada ramo da biologia evolucionária se ocupa de um nicho especial e é unicamente qualificada para responder alguns problemas especiais. O geneticista está principalmente interessado com o indivíduo, a estabilidade ou mutabilidade

de locus, a modificação do fenótipo; em suma, todos os problemas que dizem respeito ao gene e a sua interação com outros genes e, com o meio.

Os modelos computacionais (matemáticos) em genética de populações tentam estabelecer relações entre as quantidades mensuráveis, parâmetros e associações matemáticas. Estes modelos podem nos mostrar parâmetros relevantes do sistema, testar hipóteses e podem servir de guia para a compreensão e análise de dados experimentais e podem também fazer previsões sobre um comportamento de um determinado sistema.

Em 1964, Muller publicou um artigo em genética de populações, trabalho este que teve grande importância, pois enfoca o acúmulo de mutações em populações finitas, processo este que ficou bastante conhecido como catraca de Muller. É neste processo que focaremos o estudo de nossa dissertação.

De acordo com Hermann Joseph Muller (1964) a catraca de Muller é o processo de perda progressiva (estocástica) dos indivíduos com menor número de mutações, ou seja, de indivíduos mais adaptados numa população assexuada, ou também podemos definir como o processo de acumulações de mutações deletérias, e que pode até levar a extinção da população. Desde então, diversos estudos têm sido realizados, por exemplo, Higgs e Woodcock (1994) estudaram por meio de simulações extensivas, como também um tratamento teórico foi realizado, um modelo de infinitos sítios onde um relevo multiplicativo foi assumido. Tem sido apresentada na literatura algumas generalizações deste modelo no sentido de apenas adotar mutações deletérias.

Modelos mais realísticos que incorporam também a ocorrência de mutações benéficas têm sido investigados por diversos autores, dentre eles: Campos e Oliveira (2004), Orr (2000), Johnson e Barton (2002). Entretanto, todos estes estudos assumiram populações em equilíbrio onde a catraca de Muller não opera.

Esta dissertação tem como objetivo principal estudar o comportamento da catraca de Muller como também a dinâmica de mutações benéficas em um modelo de população finita que assume a ocorrência de mutações deletérias e também mutações com efeito benéfico. A ocorrência conjunta dessas mutações dá origem a um efeito já verificado experimentalmente que é conhecido como efeito carona (*hitchhiking effect*). Neste processo, mutações deletérias são

levadas à fixação por meio de sua ocorrência em indivíduos (genomas) que já possuem mutações benéficas segregantes. Quando estas últimas alcançam fixação elas contribuem para o aumento das freqüências daquelas mutações com as quais estão ligadas. Isto levará, em determinadas circunstâncias, a um acúmulo mais rápido das mutações deletérias na população.

Esta dissertação está organizada da seguinte forma:

No Capítulo 2 descreveremos um modelo de população finita, onde introduziremos os mecanismos evolucionários relevantes, e discutiremos o Processo da Catraca de Muller. Apresentaremos alguns resultados de simulação do modelo.

No Capítulo 3 discutiremos a dinâmica de fixação de mutações benéficas, e apresentaremos alguns resultados já conhecidos na literatura. Aqui incorporaremos ao modelo discutido no Capítulo 2 a ocorrência de mutações benéficas, e apresentaremos alguns resultados conhecidos para populações que estejam no regime de equilíbrio.

No Capítulo 4, apresentaremos os resultados para o estudo da dinâmica do modelo assumindo populações fora de equilíbrio.

E por fim, no Capítulo 5, apresentaremos as conclusões deste trabalho.

Para proceder as simulações deste trabalho foram desenvolvidos programas em linguagem C.

## 2. A CATRACA DE MULLER

Os cientistas sempre se perguntaram por que o sexo pode ser uma vantagem evolutiva, principalmente para os organismos que contam com as duas alternativas - há protozoários que podem se duplicar com autonomia, sem precisar de um parceiro, assegurando a continuidade de todo seu material genético, contido no DNA, mas optam pela reprodução sexuada, por meio da qual transmitem apenas metade de seus genes.



**Hermann Joseph Müller**

O geneticista norte-americano Hermann Joseph Müller (1890-1967) foi quem levantou este problema, ao descobrir que os raios X podem causar mutações em moscas das frutas (*Drosophila melanogaster*). Anos depois, sentenciou: “as mutações (mudanças no DNA) fazem mais mal do que bem e se acumulam mais rapidamente em espécies que se reproduzem apenas de modo assexuado, num caminho sem volta”, que ficou conhecido como catraca de Müller. Os achados de Muller indicaram que a reprodução sexuada, por permitir a mistura de material genético, conseguiria reverter a catraca e evitar o efeito prejudicial das mutações, hoje vistas como fonte de diversidade dos seres vivos, mas que, se não corrigidas, ao menos em parte, ameaçam a sobrevivência, por reduzirem continuamente a adaptação dos animais e das plantas ao ambiente em que vivem.

A catraca de Muller, que recebeu esta denominação em reconhecimento a Muller (1964), é portanto de um processo de acumulações deletérias que pode levar à extinção de uma população, e também pode ser definido como um processo de perda progressiva (estocástica) dos indivíduos com menor número de mutações numa população, ou seja, dos indivíduos mais adaptados. A catraca de Muller foi proposta como uma explicação para a vantagem da recombinação e a extinção de populações assexuadas. As mutações são consideradas alterações genéticas que, em geral, prejudicam a adaptação dos indivíduos portadores, diminuindo seu *fitness* (ou adaptabilidade) muito importante no processo seletivo.

Enquanto as populações assexuadas sofrem com os efeitos irreversíveis do acúmulo de mutações deletérias, e populações sexuadas são imunes a isto, conforme Gordo e Charlesworth (2000), em populações assexuadas a catraca de Muller pode levar à extinção se permitirmos que o tamanho da população varie. Para evitar que isto aconteça, a recombinação genética, mistura dos genes do pai com os da mãe no filho, torna-se fator de elevada importância, pois pode criar, na população, indivíduos com pequeno número de mutações, que serão beneficiados no processo seletivo.

As mutações muito prejudiciais, que reduzem drasticamente a adaptação dos organismos, são eliminadas com muita rapidez pela ação da seleção natural, e este processo é denominado de seleção purificada ou seleção negativa [Pamilo et. Al. (1987), Lynch e Gabriel (1990)]. Mutações de efeito moderado, entretanto, são menos afetadas pelo efeito purificador da seleção e são transmitidas mais facilmente de geração para geração. O resultado desse processo é a rápida diminuição da adaptação média da população e o conseqüente acréscimo na velocidade da catraca.

A velocidade da catraca está ligada ao tamanho da população, pois é dependente de flutuações dos tamanhos das classes de indivíduos. Estas flutuações em populações finitas são denominadas de deriva genética. Em populações finitas sempre haverá uma probabilidade não-nula de que o indivíduo mais adaptado seja eliminado [Campos e Fontanari (1998)]. Em algumas populações, esse tempo de perda é extremamente elevado e muitas vezes não é sensível à escala do tempo do experimento. Por exemplo, em populações de bactérias, cada geração corresponde a cada 20 minutos de experimento e a catraca vai correr um dente a cada 40 anos, o que corresponde a um milhão de gerações. Se não houvesse um mecanismo como a catraca de Müller que indicasse que os microrganismos com reprodução assexuada estariam em desvantagem por não conseguir anular a mutação, as formas assexuadas é que prevaleceriam [Colato e Fontanari (2001)].

O processo de recombinação é um outro fator que leva à variabilidade genética e por conseqüência a criação de indivíduos mais e menos aptos na população. Por ser um processo estocástico, a união de gametas pode dar origem a indivíduos antes inexistentes na população, cujas adaptações relativas

podem ser melhores ou piores do que aquelas já encontradas. É claro que indivíduos menos adaptados têm poucas chances de passar para a geração posterior, sendo logo eliminado da população. Por outro lado, os indivíduos mais adaptados terão chances maiores de serem escolhidos para uma nova geração. Apesar da recombinação, a princípio, parecer prejudicial ela, de modo geral, é benéfica, porque atua na maioria da adaptação média da população, eliminando indivíduos com mutações em excesso, e por este motivo a velocidade da catraca diminui.

## **2.1 O modelo de infinitos sítios**

### **2.1.1 Descrevendo o modelo**

Consideramos um modelo de evolução de populações compostas por indivíduos haplóides que obedecem a regras probabilísticas de reprodução e mutação. Os haplóides são indivíduos cujas características genéticas são dadas por apenas um cromossomo, sendo natural a não existência de dominância ou recessividade.

Os indivíduos que compõem a população são representados por uma seqüência infinita de sítios, como na Figura 2.1. Eles são descritos por sua carga genética, que é transmitida de geração em geração através do processo de reprodução. O tamanho  $N$  da população é mantido constante, implicando numa capacidade limitada de indivíduos que podem ser suportados pelo ambiente e impondo uma competição efetiva entre eles. A variação na capacidade de adaptação dos indivíduos é um dos requisitos essenciais para que ocorra a evolução. Vamos supor que esta capacidade dependa somente da seqüência que descreve o genótipo do indivíduo e as variações sejam resultado das mutações que ocorrem durante o processo de reprodução. Onde a seqüência de um indivíduo da população que possui  $L$  genes  $1 - 2 - 3 - 4 - 5 \dots, L-1 - L$ , no modelo de infinitos sítios o tamanho  $L$  é infinitamente grande,  $L \rightarrow \infty$ .

Na natureza, as mutações que ocorrem nos indivíduos podem ser tanto benéficas quanto maléficas (deletérias). A proporção de mutações deletérias, no

entanto, é muito maior do que as benéficas. Por enquanto, assumimos que apenas mutações deletérias ocorram. A função que relaciona o número de mutações em um indivíduo  $i$  com sua adaptação é a seguinte:

$$\omega_i = (1-s)^{K_i} \quad (2.1)$$

Onde  $s \in [0,1]$  é chamado parâmetro seletivo, medindo o grau de dano de cada mutação deletéria e,  $k$  é o número de mutações deletérias do indivíduo. Ou seja, cada mutação deletéria causa a redução da adaptação por um mesmo fator. Por essa razão, esse caso é conhecido como relevo de replicação multiplicativo (*multiplicative fitness landscape*).

A grandeza relevante para a determinação do destino de um indivíduo  $i$  na população é a sua adaptação relativa, definida como a razão entre a sua adaptação,  $\omega_i$ , e a adaptação média da população na geração.

$$n_i = \frac{N\omega_i}{\sum_{j=1}^N \omega_j} \quad (2.2)$$

A adaptação relativa corresponde ao valor esperado para o número de filhos do indivíduo  $i$  na próxima geração.

A medida em que o coeficiente seletivo  $s$  se aproxima de 1 ( $s \rightarrow 1$ ) o efeito deletério das mutações torna-se cada vez maior, enquanto que para  $s$  pequeno as mutações praticamente não afetam a função adaptação. O caso em que  $s=0$  é denominado limite de seleção neutra, no qual as mutações não produzem efeito algum na capacidade reprodutiva dos indivíduos, de modo que todos têm probabilidades idênticas de se reproduzir. O limite  $s = 1$  é chamado de regime de seleção extrema, no qual somente os indivíduos com nenhuma mutação conseguem se reproduzir e os demais surgem apenas através das mutações dessa classe de indivíduos.

A probabilidade de que  $k$  novas mutações ocorram em um indivíduo da população no processo de reprodução é dada por uma variável aleatória com distribuição de Poisson:

$$M_k = e^{-U} \frac{U^k}{k!} \quad k=1, 2, \dots, N \quad (2.3)$$

Onde  $U$  parâmetro que define a distribuição de Poisson, é o número médio de mutações por indivíduo por geração. De fato, no caso em que o tamanho da seqüência  $L$  e probabilidade de mutação por gene é  $u$ , a probabilidade de que  $k$  novas mutações ocorram obedece a uma distribuição binomial e quando tomamos os limites tal que  $u.L=U$ ,  $L \rightarrow \infty$  e  $u \rightarrow 0$ , a distribuição binomial com parâmetros  $L$  e  $u$  pode ser aproximado para uma distribuição de Poisson com parâmetro  $U=u.L$ .

### 2.1.2 População infinita

Quando consideramos uma população infinita ( $N \rightarrow \infty$ ), os efeitos estocásticos do processo de reprodução desaparecem, e neste caso, não há o processo de catraca de Muller, a população evoluirá para uma distribuição de equilíbrio. Considerado o relevo multiplicativo definido anteriormente, onde a adaptação de indivíduos com  $k$  mutações deletérias é  $\omega_i = (1-s)^{k_i}$ , assumindo também que as mutações deletérias ocorram a uma taxa  $U$ , e que o número  $m$  de novas mutações deletérias que um indivíduo adquire é uma Poisson, conforme a Eq. 2.3. Haigh (1978) demonstrou que a fração de indivíduos com  $k$  mutações,  $C_k$ , no estado estacionário é dada por:

$$C_k = e^{-U/s} \frac{(U/s)^k}{k!}. \quad (2.4)$$

Sendo  $U/s$  o parâmetro desta distribuição de Poisson.

### 2.1.3 Simulações computacionais

Nossos resultados da simulação computacionais são obtidos utilizando-se idéias do algoritmo genético padrão. Abaixo descreveremos o que são algoritmos genéticos e por fim apresentaremos alguns resultados onde visualizaremos a ocorrência da catraca de Muller.

#### 2.1.4 O que são os Algoritmos Genéticos

Os Algoritmos genéticos são baseados em seleção natural e idéias evolutivas de genética e, são chamados de algoritmos estocásticos de busca. Eles combinam processos naturais necessários à evolução, especialmente aqueles estabelecidos por Charles Darwin de sobrevivência do mais apto, como troca de informação estruturada, porém aleatória, para formar um algoritmo de busca com a habilidade inovadora de busca humana. Os algoritmos genéticos são uma família de modelos computacionais inspirados na evolução, que incorporam uma solução potencial para um problema específico numa estrutura semelhante à de um cromossomo e aplicam operadores de seleção e "cross-over" a essas estruturas de forma a preservar informações críticas relativas à solução do problema. Em nosso problema não utilizamos os operadores de cross-over (recombinação) desde que a nossa população está sujeita apenas à seleção natural e mutações.

Iniciamos nossa população de  $N$  indivíduos, todos com  $k=0$  mutações. A medida em que estes indivíduos evoluem, eles adquirem mutações. Como mencionado anteriormente, a adaptação de um indivíduo com  $k$  mutações é  $\omega_i = (1-s)^{k_i}$ , onde  $k_i$  é o número de mutações do indivíduo  $i$ . Para compor a geração em um tempo  $t+1$  a partir da população no tempo  $t$ , utilizamos o seguinte procedimento:

Cada indivíduo  $i$  no tempo  $t$  será o pai de um indivíduo qualquer no tempo  $t+1$  com probabilidade  $P_i$  proporcional ao seu fitness, ou seja,

$$P_i = \frac{\omega_i}{\sum_{j=1}^N \omega_j}, \quad (2.5)$$

Logicamente,  $\sum_{i=1}^N P_i = 1$  é a distribuição normalizada. Assim, para saber

quem será o pai de um dado indivíduo na geração  $t+1$ , sorteamos um número aleatório  $r \in [0,1]$  e o pai de  $i$  será um indivíduo  $j$  na geração  $t$ , onde  $j$  é obtido a partir da condição:

$$\sum_{i=1}^j P_i \leq r \leq \sum_{i=1}^{j+1} P_i \quad (2.6)$$

Determinado quem é o pai do indivíduo  $i$ , este herda o número de mutações adquiridas pelo pai, mais uma quantidade adicional  $n$ , obtida de uma distribuição de Poisson de parâmetro relevante  $U$ , ou seja,

$$M_n = e^{-U} \frac{U^n}{n!} \quad (2.7)$$

Este processo é repetido até que formemos a população no tempo  $t+1$ .

### 2.1.5 População Finita

Agora focamos nosso estudo em populações finitas, onde os efeitos estocásticos aparecem e o efeito da catraca de Muller pode ocorrer. Em cada instante de tempo, o número de mutações  $k_i$ , em cada indivíduo  $i$ , e o número de mutações mínima,  $k_{\min}$ , no indivíduo mais apto da população são medidos. O procedimento de simulação é exatamente aquele descrito na seção anterior.

A catraca funciona da seguinte forma: seja  $N$  o número total de indivíduos na população e  $N_k$  o número de indivíduos com  $k$  mutações. Aqui assumimos que todas as mutações são deletérias, e, portanto a adaptação dos indivíduos diminui como o acréscimo de  $k$ . O número de indivíduos na classe mais adaptada (com nenhuma mutação) é  $N_0$  e inicialmente  $K_{\min}=0$ . Isto significa que no genoma dos  $N_0$  indivíduos não ocorreu nenhuma mutação.  $N_0$  é uma variável aleatória que, devido às flutuações, eventualmente atinge o valor zero. Neste Caso, então  $K_{\min}$  é incrementado e será igual a um.

Como por hipótese do modelo, não existem mutações reversas, a classe  $k=0$  é extinta da população e a classe mais adaptada passa a ser  $k=1$ , com número de indivíduos  $N_1$ . O mesmo processo ocorrerá para a nova classe mais adaptada ( $k=1$ ), e eventualmente teremos que esta classe será também extinta. Neste  $K_{\min}=2$  e este processo ocorrerá indefinidamente. O que estamos interessados é estudarmos a taxa em que ocorre a extinção da classe de indivíduos mais adaptados e que parâmetros afetam este processo. Seguindo esta lógica a distribuição do número de mutações tem uma tendência de se movimentar para valores maiores de  $k$  a medida em que o sistema evolui.

## **2.2. Resultados das simulações**

Os resultados das simulações da catraca apresentados nas Figuras 2.1, 2.2 e 2.3, ilustram a distribuição de frequências de indivíduos com  $k$  mutações deletérias para três valores distintos de tempo  $t$ :  $t=500$ ,  $t=1500$  e  $t=2500$ .

Na Figura 2.1 observamos que a medida que a população evolui ( $t$  aumenta) a distribuição das classes de indivíduos se desloca, ou seja, tanto o centro da distribuição como também o valor mínimo de  $k$ ,  $k_{\min}$ , tal que  $f_{\min}>0$  se deslocam para valores maiores de  $k$ .

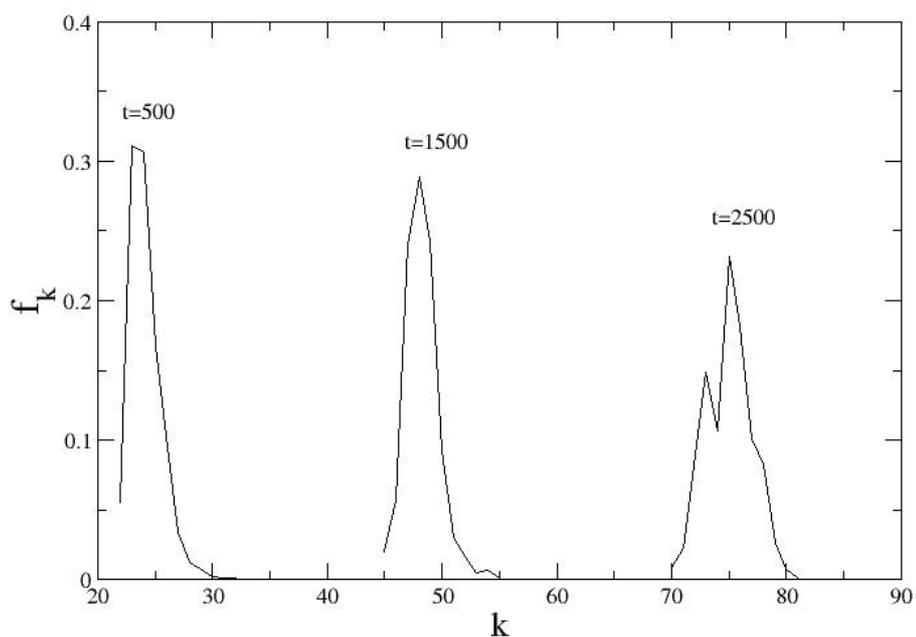


Figura 2.1: Distribuição de frequências do número de indivíduos com  $k$  mutações na população. As diferentes curvas correspondem às distribuições em tempos de medição distintos. Da esquerda para direita  $t=500$ ,  $t=1500$  e  $t=2500$ . Consideramos o tamanho da população  $N=1000$ , taxa de mutação  $U=0.05$  e desvantagem seletiva  $s=0.01$ .

Na Figura 2.2 temos novamente as três distribuições de frequência, porém agora aumentamos o valor de taxa de mutação  $U$  de  $U=0.05$  (figura anterior) para  $U=0.1$ . Claramente observamos que o movimento da distribuição é acelerado em relação ao caso anterior. Todos os demais parâmetros foram mantidos, ou seja,  $N=1000$  e a desvantagem seletiva  $s=0.01$ .

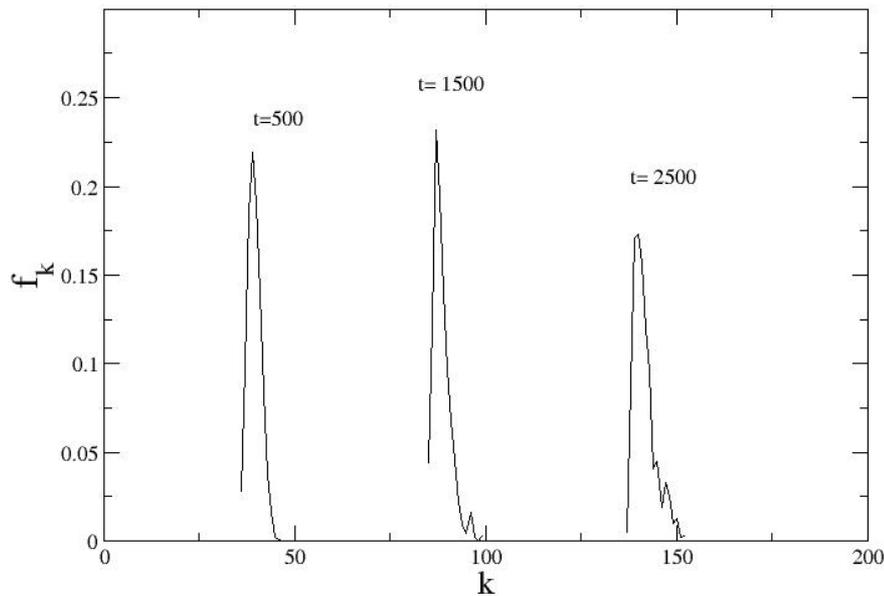


Figura 2.2: Distribuição de freqüências do número de indivíduos com  $k$  mutações na população. As diferentes curvas correspondem às distribuições em tempos de medição distintos. Da esquerda para direita  $t=500$ ,  $t=1500$  e  $t=2500$ . Os valores dos parâmetros são:  $N=1000$ ,  $U=0.1$  e  $s=0.01$ .

Já na Figura 2.3 temos novamente as três distribuições para tempos  $t=500$ ,  $t=1500$ ,  $t=2500$ , porém agora mantivemos a taxa de mutação em  $U=0.1$  e aumentamos a desvantagem seletiva de  $s=0.01$  para  $s=0.02$ . Com este conjunto de parâmetros podemos perceber que houve uma desaceleração, pois percebemos que o pico da distribuição se desloca mais lentamente que no caso anterior.

Desses resultados podemos inferir que quando aumentamos a taxa de mutação, há uma aceleração no processo de acumulação de mutações deletérias; enquanto que a taxa deste acúmulo decai como o aumento da desvantagem seletiva  $s$ .

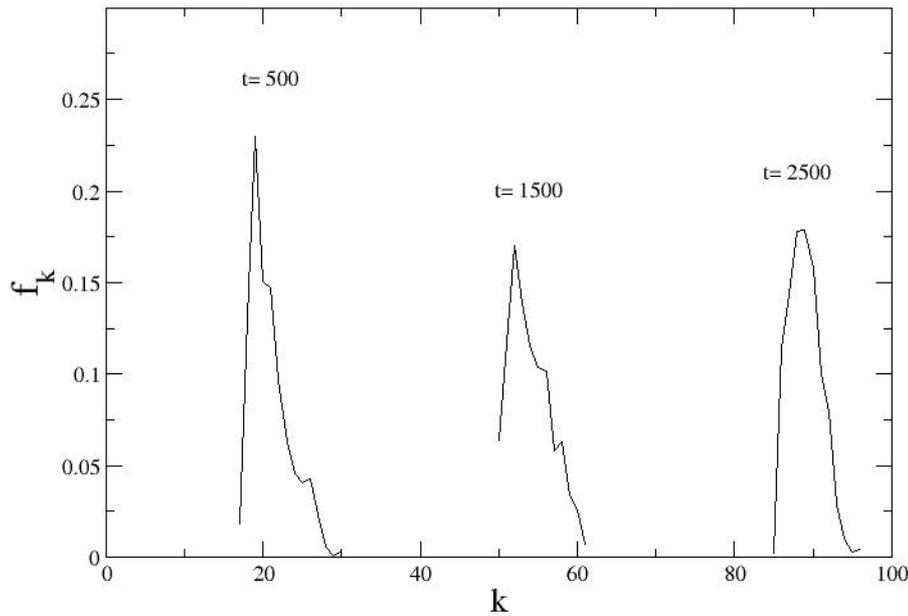


Figura 2.3: Distribuição de frequências do número de indivíduos com  $k$  mutações na população. As diferentes curvas correspondem às distribuições em tempos de medição distintos. Os valores dos parâmetros são  $N=1000$ ,  $U=0.1$  e  $s=0.02$ .

Nas Figuras 2.4, 2.5 e 2.6, exibimos agora o número mínimo de mutações deletérias na população,  $K_{\min}$ , em função do tempo. Os valores dos parâmetros são os mesmos adotados nas Figuras 2.1, 2.2 e 2.3, respectivamente.

Comparamos as Figuras 2.4 e 2.5 verificamos que os eventos de transição (perda de classe mais adaptada) são bem mais frequentes para um valor maior de mutação  $U$  (Figura 2.5) que no caso anterior (Figura 2.4). Além do mais, observamos na Figura 2.4 a existência de períodos relativamente longos onde não ocorre transição de  $k_{\min}$ . Já na comparação da Figura 2.5 para a Figura 2.6 é notória a desaceleração do processo, conforme mostramos anteriormente, através das análises das distribuições.

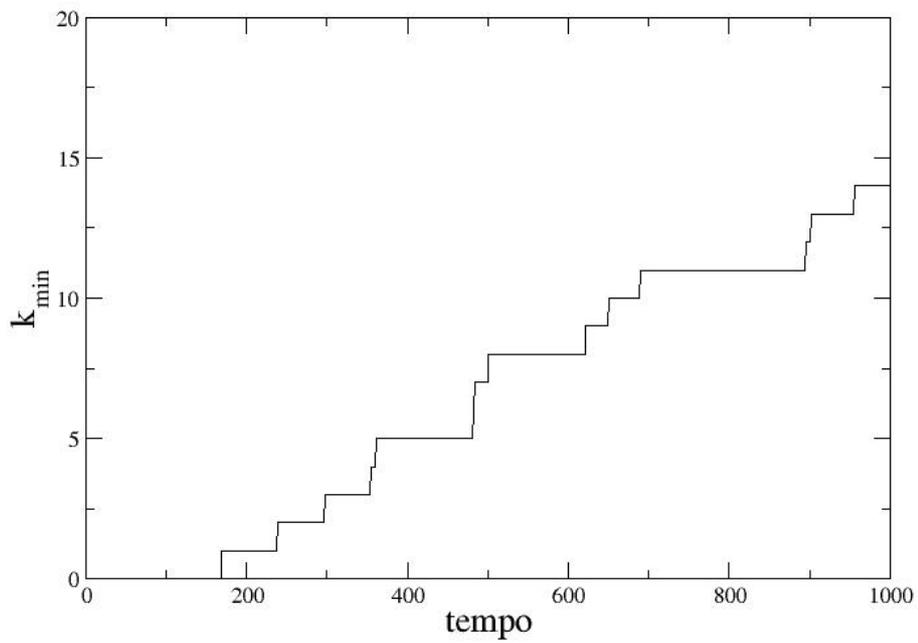


Figura 2.4: Número mínimo de mutações deletérias na população,  $k_{\min}$ , como função do tempo. Consideramos tamanho da população  $N=1000$ , taxa de mutação  $U= 0.05$  e desvantagem seletiva  $s= 0.01$ .

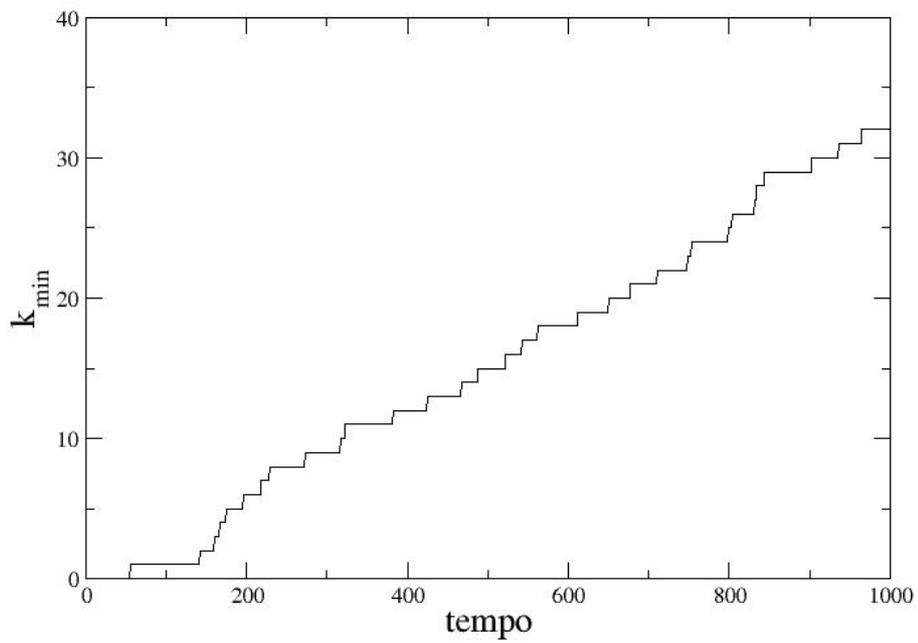


Figura 2.5: Número mínimo de mutações deletérias na população,  $k_{\min}$ , como função do tempo. Os valores dos parâmetros são:  $N=1000$ ,  $U= 0.1$  e  $s= 0.01$ .

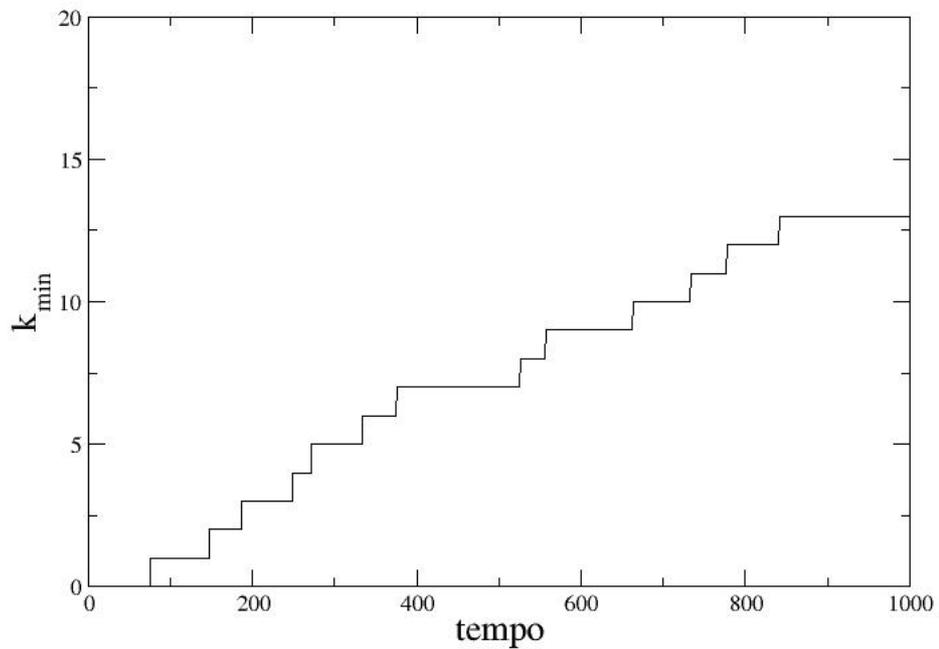


Figura 2.6: Número mínimo de mutações deletérias na população,  $k_{\min}$ , como função do tempo. Os valores dos parâmetros são:  $N=1000$ ,  $U= 0.1$  e  $s= 0.02$ .

Repetimos as simulações apresentadas para analisar o  $k_{\min}$ , porém agora os resultados observados para o  $k_{\min}$  são médias obtidas sobre 50 simulações independentes. Com os resultados apresentados das Figuras 2.7, 2.8 e 2.9 podemos verificar que a evolução do  $k_{\min}$  com o tempo é bem aproximado por uma reta, o que significa que a taxa de acumulação de mutações deletérias é constante. Desta forma a velocidade da catraca de Muller é simplesmente a inclinação da reta.

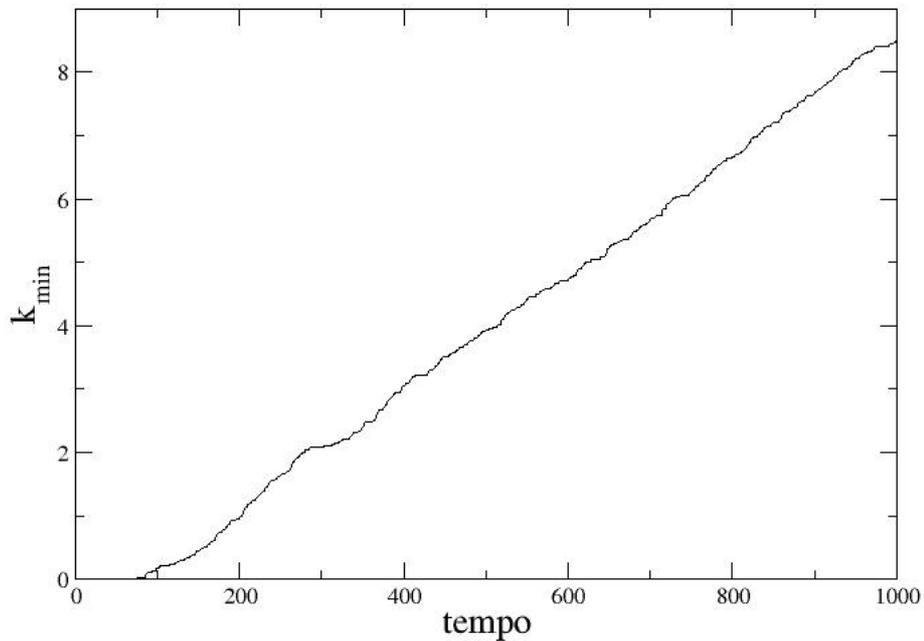


Figura 2.7: Número mínimo de mutações deletérias na população,  $k_{\min}$ , como função do tempo. Nesta figura consideramos tamanho da população  $N=1000$ , taxa de mutação  $U= 0.05$  e desvantagem seletiva  $s= 0.01$ .

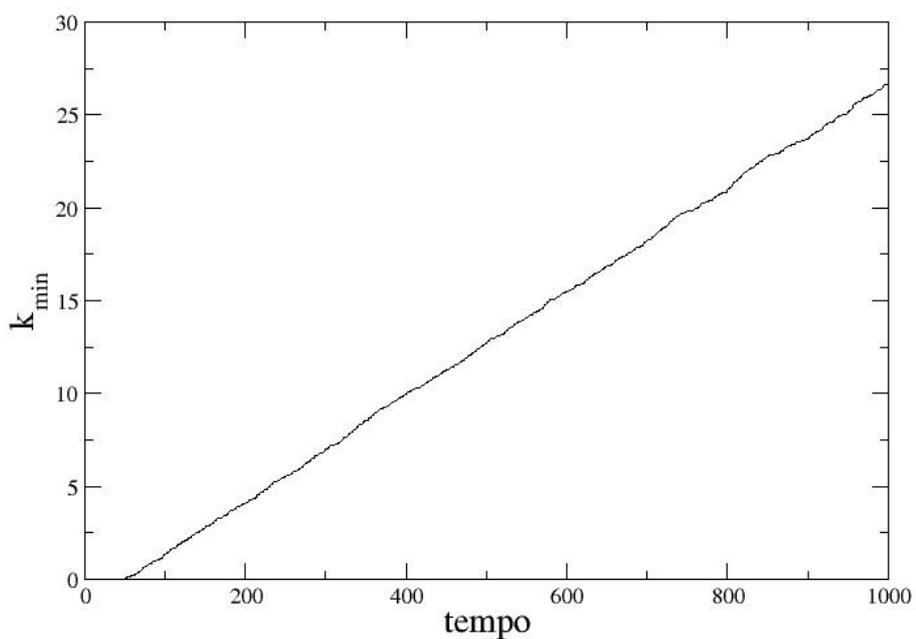


Figura 2.8: Número mínimo de mutações deletérias na população,  $k_{\min}$ , como função do tempo. Os valores dos parâmetros são:  $N=1000$ ,  $U= 0.1$  e  $s= 0.01$ .

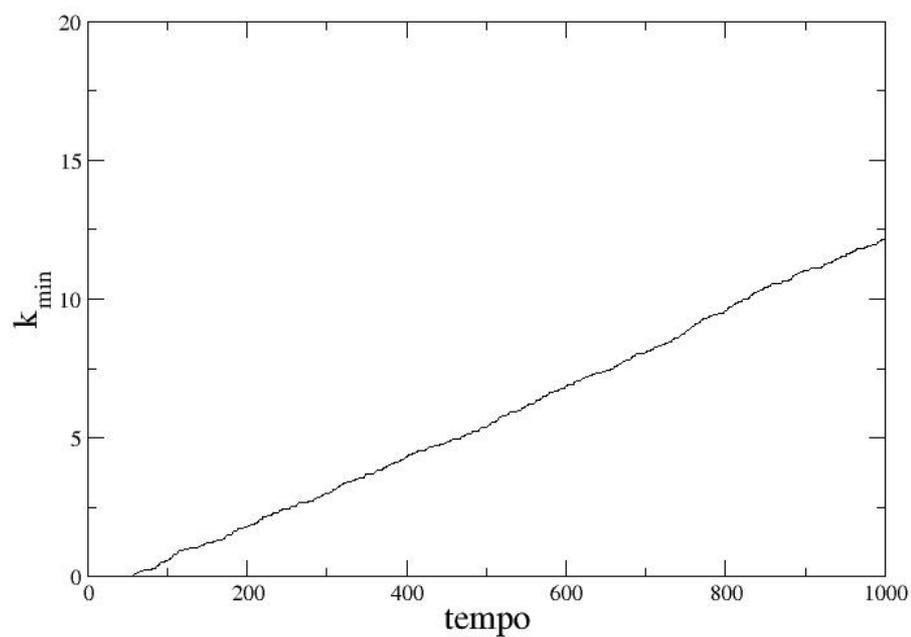


Figura 2.9: Número mínimo de mutações deletérias na população,  $k_{\min}$ , como função do tempo. Os valores dos parâmetros são:  $N=1000$ ,  $U= 0.1$  e  $s= 0.02$ .

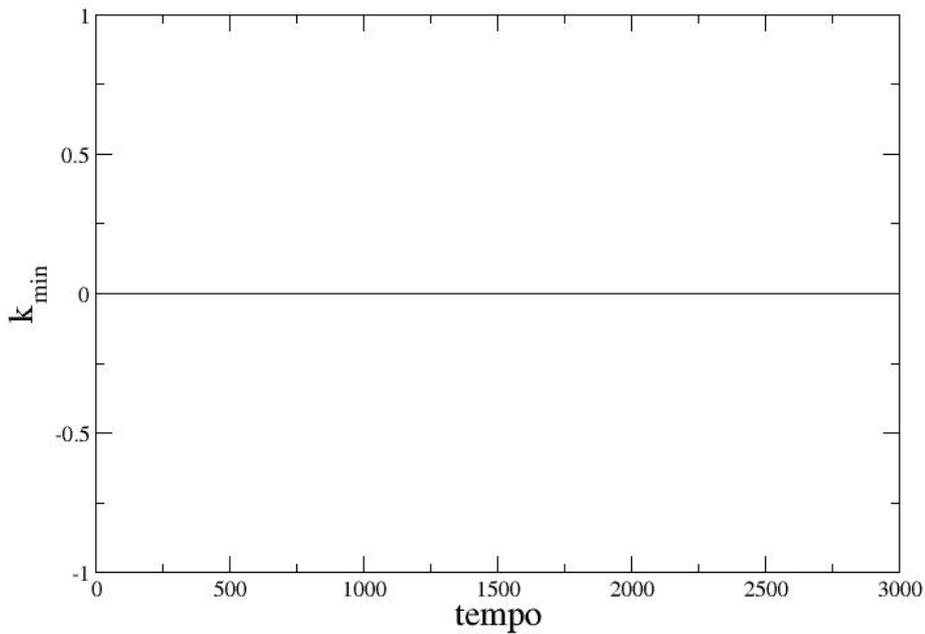


Figura 2.10: Número mínimo de mutações deletérias na população,  $k_{\min}$ , como função do tempo. Nesta figura consideramos tamanho da população  $N=1000$ , taxa de mutação  $U= 0.1$  e desvantagem seletiva  $s= 0.1$ .

Na Figura 2.10 mostramos um exemplo onde a catraca de Muller não atua e, portanto a classe mais adaptada de indivíduos não foi perdida, e  $k_{\min}=0$  para todo o intervalo de tempo. Neste exemplo, aumentamos consideravelmente o parâmetro seletivo  $s$ , ou seja, a seleção natural é bem mais efetiva. Neste caso, tão logo mutantes são gerados, estes são rapidamente eliminados da população por meio da seleção purificada. A distribuição das mutações é estacionária, e é dada por uma distribuição de Poisson de média  $U/s$  conforme ilustra a Figura 2.11.

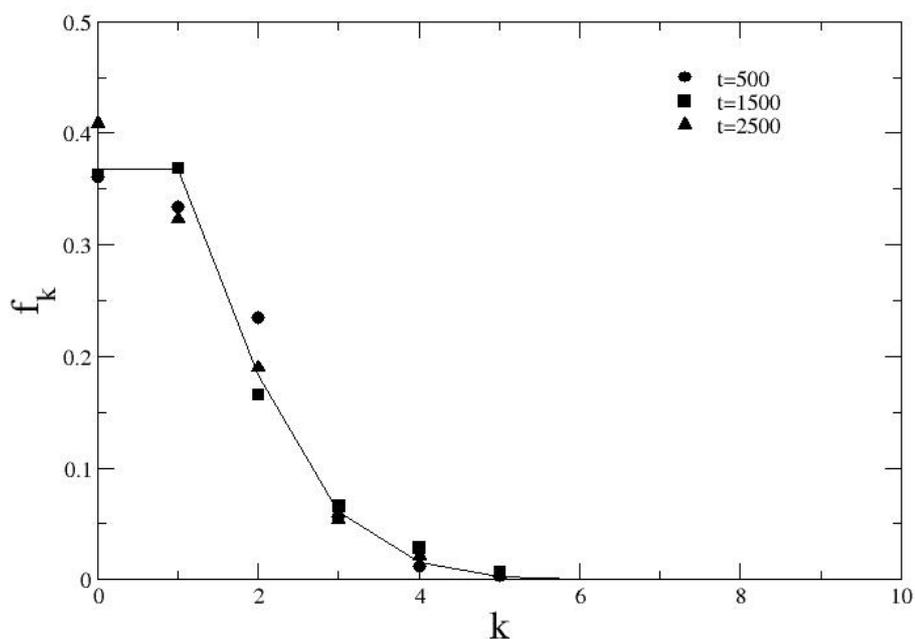


Figura 2.11: Distribuição de freqüências do número de indivíduos com  $k$  mutações na população. Os pontos são os resultados da simulação, enquanto que a curva é uma distribuição de Poisson com parâmetro  $U/s=1$ .

Na Figura 2.12 exibimos os resultados da simulação da velocidade da catraca como função da taxa de mutações deletérias  $U$ , para alguns valores de desvantagem seletiva  $s$ . Como sabemos, a velocidade da catraca é uma função crescente de  $U$ , porém verificamos claramente que para valores abaixo de um certo valor mínimo,  $U_{\min}$ , a catraca não clica. Este valor crítico  $U_{\min}$  depende justamente do valor do parâmetro seletivo  $s$ . Quanto maior  $s$ , maior será  $U_{\min}$ .

Estritamente falando, não podemos afirmar que a catraca nunca clicará para valores de mutação abaixo de  $U_{\min}$ , mas sim que o tempo para a ocorrência de tal evento será demasiadamente longo.

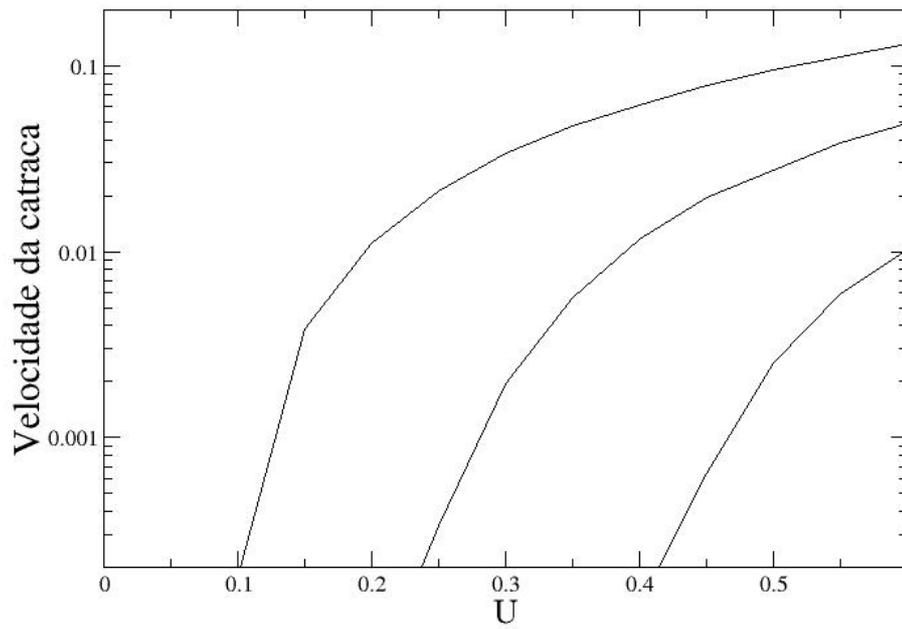


Figura 2.12: Velocidade da catraca em função da taxa de mutação  $U$ . Consideramos tamanho da população  $N=1000$  e parâmetro seletivo  $s= 0.05, 0.10, 0.15$  e  $0.20$  (da esquerda para direita). Para obtenção desses dados o tempo total de simulação foi de 3000 gerações.

### 3. DINÂMICA DE FIXAÇÃO DE MUTAÇÕES BENÉFICAS

A taxa na qual uma população evolui depende do fluxo de mutações favoráveis como também de sua probabilidade de fixação. A probabilidade de fixação de uma dada mutação benéfica é proporcional a vantagem seletiva que esta concede aos indivíduos que adquirem a mutação benéfica. No caso do modelo de dois alelos, onde os indivíduos que possuem mutação benéfica, possuem adaptação igual a  $1 + s_b$ , onde  $s_b$  é a vantagem seletiva da mutação, e os demais indivíduos possuem adaptação igual 1, a chance de que a mutação benéfica alcance a fixação é aproximadamente igual a  $2s_b$  [Haldane (1927)]. A fixação de uma mutação benéfica ocorre quando todos os indivíduos na população adquirem aquela mutação, ou seja, quando o indivíduo que primeiro adquiriu a mutação se torna o ancestral comum da população. A maioria das mutações vantajosas são perdidas nos estágios preliminares de seu surgimento por causa da ação da deriva genética, que são decorrentes de efeitos estocásticos devido a finitude da população. Mas, não apenas a deriva genética afeta o destino das mutações benéficas. Foi verificado que o destino destas mutações é drasticamente afetado pela ocorrência de mutações deletérias [Manning e Thompson (1984), Bachtrog e Gordo (2004), Campos e Oliveira (2004)], reduzindo a probabilidade de fixação das mutações benéficas. Além do mais, as mutações deletérias são muito mais comuns em populações reais do que a ocorrência de mutações benéficas em tais populações. Um outro fenômeno que também pode ser relevante no processo de fixação de mutações favoráveis é o fenômeno de interferência clonal, que é efetiva, principalmente em populações assexuadas (ou seja, onde não há recombinação). Quando duas ou mais mutações benéficas surgem em linhagens distintas numa população assexuada, estas têm que competir para alcançar a fixação com a conseqüente perda dos demais mutações benéficas.

Apesar de recentes estudos sobre o efeito das mutações deletérias no processo de fixação de mutações vantajosas, todos eles têm focado suas investigações supondo que a população tenha alcançado o regime de equilíbrio. Sob esta suposição a freqüência das seqüências livres de mutações deletérias é uma

exponencial com parâmetros  $U_d$  e  $s_d$ ,  $\exp(-U_d/s_d)$ , onde  $U_d$  denota a taxa de mutações deletérias e  $s_d$  o efeito deletério das mutações. Aqueles indivíduos que carregam mutações deletérias estão sujeitos a uma remoção contínua devido à ação da seleção purificada. Entretanto, quando consideramos população finita e valores grandes de taxa de mutação deletéria  $U_d$  pode haver um acúmulo irreversível de mutações deletérias, o que levará também a um declínio constante de adaptação da população. Este processo é conhecido como catraca de Muller, que já apresentamos anteriormente.

Dentro desta linha de trabalho, esta dissertação tem por objetivo principal estudar o processo adaptativo em uma população assexuada onde existe o acúmulo contínuo de mutações deletérias devido à catraca de Muller. Em nosso modelo iremos não apenas assumir mutações deletérias que são mais comuns, mas consideraremos também a ocorrência de mutações benéficas. As mutações benéficas desempenham um papel fundamental pois permitem adaptação depois de uma mudança no meio no qual a população está inserida. Este fato tem sido claramente demonstrado em experimentos com bactérias [Paquin e Adams (1983), Lenski et. Al. (1991)], onde novas condições de laboratório levam à produção regular de mutações benéficas. Algumas das mutações benéficas conferem grandes vantagens seletivas aos mutantes, embora teoricamente se espere que a maior parte das novas mutações, seja de pequeno valor seletivo [Gillespie (1991)]. Mutações benéficas podem também ser importante em meios estáveis. Se as mutações deletérias de pouco efeito forem comuns, então é esperado que algumas destas se fixem na população por deriva genética.

Este processo levará a um permanente declínio na adaptação dos indivíduos, a menos que as mutações reversas ou mutações compensatórias também surjam e se fixem regularmente. Neste contexto, as mutações reversas e mutações compensatórias também são consideradas benéficas [Gerrish e Lenski (1998)]. Existe alguma comprovação experimental de que alguns destes processos ocorram em populações naturais desde que já 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, menos estáveis. Entretanto, é conhecido que a ausência de mudanças substanciais no meio, resulta na rara produção dessas mutações em uma população.

### 3.1 O modelo com mutações benéficas

Consideramos um modelo de evolução de populações compostas por  $N$  indivíduos assexuados e haplóides onde cada indivíduo é representado por uma seqüência infinita de sítios (modelo de infinitos sítios), como já discutimos previamente. A população evolui de acordo com o modelo de Wright – Fisher [Fisher (1930)]. Assumimos uma população sem sobreposição de geração, ou seja, os indivíduos no tempo  $t+1$  são descendentes diretos dos indivíduos no tempo  $t$ . O número de filhos gerados por cada indivíduo é proporcional a sua adaptação.

O efeito de cada mutação deletéria sobre a adaptação do indivíduo é constante, e cada uma reduz a adaptação por um mesmo fator  $(1-s_d)$ . Aqui assumimos também a ocorrência de mutações benéficas que ocorrem a uma taxa  $U_b$ , e o número de mutações benéficas adicionais que um indivíduo pode adquirir durante a reprodução é obtida de uma distribuição de Poisson, ou seja:

$$P_{ben}(n) = \frac{e^{-U_b} U_b^n}{n!} \quad (3.1)$$

Cada mutação benéfica, ao contrário do caso deletério, aumenta a adaptação do indivíduo por um fator  $(1+s_b)$ . Entretanto, o efeito seletivo da mutação vantajosa não será constante como no caso deletério. Esses valores serão estimados de uma distribuição exponencial:

$$G(S_b) = \beta \exp(-\beta S_b), \quad (3.2)$$

onde  $1/\beta$  é o valor esperado da distribuição. Embora seja difícil obter empiricamente tais distribuições de populações reais, foi demonstrado por

meio de teoria de valor extremo [Gillespie (1991)], que a distribuição de efeitos seletivos benéficas deve ser uma exponencial [Orr (2003)].

Neste caso, a grande maioria das mutações possui valor seletivo muito pequeno, e portanto uma chance muito pequena de fixação; enquanto que as mutações de grande valor seletivo e com maior chance de fixação são produzidas raramente [Rozen et. Al. (2002)].

Como estamos considerando o modelo de infinitos sítios, portanto não existem mutações reversas, cada indivíduo é caracterizado pelo número de mutações deletérias  $K_d$  que ele carrega; e também pelo número de mutações benéficas,  $K_b$ , em seu genoma. Assim a adaptação de um indivíduo com  $(K_b, K_d)$  mutações é dado por [Campos e Oliveira (2004)]:

$$\omega(k_b, k_d) = (1 - s_d)^{K_d} \prod_{i=1}^{K_b} [1 + s_b(i)] \quad (3.3)$$

A fixação de uma dada mutação ocorre quando a mutação está presente em todos os indivíduos que compõem a população.

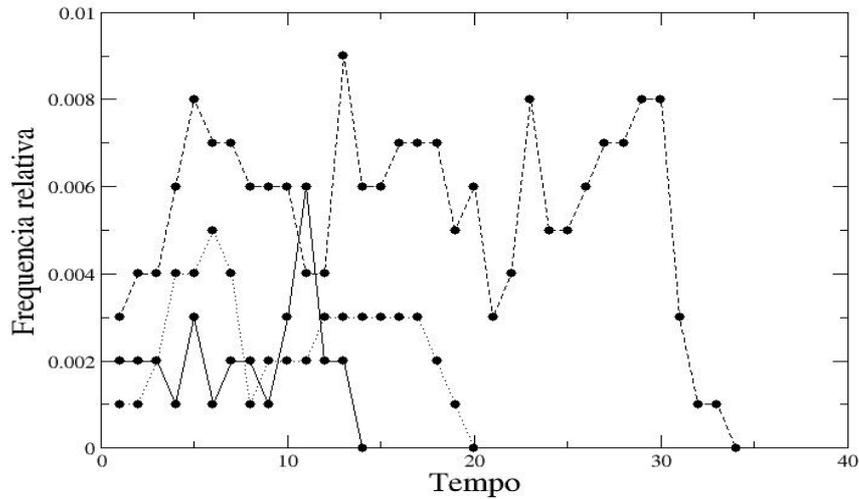


Figura 3.1 Ilustração de eventos de extinção de mutações benéficas. Na Figura mostramos a frequência relativa da mutação benéfica na população em função do tempo. As diferentes curvas correspondem a simulações distintas. Consideramos tamanho da população  $N=1000$ , e a vantagem seletiva  $s_b=0.05$ .

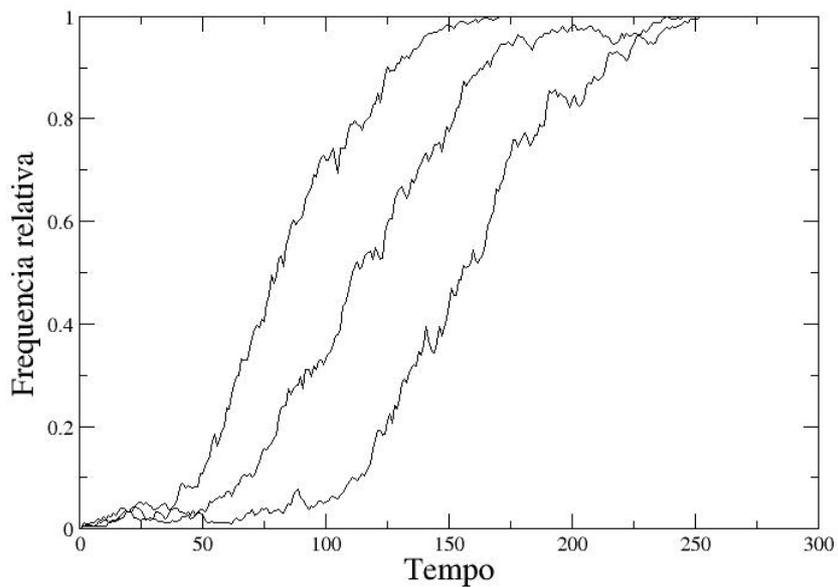


Figura 3.2: Ilustração de eventos de fixação de mutações benéficas. Na Figura mostramos a frequência relativa da mutação benéfica na população em função do tempo. As diferentes correspondem à simulações distintas. Os parâmetros são os mesmos da figura anterior.

### 3.2 Probabilidade de fixação – Predição teórica

Um problema interessante, estudado pela primeira vez no fim do século XIX por Galton (1889) e só resolvido completamente por Steffensen (1930), é o problema da conservação do nome de família. Uma vez que o nome de família se transmite através dos filhos do sexo masculino, é interessante estudar o número total de descendentes masculinos na  $n$ -ésima geração,  $X_n$ , e assim encontrar a probabilidade de extinção do nome de família:

$$P(X_n=0, \text{ para algum } n | X_0 > 0) \quad (3.4)$$

Interessantemente, esta mesma formulação foi aplicada por Haldane [Haldane, 1927], para estudar a probabilidade de fixação de um alelo benéfico, em um modelo de dois alelos. Neste modelo consideramos uma população finita de tamanho  $N$  onde existe um alelo  $A_1$  com valor de adaptação igual a 1 e população inicial  $N-1$  e, um segundo alelo  $A_2$  que possui adaptação  $1+s_b$ , onde  $s_b > 0$  é a vantagem do alelo benéfico, e que tem população inicial de 1 indivíduo. A questão relevante é determinar com que a probabilidade o alelo  $A_2$  se fixará na população (ou seja, atingirá tamanho  $N$ ).

Nas Figuras 3.1 e 3.2 mostramos exemplos de algumas simulações deste modelo. Na Figura 3.1 mostramos exemplos onde o alelo  $A_2$  é perdido, e verificamos que quando isto ocorre, a extinção nos estágios preliminares de seu surgimento devido à deriva genética. Na Figura 3.2 exibimos exemplos de simulação em que ocorre a fixação do alelo  $A_2$ . O tempo que o alelo leva para alcançar fixação, na verdade, depende do parâmetro  $s_b$ . Quanto menor for a vantagem seletiva  $s_b$  maior será o tempo que levará para alcançar frequência igual a 1.

A seguir vamos calcular teoricamente a probabilidade de fixação de um alelo benéfico  $A_2$  que possui vantagem seletiva  $s_b$ .

### 3.2.1 Processo de Ramificação de Galton - Watson

Definimos a função geratriz  $f(z)$  escrita como:

$$f(z) = \sum_{k=0}^{\infty} p_k z^k \quad |z| \leq 1 \quad (3.5)$$

onde  $p_k$  é a probabilidade de termos  $k$  indivíduos em uma dada geração.

Como condição inicial temos  $f_0(z)=z$ , desde que iniciamos a população com uma única mutação benéfica. Para sabermos a distribuição  $P(k_n=k) = p_k$  no tempo  $t=1$  fazemos  $f_1(z)=f(z)$ . De forma geral,

$$f_{n+1}(z) = f_n[f(z)] \quad n = 1, 2, \dots \quad (3.6)$$

Para obtermos a distribuição do número de indivíduos em uma dada geração  $n$ , realizamos aplicações recorrentes da função geratriz, ou seja:

$$f_{(n+1)} = f[f_{(n)}] \quad , onde \quad n = 1, 2, \dots \quad (3.7)$$

Queremos obter a distribuição no regime estacionário, e neste caso  $f_{n+1} = f_n$ .

Sabendo que inicialmente a população é composta por  $N$  indivíduos, e que apenas um possui a mutação benéfica, com adaptação  $1+s_b$ , a probabilidade de que um dado indivíduo no tempo  $t=1$  seja também do tipo  $A_2$  é dado por:

$$p = \frac{1 + s_b}{N + s_b} \quad (3.8)$$

Onde  $N+s_b$  é a adaptação total da população. A chance de que este indivíduo seja selecionado  $k$  vez para compor a geração no tempo posterior segue uma distribuição binomial:

$$p_k = \binom{N}{k} p^k (1-p)^{N-k} \quad k=1, 2, \dots, N \quad (3.9)$$

Quando tomamos o limite  $N \rightarrow \infty$ , e portanto  $p \rightarrow 0$ , a distribuição acima pode ser aproximada por uma distribuição de Poisson de valor médio  $Np \cong 1+s_b$ , e assim:

$$p_k = \frac{e^{-(1+s_b)} (1+s_b)^k}{k!} \quad (3.10)$$

Substituindo a Eq. (3.10) na Eq. (3.9) obtemos para a função geratriz:

$$f(z) = \sum_{k=0}^{\infty} \frac{e^{-(1+s_b)} (1+s_b)^k}{k!} z^k = \quad (3.11)$$

$$f(z) = e^{-(1+s_b)} \sum_{k=0}^{\infty} \frac{(1+s_b)^k}{k!} z^k = e^{-(1+s_b)} e^{-(1+s_b)z} = e^{-(1+s_b)(1-z)}$$

No regime estacionário  $f(z)=z$  logo  $z = e^{-(1+s_b)(1-z)}$  e a probabilidade de fixação  $\pi = 1-z$ , é obtida da relação:

$$1 - \pi = e^{-(1+s_b)\pi} \quad (3.12)$$

$$\pi = 1 - e^{-(1+s_b)\pi}$$

Para pequenos valores de  $s_b$  e utilizando a expansão de Taylor até segunda ordem obtemos  $\pi \cong 2s_b$ , ou seja, a probabilidade de fixação de uma mutação benéfica é aproximadamente duas vezes seu valor seletivo. Como a grande maioria das mutações benéficas confere uma pequena vantagem seletiva, a maioria destas não alcança fixação e são rapidamente eliminadas devido à ação da deriva genética. Por exemplo, uma vantagem seletiva de 1%,  $s_b = 0.01$ , só alcança a fixação em 2% das ocorrências.

Na figura 3.3 apresentada a seguir exibimos a probabilidade de fixação como função de vantagem seletiva  $s_b$ . Os pontos correspondem aos resultados de simulação, enquanto que a linha é a predição teórica. A concordância é muito satisfatória.

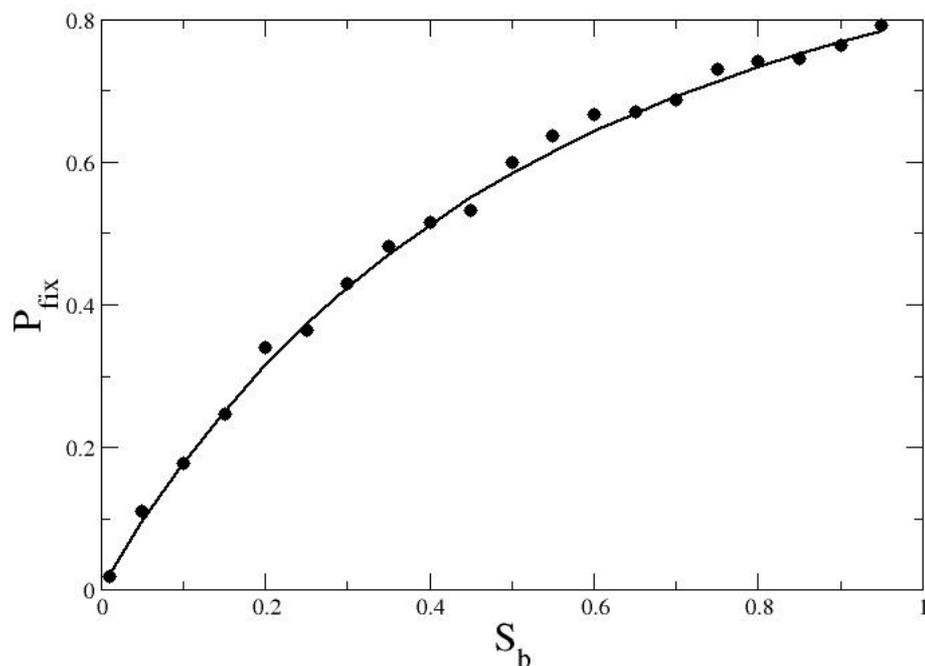


Figura 3.3: Probabilidade de fixação dos indivíduos num modelo de dois alelos em função da vantagem seletiva  $s_b$ . A curva é a predição teórica e os pontos são dados da simulação. Consideramos tamanho da população  $N=1000$ .

### 3.3 Processo de Ramificação em um fundo genético heterogêneo

Agora vamos discutir a formulação do processo de ramificação para o caso onde há a ocorrência de mutações deletérias, ao contrário do que é assumido no modelo de dois alelos. Naquele caso havia apenas dois valores distintos de adaptação, 1 e  $1 + s_d$ .

Quando as mutações deletérias ocorrem o valor adaptativo de um indivíduo, com  $k$  mutações deletérias é dado por  $\omega_i = (1 - s_d)^k$ , caso ele não possua mutações benéficas. O indivíduo que possui uma mutação benéfica (aqui vamos assumir a ocorrência de uma única mutação benéfica) terá adaptação igual a  $(1 + s_b) (1 - s_d)^k$ .

A mutação benéfica poderá acontecer em um indivíduo que já carrega um certo número de mutações deletérias. Como a formulação de processos de ramificação apenas é válida quando assumimos uma população em equilíbrio, a probabilidade de que a mutação benéfica ocorra em um indivíduo com  $k$  mutações deletérias é igual a freqüência de equilíbrio da classe de indivíduos com  $k$  mutações deletérias, que é dada por:

$$f_K = \frac{e^{-\lambda} \lambda^k}{k!} \quad (3.13)$$

que é uma distribuição de Poisson de média  $\lambda = U_d/s_d$ , resultado este obtido por Haigh (1978).

O número médio de proles  $n_i$  gerado por um dado indivíduo em uma dada geração é seu valor de adaptação dividido pelo valor médio seletivo de população,  $n_i = \omega_i / \bar{\omega}$ . Porque as mutações benéficas são raras por suposição,  $\bar{\omega}$  é igual ao valor médio da subpopulação original, e como assumimos que esta está em equilíbrio  $\bar{\omega} = e^{-u}$  [Kimura e Maruyama (1966)].

Assim,

$$n_i = \omega_i e^u \quad (3.14)$$

Na formulação original apresentado por Haldane (1927),  $n_i$  é exatamente o mesmo para todos os descendentes, assim  $n_i = 1+s_b$  (modelo de dois alelos) e, portanto é constante no tempo. Barton (1995) aplicou a teoria de processos de ramificação multi-tipos para estudar como as probabilidades de fixação são influenciadas quando  $n_i$  varia de acordo com o “sítio” em que uma dada cópia de mutação benéfica é encontrada. Neste caso, o sítio se refere ao número de mutações deletérias.

Seja  $Q_{i,t}$  a probabilidade de que uma única cópia de mutação benéfica esteja presente no sítio  $i$  na geração  $t$  seja perdida da população, e assim não alcance a fixação. Uma expressão para  $Q_{i,t}$  pode ser obtida somando-se sobre todos os possíveis números de filhos e todos os possíveis movimentos entre os

sítios. Se cada cópia do alelo presente no sítio  $i$  no tempo  $t$ , independentemente, dá surgimento a  $n_i$  filhos, onde  $n_i$  é obtido de uma distribuição de Poisson de média  $n_{i,t}$  e a probabilidade independente de que cada um desses filhos estará no sítio  $j$  no tempo  $t+1$  é  $m_{i,j}$ ; e cada filho no sítio  $j$  tem probabilidade independente  $Q_{j,t+1}$  de se perder, então:

$$Q_{i,t} = \sum_{n=0}^{\infty} \frac{e^{-n_{i,t}} (n_{i,t})^n}{n!} (Q_{i,t}^*)^n = \exp[n_{i,t} (Q_{i,t}^* - 1)] \quad (3.15)$$

Onde:

$$Q_{i,t}^* = \sum_{n=0}^{\infty} m_{i,j} (Q_{j,t+1}), \quad (3.16)$$

é a probabilidade de extinção dado que o alelo no tempo  $t$  tem exatamente um filho.

É conveniente contudo escrever a Eq. (3.15) em termos da probabilidade  $P_i^*$  de que um alelo benéfico no sítio  $i$  nunca seja perdido, onde  $P_i^* = 1 - Q_i^*$ . Da Eq. (2.7) temos que a probabilidade de que uma dada cópia de alelo benéfico no sítio  $i$  seja movido para o sítio  $i+j$  (por meio de mutações) é dado por:

$$m_{i,i+j} = \frac{e^{-U} U^j}{j!} \quad (3.17)$$

Substituindo Eqs. (3.16) e (3.17) na Eq.(3.15) obtemos:

$$P_{i,t} = 1 - \exp\left[-n_{i,t} \sum_{j=0}^{\infty} \frac{e^{-U} U^j}{j!} P_{i+j,t+1}\right] \quad (3.18)$$

Como  $n_{i,t} = \omega_i e^U$ , e como desejamos encontrar a solução de regime estacionário,  $P_{i,t} = P_{i,t+1} = P_i$ , resolvemos numericamente o seguinte conjunto de equações:

$$P_i = 1 - \exp\left[-\omega_i \sum_{j=0}^{\infty} \frac{U^j}{j!} P_{i+j}\right] \quad (3.19)$$

Uma vez obtido o conjunto dos valores  $P_i$ , a probabilidade de fixação é calculada por meio de:

$$P_{fix} = \sum_i P_i f_i \quad (3.20)$$

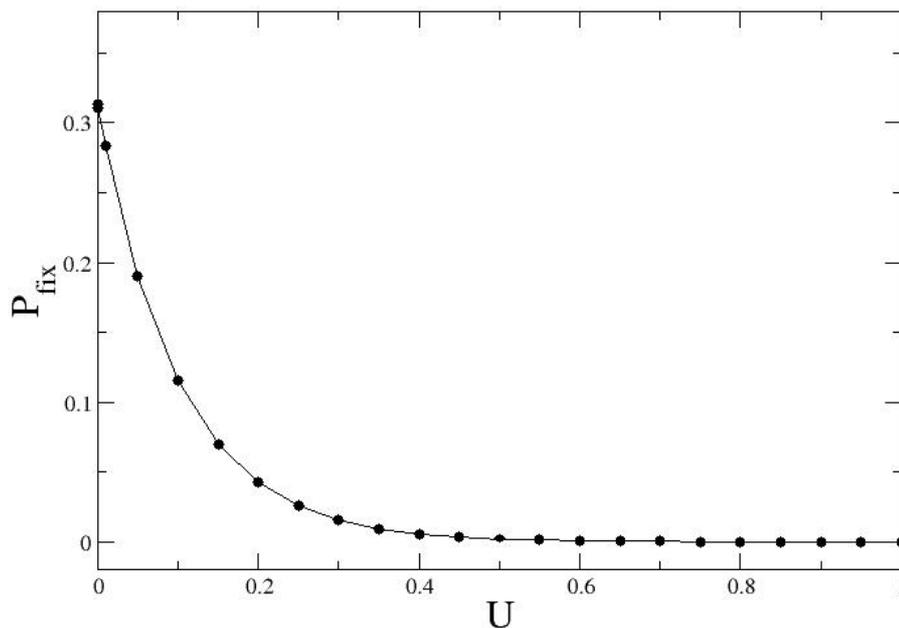


Figura 3.4: Probabilidade de fixação  $P_{fix}$  como função da taxa de mutações deletérias  $U$ .

Na Figura 3.4 mostramos a probabilidade de fixação como função da taxa de mutação deletéria  $U_d$ . Tendo considerado  $s_b = 0.2$  e  $s_d = 0.1$ . Como verificamos a probabilidade de  $P_{fix}$  é fortemente afetada pela ocorrência de mutações deletérias e é uma função decrescente desta. A medida em que incrementamos  $U_d$ , maior é a chance de que a mutação benéfica ocorra em um indivíduo pouco adaptado o que levará a conseqüente eliminação.

## 4. POPULAÇÕES FORA DO EQUILÍBRIO

Em estudos recentes se investigou o efeito das mutações deletérias no processo de fixação de mutações vantajosas [Johnson e Barton (2002), Oliveira e Campos (2004), Campos e Oliveira (2004)]. Entretanto a maioria deles foca suas investigações assumindo que a população tenha alcançado o regime de equilíbrio. Sob esta suposição a frequência de indivíduos livres de alelos deletérios é  $\exp(-U_d/s_d)$ , onde  $U_d$  é a taxa de mutações deletérias e  $s_d$  é a desvantagem seletiva para cada mutação deletéria [Haigh (1978), Higgs e Woodcock (1994), Charlesworth (1990)]. Os indivíduos que carregam as mutações deletérias são continuamente removidos pela seleção purificada e gerados pela pressão mutacional. Contudo, quando consideramos populações finitas e valores grandes da taxa de mutação  $U_d$ , as populações assexuadas podem sofrer um acúmulo de mutações deletérias irreversíveis, que pode resultar num contínuo declive na adaptação da população. Este processo é conhecido com catraca de Muller [Muller (1964) Gordo e Charlesworth (2001)] que já discutimos amplamente no capítulo 2. Oposto a isto, a reprodução sexual pode evitar o processo de acúmulo deletério e esta é a razão pela qual a catraca de Muller foi indicada com uma possível vantagem do sexo [Muller (1964), Charlesworth (1990)] e a evolução dos cromossomos sexuais [Charlesworth (1978), Gordo e Charlesworth (2001)]. Nesta dissertação, nós estudaremos o processo adaptativo em populações assexuadas onde ocorre a contínua acumulação de mutações deletérias devido à catraca de Muller. Em nosso modelo, supomos a ocorrência de mutações deletérias que são as mais comuns, e também a ocorrência de mutações benéficas. Nós estudaremos a situação em que a catraca de Muller opera, e assim o regime de equilíbrio nunca é alcançado.

Durante as simulações, armazenamos as seguintes informações: o número mínimo de mutações deletérias em toda a população,  $k_{\min}$ ; o número médio de

mutações deletérias,  $k_{av}$ ; o número médio de mutações deletérias que alcançaram a fixação,  $k_{fix}$ . Entretanto todos têm comportamentos qualitativos idênticos e mostraremos apenas o comportamento de  $k_{min}$ . A respeito das mutações favoráveis, medimos o número das mutações benéficas que alcançaram fixação,  $k_b$ , e também os efeitos seletivos médio dessas mutações, que representamos por  $s_{med}$ . O efeito seletivo médio  $s_{med}$  é estimado pela soma dos efeitos seletivos das mutações benéficas que alcançaram fixação, dividido pelo número total de fixações.

#### **4.1 Dependência da velocidade da catraca com o fluxo de mutações benéficas**

Na Figura 4.1 nós exibimos a distribuição do número de mutações deletérias em uma única simulação em três gerações distintas:  $t = 500$ ,  $t = 1500$  e  $t = 2500$ . Na parte (a) da figura a taxa de mutações benéficas  $U_b$  é zero, na parte (b)  $U_b = 10^{-4}$ , e na parte (c)  $U_b = 10^{-3}$ . Em todas as situações observamos a perda da classe dos indivíduos menos sobrecarregada de mutações em um tempo posterior, o que demonstra que a Catraca de Muller está operando. Entretanto, observamos que a medida que aumentamos a taxa de mutações benéficas o deslocamento das distribuições para valores maiores de  $k$  é acentuada. Ou seja, uma taxa de  $U_b$  maior acarreta uma perda mais rápida das classes de indivíduos mais adaptados e, conseqüentemente, uma velocidade de catraca maior. Isto considerando o mesmo valor de taxa de mutação deletéria  $U_d$  e mesmo valor de parâmetro seletivo  $s_d$ .

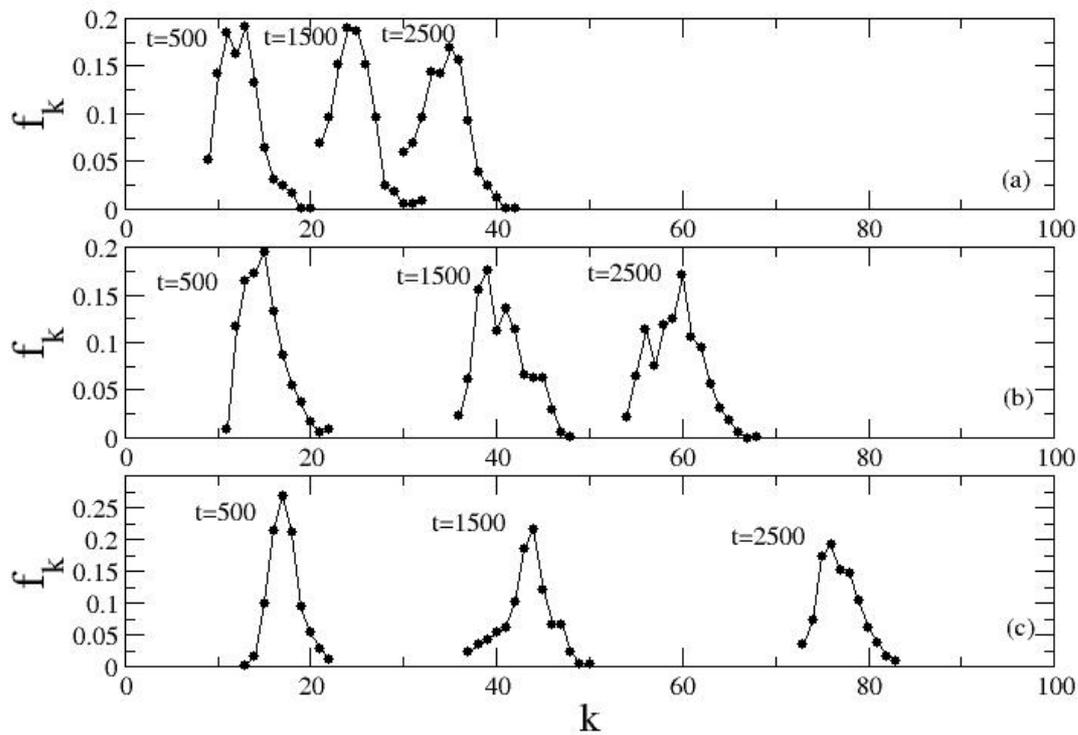


Figura 4.1: Distribuição de freqüências do número de indivíduos com  $k$  mutações na população para uma única simulação. A Figura mostra a distribuição  $f_k$  nas gerações (da esquerda para direita):  $t = 500$ ,  $t = 1500$  e  $t = 2500$ . Com os parâmetros  $N = 1000$ ,  $s_d = 0.02$ ,  $U_d = 0.1$  e  $\beta = 20$ . (a)  $U_b = 0$ , (b)  $U_b = 1 \times 10^{-4}$  (c)  $U_b = 1 \times 10^{-3}$ .

Na Figura 4.2 mostramos o número mínimo de mutações em uma população em função do tempo para diversos valores da taxa de mutações vantajosas (benéficas)  $U_b$ , para uma única simulação. Mais uma vez fica evidente que uma taxa de mutação benéfica maior leva a uma eliminação mais rápida das classes de indivíduos mais adaptados na população.

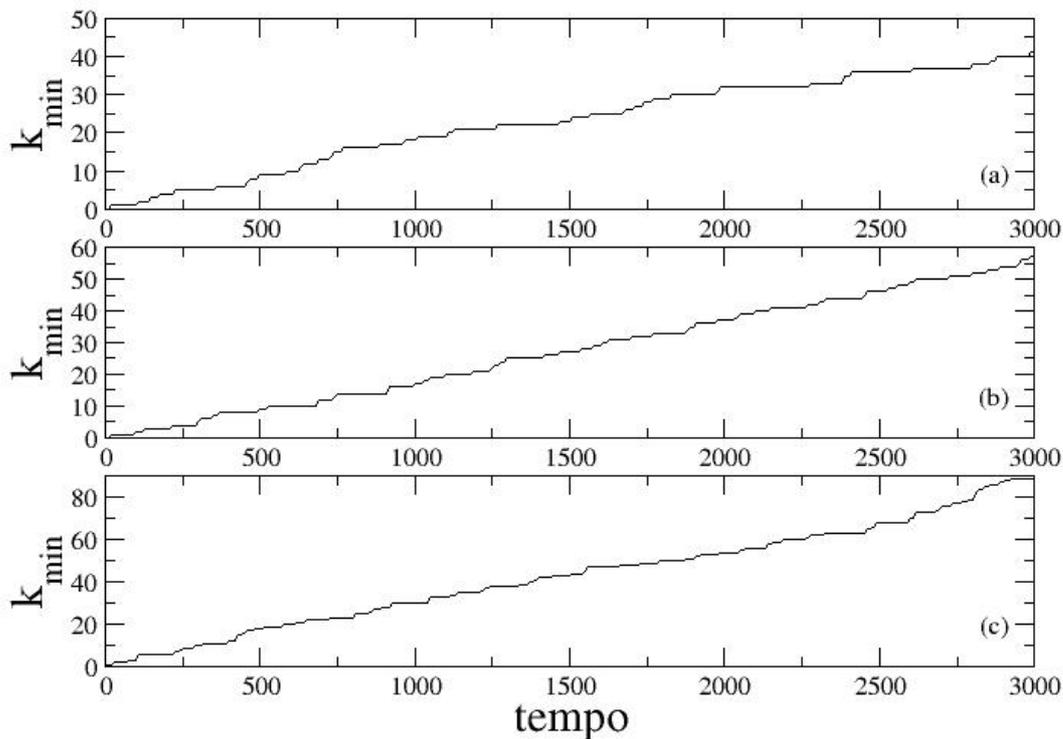


Figura 4.2: Número mínimo de mutações deletérias na população,  $K_{\min}$ , em função do tempo. Nesta figura consideramos tamanho da população  $N=1000$ , taxa de mutação  $U_d= 0.2$  e desvantagem seletiva  $s_d= 0.01$  e  $\beta= 20$ . (a)  $U_b = 0$  (b)  $U_b = 1 \times 10^{-4}$  (c)  $U_b = 1 \times 10^{-3}$ .

Na Figura 4.3 mostramos o número mínimo de mutações em uma população em função do tempo para diversos valores da taxa de mutações vantajosas  $U_b$ . Os dados são referentes a médias sobre 1000 simulações independentes. Na parte (a) nós consideramos efeito seletivo médio das mutações benéficas  $1/\beta = 0.05$  (ou seja, maior que  $s_d$ ), e na parte (b)  $1/\beta = 0.0067$  (menor que  $s_d$ ). As linhas distintas denotam taxas diferentes de mutações vantajosas (benéficas). Em todas as situações,  $k_{\min}$  é bem descrito por uma linha reta. Da parte (a) constatamos que enquanto nós incrementamos a taxa  $U_b$  a inclinação das linhas também aumenta. A inclinação das linhas corresponde à velocidade da catraca, e assim o fluxo mais elevado das mutações favoráveis significa uma acumulação mais rápida das mutações deletérias. Sob essas circunstâncias, as mutações deletérias podem também ser levada à fixação pela ligação com aquelas mutações benéficas que alcançam fixação, e este processo

é conhecido como *Hitchhiking effect* (efeito carona), ilustrado na Figura 4.4 [Bachtrog e Gordo (2004), Rice (1987)]. Na parte (b), onde o efeito médio seletivo das mutações desvantajosas é menor do que o custo associado a cada mutação deletéria, nós verificamos que quando incrementamos  $U_b$  um efeito pronunciado é apenas perceptível somente quando a taxa  $U_b$  é extremamente elevada. Para valores pequenos e intermediários de  $U_b$ , a velocidade da catraca não é sensível ao fluxo das mutações benéficas, e o efeito carona não é tão pronunciado. Quando o  $U_b$  é muito grande, há alguma possibilidade que mais de uma mutação benéfica aconteça no mesmo genoma, aumentando o efeito benéfico líquido das mutações favoráveis.

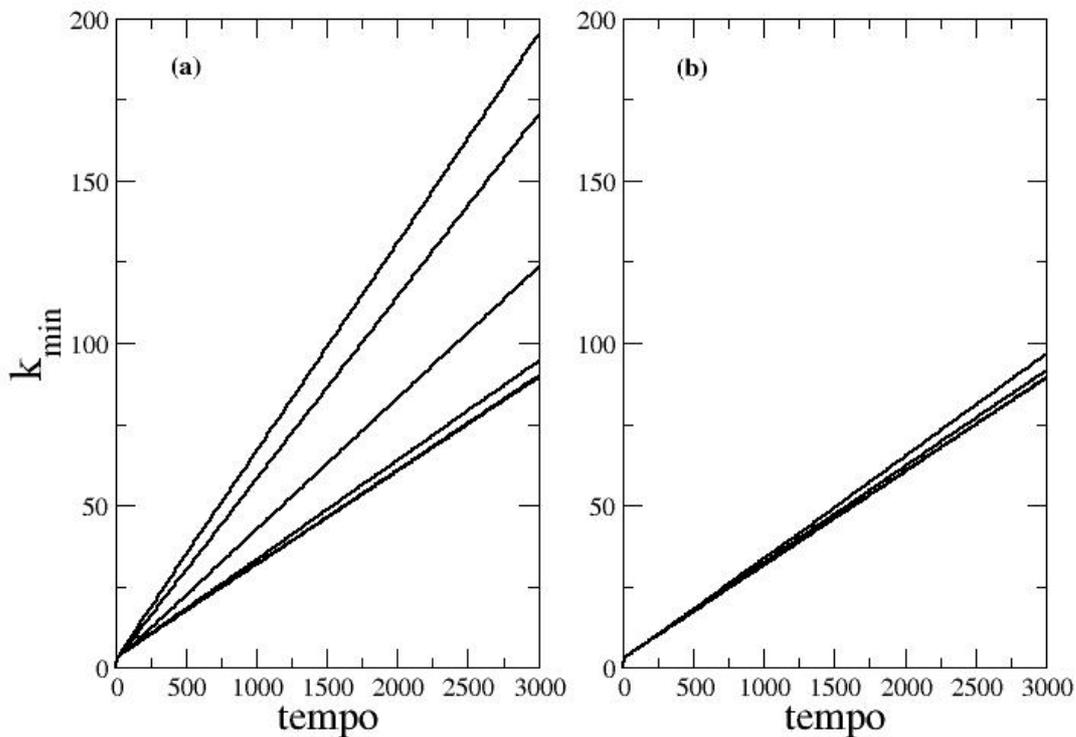


Figura 4.3: Número mínimo de mutações deletérias em uma população,  $k_{\min}$ , em função do tempo. Os valores de parâmetros são  $N= 1000$ ,  $U = 0.1$ ,  $S_d = 0.01$ , e de baixo para cima  $U_b = 1 \times 10^{-7}$ ,  $U_b = 1 \times 10^{-6}$ ,  $U_b = 1 \times 10^{-5}$ ,  $U_b = 1 \times 10^{-4}$ ,  $U_b = 1 \times 10^{-3}$  e  $U_b = 5 \times 10^{-3}$ . Na parte (a) nós temos  $\beta=20$ , e na parte (b)  $\beta=150$ .

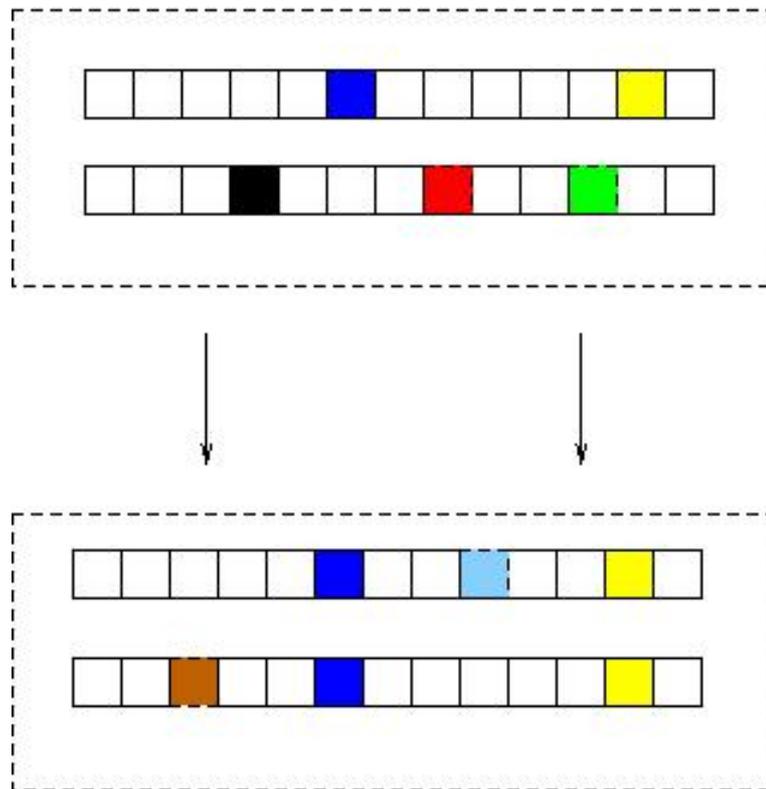


Figura 4.4 Ilustração do *Hitchhiking effect* (Efeito carona). A cor Azul escuro denota a mutação benéfica, enquanto as demais correspondem às mutações deletérias. Temos uma população de tamanho  $N=2$ , e a mutação benéfica (azul escuro) alcança fixação, levando também a fixação de mutação deletéria cor amarela.

Na Figura 4.5 nós exibimos a velocidade da catraca, ou seja, a inclinação da reta de  $k_{\min}$  em função do tempo, como função da taxa de mutações benéficas em função de  $U_b$ . Os pontos correspondem aos resultados das simulações calculados sobre 1000 configurações independentes. Claramente verificamos que para valores muito pequenos de  $U_b$  a velocidade da catraca é praticamente constante, o que significa que o efeito carona acontece muito raramente. Isto se deve ao fato, que quando o fluxo de mutações benéficas é pequeno a taxa de fixação de mutações benéficas é também reduzida. Uma clara transição ocorre para valores grandes de  $U_b$  e, um crescimento pronunciado é obtido.

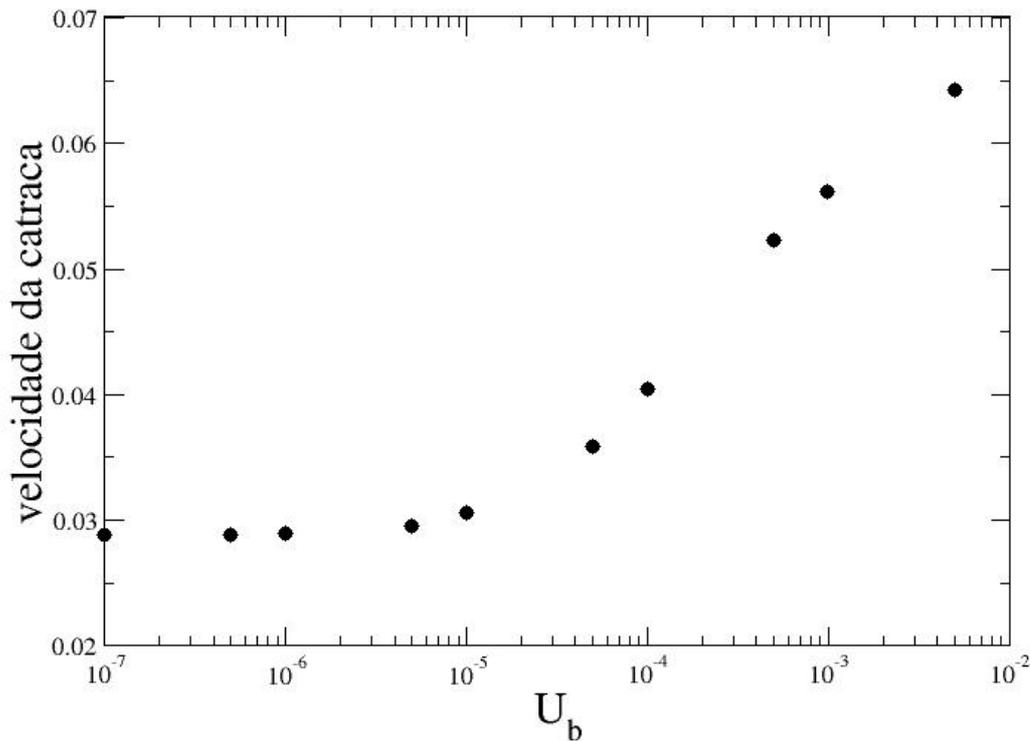


Figura 4.5: Velocidade da catraca como função da taxa de mutação  $U_b$ . Os valores de parâmetros são  $N= 1000$ ,  $U_d = 0.1$ ,  $s_d = 0.01$ , e  $\beta= 20$ .

Agora focaremos nossa análise na dinâmica das mutações benéficas em uma população fora do equilíbrio.

Iremos agora estimar a taxa de fixação de mutações benéficas, que é medida como o número de fixações ocorridas em um intervalo de tempo dividido por este intervalo, como função da taxa de mutações benéficas. Comparamos os resultados de simulação computacional, que correspondem ao regime de não-equilíbrio, com a previsão teórica, onde assume-se a existência de uma população em equilíbrio. Para obtermos a curva teórica utilizamos a teoria de processos de ramificação [Johnson e Barton (2002), Campos e Oliveira (2004)] em fundo heterogêneo (já descrito anteriormente). Assim a taxa de fixação  $R_b$  é estimada por  $R_b = N \times U_b \times P_{\text{fix}}(U, s_b, \beta)$ , onde  $N \times U_b$  é o número de mutações benéficas por geração e  $P_{\text{fix}}$  é a probabilidade de fixação de uma mutação benéfica cujo efeito seletivo é obtido de uma distribuição exponencial de

parâmetro  $\beta$ .  $P_{\text{fix}}$  é obtido das relações de recorrência descritas nas Eq. (3.19) e Eq. (3.20).

Entretanto como nós consideramos que o efeito benéfico das mutações vantajosas segue uma distribuição exponencial, segundo a Eq. (3.2), a probabilidade de fixação  $P_{\text{fix}}(U_d, s_d, \beta)$  é obtida numericamente da equação abaixo:

$$P_{\text{fix}}(U_d, s_d, \beta) = \int_0^{\infty} G(s_b) P_{\text{fix}}(U_d, s_d, s_b) ds_b \quad (4.1)$$

Além de assumir uma população em equilíbrio, a predição teórica para a taxa de adaptação não leva em conta a competição entre mutações benéficas distintas, a assim deve sobreestimar a taxa de fixação para um  $U_b$  grande, onde a interferência clonal se torna um mecanismo relevante.

Como podemos verificar da Figura 4.6, os resultados da simulação mostram que onde a taxa de fixação  $R_b$  é mais elevada em uma população onde a catraca de Muller opera do que o valor previsto para uma população sob balanço mutação-seleção (equilíbrio) para a maioria dos valores do parâmetro  $U_b$ . Entretanto, quando  $N \times U_b \cong 1$  a interferência clonal torna-se relevante, e  $R_b$  tende para seu valor de saturação, onde a adaptação é máxima. Em torno de  $NU_b \cong 1$ , mutações benéficas em linhagens distintas surgem e, em populações assexuadas, elas devem competir para alcançar fixação com a conseqüente eliminação de seus competidores. Estas competições entre as mutações favoráveis impõem um limite na velocidade da adaptação [Orr (2000), Campos e Oliveira (2004)], e aumentam também o tempo entre eventos de fixação. Estes resultados demonstram que a interferência clonal é ainda relevante mesmo em um regime de não-equilíbrio. Por tudo isto, observamos uma saturação nos dados da simulação para  $U_b \cong 1/N$ .

Observamos ainda que os resultados da simulação não são muito sensíveis a um aumento da taxa de mutação deletéria, e um colapso das curvas para  $U_d=0.1$  e  $U_d=0.2$  é visto. Por outro lado, a predição teórica para a taxa de

substituições em uma população de equilíbrio apresenta uma diminuição considerável com o incremento de  $U_d$ . Entretanto a linha teórica continua ainda a crescer indefinidamente com  $U_b$ , desde que a interferência clonal não é considerada na aproximação. Estes resultados demonstram que a discordância entre a taxa de fixação esperada  $R_b$  para uma população fora de equilíbrio e uma população em equilíbrio é maior quando consideramos valores maiores de mutações deletérias  $U_d$ .

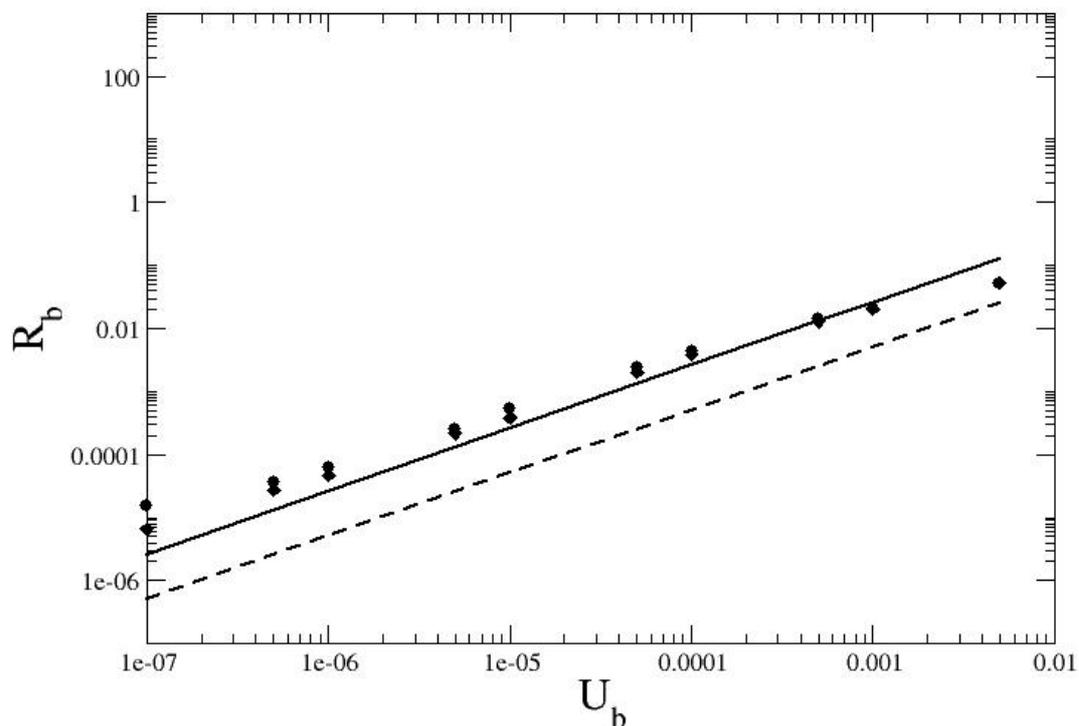


Figura 4.6: Taxa de fixação das mutações vantajosas (benéficas) como função da taxa de mutação  $U_b$ . Os parâmetros são  $N= 1000$ ,  $U_d=0,1$ ,  $s_d=0,01$ ,  $\beta=20$ . Os pontos correspondem ao resultado da simulação, a linha cheia é a predição teórica  $R_a = N \times U_b \times P_{fix}(U, S_d, \beta)$  para  $U_d=0.1$  e a linha tracejada é a predição para  $U_d =0.2$ .

Uma outra medida estatística relevante é a quantidade  $s_{med}$ , que representa o valor médio do efeito benéfico daquelas mutações que alcançaram a fixação. Numericamente, podemos estimar  $s_{med}$  por meio da relação:

$$s_{med} = \frac{1}{P_{fix}} \int_0^{\infty} s_b G(s_b) P_{fix}(U_d, s_d, s_b) ds_b \quad (4.2)$$

Na Figura 4.7 nós exibimos o efeito seletivo médio daquelas mutações favoráveis que alcançaram a fixação,  $s_{med}$ , em função de  $U_b$ . Outra vez, nós comparamos os resultados da simulação com a predição teórica para uma população em equilíbrio. Observamos que  $s_{med}$  para populações fora do equilíbrio é consideravelmente menor do que o valor estimado para o regime do equilíbrio. Da Figura 4.6 verificamos que de fato a ocorrência da catraca de Muller aumenta a probabilidade de fixação das mutações benéficas, isto é, significa que mais mutações vantajosas alcançam a fixação em um certo intervalo de tempo. Conseqüentemente as mutações de efeito benéfico menor podem também alcançar fixação, e assim os valores médios daquelas mutações são reduzidos em comparação a situação de equilíbrio, de acordo com o que nós observamos na Figura 4.7. Quando  $U_b$  é muito grande, a interferência clonal torna-se uma força principal, e agora a competição entre as mutações benéficas conduz a perda daquelas mutações de efeito seletivo pequeno. Na região de  $U_b$  grande, a predição teórica subestima  $s_{med}$  porque não considera a interferência clonal.

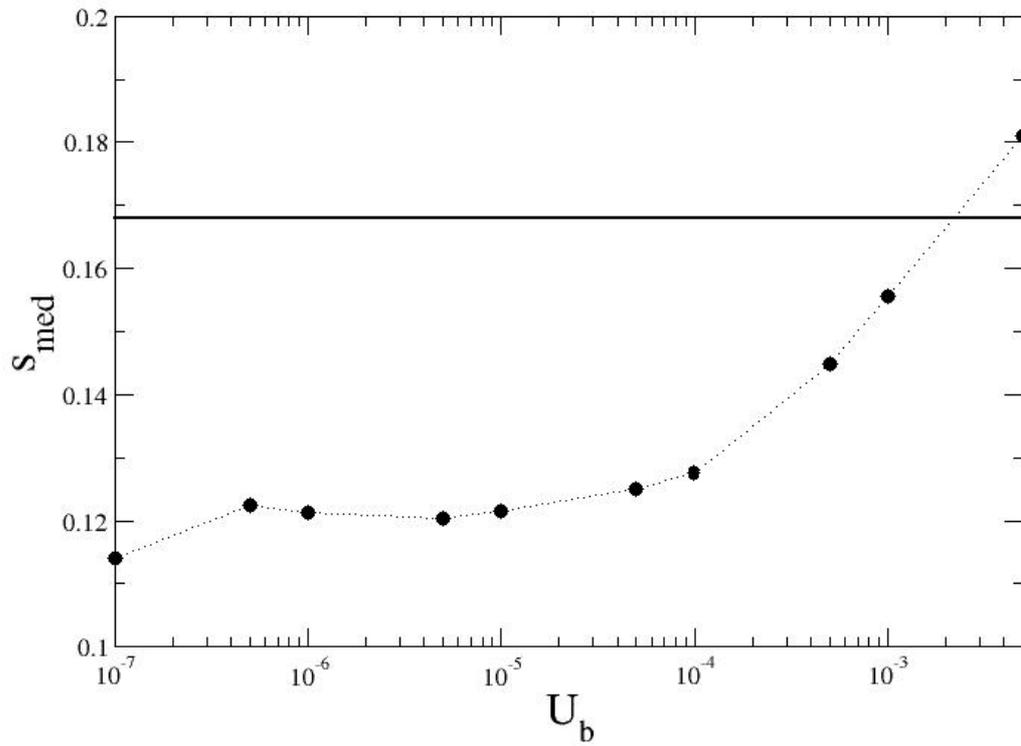


Figura 4.7: Efeito seletivo médio das mutações benéficas  $s_{med}$  em função da taxa de mutação  $U_b$ . Os parâmetros  $N= 1000$ ,  $U_d=0,1$ ,  $s_d=0,01$ ,  $\beta=20$ . Os pontos correspondem ao resultado da simulação, a linha cheia é a predição teórica.

## 5. CONCLUSÕES

Nesta dissertação investigamos o processo adaptativo em populações finitas sujeitas à ocorrência de mutações deletérias como também benéficas. Sabemos que a pressão mutacional contínua em populações finitas pode levar ao declínio constante da adaptação das populações devido à extinção dos indivíduos mais adaptados ao meio em que vivem. Neste caso, mutações benéficas são necessárias para contrabalançar este efeito, como também aprimorar a adaptação dos seres.

Contra intuitivamente, é observado que a ocorrência e posterior fixação de mutações benéficas pode acelerar a fixação de mutações deletérias, um efeito que denominamos de *hitchhiking effect* (efeito carona). Neste trabalho quantificamos este fenômeno por meio de simulações computacionais extensivas. Verificamos que este efeito é pronunciado quando a vantagem seletiva média das mutações benéficas é maior ou igual ao efeito deletério das mutações.

Estudamos ainda o processo de fixação das mutações benéficas em populações fora do equilíbrio, ou seja, onde a Catraca de Muller ocorre. Neste caso, observamos que a taxa de fixação de mutações benéficas é maior que o esperado para uma população em equilíbrio. Além do mais, o valor da taxa de fixação  $R_b$  não é muito afetada pelo aumento da taxa de mutações deletérias  $U_d$ . Como consequência o efeito seletivo médio das mutações é inferior ao estimado para uma população em equilíbrio.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

BARTON, N. H. (1995). Linkage and the limits to natural selection. **Genetics** **140(2)**, 821 – 41.

CAMPOS, P. R. A. FONTANARI, J. F. (1998). Finite-size scaling of the quasispecies model. **Physical Review E - Statistical Physics, Plasmas, Fluids And Related Interdisciplinary Topics** **58**, 2664 – 2667.

CAMPOS, P. R. A. OLIVEIRA, V. M. (2004). Mutational effects on the clonal interference phenomenon. **Evolution** **58 (5)**, 932 – 937.

CHARLESWORTH, B. (1978). Model for evolution of Y chromosomes and dosage compensation. **Proceedings of the National Academy of Sciences PNAS** **75**, 5618 – 5622.

CHARLESWORTH, B. (1990). Mutation-selection balance and the evolution advantage of sex and recombination. **Genetical Review** **55**, 199 – 211.

CHAO, L. (1997). Evolution of sex and the molecular clock in RNA viruses. **Genetics** **205**, 301– 308.

COLATO, A. FONTANARI, J. F. (2001). Soluble model for the accumulation of mutations in asexual populations. **Physical Review Letters** **87**, 238102.

FISHER, R. A. (1930). **The genetical theory of natural selection**. Clarendon Press, Oxford, U. K. .

GALTON, F. (1889). **Natural Inheritance**. MacMillan Co., London.

GERRISH, P. J. LENSKI, R. E. (1998) The causes of molecular evolution.

**Genetica 102-103, 127 – 144.**

GILLESPIE, J. H. (1991) **The causes of molecular evolution.** Oxford University Press, Oxford, 1991.

GORDO, I. CHARLESWORTH, B. (2000). On the speed of muller's ratchet.

**Genetics 156, 2137– 2140.**

HAIGH, J. (1978). The accumulation of deleterious genes in a population -- muller's ratchet, **Theoretical Population Biology 14, 251 – 267.**

HALDANE, J. B. S. (1927). A mathematical theory of natural and artificial selection. Part V. Selection and mutation. **Proceedings of the Cambridge Philosophical Society 23, 838 – 844.**

HIGGS, P. G. WOODCOCK, G. (1994). The accumulation of in asexual populations the structure of genealogical trees in the presence of selection.

**Journal of mathematical biology 33, 677 – 702.**

JOHNSON, T. BARTON, N. H. (2002) The effect of deleterious alleles on adaptation in asexual populations. **Genetics Society of America 162, 395 – 411.**

KIMURA, M. MARUYAMA, T. (1966). The mutational load with epistatic gene interactions in fitness. **Genetics 54, 1337–1351.**

LENSKI, R. E. ROSE, M. R. SIMPSON, S. C. TADLER, S. C. (1991). Long-term experimental evolution in escherichia coli. I. adaptation and divergence during 2000 generations. **American Naturalist 138, 1315 – 1341.**

LYNCH, M. GABRIEL, W. (1990). Mutation load and the survival of small populations. **Evolution 44, 1725 – 1737.**

- MANNING, J. T. THOMPSON, D. J. (1984). Muller's ratchet and the accumulation of favourable mutations. **Acta Biotheoretica** **33**, 219 – 225.
- MULLER, H. J. (1964). The relation of recombination to mutational advance. **Mutation Research**. **106**, 2 – 9.
- OHTA, T. (1992). The nearly neutral theory of molecular evolution. **Annual Review of Ecology and Systematics** **23**, 263 – 286.
- OLIVEIRA, V. M. CAMPOS, P. R. A. (2004). Dynamics of fixation of advantageous mutations. **Physica A** **337**, 546 – 554.
- ORR, H. A. (2000). The Rate of adaptation in asexuals. **Genetics** **155**, 961 – 968.
- ORR, H. A. (2003). The Distribution of fitness effects among beneficial mutations. **Genetics** **163**, 1519 – 1526.
- PAQUIN, C. E. ADAMS, J. (1983). Relative fitness can decrease in evolving asexual populations of *S. Cerevisiae*. **Nature** **306**, 368 – 371.
- PAMILO, P. NEI, M. LI, W. H. (1987). Accumulation of mutations in sexual and asexual populations. **Genetics Review** **49(2)** 135 – 146.
- RICE, W. R. (1987). Genetic hitchhiking and the evolution of reduced genetic activity of the y sex chromosome. **Genetics** **116**, 161 – 167.
- ROZEN, D. E. VISSER, J. A. G. M. GERRISH, P. J. (2002). Fitness effects of fixed beneficial mutations in microbial populations. **Current Biology** **12**, 1040–1045.
- STEFFENSEN, J. F. (1930). Om sandsynligheden for at afkommet uddor. **Matematisk tidsskrift B** **1**, 19 – 23.

ZOGHBI, H. Y. ORR, H. T. (2000). Glutamine repeats and neurodegeneration.  
**Annual Review Neuroscience 23, 217 – 247.**

# APÉNDICE