FELIPE BANDONI DE OLIVEIRA

Evolução do crânio dos macacos do Velho Mundo:
uma abordagem de genética quantitativa

SÃO PAULO
2009

FELIPE BANDONI DE OLIVEIRA

Evolução do crânio dos macacos do Velho Mundo:
uma abordagem de genética quantitativa

Tese apresentada ao Instituto de Biociências
da Universidade de São Paulo para a
obtenção do Título de Doutor em Ciências,
na Área de Genética e Biologia Evolutiva.

Orientador: Dr. Gabriel Marroig

SÃO PAULO
2009

Oliveira, Felipe Bandoni de.

Evolução do crânio dos macacos do Velho Mundo: uma abordagem de genética quantitativa.

225 páginas.

Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo.
Departamento de Genética e Biologia Evolutiva.

Palavras-chave: 1. Evolução morfológica. 2. Integração morfológica. 3. Seleção natural. 4. Deriva genética. I. Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências. Departamento de Genética e Biologia Evolutiva.

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof. Dr. Gabriel Marroig

Orientador

Para meus pais,
raiz, abrigo e espelho.

Para Ana Elisa,
com amor.

Tinha eu que ser doutor...

Paulinho da Viola

Agradecimentos

"Nada pode ser mais proveitoso para um jovem naturalista que uma viagem a um país distante."

Charles Darwin, A viagem do Beagle

Essa é a lista dos gigantes, donos dos ombros em que me apoiei durante esses quatro anos de trabalho.

Agradeço ao Dr. Gabriel Marroig pela orientação, pelo rigor nas críticas, pela ajuda decisiva nas análises e, acima de tudo, pela liberdade que me deu de conduzir o trabalho. Agradeço imensamente as várias oportunidades que vieram junto com esse projeto; aprendi muitas coisas além da Biologia. Montamos uma parceria extremamente produtiva, e levo comigo a certeza de um trabalho bem feito.

À FAPESP e à CAPES, pelas bolsas concedidas.

À Dra. Célia Koiffmann, que me auxiliou a pleitear a bolsa da CAPES.

Ao Fernando Gomes, pelo empurrão inicial que faltava para eu embarcar neste projeto.

Aos curadores e responsáveis por coleções zoológicas que garantiram meu acesso e o bom andamento dos trabalhos nos museus: Mário de Vivo, Juliana Gualda, Rogério Rossi e Carol Ayres (MZUSP); R. Voss e R. MacPhee (AMNH); L. Tomsett, P. Jenkins e D. Hills (BMNH); B. Paterson e B. Stanley (FMNH); J. Chupasko (MCZ); M. Godinot, C. Lefrève e J. Cuisin (MNHN); H. van Grouw (Naturalis); R. Thorington e L. Gordon (NMNH); M. Harman (Powell-Cotton Museum); G. Lenglet (RBINS); E. Gilissen e W. Wendelen (RMCA); I. Thomas e D. Willborn (ZMB); T. Jashashvili (Zürich Universität). Agradecimentos especiais a Eileen Westwig, Mark Omura, François Renoult, Emmanuel Gillisen, Wim Wendelen, Rob Asher, Hein van Grouw, Behnaz Bekkum-Ansari, Cristoph Zollikoffer, Márcia Ponce de León e Tea Jashashvili, por terem feito muito mais que o seu trabalho, ajudando nas horas em que ser estrangeiro é difícil.

A todas as pessoas que me acolheram durante as visitas a museus: a turma de Kensal Rise, Tania e a família Sanchez, Benny, Marcia, Stephan e Thomas, Carla Meertens, Alejandra, James, Gabriel Perez e Cathi. Ao Fernando Santomauro, pelo “timing” perfeito em alugar apartamentos. Agradecimentos redobrados à querida Maria Tereza, pelo primeiro café da manhã em Londres, e ao Oscar, pela conta de gás mais valiosa da minha vida. Vocês são os responsáveis pela experiência mais interessante de todo este doutorado.

Ao Dr. Marc Godinot, pela prontidão com que assumiu todas as responsabilidades e burocracias de orientador estrangeiro. Obrigado por me ajudar a trabalhar no exterior e pelas dicas para conseguir viver em uma das cidades mais caras do mundo.

À Dra. Marta Lahr, pela confiança no meu trabalho, mesmo sem conhecê-lo.

Ao Dr. Arne Mooers e Dr. Rutger Vos, que me enviaram a sua proposta de árvore filogenética de Catarrhini antes que fosse publicada.

Aos funcionários e amigos do Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, em especial à Elzi, Érika, Suzi, Maria, Helenice e Deisy por facilitarem imensamente o trabalho. Aos amigos da Seção de Pós-graduação, Vera, Helder e Erika, que sempre solucionaram minhas dúvidas.

Aos grandes amigos da Biologia, que nesses anos descobri serem ainda mais especiais do que eu pensava.

Um agradecimento especial ao Gustavinho, que me apresentou ao Matlab. Obrigado pelo impulso inicial e pelas várias dicas; devo a você a precisão e a agilidade das análises deste trabalho.

A todos os participantes do Grupo de Discussão de Biogeografia, por discussões estimulantes e por manter aceso o verdadeiro espírito acadêmico, o de falar sobre coisas fundamentais.

Aos amigos do choro, pelas comunhões musicais das noites de terça, que “flertam com o sublime” e “enlevam o espírito”. Espero que cheguemos à música dez mil em breve.

Agradeço especialmente aos amigos que fiz no laboratório: Arthur, Leila, Tania, Val, Harley, Karina Tatit, Roberta, Ana Paula, Sebastien, Diogo, Guilherme e Hana, por dividirem comigo a dor e a delícia da pós-graduação. Mais recentemente, à Dani, Bárbara e Karina Bornia, a quem desejo um bom trabalho. Agradecimentos especiais a Arthur e Leila, com quem compartilhei o laboratório durante todo o doutorado, e que foram grandes parceiros. Aprendi muito com vocês e espero que tenhamos a chance de trabalhar juntos no futuro.

Aos grandes amigos que me acompanham desde antes da Biologia entrar em minha vida, principalmente Fabricio, Lira, Marcão, Felipão e Bia, por manterem meus pés no chão e sempre me perguntarem, afinal, qual é o meu trabalho. As perguntas de vocês me ajudam a entender melhor o que eu faço e porque estou fazendo (embora eu ainda não tenha conseguido explicar).

Aos pequenos Gustavo e Flávia, que fazem qualquer tese parecer pouco importante.

A minha avó, Cida, que me influencia mais do que ela sabe.

A minha irmã, Andrea, a quem admiro cada dia mais.

A meus pais, Pedro e Laura, que lançaram a semente deste trabalho há muito tempo, quando “tinha eu quatorze anos de idade”, e cujo papel em tudo isso é maior do que consigo avaliar. Obrigado por estarem sempre aí, me apoiando nas horas em que o mundo inteiro joga contra. Obrigado, muito obrigado.

À Ana Elisa, companheira demais, que me ajudou em todos os instantes do trabalho, bancou as horas de distância, me acalmou nos momentos de desespero, e com quem espero dividir as coisas boas da vida.

Índice

Resumo.....	13
Abstract.....	14
Introdução Geral: genética quantitativa e integração morfológica	15
Introdução Geral	17
Integração morfológica: uma constatação empírica.....	18
Genética Quantitativa: estimando o caminho da evolução.....	19
A equação de Lande.....	22
Juntando as peças	23
Modelo de estudo: o crânio dos macacos do Velho Mundo.....	24
Objetivos.....	30
Referências.....	31
Capítulo 1: Estrutura de covariação no crânio dos macacos do Velho Mundo: estase do padrão e evolução da magnitude	35
Introdução	37
Métodos	39
Amostra.....	39
Taxonomia.....	40
Estimativa das matrizes de correlação e de variância/covariância	42
Comparação das matrizes de correlação e de variância/covariância.....	43
Repetibilidade das matrizes e ajuste das comparações	45
Magnitude geral das correlações entre caracteres	46
Distâncias morfológicas e filogenéticas.....	46
Comparações entre matrizes G e P.....	47
Resultados	48
Similaridade entre as matrizes V/CV e de correlação	48
Magnitude geral da correlação entre caracteres	55
Padrões de similaridade, distâncias morfológicas e filogenéticas.....	56
Similaridade entre matrizes G e P	57
Discussão	59
Repetibilidade das matrizes e diferenças nos métodos de comparação.....	59
Estase dos padrões de covariação em Catarrhini	61
Evolução das magnitudes das associações entre caracteres.....	62
Padrões de similaridade, distâncias morfológicas e filogenéticas.....	63
Constância da matriz G	63
Possíveis causas	65
Referências.....	67
Capítulo 2: Seleção natural e deriva genética no crânio dos macacos do Velho Mundo	71
Introdução	73
Adaptação, seleção natural e caracteres complexos	73
A contribuição da genética quantitativa	74
Métodos	76
Amostra.....	76
Pano de fundo teórico.....	77
O teste de regressão.....	78
O teste de correlação	80

Comparações orientadas pela hipótese filogenética	81
Efeito do número de taxa nos testes	81
Resultados	82
Deriva x seleção em Catarrhini	82
Efeito do número de taxa nos testes	88
Discussão	90
Deriva e seleção no crânio de Catarrhini	90
Hominidae, Hylobatidae e Colobinae: deriva ou seleção?	91
Seleção ligada a tamanho corpóreo	93
Efeito do número de taxa nos testes	93
Evolução no Velho e no Novo Mundo	95
Deriva genética como hipótese nula	97
Referências	98

Capítulo 3: Modularidade no crânio dos macacos do Velho Mundo e suas conseqüências evolutivas105

Introdução	107
Modularidade	107
Conseqüências evolutivas	108
Novas métricas	110
Métodos	111
Amostra	111
Índice de integração morfológica	111
Padrões de modularidade	112
Simulações de seleção: restrições e flexibilidade	114
Variação devida ao tamanho	115
Tendências filogenéticas	116
Resultados	117
Magnitude da integração	117
Padrões de modularidade	118
Integração morfológica, restrições e flexibilidade evolutiva	122
Tendências filogenéticas	123
Discussão	125
Modularidade	125
Papionini e <i>Homo</i> : módulos particulares	126
Modularidade e integração geral	127
Possibilidades evolutivas	128
Modularidade e evolução associada a tamanho	130
Tendências filogenéticas	131
Padrões gerais e suas possíveis causas	132
Referências	135

Conclusões gerais143

Anexos147	
Detalhamento da amostra de crânios de Catarrhini	149
Artigos publicados durante o doutorado	152

Resumo

Este trabalho busca entender a diversificação craniana dos macacos do Velho Mundo (Catarrhini) integrando duas abordagens para o estudo da evolução de caracteres complexos: a genética quantitativa e a integração morfológica. A investigação tem três objetivos principais: 1) comparar a magnitude e o padrão das relações entre os caracteres cranianos entre todos os Catarrhini; 2) testar a hipótese de que deriva genética é o único agente responsável pela diversificação craniana; 3) explorar as consequências evolutivas da associação entre caracteres. De posse de um banco de dados bastante representativo da diversidade dos macacos do Velho Mundo (39 medidas cranianas de cerca de 6.000 crânios de mais de 130 espécies), gerei as matrizes de correlação e de variância/covariância, que resumem as relações entre os caracteres, e comparei-as entre vários grupos. Comparei-as também a expectativas derivadas de modelos teóricos de evolução por deriva genética, além de simular a ação de seleção natural sobre essas matrizes para observar o comportamento evolutivo dos diversos padrões de associação entre caracteres. De maneira geral, o padrão das relações é o mesmo entre todos os Catarrhini, mas a magnitude com que os caracteres estão associados varia bastante. Isso tem consequências evolutivas importantíssimas, pois grupos com baixas magnitudes tendem a responder na mesma direção em que a seleção atua (alta flexibilidade evolutiva), enquanto que altas magnitudes estão associadas, independentemente da direção da seleção, a respostas ao longo do eixo de maior variação, que no caso dos Catarrhini corresponde à variação no tamanho (baixa flexibilidade evolutiva). A diversificação inicial do grupo parece ter sido gerada por seleção natural, mas nos níveis de gênero e espécie, deriva genética é o processo predominante; a exceção são os cercopitecíneos, onde há evidência de seleção também nesses níveis. Com base nesses resultados, proponho um modelo que associa a magnitude geral da correlação entre caracteres aos possíveis caminhos evolutivos que uma população pode seguir. Apesar de este trabalho estar empiricamente restrito aos macacos do Velho Mundo, esse modelo é válido para os mamíferos como um todo e pode ser testado em outros grupos, aumentando nossa compreensão de como a associação entre caracteres afeta a evolução dos seres vivos.

Abstract

This is a study on the cranial diversification of the Catarrhini, a large group of primates that includes all Old World monkeys and apes, bringing together two approaches to investigate the evolution of complex characters: quantitative genetics and morphological integration. It has three main goals: 1) to compare magnitudes and patterns of inter-trait relationships in the skull among catarrhines; 2) to test the null hypothesis that genetic drift is the sole agent responsible for cranial diversification; 3) to explore the evolutionary consequences of inter-trait associations. With a large and representative cranial database of Old World monkeys and apes (39 measurements of around 6,000 skulls from more than 130 species), I generated and compared correlation and variance/covariance matrices, which summarize inter-trait relationships, among several Catarrhini groups. I compared some of those matrices to expectations derived from theoretical models of evolution through genetic drift, and simulated natural selection to observe the evolutionary behavior of each matrix. From a broad perspective, the patterns of relationships are the same among all catarrhines, but the magnitudes are quite variable. This has very important evolutionary consequences, because groups with low overall magnitudes tend to respond in the same direction of selection (high evolutionary flexibility), while higher magnitudes, regardless of the direction of selection, are associated to responses along the axis of highest variation, which in this case corresponds to size variation (low evolutionary flexibility). The initial diversification of catarrhines seems to have been generated by natural selection, but drift probably played a major role at the genus and species level; the exception are the cercopithecines, for which there is evidence for selection also in those levels. Based on these results, I propose a model that links the overall magnitude of inter-trait correlations to the possible evolutionary paths of a given population. This study is empirically restricted to Old World monkeys and apes, but the model has been proved valid to a broader sample of mammals and can be tested for other groups, contributing for our understanding of how complex characters evolve.

Introdução Geral

Genética quantitativa e integração morfológica

Esses fatos me pareceram lançar alguma luz sobre a origem das espécies –
o mistério dos mistérios."

Charles Darwin
primeiro parágrafo de "Origem das espécies"

"O mistério das cousas? Sei lá o que é o mistério!
O único mistério é haver quem pense no mistério."

Alberto Caeiro (Fernando Pessoa)
"O guardador de rebanhos"

Introdução Geral

Esta é uma tese sobre a evolução dos seres vivos. Como tal, trata-se de um estudo sobre mudanças que ocorrem ao longo do tempo (evolução) em estruturas complexas (os seres vivos).

A complexidade da vida é tão intrincada porque depende da interação entre vários fatores que estão organizados hierarquicamente em vários níveis. Consideremos uma estrutura como o crânio de um primata: inicialmente, sua formação depende da produção de proteínas por vários genes diferentes, que se influenciam uns aos outros e são influenciados por várias características do ambiente que os rodeia (Cheverud, 1996); as células formadas interagem umas com as outras, são estimuladas diferencialmente por fatores que alteram seu crescimento e duplicação (Wilkie e Morriss-Kay, 2001); os tecidos construídos, por sua vez, afetam-se mutuamente durante o desenvolvimento, o que interfere na forma final da estrutura (Moore, 1981; Smith, 1997). Além disso, sinais vindos de outras regiões do corpo interferem na formação do crânio e, sobretudo, não podemos esquecer de que esses processos ocorrem dentro de um contexto ambiental, em que elementos das mais variadas naturezas, desde a intensidade gravitacional à qualidade dos nutrientes, podem influenciar o desenvolvimento do organismo em formação (Lewontin, 2000; Gilbert e Epel, 2009). A ação desses e muitos outros fatores, bem como a interação entre eles, é que constrói o organismo como um todo.

Para compreender a organização dessa complexidade, uma possível abordagem é dividir os organismos nos vários caracteres que os compõem, estudando isoladamente cada um deles. Entretanto, nenhum caráter é uma ilha (Dobzhansky, 1956), o que é especialmente verdadeiro se o nosso interesse está em saber como os organismos evoluem. Uma perspectiva mais integrada do organismo é necessária simplesmente porque é o indivíduo como um todo, e não um caráter específico, que vive e morre. O indivíduo inteiro é o alvo da seleção natural (Lewontin, 1970). Dentro desse contexto, se pretendemos entender como as mudanças evolutivas acontecem, como lidar com a complexidade inerente sem perder de vista a coesão do organismo?

Dois programas de pesquisa se propõem a realizar esse tipo de abordagem, investigando a complexidade biológica no nível do fenótipo individual: a integração morfológica e a genética

quantitativa. O primeiro campo busca descrever em detalhe a maneira como diferentes caracteres estão conectados, bem como testar hipóteses sobre as causas dessas relações. A segunda área, firmemente baseada na teoria de genética de populações, provê um arcabouço sólido para que se faça previsões sobre o resultado da ação de processos evolutivos, tais como seleção natural e deriva genética, sobre os organismos.

Integração morfológica: uma constatação empírica

O termo “integração morfológica” foi cunhado por Olson e Miller (1958), numa obra em que apresentaram sua visão integrada do fenótipo e reafirmaram a idéia de que cada parte do organismo é formada de maneira harmoniosa em relação a todas as outras. Nessa obra, apresentam a constatação empírica de que, ao se estudar as relações entre vários caracteres quantitativos de um organismo, existem grupos de caracteres que estão mais correlacionados entre si do que a outros caracteres. Esses grupos, que no passado foram designados “plêiades de correlação” (Berg, 1960), hoje são chamados de “módulos” (Chernoff e Magwene, 1999; Pigliucci e Preston, 2004; Wagner *et al.*, 2007).

No mesmo trabalho, Olson e Miller propuseram uma hipótese para explicar o porquê da existência de módulos. Segundo esses autores, os módulos seriam o resultado de um caminho de desenvolvimento comum entre os caracteres; em outras palavras, caracteres que compartilhassem ao menos alguma parte de seus processos de desenvolvimento (ou seja, fossem determinados pelos mesmos genes, influenciados pelos mesmos fatores de crescimento ou estímulos ambientais) tenderiam a estar mais relacionados entre si do que caracteres que não compartilhassem a mesma história. Além disso, os módulos poderiam também resultar de funções comuns que os caracteres desempenham no organismo, de maneira que os que tivessem a mesma função tenderiam a estar mais associados do que caracteres com funções diferentes (Olson e Miller, 1958; Cheverud, 1982). Assim, esses autores propuseram que desenvolvimento e/ou função comuns acarretariam em integração morfológica no fenótipo e, portanto, estariam refletidas em altas correlações entre caracteres (Cheverud, 1982).

Com esse raciocínio, Olson e Miller não apenas detectaram empiricamente a presença de módulos, como propuseram um método para testar hipóteses sobre suas origens. Desde então, essa

área de pesquisa se desenvolveu e a integração morfológica foi detectada em uma variedade de grupos, de maneira que hoje se imagina que a maioria dos seres vivos, se não todos, apresentam algum grau de modularidade (Chernoff e Magwene, 1999; Wagner *et al.*, 2007). Rapidamente percebeu-se que existem duas facetas da integração, que precisam ser consideradas em conjunto: a primeira é o *padrão* de integração, ou seja, a maneira como os caracteres estão conectados, e a segunda é a *magnitude* da integração, isto é, a intensidade das conexões (Porto *et al.*, 2009). Estudos dos padrões de integração são muito mais comuns que os de magnitude, tendo sido conduzidos para uma variedade de organismos (Berg, 1960; Marroig e Cheverud, 2001; Beldade e Brakefield, 2003; Pigliucci e Preston, 2004; Goswami, 2006).

A formação de módulos, portanto, é provavelmente devida à história de desenvolvimento comum dos caracteres componentes do módulo; parte dessa história é determinada pelos genes, de maneira que caracteres de um mesmo módulo provavelmente são, até certo ponto, determinados e influenciados pelos mesmos genes (Cheverud, 1982; Chernoff e Magwene, 1999). Se isso for verdade, é esperado que os módulos evoluam como uma unidade, de maneira relativamente independente dos outros módulos (Wagner *et al.*, 2007; Mitteroecker e Bookstein, 2008; Porto *et al.*, 2009). É justamente nessa característica dos módulos, a possibilidade de que seus caracteres evoluam juntos, que reside a importância dos estudos de modularidade para a evolução. Caracteres agrupados em módulos, por exemplo, poderiam responder coordenadamente à seleção, acelerando e aumentando a precisão da resposta, sem afetar a evolução de outros módulos (Wagner e Altenberg, 1996; Wagner *et al.*, 2007). E é exatamente essa característica, a interconexão entre caracteres, que também é investigada por uma outra abordagem dos sistemas biológicos complexos: a da genética quantitativa.

Genética quantitativa: estimando o caminho da evolução

Com uma origem totalmente diferente, a genética quantitativa também se ocupa de estudar como os caracteres estão conectados em um organismo, mas principalmente do ponto de vista de como são herdados. Essa área de pesquisa é uma extensão da genética clássica, mendeliana, aplicada à herança de caracteres contínuos, quantitativos; toda a teoria consiste na dedução das consequências da

herança mendeliana estendidas para as propriedades das populações e para a segregação simultânea de genes em muitos loci (Falconer e Mackay, 1996). Assim, baseando-se apenas nas leis mendelianas de transmissão dos genes e em propriedades desses genes (tais como dominância, epistasia, pleiotropia, desequilíbrio de ligação e mutação), essa teoria permite com que sejam deduzidas quais são as propriedades genéticas e fenotípicas de uma população quanto a caracteres quantitativos. Além disso, permite também prever, com alguma confiança, qual seria o resultado de qualquer sistema de cruzamentos. Essa capacidade de previsão é de especial importância, já que o resultado de processos evolutivos, como a deriva genética e a seleção natural, também podem ser previstos com algum grau de confiança (Falconer e Mackay, 1996). A genética quantitativa, portanto, forma a base para que possamos entender os processos microevolutivos que estão atuando em uma população.

Dentro da genética quantitativa, as associações entre caracteres são resumidas pela matriz de variância/covariância genética aditiva (matriz **G**, ou simplesmente **G**). Como o nome indica, essa matriz é composta por informações sobre a porção da variância que é efetivamente herdada (variação genética aditiva) e, portanto, a parte da variação na população que é o combustível para as mudanças evolutivas (Falconer e Mackay, 1996; Steppan *et al.*, 2002; McGuigan, 2006; Phillips e McGuigan, 2006). A diagonal de uma matriz **G** indica quanta variância genética aditiva está subjacente a cada caráter de uma população, enquanto que os elementos fora da diagonal mostram a covariância genética aditiva que existe para cada par de caracteres (figura 1). A idéia de “covariação”, de maneira mais geral, está relacionada à associação entre variáveis; no nível genético, a covariância entre dois caracteres aparece quando genes que afetam ambos coexistem nos mesmos indivíduos de uma população. Assim, a matriz **G**, por englobar as variâncias e covariâncias genéticas aditivas, é capaz de resumir as relações genéticas subjacentes aos caracteres de uma população.

Figura 1: A matriz de variância/covariância. (A) Se medirmos três caracteres do crânio (comprimento, largura e altura) de cinco indivíduos, a diagonal da matriz corresponderá à variância de cada caráter na amostra (V_c , por exemplo, é a variância no caráter “comprimento”), e os elementos fora da diagonal representam a covariância entre os caracteres (Cov_{c-L} , por exemplo, é a covariância entre comprimento e largura). No caso desse exemplo fictício, a matriz de variância/covariância teria os valores representados em (B).

Do ponto de vista da evolução, a importância da variância genética aditiva reside no fato de que essa é a porção da variação que é o substrato sobre o qual agem os processos evolutivos, como, por exemplo, a seleção natural. A interferência de $\mathbf{G}$ na evolução é complexa e pouco intuitiva, especialmente quando muitos caracteres estão envolvidos. No caso da ação de seleção natural, ela pode influenciar não só a resposta de caracteres que estão sendo selecionados, como também a taxa e a direção da evolução de outros caracteres que não estão diretamente sob seleção, mas são herdados conjuntamente, ou seja, apresentam covariação genética com os caracteres sob seleção (Lande, 1979; Stepan *et al.*, 2002; Cheverud, 2004; Phillips e McGuigan, 2006). Consideremos, por exemplo, dois caracteres quantitativos positivamente correlacionados, como comprimento e largura de determinado osso: caso haja seleção atuando na direção de aumentar a média de apenas um desses caracteres, é fácil perceber que a média do outro também aumentará (figura 2). A influência de $\mathbf{G}$ na evolução é a

extensão desse raciocínio para o espaço multivariado; assim, a resposta de um caráter pode, por exemplo, acontecer em direções diferentes da que a seleção natural está agindo, simplesmente por causa da sua associação com outros caracteres. É fundamental, portanto, levar em conta as relações entre caracteres quando se estuda a evolução, mesmo que estejamos interessados em apenas um deles.

Figura 2: Representação da ação de seleção natural sobre dois caracteres, A e B. Os círculos pretos representam as médias das populações antes e depois da seleção, enquanto que a elipse em torno da média representa a dispersão dos dois caracteres na população. Na situação à esquerda, os dois caracteres não estão correlacionados; nessa situação, a seleção sobre A (S_A) leva a média da população de A_1 para A_2 , sem modificar a média de B (a média do caráter B se mantém constante antes e depois da atuação da seleção, ou seja, $B_1 = B_2$). Na situação à direita, os dois caracteres estão correlacionados e, quando a seleção atua em A exatamente da mesma maneira, observa-se evolução também na média de B ($B_1 \neq B_2$). Modificado a partir de Cheverud (2004).

A equação de Lande

Uma das linhas de pesquisa mais promissoras no estudo de **G** é a possibilidade de explorar como essa matriz reage a processos evolutivos, como a seleção natural. A evolução de caracteres contínuos (quantitativos) e determinados por muitos genes pode ser explorada usando-se a equação de resposta multivariada à seleção:

$$\Delta \mathbf{z} = \mathbf{G} \boldsymbol{\beta}$$

Nessa equação, $\mathbf{G}$ representa a variação presente nos caracteres e suas inter-relações (variâncias e covariâncias), $\boldsymbol{\beta}$ representa a seleção natural (também chamada, nesse contexto, de “gradiente de seleção” ou “vetor de seleção”) e $\Delta\mathbf{z}$ representa a resposta dos caracteres à seleção (Lande, 1979).

A derivação dessa equação é seminal na Biologia Evolutiva. Resumidamente, ela representa a possibilidade teórica de se estimar a resposta de espécies a pressões de seleção futuras e de, em retrospectiva, determinar quais processos foram responsáveis pela geração dos fenótipos que vemos hoje (Phillips e McGuigan, 2006). Dessa forma, a genética quantitativa é potencialmente a área que pode fazer a ponte entre processos microevolutivos, descritos em detalhe pela genética de populações, e os padrões macroevolutivos, descritos pela sistemática, pela paleontologia e outras áreas da biologia (Steppan *et al.*, 2002).

Juntando as peças

Esta tese representa uma parte do esforço do nosso grupo de pesquisa, o Laboratório de Evolução de Mamíferos do Instituto de Biociências da USP, em integrar essas duas abordagens do estudo de caracteres complexos: a integração morfológica e a genética quantitativa. Enquanto a primeira é adequada para descrever os padrões de relação entre caracteres e testar hipóteses sobre as relações de desenvolvimento e/ou função subjacentes, a segunda conta com ferramentas poderosas para investigar as forças que podem ter gerado os fenótipos das espécies atuais, além de poder prever, até certo ponto, as possibilidades evolutivas de uma população. Integrar as duas abordagens representa, potencialmente, a possibilidade de testar hipóteses formais sobre a associação do fenótipo das espécies com os processos evolutivos que os geraram.

Entretanto, para que seja feita essa integração, algumas premissas têm que ser cumpridas. A precisão da equação de resposta multivariada à seleção, crucial para que se faça qualquer inferência sobre processos evolutivos, depende da constância de $\mathbf{G}$ ao longo do período de interesse (Lande, 1979; Cheverud, 1988; Steppan *et al.*, 2002). O termo constância não é o mais adequado, pois na realidade seria impossível que as matrizes $\mathbf{G}$ de duas populações, ainda que muito relacionadas, fossem

absolutamente idênticas (Turelli, 1988; Shaw *et al.*, 1995; Arnold e Phillips, 1999; Ackermann e Cheverud, 2000; Begin e Roff, 2001; Marroig e Cheverud, 2001; Phillips *et al.*, 2001; Game e Caley, 2006). Assim, melhor dizendo, é necessário que haja similaridade, ou proporcionalidade, entre as matrizes a serem comparadas. Não há garantia, dentro da teoria de genética quantitativa, de que **G** se mantenha similar ao longo da evolução de um grupo (Lande, 1980; Turelli, 1988). Trata-se, portanto, de uma questão empírica: antes de utilizar a equação de resposta multivariada à seleção, deve-se verificar a similaridade das matrizes **G** dos grupos que se pretende investigar.

Um segundo obstáculo está na enorme dificuldade em estimar **G**. Existem vários métodos para isso (Falconer e Mackay, 1996), mas todos eles exigem grandes números de indivíduos com genealogia conhecida, uma condição difícil de atender na maioria dos casos e impossível em outros, como para espécies fósseis ou raras (Cheverud, 1988; Ackermann e Cheverud, 2004). Por esse motivo, são poucos os estudos que estimam adequadamente as matrizes **G**, a maioria com organismos-modelo (Cheverud, 1982; Roff *et al.*, 1999; Phillips *et al.*, 2001; Matta e Bitner-Mathé, 2004; Roff *et al.*, 2004; McGuigan, 2006). Entretanto, a matriz **G** pode ser substituída por sua correspondente fenotípica, a chamada matriz **P**, se ambas forem significativamente semelhantes (Cheverud, 1988; Roff, 1995). Esse parece ser o caso para dados morfológicos (Cheverud, 1988; Marroig e Cheverud, 2001), mas também é um pressuposto a ser cumprido empiricamente, para cada grupo que se deseja estudar; no caso desta tese, para os macacos do Velho Mundo.

Modelo de estudo: o crânio dos macacos do Velho Mundo

Sob o nome Catarrhini, que significa “focinho para baixo”, estão designados todos os macacos do Velho Mundo. É um grupo de cerca de 150 espécies que se distribui por toda a África, sudoeste da Península Arábica, centro-sul e sudeste da Ásia, chegando em seu extremo nordeste ao Japão e sudeste às ilhas indonésias, como Timor (Fleagle, 1999; Nowak e Walker, 1999; Groves, 2005). O grupo é composto tanto por animais arborícolas quanto terrestres, incluindo espécies típicas de florestas, savanas e até mesmo exclusivas de áreas alagadas. Os catarrinos apresentam as mais variadas histórias de vida, alimentam-se de grande espectro de itens animais e vegetais e exibem sistemas de

acasalamento complexos. Essas diferenças em hábitos e habitats refletem-se em grande diversidade morfológica no corpo e, em especial, no crânio (figura 3).

O menor catarrino, o macaco talapoin (*Miopithecus ogouensis*), pesa cerca de 1 kg, enquanto que a maior espécie, o gorila (*Gorilla gorilla*) pode chegar a 300 kg. Tal amplitude de massa corpórea por si só garantiria a existência de diversidade de tamanho nos crânios; some-se a isso grande diversidade também nos formatos, que abrangem, por exemplo, animais com focinhos extremamente alongados, como os babuínos (*Papio*), e macacos de face achatada, como os gibões (*Hylobates*). Vale lembrar que nós, seres humanos, também pertencemos a esse grupo de animais (figura 3), e contribuímos para a aumentar a diversidade do grupo, com uma face excepcionalmente achatada e uma abóbada craniana excepcionalmente grande.

Do ponto de vista filogenético, Catarrhini é o grupo-irmão de Platyrrhini, os macacos do Novo Mundo, formando com ele o clado Haplorrhini, que inclui os chamados primatas antropóides (figura 4). Esse grupo, por sua vez, relaciona-se a todos os outros primatas não-antropóides, representados pelos lêmures (antigamente unidos no grupo parafilético “Strepsirrhini”). Dentro de Catarrhini, duas grandes divisões são tradicionalmente classificadas como superfamílias: os Hominoidea (grandes macacos) e os Cercopithecoidea. Esse último grupo é muito diverso e divide-se em duas subfamílias de 11 gêneros cada, os Colobinae (ex.: colobos e langures) e os Cercopithecinae (ex.: babuínos). Já os Hominoidea, muito menos diversos, englobam os Hylobatidae, representados por quatro gêneros asiáticos de gibões, e os Hominidae, família composta pelos orangotangos, gorilas, chimpanzés e seres humanos (figura 4). Embora haja discussão em torno da delimitação das espécies, principalmente dentro dos cercopitecídeos, a taxonomia no nível de gênero tem se mostrado estável nas últimas décadas (Grubb *et al.*, 2003; Brandon-Jones *et al.*, 2004; Groves, 2005). Seguindo a mesma tendência, diversos estudos parecem convergir para um consenso sobre as relações de parentesco dentro de Catarrhini, embora ainda haja discussões pontuais sobre a posição de alguns grupos, principalmente no nível das espécies (Purvis, 1995; Goodman *et al.*, 1998; Vos, 2006; Xing *et al.*, 2007; Osterholz *et al.*, 2008).

Figura 3: Uma pequena amostra da diversidade de Catarrhini, ordenada de acordo com o tamanho do crânio. As barras pretas correspondem a 5 cm, na escala das fotos dos crânios. Lineu figura como representante de *Homo* por haver nomeado formalmente o gênero.

Figura 4: Proposta de relações filogenéticas entre os Catarrhini segundo Vos (2006). Estão indicados os grupos taxonômicos reconhecidos atualmente.

A diversidade craniana, a variedade de histórias de vida e o longo tempo de evolução (o fóssil mais antigo data de cerca de 40 milhões de anos - Van Couvering e Harris, 1991) fazem de Catarrhini um grupo atraente para se investigar a evolução de características complexas. O crânio desses animais, como o de todos os mamíferos, é uma estrutura intrincada, cujo desenvolvimento depende de muitos genes, e que desempenha várias funções em conjunto com outros órgãos da cabeça (Moore, 1981; Smith, 1997). Estudos de integração morfológica já demonstraram a existência de organização modular do crânio em algumas espécies (Richtsmeier *et al.*, 1993; Gonzalez-Jose *et al.*, 2004; Ackermann, 2005; Mitteroecker e Bookstein, 2008) e a julgar pelo que já foi observado no grupo-irmão, os macacos do Novo Mundo, é possível que haja relação entre a diversidade nos padrões de modularidade e aspectos ecológicos (Ackermann e Cheverud, 2000; Marroig e Cheverud, 2001). Assim, baseado em uma amostra representativa de medidas cranianas que abrange quase todas as espécies de Catarrhini, o primeiro capítulo desta tese tem como objetivo descrever a estrutura de inter-relação entre os caracteres cranianos em seus dois aspectos principais: o padrão e a magnitude. Esse capítulo contribui para as discussões em torno da estabilidade de **G** ao longo da evolução, bem como para a demonstração da similaridade entre **G** e **P**, que são questões centrais para a genética quantitativa. Acrescenta também novos elementos para o debate sobre a importância da magnitude de integração para a evolução de caracteres complexos, um tópico ainda pouco explorado.

O segundo capítulo trata do papel relativo de seleção natural e deriva genética na geração de diversidade. A ocupação de diversos nichos ecológicos pelos macacos do Velho Mundo sugere que tenha ocorrido evolução adaptativa e inúmeras propostas de cenários, em que os mais variados agentes ambientais selecionam diferentes formas de crânio, abundam na literatura (Shea, 1977; Guglielmino-Matessi *et al.*, 1979; Antón, 1996; Singleton, 2005; Taylor, 2006). Entretanto, a teoria evolutiva prevê que processos neutros, independentes da seleção natural, poderiam gerar diversidade mesmo em caracteres complexos e de importância funcional para os organismos (Gould e Lewontin, 1979; Lande, 1979; Gould e Vrba, 1982). Dessa forma, determinar que um caráter é efetivamente adaptativo, ou seja, surgido como resultado da ação de seleção natural, não é fácil de demonstrar; a escolha entre diferentes cenários adaptativos, muito freqüente na literatura é, na maior parte das vezes, arbitrária (Gould e Vrba,

1982; West-Eberhard, 1992; Harmon e Gibson, 2006). Antes de propor esses cenários, uma abordagem possível e mais rigorosa seria testar se o padrão de variação observado poderia ou não ter sido gerado apenas por processos evolutivos neutros; em outras palavras, antes de defender a ocorrência de seleção natural, verificar se a diversificação observada poderia ter sido produzida apenas por deriva genética (Ackermann e Cheverud, 2002; Marroig e Cheverud, 2004; Roseman, 2004; Harmon e Gibson, 2006). Seguindo esse raciocínio, o segundo capítulo trata de averiguar se os padrões de variação/covariação em caracteres do crânio dos macacos do Velho Mundo são compatíveis com a ação exclusiva de deriva genética. De certa forma, é um olhar para o passado buscando entender que processos geraram os padrões que vemos hoje, trazendo informações importantes para avaliarmos o papel relativo de seleção e deriva na geração de biodiversidade.

Tendo em vista que a presença de módulos no crânio já foi registrada para vários primatas, incluindo alguns Catarrhini (Cheverud, 1982; Richtsmeier *et al.*, 1993; Marroig e Cheverud, 2001), é plausível imaginar que os módulos estejam presentes na maior parte das espécies do grupo. Além disso, dado que a maneira como os caracteres estão conectados afeta a sua evolução, a eventual presença de módulos tem conseqüências importantes, pois pode influenciar os caminhos evolutivos que cada espécie pode seguir. Esse é o ponto de partida do terceiro capítulo, que testa a presença de módulos relacionados a desenvolvimento e/ou função comuns e avalia as conseqüências evolutivas das diferentes estruturas de integração. Com esses três capítulos, espero contribuir para o debate sobre as relações entre modularidade e evolução, bem como para o entendimento dos processos que geraram a diversidade craniana dos macacos do Velho Mundo.

Objetivos

1) Averiguar a manutenção das associações entre caracteres do crânio ao longo da evolução dos macacos do Velho Mundo. De posse de um banco de dados de medidas cranianas que abrange quase todas as espécies de Catarrhini, avalio a similaridade entre matrizes de variância/covariância e de correlação de vários grupos, em um contexto filogenético. Esse é um teste de um importante pressuposto da teoria de genética quantitativa, pois não se sabe se essas matrizes se mantêm constantes ao longo da evolução. Além disso, avalio conjuntamente o padrão e a magnitude das relações entre caracteres, uma abordagem menos comum, mas que pode lançar novas luzes sobre o entendimento da integração fenotípica.

2) Avaliar o papel relativo de seleção natural e deriva genética na produção de diversidade. Comparando os padrões de covariação de caracteres dentro de grupos aos padrões entre grupos, testo a hipótese nula de que a diversificação observada nos macacos do Velho Mundo foi gerada apenas por deriva genética.

3) Examinar as consequências evolutivas da integração morfológica. De posse de uma descrição mais detalhada dos padrões de integração em Catarrhini, utilizo simulações da atuação de seleção natural para avaliar as possibilidades evolutivas dos diferentes grupos de macacos do Velho Mundo.

Referências

- Ackermann, R.R. 2005. Ontogenetic integration of the hominoid face. *Journal of Human Evolution* 48:175-197.
- Ackermann, R.R. e Cheverud, J.M. 2000. Phenotypic covariance structure in tamarins (genus *Saguinus*): A comparison of variation patterns using matrix correlation and common principal component analysis. *American Journal of Physical Anthropology* 111:489-501.
- Ackermann, R.R. e Cheverud, J.M. 2002. Discerning evolutionary processes in patterns of tamarin (genus *Saguinus*) craniofacial variation. *American Journal of Physical Anthropology* 117:260-271.
- Ackermann, R.R. e Cheverud, J.M. 2004. Detecting genetic drift versus selection in human evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101:17946-17951.
- Antón, S.C. 1996. Cranial adaptation to a high attrition diet in Japanese macaques. *International Journal of Primatology* 17:401-427.
- Arnold, S.J. e Phillips, P.C. 1999. Hierarchical comparison of genetic variance-covariance matrices. II. Coastal-inland divergence in the garter snake, *Thamnophis elegans*. *Evolution* 53:1516-1527.
- Begin, M. e Roff, D.A. 2001. An analysis of **G** matrix variation in two closely related cricket species, *Gryllus firmus* and *G. pennsylvanicus*. *Journal of Evolutionary Biology* 14:1-13.
- Beldade, P. e Brakefield, P.M. 2003. Concerted evolution and developmental integration in modular butterfly wing patterns. *Evolution & Development* 5:169-179.
- Berg, R.L. 1960. The ecological significance of correlation pleiades. *Evolution* 14:171-180.
- Brandon-Jones, D., Eudey, A.A., Geissmann, T., Groves, C.P., Melnick, D.J., Morales, J.C., Shekelle, M. e Stewart, C.B. 2004. Asian primate classification. *International Journal of Primatology* 25:97-164.
- Chernoff, B. e Magwene, P.M. 1999. Morphological Integration: Forty Years Later. In: Olson, E.C. e Miller, R.L. (eds.). *Morphological Integration*. University of Chicago Press, pp. 319-353.
- Cheverud, J.M. 1982. Phenotypic, genetic, and environmental morphological integration in the cranium. *Evolution* 36:499-516.
- Cheverud, J.M. 1988. A comparison of genetic and phenotypic correlations. *Evolution* 42:958-968.
- Cheverud, J.M. 1996. Quantitative genetic analysis of cranial morphology in the cotton-top (*Saguinus oedipus*) and saddle-back (*S. fuscicollis*) tamarins. *Journal of Evolutionary Biology* 9:5-42.
- Cheverud, J.M. 2004. Darwinian evolution by the natural selection of heritable variation: Definition of parameters and application to social behaviors. In: Sussman, R.W. e Chapman, A.R. (eds.). *The Origins and Nature of Sociality*. Aldine Publishing, New York, pp. 140-157.
- Dobzhansky, T. 1956. What is an adaptive trait. *American Naturalist* 90:337-347.
- Falconer, D.S. e Mackay, T.F.C. 1996. *Introduction to quantitative genetics*. Prentice Hall, London and New York.
- Fleagle, J.G. 1999. *Primate adaptation and evolution*. Academic Press, San Diego.
- Game, E.T. e Caley, M.J. 2006. The stability of **P** in coral reef fishes. *Evolution* 60:814-823.

- Gilbert, S.F. e Epel, D. 2009. *Ecological developmental biology : integrating epigenetics, medicine, and evolution*. Sinauer, Sunderland, Mass., U.S.A.
- Gonzalez-Jose, R., Van der Molen, S., Gonzalez-Perez, E. e Hernandez, M. 2004. Patterns of phenotypic covariation and correlation in modern humans as viewed from morphological integration. *American Journal of Physical Anthropology* 123:69-77.
- Goodman, M., Porter, C.A., Czelusniak, J., Page, S.L., Schneider, H., Shoshani, J., Gunnell, G. e Groves, C.P. 1998. Toward a phylogenetic classification of primates based on DNA evidence complemented by fossil evidence. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 9:585-598.
- Goswami, A. 2006. Morphological integration in the carnivore skull. *Evolution* 60:169-183.
- Gould, S.J. e Lewontin, R.C. 1979. Spandrels of San-Marco and the Panglossian paradigm - a critique of the adaptationist program. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 205:581-598.
- Gould, S.J. e Vrba, E.S. 1982. Exaptation - a missing term in the science of form. *Paleobiology* 8:4-15.
- Groves, C.P. 2005. Order Primates. In: Wilson, D.E. e Reeder, D.M. (eds.). *Mammal species of the world : a taxonomic and geographic reference*. Johns Hopkins University Press, Baltimore, pp. 111-184.
- Grubb, P., Butynski, T.M., Oates, J.F., Bearder, S.K., Disotell, T.R., Groves, C.P. e Struhsaker, T.T. 2003. Assessment of the diversity of African primates. *International Journal of Primatology* 24:1301-1357.
- Guglielmino-Matessi, C.R., Gluckman, P. e Cavalli-Sforza, L.L. 1979. Climate and the evolution of skull metrics in man. *American Journal of Physical Anthropology* 50:549-564.
- Harmon, L.J. e Gibson, R. 2006. Multivariate phenotypic evolution among island and mainland populations of the ornate day gecko, *Phelsuma ornata*. *Evolution* 60:2622-2632.
- Lande, R. 1979. Quantitative genetic-analysis of multivariate evolution, applied to brain - body size allometry. *Evolution* 33:402-416.
- Lande, R. 1980. The genetic covariance between characters maintained by pleiotropic mutations. *Genetics* 94:203-215.
- Lewontin, R.C. 1970. The units of selection. *Annual Review of Ecology and Systematics* 1:1-18.
- Lewontin, R.C. 2000. *The triple helix: gene, organism, and environment*. Harvard University Press, Cambridge, EUA.
- Marroig, G. e Cheverud, J.M. 2001. A comparison of phenotypic variation and covariation patterns and the role of phylogeny, ecology, and ontogeny during cranial evolution of New World Monkeys. *Evolution* 55:2576-2600.
- Marroig, G. e Cheverud, J.M. 2004. Did natural selection or genetic drift produce the cranial diversification of neotropical monkeys? *American Naturalist* 163:417-428.
- Matta, B.P. e Bitner-Mathé, B.C. 2004. Genetic architecture of wing morphology in *Drosophila simulans* and an analysis of temperature effects on genetic parameter estimates. *Heredity* 93:330-341.
- McGuigan, K. 2006. Studying phenotypic evolution using multivariate quantitative genetics. *Molecular Ecology* 15:883-896.
- Mitteroecker, P. e Bookstein, F. 2008. The evolutionary role of modularity and integration in the hominoid cranium. *Evolution* 62:943-958.
- Moore, W.J. 1981. *The mammalian skull*. Cambridge University Press, Cambridge (UK); New York.
- Nowak, R.M. e Walker, E.P. 1999. *Walker's primates of the world*. Johns Hopkins University Press, Baltimore.

- Olson, E.C. e Miller, R.L. 1958. *Morphological integration*. University of Chicago Press, Chicago.
- Osterholz, M., Walter, L. e Roos, C. 2008. Phylogenetic position of the langur genera *Semnopithecus* and *Trachypithecus* among Asian colobines, and genus affiliations of their species groups. *BMC Evolutionary Biology* 8:58-70.
- Phillips, P.C. e McGuigan, K.L. 2006. Evolution of genetic variance-covariance structure. In: Fox, C.W. e Wolf, J.B. (eds.). *Evolutionary genetics: concepts and case studies*. Oxford University Press, Oxford; New York, pp. 310-325.
- Phillips, P.C., Whitlock, M.C. e Fowler, K. 2001. Inbreeding changes the shape of the genetic covariance matrix in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 158:1137-1145.
- Pigliucci, M. e Preston, K. 2004. *Phenotypic integration : studying the ecology and evolution of complex phenotypes*. Oxford University Press, Oxford, New York.
- Porto, A., Oliveira, F.B., Shirai, L.T., Conto, V.D. e Marroig, G. 2009. The evolution of modularity in the mammalian skull I: morphological integration patterns and magnitudes. *Evolutionary Biology*, no prelo.
- Purvis, A. 1995. A composite estimate of primate phylogeny. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 348:405-421.
- Richtsmeier, J.T., Corner, B.D., Grausz, H.M., Cheverud, J.M. e Danahey, S.E. 1993. The role of postnatal-growth pattern in the production of facial morphology. *Systematic Biology* 42:307-330.
- Roff, D.A. 1995. The estimation of genetic correlations from phenotypic correlations - a test of Cheverud's conjecture. *Heredity* 74:481-490.
- Roff, D.A., Mousseau, T., Moller, A.P., de Lope, F. e Saino, N. 2004. Geographic variation in the **G** matrices of wild populations of the barn swallow. *Heredity* 93:8-14.
- Roff, D.A., Mousseau, T.A. e Howard, D.J. 1999. Variation in genetic architecture of calling song among populations of *Allonemobius socius*, *A. fasciatus*, and a hybrid population: Drift or selection? *Evolution* 53:216-224.
- Roseman, C.C. 2004. Detecting interregionally diversifying natural selection on modern human cranial form by using matched molecular and morphometric data. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101:12824-12829.
- Shaw, F.H., Shaw, R.G., Wilkinson, G.S. e Turelli, M. 1995. Changes in genetic variances and covariances: **G** whiz! *Evolution* 49:1260-1267.
- Shea, B.T. 1977. Eskimo craniofacial morphology, cold stress and maxillary sinus. *American Journal of Physical Anthropology* 47:289-300.
- Singleton, M. 2005. Functional shape variation in the Cercopithecine masticatory complex In: Slice, D.E. (ed.). *Modern morphometrics in physical anthropology*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, pp. 319-348.
- Smith, K.K. 1997. Comparative patterns of craniofacial development in eutherian and metatherian mammals. *Evolution* 51:1663-1678.
- Steppan, S.J., Phillips, P.C. e Houle, D. 2002. Comparative quantitative genetics: evolution of the **G** matrix. *Trends in Ecology & Evolution* 17:320-327.
- Taylor, A.B. 2006. Feeding behavior, diet, and the functional consequences of jaw form in orangutans, with implications for the evolution of *Pongo*. *Journal of Human Evolution* 50:377-393.

- Turelli, M. 1988. Phenotypic evolution, constant covariances, and the maintenance of additive variance. *Evolution* 42:1342-1347.
- Van Couvering, J.A. e Harris, J.A. 1991. Late Eocene age of Fayum mammal faunas. *Journal of Human Evolution* 21:241-260.
- Vos, R.A. 2006. *Inferring large phylogenies: the big tree problem*. Ph.D. Dissertation, Simon Fraser University.
- Wagner, G.P. e Altenberg, L. 1996. Perspective: Complex adaptations and the evolution of evolvability. *Evolution* 50:967-976.
- Wagner, G.P., Pavlicev, M. e Cheverud, J.M. 2007. The road to modularity. *Nature Reviews Genetics* 8:921-931.
- West-Eberhard, M.J. 1992. Adaptation: current usages. In: Keller, E.F. e Lloyd, E.A. (eds.). *Keywords in evolutionary biology*. Harvard University Press, Cambridge, EUA, pp. 13-18.
- Wilkie, A.O.M. e Morriss-Kay, G.M. 2001. Genetics of craniofacial development and malformation. *Nature Reviews Genetics* 2:458-468.
- Xing, J., Wang, H., Zhang, Y., Ray, D.A., Tosi, A.J., Disotell, T.R. e Batzer, M.A. 2007. A mobile element-based evolutionary history of guenons (tribe Cercopithecini). *BMC Biology* 5:5.

Capítulo 1

Estrutura de covariação no crânio dos macacos do Velho Mundo: estase do padrão e evolução da magnitude

“Correlação de crescimento – Por essa expressão, eu quero dizer que todo o organismo está tão inter-relacionado durante o crescimento e desenvolvimento, que quando ocorrem quaisquer variações em uma de suas partes, e essas variações são acumuladas através da seleção natural, outras partes também se modificam.

Esse é um assunto muito importante, embora seja muitíssimo mal compreendido.”

Charles Darwin
“Origem das espécies”, cap. V

Introdução

Estudar a evolução dos organismos é investigar as mudanças que ocorrem em sistemas complexos, onde vários caracteres interagem por compartilharem a mesma base genética, de desenvolvimento, de influências ambientais ou, ainda, por desempenharem a mesma função. O estudo detalhado dos padrões de covariação é essencial para entender, por exemplo, como pressões seletivas poderiam resultar em evolução coordenada de conjuntos de caracteres (Steppan *et al.*, 2002). Colocar essas questões dentro do arcabouço teórico da genética quantitativa pode ser uma abordagem interessante, pois essa área dispõe de ferramentas analíticas adequadas para investigar as consequências evolutivas da associação entre caracteres (Phillips e McGuigan, 2006).

No contexto da genética quantitativa, as interações entre caracteres podem ser representadas pela matriz de variância/covariância genética (matriz **G**). Embora o estudo dessa matriz tenha sido desenvolvido originalmente para escalas de tempo microevolutivas (apenas algumas gerações), ele poderia ser extrapolado para a macroevolução sob certas condições. A mais crucial delas é a constância, ou proporcionalidade, da matriz **G** ao longo do período evolutivo em questão (Lande, 1979). Foram propostos vários modelos teóricos para prever a evolução da matriz **G**, mas nenhum deles garante a estabilidade temporal de **G**. Dessa forma, a constância dessas matrizes ao longo da evolução é uma premissa que deve ser testada empiricamente para cada grupo que se pretende estudar (Lande, 1980; Turelli, 1988).

A matriz **G**, todavia, é difícil de ser determinada empiricamente. Estimar correlações e covariâncias genéticas com uma confiabilidade razoável requer centenas, e às vezes milhares, de indivíduos aparentados e com genealogia conhecida, constituindo um projeto de pesquisa complicado mesmo com organismos-modelo (Steppan *et al.*, 2002; Matta e Bitner-Mathé, 2004; McGuigan, 2006). Na maioria dos casos, estimar **G** é simplesmente impossível, como no caso de espécies raras ou fósseis. Entretanto, existe um considerável corpo de evidências que indicam que a matriz **G** poderia ser substituída por sua correspondente fenotípica, ao menos no que diz respeito a caracteres morfológicos (Cheverud, 1988; Roff, 1995; Cheverud, 1996; Reusch e Blanckenhorn, 1998; Waitt e Levin, 1998;

Reale e Festa-Bianchet, 2000; House e Simmons, 2005; Akesson *et al.*, 2007). Padrões de correlação e covariação fenotípicos, ao contrário dos genotípicos, são muito mais simples de se obter, já que requerem amostras relativamente menores e não necessariamente com genealogias conhecidas (Cheverud, 1988). Assim, uma abordagem promissora para verificar a constância de **G** consiste em analisar suas equivalentes fenotípicas em um contexto filogenético amplo, que envolva uma escala de tempo longa (Marroig e Cheverud, 2001). Dado que os padrões fenotípicos são o resultado de influências genotípicas e ambientais ($\mathbf{P} = \mathbf{G} + \mathbf{E}$), uma eventual constância de matrizes **P** entre muitos taxa relacionados seria uma evidência indireta, porém forte, de que as matrizes **G** subjacentes também se mantiveram constantes. A explicação alternativa para esse padrão seria a de que as matrizes ambientais correspondentes variaram de maneira a mascarar as mudanças evolutivas em **G**, o que é altamente improvável se o número de taxa analisados e o tempo evolutivo envolvidos forem suficientemente grandes.

Dessa forma, com a intenção de estudar a dinâmica evolutiva das matrizes **G**, testei a similaridade dos padrões de correlação e covariação no crânio da maior parte das espécies de macacos do Velho Mundo (Catarrhini). De posse de uma amostra bastante representativa desse grupo diverso e monofilético de primatas, comparei os padrões de correlação/covariação fenotípica entre 61 espécies, trinta gêneros, quatro subfamílias, três famílias e duas superfamílias. Além disso, averigui a similaridade entre as matrizes **P** dos macacos do Velho Mundo e a matriz **G** de um gênero de macaco do Novo Mundo (*Saguinus*), o que pode fornecer informações sobre o comportamento evolutivo das matrizes genéticas em Catarrhini.

Também é objetivo desse estudo descrever e comparar, de maneira exploratória, a magnitude geral da integração entre caracteres no nível dos gêneros. Esse é um aspecto pouco estudado da relação entre caracteres, mas variações na magnitude podem influenciar a capacidade de uma espécie em responder a pressões seletivas (Marroig *et al.*, 2009) e, portanto, podem ter desempenhado um papel importante na diversificação do crânio de Catarrhini. Por último, baseado numa hipótese filogenética recentemente proposta (Vos, 2006), averigui se a história evolutiva dos macacos do Velho Mundo teve alguma influência sobre a similaridade dos padrões de covariação e sua respectiva magnitude.

Métodos

Amostra

Examinei 5.950 espécimes de crânios de macacos do Velho Mundo depositados nas seguintes instituições: American Museum of Natural History (AMNH, Nova Iorque, EUA), Anthropological Institute and Museum of the University of Zürich (AIM, Zurique, Suíça), Field Museum of Natural History (FMNH, Chicago, EUA), Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP, São Paulo), Museu de Anatomia Humana Professor Alfonso Bovero (MAHPAB, São Paulo), Museu de Anatomia Humana da Universidade Federal de São Paulo (MAH-UNIFESP, São Paulo), Natural History Museum (BNHM, Londres, Reino Unido), Powell-Cotton Museum (PCM, Birchington-on-Sea, Reino Unido), Museum für Naturkunde (ZMB, Berlim, Alemanha), Museum National d'Histoire Naturelle (MNHN, Paris, França), Museum of Comparative Zoology of the Harvard University (MCZ, Cambridge, EUA), Nationaal Natuurhistorisch Museum (Naturalis, RMNH, Leiden, Holanda), National Museum of Natural History (NMNH, Washington DC, EUA), Royal Museum for Central Africa (RMCA, Tervuren, Bélgica) and Royal Belgian Institute for the Natural Sciences (RBINS, Bruxelas, Bélgica).

Em cada espécime, registrei 36 pontos de referência com um digitalizador Microscribe 3DX (figura 5). Com base nesses pontos, calculei um conjunto de 39 distâncias lineares que descrevem a morfologia craniana, calculando a média para as que estão presentes nos dois lados do crânio (tabela 1). Esses pontos de referência e respectivas medidas já foram utilizados em vários outros estudos (Ackermann e Cheverud, 2000; Marroig e Cheverud, 2001) e foram escolhidos por representarem as várias regiões do crânio que compartilham um histórico de desenvolvimento e de função e, ao mesmo tempo, a estrutura craniana como um todo. Se um espécime estivesse danificado em alguma região que contivesse pontos de referência laterais, utilizei a medida do lado intacto como a média; espécimes com pontos de referência centrais danificados não foram digitalizados. Restringi a amostragem a indivíduos adultos, isto é, aqueles que apresentassem a dentição completamente eclodida e funcional, bem como as

suturas esfeno-occipital e esfeno-etimóide fundidas. Digitalizei cada espécime duas vezes, o que permitiu uma verificação precisa do erro envolvido nas medidas. Todos os espécimes foram digitalizados pelo mesmo observador (eu próprio), com exceção dos crânios de humanos, cujos dados foram coletados, e gentilmente cedidos, por Arthur Porto. A repetibilidade calculada separadamente para cada um dos trinta gêneros e 39 caracteres variou de 0,85 to 1,00, com média de 0,98 e desvio-padrão de 0,05. Isso significa que o erro na determinação das medidas é pequeno na amostra e, portanto, teve um impacto desprezível nos resultados. Sendo assim, utilizei a média das medidas repetidas para cada espécime em todas as análises subseqüentes.

Taxonomia

Neste trabalho, sigo a proposta de classificação de Groves (2005). Embora haja muita discussão sobre a taxonomia de Catarrhini no nível de espécie, há uma estabilidade considerável na classificação no nível genérico e acima dele; é importante ressaltar que a nomenclatura, nesses casos, reflete a história evolutiva do grupo (figura 4). A única exceção são os subgêneros de *Trachypithecus* (*Trachypithecus* e *Kasi*), que considereirei como gêneros válidos, seguindo propostas mais recentes (Vos, 2006; Osterholz *et al.*, 2008). Agrupá-los em um único gênero, entretanto, não levou a resultados significativamente diferentes. Não há subfamílias em Hylobatidae e Hominidae (Groves, 2005) de maneira que, para realizar as comparações entre subfamílias, consideramos “Hylobatinae” e “Homininae” como sendo grupos idênticos a Hylobatidae e Hominidae. O anexo contém um detalhamento dos espécimes digitalizados, discriminados por gênero e por espécie.

Figura 5: Pontos de referência registrados no crânio de macacos do Velho Mundo por meio de um digitalizador, exemplificado aqui em um espécime de *Cercopithecus torquatus*.

Tabela 1: 39 medidas lineares (distâncias entre pontos de referência) e sua localização nas duas grandes regiões cranianas.

Medida	Região	Medida	Região
IS-PM	Face	FM-MT	Neurocrânio
IS-NSL	Face	FM-ZS	Face
IS-PNS	Face	ZS-ZI	Face
PM-ZS	Face	ZI-MT	Face
PM-ZI	Face	ZI-ZYGO	Face
PM-MT	Face	ZI-TSP	Face
NA-FM	Neurocrânio	MT-PNS	Face
NSL-NA	Face	PNS-APET	Neurocrânio
NSL-ZS	Face	APET-BA	Neurocrânio
NSL-ZI	Face	APET-TS	Neurocrânio
NA-BR	Neurocrânio	BA-EAM	Neurocrânio
NA-PNS	Face	EAM-ZYGO	Face
BR-PT	Neurocrânio	ZYGO-TSP	Face
BR-APET	Neurocrânio	LD-AS	Neurocrânio
PT-APET	Neurocrânio	BR-LD	Neurocrânio
PT-BA	Neurocrânio	OPI-LD	Neurocrânio
PT-EAM	Neurocrânio	PT-AS	Neurocrânio
PT-FM	Neurocrânio	JP-AS	Neurocrânio
PT-ZYGO	Face	BA-OPI	Neurocrânio
PT-TSP	Neurocrânio, face		

Estimativa das matrizes de correlação e de variância/covariância

A representação mais adequada da estrutura de covariação de qualquer grupo biológico deveria estar isenta de influências que não estão diretamente relacionadas ao mapa fenotípico-genotípico. Sendo assim, algumas fontes de variação que influenciam os dados não são de interesse imediato para este trabalho. A variação devida ao sexo, por exemplo, corresponde a uma parcela substancial da correlação entre caracteres observada em uma população, mas não está diretamente relacionada à arquitetura genética desses caracteres. Assim, diferenças entre sexos, subespécies e espécies, bem como as possíveis interações entre elas, foram exploradas por meio de testes de análises de variância multivariada baseados na estatística lambda de Wilk (MANOVA). Em todos os casos em que uma fonte de variação influenciasse significativamente os dados ($p < 0,05$), ela foi controlada estatisticamente durante a estimativa das matrizes de cada táxon. Dessa maneira, controlando para essas fontes de variação sempre que necessário, calculei as variâncias de cada um dos 39 caracteres cranianos e as covariâncias entre eles, montando as matrizes de variância/covariância (daqui para frente chamadas apenas de matrizes V/CV). De maneira semelhante, calculei as correlações entre os 39 caracteres para construir as matrizes de correlação de cada um dos grupos estudados. Para esses cálculos, utilizei o programa Systat 11.

As matrizes no nível de espécies e de gênero foram estimadas diretamente, conforme descrito acima. Acima desses níveis, utilizei a média ponderada das matrizes dos gêneros que compõem cada táxon de interesse, sendo que a ponderação foi feita com base no tamanho da amostra. A matriz de uma subfamília, por exemplo, corresponde à média ponderada, pelo tamanho da amostra, das matrizes dos gêneros que a compõem. No nível de espécies, estimei apenas as matrizes dos grupos para os quais consegui obter pelo menos 41 crânios, número mínimo para que os cálculos sejam feitos. Para os gêneros e outros níveis acima, todos os espécimes disponíveis foram incluídos nas análises.

Comparação das matrizes de correlação e de variância/covariância

Para comparar matrizes V/CV, empreguei o método de “random skewers” (Cheverud e Marroig, 2007). Em linhas gerais, esse método consiste em simular a ação de seleção natural sobre um par de matrizes e comparar suas respostas; caso as respostas sejam suficientemente semelhantes, considera-se as matrizes também como semelhantes (figura 6). Para simular a seleção, gerei 1.000 vetores aleatórios, cada um com o mesmo número de elementos das matrizes (ou seja, 39), extraídos de uma distribuição uniforme e normalizados para possuir comprimento total de valor 1; em outras palavras, cada um desses vetores é uma coluna com 39 números aleatoriamente gerados, sendo que a soma dos quadrados desses números é igual a 1. Multipliquei cada um dos mil vetores por cada matriz e, como cada vetor aplicado sobre as matrizes é igual, eventuais diferenças nos vetores-resposta resultantes serão devidas a diferenças nas matrizes. A média da correlação de vetores entre os vetores-resposta de cada matriz é, dessa forma, uma medida do grau de similaridade das matrizes. Para vetores com 39 elementos, correlações de vetores (r) menores que -0,40 ou maiores que 0,40 são estatisticamente significativas ($p < 0,001$).

É importante frisar que essa técnica de comparação de matrizes é diretamente derivada da teoria de genética quantitativa. Ela se baseia na equação de resposta multivariada à seleção (Lande, 1979):

$$\Delta z = G \beta$$

Em que β representa o vetor de seleção, G representa as relações entre caracteres e Δz representa a mudança (ou resposta) evolutiva nos caracteres em questão (Cheverud e Marroig, 2007). Na análise de “random skewers”, as relações entre caracteres são representadas por P e β é representado por cada um dos vetores aleatórios (daí o termo “random skewers”, em inglês).

As matrizes de correlação, por sua vez, foram comparadas por meio de correlações de matrizes elemento por elemento (Cheverud *et al.*, 1989). Esse método de comparação equivale a uma correlação linear paramétrica, em que os elementos correspondentes em cada matriz (por exemplo, os elementos na coluna 1 e linha 1 das matrizes A e B) são considerados como pontos na análise. Dessa

forma, uma correlação entre matrizes simétricas de 39 elementos equivale a uma correlação linear entre duas variáveis, medidas em 741 indivíduos diferentes (que é o número de elementos não repetidos de uma matriz de 39 x 39, excluindo-se a diagonal). Para avaliar a significância estatística dessas correlações utilizei o teste de Mantel, que consiste em comparar a correlação original entre as matrizes com uma distribuição aleatória; se a correlação original fosse maior que 95% das 10.000 correlações simuladas, considerei os padrões significativamente semelhantes (Cheverud *et al.*, 1989). Todas as análises foram realizadas por meio de rotinas escritas especialmente para esse fim, no programa Matlab 7.

Figura 6: Representação esquemática da análise de “random skewers”. A análise consiste em aplicar (multiplicar) um mesmo vetor de seleção a duas matrizes e comparar as respostas resultantes. O cosseno do ângulo formado pelos vetores-resposta, que equivale à correlação entre os elementos desses vetores, é uma estimativa da similaridade dessas matrizes. Neste trabalho, apliquei mil vetores de seleção gerados aleatoriamente e comparei as respostas das matrizes sob investigação a cada um deles. Considerei a correlação média entre os vetores-resposta como uma medida do grau de similaridade entre essas matrizes (esquema inicialmente concebido por Arthur Porto).

Repetibilidade das matrizes e ajuste das comparações

Erros de amostragem podem influenciar a estimativa de elementos individuais das matrizes e por isso limitam a máxima correlação possível entre elas. Ao comparar as matrizes, portanto, é necessário levar isso em consideração, ajustando as comparações de acordo com a repetibilidade das matrizes, que pode ser vista como uma estimativa do erro embutido na estimativa dessas matrizes. Assim, a máxima correlação possível não é 1, mas sim um valor $r_{\max}$, que pode ser obtido calculando-se a raiz quadrada do produto das repetibilidades das matrizes que se deseja comparar. A correlação de matrizes ajustada para as repetibilidades é, dessa forma, uma fração de $r_{\max}$:

$$r_{\text{adj}} = r_{\text{obs}} / r_{\max}$$

Onde r_{obs} e r_{adj} são, respectivamente, a correlação de matrizes observada e ajustada (Cheverud, 1996). A repetibilidade (t) de uma matriz é definida como a proporção da variância nos elementos observados (V_{obs}) devida à variação nos valores reais da população (V_r), ou seja, excluindo a variação devida a erros de amostragem (V_{err}) (Cheverud, 1996). V_{err} é o quadrado do erro padrão da correlação média entre os valores da matriz. Assim, a repetibilidade das matrizes de correlação pode ser diretamente calculada:

$$t = (V_{\text{obs}} - V_{\text{err}}) / V_{\text{obs}}$$

Para calcular as repetibilidades para as matrizes V/CV, utilizei um método de auto-correlação. Mantendo o tamanho da amostra constante, re-amostrei os dados originais e calculei a matriz V/CV correspondente, comparando-a a matriz original por meio do método de “random skewers” (com 1000 vetores aleatórios). Repeti esse procedimento 100 vezes e considerei a média das correlações de vetores como a repetibilidade de cada matriz (Marroig e Cheverud, 2001).

Comparei as matrizes V/CV e de correlação entre espécies de um mesmo gênero, entre gêneros, entre subfamílias, famílias e superfamílias. A comparação das matrizes de dois grupos gera, portanto, um valor que expressa o grau de similaridade entre essas matrizes. Organizei todos os valores de similaridade no nível de gênero (tanto os baseados em matrizes de correlação como em V/CV) em outras duas matrizes, que chamei de “matrizes de similaridade” e utilizei em outras análises.

Magnitude geral das correlações entre caracteres

Para cada um dos gêneros estudados, calculei a média dos coeficientes de correlação entre caracteres, também chamado de coeficiente de determinação da matriz de correlação (r^2). Esse índice é uma medida geral da magnitude das correlações entre todos os caracteres e é extensivamente utilizado em estudos de integração morfológica (Cheverud *et al.*, 1989; Sokal e Rohlf, 1995; Chernoff e Magwene, 1999; Porto *et al.*, 2009). Por ser independente da escala dos organismos estudados, esse é um índice adequado para comparar grupos com tamanhos corpóreos muito variados, como é o caso dos macacos do Velho Mundo. Para testar a significância estatística das diferenças no r^2 entre os grupos, re-amostrei os dados de cada um dos gêneros 100 vezes, mantendo o tamanho da amostra constante (“bootstrap”). Em cada uma das re-amostragens, calculei as matrizes de correlação e o respectivo r^2 , gerando assim uma distribuição de r^2 para cada gênero e intervalos de confiança em torno dos valores observados, o que permitiu detectar em que casos as diferenças entre gêneros foram significativas. Como as matrizes de correlação de muitos dos gêneros foram construídas ponderando-se os efeitos de outras fontes de variação (como sexo, espécie ou interação entre elas, conforme já explicado anteriormente), utilizei os residuais da MANOVA apropriada para cada gênero para realizar essas re-amostragens.

Distâncias morfológicas e filogenéticas

Com a intenção de investigar se os padrões de similaridade nas matrizes de correlação e V/CV foram influenciados pela história evolutiva dos Catarrhini, construí uma matriz de distâncias filogenéticas entre os gêneros. Essas distâncias foram extraídas de uma super-árvore filogenética que abrange 219 espécies de primatas, proposta recentemente (Figura 4; Vos, 2006). As distâncias filogenéticas são os próprios comprimentos de ramo da super-árvore, que são calculados apenas com base em dados moleculares. A correlação dessa matriz de distâncias com a matriz de similaridade entre gêneros informa o quanto os padrões de V/CV e correlação estão estruturados filogeneticamente; em outras palavras, indica o quanto esses padrões foram influenciados pela história do grupo. Optei por usar a hipótese de Vos (2006) porque ela inclui quase a totalidade das espécies amostradas e todos os

gêneros de Catarrhini, indicando os comprimentos de ramos para todos os taxa de interesse para esta investigação. A topologia dessa árvore, contudo, é muito semelhante à de outras propostas, feitas para sub-grupos dos taxa estudados aqui (Purvis, 1995; Page e Goodman, 2001; Xing *et al.*, 2005; Chatterjee, 2006; Osterholz *et al.*, 2008). Dessa forma, utilizar uma outra hipótese filogenética não mudaria significativamente os resultados.

Além das distâncias filogenéticas, calculei também a distância morfológica entre cada par de gêneros. Para isso, determinei a matriz V/CV agrupada para todos os catarrinos (**W**), levando em conta todas as fontes de variação indesejadas, conforme descrito anteriormente. Utilizei então o inverso dessa matriz para estimar as distâncias de Mahalanobis (D^2) entre gêneros, com a fórmula:

$$D^2_{ij} = (\mu_i - \mu_j)' \mathbf{W}^{-1} (\mu_i - \mu_j)$$

Onde μ_i e μ_j são os vetores de médias de cada caráter do primeiro e do segundo táxon, respectivamente (Ackermann, 2002). A distância de Mahalanobis é uma métrica que mede a diferença multivariada entre duas populações baseada em informações de variação e covariação e, portanto, pode ser utilizada para calcular a distância morfológica entre dois grupos (i e j). Dessa maneira, construí uma matriz de distâncias morfológicas que utilizei para averiguar se eventuais dissimilaridades na estrutura de correlação/covariação entre macacos do Velho Mundo corresponderia às distâncias multivariadas entre suas médias. Além disso, verifiquei se as diferenças par a par entre gêneros no índice de integração (r^2) estavam correlacionadas com as distâncias morfológicas e filogenéticas. Todas as comparações foram feitas utilizando-se correlações de matrizes seguidas do teste de Mantel, com 10.000 permutações.

Comparações entre matrizes **G e **P****

Cheverud (1996) utilizou os mesmos caracteres cranianos medidos neste estudo para estimar a matriz **G** de *Saguinus*, um gênero de macaco do Novo Mundo. Considerando a grande distância filogenética entre esse táxon e os macacos do Velho Mundo (Vos, 2006), a detecção de similaridade significativa entre sua matriz **G** e as matrizes **P** dos Catarrhini seria uma evidência forte de

que a matriz **G** se manteve relativamente constante durante todo o tempo de evolução que separou os dois grupos. Além disso, esse achado apoiaria também a hipótese de constância na relação entre **P** e **G** em catarrinos, sugerindo que isso valeria para todos os antropóides (grupo formado pelos macacos do Velho e do Novo Mundo). Com isso em mente, comparei a matriz de variância/covariância genética de *Saguinus*, assim como a matriz de correlação correspondente, às matrizes fenotípicas de cada um dos gêneros de Catarrhini, usando os mesmos métodos já descritos.

Resultados

Similaridade entre as matrizes V/CV e de correlação

De maneira geral, as similaridades entre as matrizes V/CV e de correlação foram bastante altas entre quase todos os taxa investigados, o que sugere que existe um padrão de correlação/covariação comum a todos os macacos do Velho Mundo. Esse padrão foi encontrado entre espécies do mesmo gênero, mas também entre gêneros, subfamílias, famílias e superfamílias. As maiores discrepâncias foram observadas nos níveis taxonômicos menos inclusivos, como entre espécies e gêneros, talvez porque nesses níveis os tamanhos amostrais, e portanto as repetibilidades das matrizes, foram menores.

Todas as comparações entre matrizes V/CV e de correlação entre espécies do mesmo gênero foram significativas ($p < 0,001$), indicando alta similaridade. Apenas 6 entre 180 comparações exibiram valores de similaridade inferiores a 0,7 após o ajuste para repetibilidade (tabela 2). Menores valores em similaridades observadas (isto é, não ajustadas para repetibilidade das matrizes envolvidas) estiveram consistentemente associados a tamanhos menores de amostra e, conseqüentemente, a menores repetibilidades ($r = 0,453$; $p < 0,001$); tal associação desapareceu quando as comparações foram ajustadas. Dessa forma, no nível infragenérico, o padrão geral observado foi o de similaridade alta e estatisticamente significativa tanto entre matrizes V/CV quanto de correlação.

Entre gêneros, detectei similaridade significativa entre todas as matrizes V/CV comparadas (tabela 3). Os valores mais baixos foram obtidos comparando *Mandrillus* com *Nomascus* (0,377 obs. e 0,398 ajust.) e *Papio* e *Nomascus* (0,393 obs. e 0,401 ajust.). Em média, as comparações envolvendo *Mandrillus*, *Nomascus*, *Papio* e *Miopithecus* resultaram em similaridades significativamente mais baixas que as envolvendo outros gêneros (ANOVA seguido do teste post-hoc de Tukey, $p < 0,05$ – figura 7).

Seguindo a mesma tendência, todas as 435 comparações de matrizes de correlação entre gêneros foram estatisticamente significativas considerando-se $p < 0,001$ (tabela 4). Apenas três comparações revelaram similaridades inferiores a 0,4 após o ajuste para repetibilidades: *Homo* x *Papio* (0,297 obs. e 0,331 ajust.), *Homo* x *Mandrillus* (0,318 obs. e 0,377 ajust.) e *Papio* x *Miopithecus* (0,350 obs. e 0,396 ajust.). De fato, as comparações envolvendo *Miopithecus*, *Papio*, *Gorilla* e *Homo* resultaram em similaridades significativamente mais baixas que as dos outros gêneros, antes e depois de ajustar para repetibilidades (ANOVA seguido do teste post-hoc de Tukey, $p < 0,05$).

Os resultados de similaridade média para cada gênero são praticamente os mesmos se calculados por meio das matrizes V/CV ou de correlação (figura 7). A maior parte das diferenças entre as comparações dos dois tipos de matrizes foi menor que 0,05, sendo que a maior foi de 0,132 (*Homo*). Os cinco gêneros para os quais obtive as similaridades médias mais baixas em padrões de correlação apresentaram valores mais baixos também em relação às matrizes V/CV (*Mandrillus*, *Papio*, *Miopithecus*, *Homo* e *Gorilla*). *Cercopithecus*, *Chlorocebus*, *Trachypithecus*, *Macaca*, *Colobus* e *Nasalis* apresentaram similaridades médias maiores que 0,8 para os dois tipos de matrizes. Registre as maiores diferenças entre os cálculos baseados em matrizes de correlação e V/CV nos gêneros *Homo*, *Rhinopithecus*, *Pygathrix*, *Simias*, *Allenopithecus* e *Gorilla*.

Tabela 2: Correlação de matrizes e correlação de vetores (conforme determinada pelo método de “random skewers”) obtidas comparando espécies dentro dos gêneros de Catarhini. Estão representados os valores médios (avg), mínimos (min) e máximos (max) para tamanhos das amostras (n), repetibilidades (δ), correlações de matrizes observadas e corrigidas, bem como correlações de vetores (método de “random skewers”) observadas e corrigidas. Todas as correlações de matrizes foram significativas no nível de $p < 0,0001$ em 10.000 permutações e todas as correlações de vetores foram significativas no nível de $p < 0,001$ em 1.000 vetores aleatórios. Todos os gêneros de Catarhini para os quais houvesse amostras suficientes para determinar as matrizes de pelo menos duas espécies foram analisados, resultando em 180 comparações. As seguintes espécies foram comparadas par a par dentro de cada gênero: *Cercocebus: agilis, atys, torquatus; Ceropithecus: albogularis, ascanius, campbelli, cephus, denti, diana, hamlyni, boesti, mitis, mona, neglectus, nititans, petaurista, pogonias, volfi; Chlorocebus: aethiops, pygerythrus, sabaesus, tantalus; Colobus: angolensis, guereza, vellerosus; Gorilla: beringei, gorilla; Hylobates: agilis, lar, mueleri; Lophoceros: albigena, atermius; Macaca: assamensis, cyclops, fascicularis, fuscata, mulatta, nemestrina, nigra, sylvanus; Mandrillus: leucophaeus, sphinx; Pan: paniscus, troglodytes; Papio: anubis, cynocephalus, hamadryas, ursinus; Ptilocolobus: badius, foai, pennantii, tholloni; Presbytis: chrysomelas, comata, femoralis, melalophos, rubicunda; Trachypithecus: auratus, cristatus, obscurus, phayrei.*

Gênero	Tamanho da amostra						Matrizes de correlação												Matrizes V/CV					
							repetibilidade			observada			ajustada			repetibilidade			observada			ajustada		
	n avg	n min	n max	t avg	t min	t max	avg	min	max	avg	min	max	t avg	t min	t max	avg	min	max	t avg	t min	t max	avg	min	max
<i>Cercocebus</i>	53,3	44	68	0,67	0,61	0,75	0,79	0,78	0,81	0,86	0,85	0,87	0,92	0,90	0,95	0,63	0,62	0,64	0,95	0,90	0,99	0,95	0,90	0,99
<i>Ceropithecus</i>	55,3	42	77	0,64	0,48	0,72	0,78	0,63	0,85	0,84	0,69	0,92	0,92	0,90	0,95	0,63	0,45	0,75	0,98	0,66	1,19	0,98	0,66	1,19
<i>Chlorocebus</i>	71,5	41	139	0,66	0,57	0,82	0,79	0,72	0,88	0,84	0,78	0,92	0,94	0,92	0,97	0,59	0,43	0,75	0,90	0,74	1,02	0,90	0,74	1,02
<i>Colobus</i>	102,3	42	203	0,70	0,56	0,86	0,79	0,77	0,81	0,85	0,84	0,85	0,94	0,90	0,98	0,64	0,62	0,64	0,92	0,83	1,03	0,92	0,83	1,03
<i>Gorilla</i>	145,5	90	201	0,76	0,70	0,83	0,88	0,88	0,88	0,92	0,92	0,92	0,96	0,94	0,98	0,67	0,67	0,67	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89
<i>Hylobates</i>	66,0	43	90	0,61	0,45	0,73	0,80	0,79	0,81	0,87	0,86	0,88	0,92	0,91	0,94	0,62	0,60	0,63	1,05	0,88	1,19	1,05	0,88	1,19
<i>Lophoceros</i>	97,5	58	137	0,74	0,70	0,78	0,82	0,82	0,82	0,86	0,86	0,86	0,95	0,94	0,96	0,68	0,68	0,68	0,92	0,92	0,92	0,92	0,92	0,92
<i>Macaca</i>	57,9	41	140	0,63	0,45	0,81	0,80	0,71	0,91	0,86	0,77	0,94	0,94	0,92	0,98	0,62	0,36	0,79	0,99	0,67	1,15	0,99	0,67	1,15
<i>Mandrillus</i>	50,5	41	60	0,73	0,69	0,77	0,82	0,82	0,82	0,86	0,86	0,86	0,95	0,95	0,96	0,55	0,55	0,55	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
<i>Pan</i>	103,5	56	151	0,70	0,58	0,81	0,72	0,72	0,72	0,77	0,77	0,77	0,94	0,92	0,97	0,58	0,58	0,58	0,83	0,83	0,83	0,83	0,83	0,83
<i>Papio</i>	85,5	51	175	0,78	0,69	0,89	0,83	0,72	0,90	0,87	0,77	0,93	0,96	0,94	0,99	0,67	0,55	0,77	0,88	0,75	0,95	0,88	0,75	0,95
<i>Ptilocolobus</i>	81,3	65	102	0,72	0,60	0,77	0,76	0,71	0,81	0,80	0,76	0,86	0,94	0,93	0,95	0,50	0,43	0,60	0,71	0,60	0,80	0,71	0,60	0,80
<i>Presbytis</i>	42,6	41	44	0,47	0,38	0,53	0,67	0,59	0,72	0,75	0,67	0,81	0,89	0,88	0,89	0,41	0,34	0,48	0,89	0,68	1,06	0,89	0,68	1,06
<i>Trachypithecus</i>	59,3	42	80	0,61	0,56	0,65	0,74	0,53	0,81	0,86	0,86	0,79	0,92	0,90	0,94	0,60	0,69	0,97	0,76	0,74	0,43	0,76	0,74	0,43

Tabela 3. Média das correlações de vetores entre as respostas das matrizes V/CV dos gêneros de Catarhini e de *Saguinus* a 1.000 vetores aleatórios. A diagonal, em negrito, contém a repetibilidades das matrizes. Comparações não-corrigidas estão na metade inferior, e as corrigidas, na superior; todas elas são significativas considerando-se $p < 0,001$.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	
1. <i>Allenopithecus</i>	0,92	0,67	0,84	0,88	0,88	0,81	0,84	0,69	0,65	0,69	0,64	0,85	0,87	0,75	0,72	0,85	0,56	0,79	0,79	0,82	0,81	0,72	0,66	0,76	0,78	0,84	0,79	0,69	0,78	0,77	0,69	0,60	
2. <i>Bunopithecus</i>	0,61	0,91	0,67	0,78	0,74	0,77	0,65	0,68	0,78	0,90	0,76	0,73	0,68	0,50	0,64	0,77	0,81	0,74	0,51	0,76	0,69	0,84	0,77	0,76	0,70	0,66	0,72	0,83	0,69	0,85	0,79	0,64	
3. <i>Cercocetus</i>	0,79	0,63	0,97	0,91	0,89	0,86	0,84	0,70	0,67	0,70	0,71	0,93	0,93	0,79	0,72	0,84	0,57	0,85	0,83	0,87	0,82	0,75	0,74	0,79	0,71	0,86	0,74	0,66	0,80	0,79	0,76	0,68	
4. <i>Ceropithecus</i>	0,84	0,74	0,90	0,99	0,97	0,92	0,89	0,77	0,76	0,80	0,78	0,93	0,92	0,72	0,78	0,89	0,66	0,87	0,76	0,93	0,84	0,84	0,82	0,86	0,78	0,89	0,83	0,77	0,80	0,88	0,81	0,73	
5. <i>Chlorocetus</i>	0,84	0,70	0,87	0,96	0,98	0,91	0,86	0,78	0,76	0,79	0,77	0,92	0,92	0,71	0,78	0,88	0,64	0,84	0,75	0,93	0,83	0,82	0,83	0,85	0,79	0,90	0,79	0,77	0,82	0,88	0,81	0,73	
6. <i>Colobus</i>	0,77	0,73	0,84	0,91	0,90	0,98	0,79	0,74	0,77	0,79	0,84	0,91	0,87	0,66	0,73	0,90	0,64	0,87	0,69	0,91	0,80	0,86	0,83	0,86	0,78	0,85	0,78	0,78	0,75	0,92	0,82	0,75	
7. <i>Erythrocebus</i>	0,78	0,60	0,81	0,86	0,83	0,76	0,95	0,66	0,63	0,66	0,63	0,84	0,88	0,74	0,69	0,81	0,54	0,80	0,79	0,82	0,78	0,69	0,68	0,77	0,75	0,82	0,76	0,64	0,77	0,71	0,67	0,63	
8. <i>Gorilla</i>	0,66	0,65	0,68	0,76	0,77	0,72	0,63	0,98	0,82	0,72	0,67	0,74	0,73	0,56	0,61	0,69	0,62	0,75	0,57	0,80	0,81	0,79	0,75	0,76	0,67	0,66	0,65	0,67	0,75	0,76	0,72	0,66	
9. <i>Homo</i>	0,62	0,73	0,65	0,75	0,74	0,75	0,61	0,80	0,98	0,79	0,75	0,73	0,69	0,48	0,64	0,75	0,66	0,74	0,48	0,78	0,75	0,86	0,82	0,78	0,67	0,66	0,70	0,72	0,67	0,84	0,79	0,69	
10. <i>Hylobates</i>	0,65	0,85	0,68	0,79	0,77	0,77	0,64	0,70	0,77	0,97	0,80	0,78	0,71	0,50	0,66	0,78	0,90	0,75	0,51	0,78	0,71	0,88	0,83	0,77	0,68	0,70	0,74	0,89	0,70	0,88	0,84	0,70	
11. <i>Kasi</i>	0,59	0,68	0,66	0,74	0,72	0,79	0,58	0,63	0,70	0,74	0,90	0,78	0,72	0,57	0,64	0,76	0,69	0,75	0,58	0,78	0,70	0,83	0,82	0,75	0,68	0,70	0,70	0,73	0,66	0,87	0,76	0,66	
12. <i>Lophocetus</i>	0,80	0,69	0,90	0,92	0,90	0,89	0,80	0,73	0,71	0,76	0,73	0,97	0,93	0,76	0,71	0,85	0,66	0,88	0,79	0,90	0,83	0,79	0,79	0,82	0,75	0,86	0,80	0,74	0,81	0,86	0,79	0,67	
13. <i>Macaca</i>	0,84	0,65	0,91	0,92	0,91	0,86	0,86	0,72	0,68	0,70	0,68	0,91	0,99	0,81	0,73	0,87	0,58	0,85	0,85	0,88	0,85	0,74	0,76	0,84	0,77	0,90	0,78	0,69	0,85	0,81	0,75	0,67	
14. <i>Mandrillus</i>	0,71	0,48	0,77	0,71	0,69	0,65	0,71	0,55	0,47	0,49	0,53	0,74	0,80	0,97	0,58	0,69	0,40	0,69	0,93	0,65	0,70	0,54	0,54	0,62	0,60	0,71	0,64	0,48	0,73	0,57	0,54	0,48	
15. <i>Miopithecus</i>	0,66	0,59	0,68	0,74	0,74	0,69	0,64	0,58	0,60	0,63	0,58	0,67	0,70	0,55	0,92	0,72	0,55	0,67	0,61	0,73	0,69	0,70	0,70	0,73	0,69	0,76	0,64	0,63	0,64	0,71	0,67	0,62	
16. <i>Nasalis</i>	0,79	0,71	0,79	0,85	0,83	0,86	0,76	0,66	0,71	0,74	0,69	0,81	0,84	0,66	0,67	0,92	0,64	0,84	0,72	0,84	0,82	0,80	0,77	0,84	0,80	0,85	0,82	0,75	0,77	0,87	0,77	0,71	
17. <i>Nomascus</i>	0,52	0,74	0,54	0,63	0,61	0,61	0,50	0,59	0,63	0,86	0,63	0,62	0,55	0,38	0,50	0,59	0,93	0,60	0,41	0,64	0,57	0,77	0,72	0,63	0,55	0,57	0,58	0,83	0,65	0,76	0,73	0,61	
18. <i>Pan</i>	0,74	0,69	0,82	0,86	0,82	0,85	0,76	0,73	0,72	0,73	0,70	0,86	0,83	0,67	0,64	0,79	0,57	0,97	0,71	0,86	0,83	0,79	0,77	0,79	0,73	0,75	0,78	0,70	0,80	0,85	0,73	0,64	
19. <i>Papio</i>	0,76	0,48	0,82	0,76	0,75	0,68	0,76	0,56	0,48	0,50	0,55	0,78	0,85	0,91	0,58	0,69	0,39	0,70	0,99	0,70	0,72	0,54	0,56	0,65	0,64	0,77	0,66	0,50	0,76	0,59	0,57	0,52	
20. <i>Ptilocolobus</i>	0,78	0,72	0,85	0,92	0,92	0,89	0,79	0,78	0,76	0,76	0,73	0,88	0,87	0,64	0,70	0,80	0,61	0,84	0,69	0,98	0,82	0,84	0,84	0,86	0,76	0,84	0,76	0,75	0,79	0,89	0,82	0,71	
21. <i>Pongo</i>	0,76	0,65	0,79	0,82	0,81	0,78	0,74	0,78	0,72	0,72	0,69	0,65	0,80	0,83	0,67	0,64	0,77	0,53	0,80	0,70	0,96	0,75	0,76	0,81	0,80	0,82	0,74	0,65	0,80	0,79	0,73	0,70	
22. <i>Presbytis</i>	0,68	0,80	0,73	0,83	0,80	0,84	0,66	0,77	0,84	0,85	0,77	0,77	0,72	0,52	0,66	0,76	0,73	0,77	0,53	0,82	0,73	0,97	0,87	0,83	0,70	0,72	0,74	0,83	0,71	0,92	0,83	0,74	
23. <i>Procolobus</i>	0,61	0,72	0,71	0,80	0,80	0,80	0,65	0,73	0,79	0,80	0,75	0,76	0,73	0,51	0,65	0,72	0,67	0,74	0,54	0,81	0,73	0,83	0,95	0,83	0,70	0,73	0,71	0,76	0,69	0,88	0,81	0,74	
24. <i>Pygathrix</i>	0,70	0,69	0,75	0,82	0,81	0,82	0,72	0,72	0,74	0,73	0,68	0,78	0,81	0,59	0,67	0,77	0,59	0,75	0,62	0,82	0,76	0,78	0,77	0,92	0,76	0,81	0,76	0,73	0,74	0,88	0,80	0,69	
25. <i>Rhinopithecus</i>	0,69	0,62	0,65	0,72	0,73	0,72	0,67	0,62	0,61	0,62	0,60	0,69	0,71	0,55	0,61	0,72	0,49	0,67	0,59	0,69	0,72	0,64	0,63	0,68	0,86	0,79	0,73	0,65	0,68	0,76	0,66	0,66	
26. <i>Semnopithecus</i>	0,79	0,62	0,84	0,87	0,87	0,83	0,79	0,64	0,64	0,68	0,65	0,83	0,89	0,69	0,72	0,80	0,54	0,73	0,75	0,82	0,79	0,70	0,70	0,77	0,72	0,97	0,73	0,68	0,76	0,80	0,74	0,70	
27. <i>Simias</i>	0,71	0,65	0,68	0,77	0,73	0,73	0,69	0,61	0,65	0,68	0,62	0,74	0,73	0,59	0,57	0,73	0,52	0,72	0,61	0,71	0,68	0,68	0,64	0,68	0,64	0,67	0,88	0,72	0,69	0,78	0,70	0,61	
28. <i>Symphalangus</i>	0,64	0,76	0,63	0,74	0,74	0,74	0,60	0,64	0,68	0,85	0,67	0,71	0,66	0,46	0,58	0,69	0,77	0,66	0,48	0,72	0,62	0,79	0,71	0,68	0,58	0,65	0,65	0,93	0,69	0,84	0,81	0,70	
29. <i>Theropithecus</i>	0,72	0,63	0,76	0,77	0,78	0,72	0,72	0,72	0,72	0,64	0,67	0,60	0,77	0,81	0,69	0,59	0,72	0,60	0,75	0,73	0,75	0,76	0,68	0,65	0,68	0,61	0,72	0,62	0,64	0,93	0,73	0,71	0,59
30. <i>Trachypithecus</i>	0,73	0,81	0,77	0,87	0,86	0,91	0,69	0,75	0,82	0,86	0,81	0,84	0,80	0,56	0,67	0,83	0,72	0,82	0,59	0,87	0,76	0,90	0,85	0,83	0,70	0,78	0,72	0,80	0,70	0,98	0,85	0,74	
31. <i>Saguinus P</i>	0,65	0,74	0,74	0,79	0,79	0,81	0,65	0,70	0,77	0,81	0,71	0,77	0,74	0,53	0,63	0,73	0,70	0,71	0,56	0,80	0,70	0,81	0,78	0,75	0,60	0,72	0,65	0,77	0,68	0,83	0,97	0,83	
32. <i>Saguinus G</i>	0,50	0,53	0,58	0,63	0,63	0,64	0,53	0,57	0,59	0,60	0,54	0,58	0,58	0,41	0,51	0,59	0,51	0,55	0,45	0,61	0,59	0,63	0,63	0,58	0,53	0,60	0,49	0,59	0,49	0,64	0,71	0,75	

Tabela 4: Correlações entre as matrizes de correlação dos gêneros de Catarhini e de *Saguinus*. A diagonal, em negrito, contém a repetibilidade da matriz de cada gênero. Comparações não-corrigidas estão na metade inferior, e as corrigidas, na superior; todas elas são significativas em $p < 0,05$ e 99% delas também o são em $p < 0,001$, em testes com 10.000 permutações.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
1. <i>Allenopithecus</i>	0.58	0.89	0.86	0.91	0.93	0.92	0.80	0.65	0.51	0.81	0.77	0.82	0.99	0.86	0.82	1.14	0.65	0.85	0.87	0.81	0.85	0.80	0.59	0.92	1.12	1.03	1.03	0.80	0.79	0.88	0.49	0.40
2. <i>Banopithecus</i>	0.49	0.52	0.68	0.90	0.81	0.79	0.80	0.57	0.63	0.97	0.76	0.68	0.74	0.57	0.74	0.94	0.98	0.78	0.52	0.74	0.63	0.85	0.77	0.87	0.89	0.79	0.95	0.94	0.67	0.87	0.63	0.55
3. <i>Cercopithecus</i>	0.62	0.46	0.88	0.86	0.84	0.87	0.76	0.59	0.57	0.74	0.84	0.96	0.95	0.80	0.70	0.88	0.63	0.85	0.77	0.84	0.81	0.73	0.80	0.98	0.76	0.91	0.80	0.64	0.73	0.81	0.62	0.54
4. <i>Ceropithecus</i>	0.69	0.64	0.79	0.97	0.96	0.87	0.92	0.61	0.56	0.86	0.81	0.85	0.87	0.66	0.76	0.89	0.81	0.83	0.66	0.84	0.68	0.78	0.81	0.87	0.86	0.84	0.86	0.82	0.70	0.82	0.55	0.55
5. <i>Chlorocebus</i>	0.68	0.55	0.76	0.90	0.91	0.89	0.86	0.68	0.60	0.83	0.84	0.82	0.88	0.69	0.75	0.92	0.78	0.79	0.67	0.86	0.71	0.77	0.85	0.86	0.91	0.82	0.81	0.83	0.77	0.85	0.62	0.62
6. <i>Colobus</i>	0.67	0.55	0.78	0.81	0.81	0.91	0.74	0.67	0.62	0.78	0.96	0.90	0.89	0.76	0.65	0.96	0.74	0.85	0.74	0.89	0.75	0.86	0.82	1.00	0.88	0.87	0.87	0.81	0.77	0.94	0.66	0.65
7. <i>Erythrocebus</i>	0.51	0.48	0.60	0.77	0.69	0.59	0.71	0.45	0.50	0.77	0.62	0.71	0.80	0.56	0.65	0.83	0.78	0.69	0.63	0.70	0.62	0.63	0.68	0.76	0.82	0.68	0.74	0.62	0.50	0.64	0.49	0.47
8. <i>Gorilla</i>	0.46	0.39	0.52	0.56	0.61	0.60	0.35	0.87	0.60	0.56	0.57	0.62	0.67	0.55	0.44	0.61	0.54	0.69	0.49	0.71	0.78	0.65	0.65	0.80	0.63	0.55	0.62	0.68	0.80	0.68	0.46	0.62
9. <i>Homo</i>	0.36	0.42	0.50	0.51	0.52	0.55	0.39	0.52	0.85	0.62	0.60	0.60	0.59	0.38	0.50	0.64	0.59	0.64	0.33	0.55	0.53	0.68	0.68	0.67	0.59	0.55	0.64	0.65	0.61	0.72	0.54	0.49
10. <i>Hylobates</i>	0.57	0.65	0.65	0.79	0.73	0.69	0.60	0.48	0.53	0.86	0.75	0.76	0.78	0.56	0.72	0.88	0.93	0.77	0.55	0.71	0.61	0.79	0.77	0.82	0.81	0.84	0.90	0.98	0.66	0.84	0.63	0.67
11. <i>Kasi</i>	0.41	0.38	0.55	0.56	0.56	0.64	0.36	0.37	0.39	0.48	0.49	0.92	0.85	0.89	0.55	0.92	0.66	0.80	0.86	0.83	0.73	0.81	0.93	0.97	0.92	0.75	0.94	0.71	0.76	0.88	0.64	0.57
12. <i>Lophocebus</i>	0.58	0.46	0.84	0.78	0.72	0.80	0.56	0.54	0.51	0.65	0.60	0.86	0.92	0.83	0.61	0.86	0.72	0.88	0.82	0.80	0.74	0.71	0.82	0.90	0.78	0.82	0.86	0.72	0.75	0.83	0.59	0.46
13. <i>Macaca</i>	0.74	0.52	0.88	0.84	0.82	0.83	0.66	0.62	0.54	0.70	0.59	0.84	0.96	0.83	0.73	0.95	0.64	0.86	0.82	0.83	0.83	0.73	0.78	0.99	0.92	0.94	0.89	0.70	0.80	0.84	0.57	0.45
14. <i>Mandrillus</i>	0.60	0.38	0.68	0.59	0.60	0.66	0.43	0.47	0.32	0.47	0.57	0.71	0.75	0.84	0.46	0.84	0.40	0.72	0.96	0.58	0.81	0.52	0.60	0.79	0.74	0.71	0.73	0.53	0.62	0.70	0.43	0.32
15. <i>Miopithecus</i>	0.57	0.49	0.60	0.68	0.65	0.56	0.50	0.37	0.42	0.61	0.35	0.51	0.65	0.38	0.82	0.79	0.66	0.66	0.40	0.64	0.53	0.67	0.66	0.76	0.79	0.85	0.65	0.64	0.53	0.64	0.41	0.32
16. <i>Nasalis</i>	0.68	0.53	0.65	0.69	0.68	0.72	0.55	0.45	0.46	0.64	0.50	0.63	0.73	0.60	0.56	0.62	0.77	0.86	0.82	0.80	0.80	0.83	0.76	0.99	1.10	1.00	0.99	0.80	0.71	0.95	0.61	0.53
17. <i>Nomascus</i>	0.39	0.56	0.47	0.63	0.59	0.56	0.52	0.40	0.43	0.68	0.37	0.53	0.50	0.29	0.48	0.48	0.63	0.65	0.45	0.67	0.46	0.79	0.73	0.73	0.68	0.69	0.68	0.93	0.72	0.76	0.69	0.74
18. <i>Pan</i>	0.59	0.52	0.74	0.75	0.69	0.75	0.54	0.60	0.54	0.66	0.52	0.76	0.78	0.61	0.55	0.63	0.48	0.85	0.72	0.80	0.81	0.76	0.79	0.90	0.79	0.80	0.84	0.70	0.73	0.85	0.50	0.45
19. <i>Papio</i>	0.64	0.37	0.71	0.63	0.63	0.69	0.52	0.45	0.30	0.49	0.59	0.74	0.78	0.85	0.35	0.62	0.35	0.65	0.95	0.59	0.73	0.51	0.57	0.75	0.76	0.70	0.77	0.48	0.68	0.66	0.43	0.35
20. <i>Ptilocolobus</i>	0.59	0.51	0.76	0.79	0.79	0.81	0.56	0.63	0.49	0.63	0.56	0.71	0.78	0.51	0.56	0.60	0.51	0.70	0.55	0.92	0.68	0.80	0.84	0.95	0.80	0.79	0.73	0.70	0.77	0.83	0.60	0.54
21. <i>Pongo</i>	0.56	0.40	0.66	0.58	0.59	0.61	0.45	0.63	0.42	0.49	0.44	0.59	0.71	0.64	0.42	0.54	0.32	0.64	0.61	0.57	0.75	0.63	0.73	0.85	0.85	0.80	0.70	0.55	0.78	0.71	0.48	0.57
22. <i>Presbytis</i>	0.57	0.57	0.64	0.72	0.68	0.76	0.49	0.56	0.58	0.68	0.52	0.61	0.66	0.44	0.57	0.60	0.58	0.65	0.46	0.71	0.50	0.86	0.80	0.93	0.74	0.75	0.75	0.87	0.71	0.92	0.58	0.60
23. <i>Procolobus</i>	0.36	0.44	0.60	0.64	0.65	0.63	0.46	0.49	0.50	0.57	0.52	0.61	0.61	0.44	0.48	0.48	0.46	0.58	0.45	0.64	0.50	0.59	0.64	0.91	0.69	0.69	0.74	0.73	0.71	0.86	0.60	0.60
24. <i>Pygathrix</i>	0.48	0.43	0.63	0.59	0.56	0.65	0.44	0.51	0.42	0.52	0.46	0.57	0.67	0.49	0.47	0.53	0.40	0.57	0.50	0.62	0.50	0.59	0.50	0.47	0.94	0.93	1.02	0.77	0.88	0.98	0.67	0.49
25. <i>Rhinopithecus</i>	0.58	0.43	0.49	0.57	0.58	0.57	0.47	0.40	0.37	0.51	0.43	0.49	0.61	0.46	0.49	0.58	0.37	0.49	0.50	0.52	0.49	0.46	0.37	0.43	0.46	1.03	1.05	0.77	0.75	0.86	0.43	0.47
26. <i>Semnopithecus</i>	0.71	0.52	0.78	0.75	0.70	0.75	0.52	0.46	0.46	0.70	0.48	0.69	0.83	0.59	0.70	0.71	0.50	0.67	0.62	0.69	0.62	0.63	0.50	0.58	0.63	0.82	0.86	0.73	0.75	0.85	0.54	0.49
27. <i>Simias</i>	0.54	0.47	0.52	0.58	0.53	0.57	0.43	0.40	0.41	0.57	0.46	0.55	0.60	0.46	0.40	0.53	0.37	0.53	0.52	0.48	0.42	0.48	0.41	0.48	0.49	0.54	0.47	0.85	0.70	0.88	0.58	0.50
28. <i>Symphalangus</i>	0.46	0.52	0.46	0.61	0.59	0.58	0.39	0.48	0.45	0.69	0.38	0.51	0.52	0.37	0.44	0.48	0.56	0.49	0.35	0.50	0.36	0.61	0.44	0.40	0.39	0.50	0.44	0.57	0.68	0.86	0.68	0.77
29. <i>Theropithecus</i>	0.46	0.37	0.53	0.53	0.56	0.56	0.32	0.57	0.43	0.47	0.41	0.53	0.60	0.43	0.37	0.43	0.44	0.52	0.51	0.56	0.52	0.50	0.43	0.46	0.39	0.52	0.37	0.39	0.58	0.74	0.60	0.48
30. <i>Trachypithecus</i>	0.63	0.59	0.72	0.76	0.76	0.84	0.50	0.59	0.62	0.73	0.58	0.72	0.77	0.60	0.55	0.70	0.57	0.74	0.60	0.75	0.58	0.80	0.65	0.63	0.55	0.72	0.57	0.61	0.53	0.88	0.65	0.68
31. <i>Saguinus P</i>	0.37	0.45	0.57	0.54	0.58	0.62	0.41	0.42	0.50	0.58	0.44	0.54	0.55	0.39	0.37	0.47	0.54	0.45	0.41	0.57	0.41	0.53	0.48	0.45	0.29	0.48	0.39	0.51	0.45	0.61	0.97	0.82
32. <i>Saguinus G</i>	0.18	0.23	0.30	0.32	0.35	0.36	0.23	0.34	0.26	0.37	0.24	0.25	0.26	0.17	0.17	0.25	0.35	0.25	0.20	0.31	0.29	0.33	0.28	0.20	0.19	0.26	0.21	0.34	0.22	0.38	0.48	0.35

Figura 7: Similaridade média entre gêneros de macacos do Velho Mundo, conforme baseada em comparações de matrizes V/CV (esquerda) e de correlação (direita).

Nas comparações entre subfamílias, famílias e superfamílias, todas as matrizes V/CV e de correlação se mostraram altamente semelhantes (tabela 5). Os valores de similaridade não ajustados para repetibilidade tenderam a ser levemente mais altos em grupos com tamanhos de amostra maiores (ex.: Cercopithecidae), mas essa tendência não é estatisticamente significativa; na realidade, ela desapareceu quando as repetibilidades das matrizes foram levadas em consideração.

Os valores de similaridade entre matrizes V/CV foram, em média, 0,16 mais altos que comparações dos mesmos grupos realizadas entre matrizes de correlação. Essa diferença foi reduzida para 0,02 quando ajustei as comparações para as repetibilidades das matrizes e também sofreu redução de acordo com o nível taxonômico considerado: níveis mais inclusivos (ex.: superfamília) exibiram diferenças menores que o nível das espécies (figura 8).

Tabela 5: Comparações entre subfamílias, famílias e superfamílias de Catarrhini utilizando correlação de matrizes e correlação de vetores. As linhas tracejadas separam as comparações de cada nível taxonômico. A máxima correlação possível ($\sqrt{t_1 t_2}$), bem como valores corrigidos e não corrigidos para repetibilidade estão apresentados para cada comparação. Todas as comparações entre matrizes de correlação foram significativas em $p < 0,0001$, com 10.000 permutações; todas as correlações de vetores foram significativas em $p < 0,001$, com 1.000 vetores aleatórios. A média e o desvio-padrão referentes a todas as comparações estão no final da tabela.

Táxon 1	Táxon 2	Matrizes V/CV				Matrizes de correlação			
		t_1	t_2	observada	ajustada	t_1	t_2	observada	ajustada
Cercopithecinae	Colobinae	0,998	0,996	0,845	0,848	0,990	0,976	0,904	0,920
Cercopithecinae	Homininae	0,998	0,991	0,762	0,766	0,990	0,941	0,788	0,816
Cercopithecinae	Hylobatinae	0,998	0,984	0,644	0,650	0,990	0,909	0,771	0,813
Colobinae	Homininae	0,996	0,991	0,874	0,880	0,976	0,941	0,822	0,858
Colobinae	Hylobatinae	0,996	0,984	0,832	0,840	0,976	0,909	0,792	0,841
Homininae	Hylobatinae	0,991	0,984	0,768	0,777	0,941	0,909	0,681	0,737
Cercopithecidae	Hominidae	0,998	0,991	0,798	0,802	0,992	0,941	0,817	0,846
Cercopithecidae	Hylobatidae	0,998	0,983	0,691	0,697	0,992	0,909	0,795	0,837
Hominidae	Hylobatidae	0,991	0,983	0,768	0,778	0,941	0,909	0,681	0,737
Cercopithecoidea	Hominoidea	0,998	0,992	0,803	0,806	0,992	0,958	0,875	0,898
Média				0,778	0,784			0,793	0,830
Desvio-padrão				0,070	0,069			0,072	0,059

Figura 8: Similaridade média das comparações ajustadas e não ajustadas para repetibilidade, tanto de matrizes de correlação como V/CV entre macacos do Velho Mundo. Estão representados os valores médios para cada nível comparado.

Magnitude geral da correlação entre caracteres

O nível geral da correlação entre as medidas cranianas estudadas, conforme indicado pelo coeficiente de determinação r^2 , variou consideravelmente entre os Catarrhini, desde um mínimo de 0,04 (*Presbytis*) até um máximo de 0,28 (*Semnopithecus*), com uma média de 0,12 (figura 9). A matriz de diferenças par a par entre gêneros no r^2 mostrou-se negativamente associada à similaridade nos padrões de V/CV e de correlação, e não correlacionada nem com as distâncias morfológicas nem com as filogenéticas (tabela 6).

Figura 9: A hipótese filogenética adotada neste estudo associada ao índice de magnitude geral das correlações entre caracteres (r^2), para cada terminal. As barras de erro correspondem a dois desvios-padrão e a maior parte das comparações par a par entre valores de r^2 foram estatisticamente significativas ($p < 0.05$).

Tabela 6: Correlações par a par entre as seguintes matrizes, calculadas entre gêneros de Catarrhini: de similaridade nos padrões de covariação, similaridade nos padrões de correlação, de distâncias morfológicas, de distâncias filogenéticas e de diferenças par a par no índice de magnitude r^2 . Negrito indica $p < 0,05$; itálico e negrito indicam $p < 0,0001$.

	Covariância	Correlação	Morfológica	Filogenética	r^2
Covariância	1				
Correlação	<i>0,665</i>	1			
Morfológica	-0,234	<i>-0,535</i>	1		
Filogenética	<i>-0,362</i>	<i>-0,362</i>	<i>0,424</i>	1	
r^2	<i>-0,346</i>	-0,218	0,028	0,080	1

Padrões de similaridade, distâncias morfológicas e filogenéticas

De maneira geral, os resultados referentes ao grau de similaridade das matrizes sugerem a presença de um padrão de covariação amplamente compartilhado por todos os macacos do Velho Mundo. Dado que o arranjo taxonômico utilizado aqui reflete as relações filogenéticas, a alta similaridade das matrizes, observada em vários níveis taxonômicos, poderia sugerir que os padrões de V/CV e correlação são independentes da história filogenética do grupo (figura 8). Entretanto, detectei uma correlação significativa entre a matriz de distâncias filogenéticas e as matrizes de similaridade entre gêneros, tanto a baseada em V/CV, quanto a baseada em correlações (tabela 6; figura 10). Além disso, as distâncias morfológicas (tabela 7) mostraram-se altamente correlacionadas com a matriz de similaridade, especialmente a que foi derivada das matrizes de correlação (tabela 6). Distâncias morfológicas e filogenéticas também apresentaram correlações significativas, indicando que grupos separados por uma pequena distância morfológica são os mais próximos filogeneticamente (tabela 6). Quando observados em conjunto, esses resultados indicam que a história filogenética de Catarrhini está fortemente relacionada aos padrões de covariação/correlação e à quantidade de mudança morfológica, mas não à magnitude da integração entre os caracteres.

Figura 10: Correlação entre a matriz de similaridade nos padrões de V/CV e as distâncias filogenéticas par a par entre gêneros de Catarrhini. A correlação é significativa de acordo com um teste de Mantel com 10.000 permutações ($r = -0.362$; $p < 0.001$), indicando a presença de sinal filogenético na similaridade dos padrões de covariação. Um gráfico muito semelhante foi obtido utilizando-se a matriz de similaridade nos padrões de correlação no lugar da de variância/covariância.

Similaridade entre matrizes G e P

Todas as comparações entre as matrizes fenotípicas de macacos do Velho Mundo e a matriz genética de *Saguinus* resultaram em similaridades altas e significativas (tabelas 3 e 4). Os valores mais baixos foram registrados para comparações com *Mandrillus* (0,411 obs. e 0,481 ajust.) e *Papio* (0,452 obs. e 0,523 ajust.). A matriz fenotípica de *Saguinus* também se revelou altamente similar à de todos os macacos do Velho Mundo; vale notar que, em todos os casos, a matriz fenotípica foi mais semelhante que a sua correspondente genotípica. Seguindo a mesma tendência, os valores mais baixos foram encontrados comparando *Saguinus* a *Mandrillus* (0,530 obs. e 0,543 ajust.) e *Papio* (0,559 obs. e 0,569 ajust.). Os resultados obtidos com as matrizes de correlação equivalentes resultaram nos mesmos padrões de similaridade (tabela 4): a grande maioria das comparações foi significativa considerando-se $p < 0,001$, excetuando-se apenas quatro gêneros, que geraram valores de probabilidade mais alto, correspondendo aos menores graus de similaridade: *Miopithecus* (ajust.= 0,316; $p = 0,025$), *Mandrillus* (ajust. = 0,315, $p = 0,020$), *Papio* (ajust. = 0,345, $p = 0,014$), *Allenopithecus* (ajust. = 0,403, $p = 0,014$), e *Rhinopithecus* (ajust. = 0,472, $p = 0,007$).

Tabela 7: Distâncias de Mahalanobis (D^2) entre as médias multivariadas (centróides) de gêneros de macacos do Velho Mundo.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
1. <i>Allenopithecus</i>	0																													
2. <i>Bunopithecus</i>	445	0																												
3. <i>Cercocebus</i>	87	282	0																											
4. <i>Ceropithecus</i>	24	262	93	0																										
5. <i>Chlorocebus</i>	45	289	77	18	0																									
6. <i>Colobus</i>	117	158	122	114	80	0																								
7. <i>Erythraeus</i>	181	336	49	106	90	133	0																							
8. <i>Gorilla</i>	512	466	471	1061	728	652	380	0																						
9. <i>Homo</i>	652	622	736	1561	1012	957	588	462	0																					
10. <i>Hyllobates</i>	217	61	217	214	211	175	270	678	863	0																				
11. <i>Kasi</i>	582	216	155	115	119	68	391	487	643	167	0																			
12. <i>Lophocebus</i>	139	368	21	117	119	166	107	524	756	250	278	0																		
13. <i>Maaca</i>	51	253	28	65	67	120	60	534	1105	199	156	48	0																	
14. <i>Mandrillus</i>	270	427	144	523	384	370	158	268	611	424	476	187	181	0																
15. <i>Miopithecus</i>	180	543	212	63	82	202	295	750	944	299	470	301	129	577	0															
16. <i>Nasalis</i>	160	240	99	154	138	125	176	389	615	174	236	142	86	264	319	0														
17. <i>Nomascus</i>	334	45	268	197	219	158	274	488	588	33	317	293	209	356	491	297	0													
18. <i>Pan</i>	455	348	403	798	596	504	313	167	395	466	441	451	416	295	747	353	302	0												
19. <i>Papio</i>	188	351	93	309	237	303	132	338	785	283	346	114	114	30	380	159	305	309	0											
20. <i>Ptilocolobus</i>	96	207	93	82	59	23	113	699	1025	176	41	127	83	358	178	112	183	525	242	0										
21. <i>Pongo</i>	349	337	441	877	554	542	249	136	464	495	337	494	635	263	599	357	306	132	367	567	0									
22. <i>Presbytis</i>	234	262	219	142	122	110	358	839	1023	172	39	343	215	650	220	278	263	725	433	69	744	0								
23. <i>Procolobus</i>	220	433	158	92	98	110	290	647	825	216	144	260	155	526	175	229	318	587	359	55	554	76	0							
24. <i>Pygathrix</i>	397	180	218	228	192	92	286	420	598	108	229	345	210	366	344	121	187	321	310	114	329	147	218	0						
25. <i>Rhinopithecus</i>	1690	527	230	311	280	124	263	389	555	192	1120	331	230	337	852	332	493	286	331	137	308	219	326	155	0					
26. <i>Semnopithecus</i>	187	181	121	163	114	63	165	356	598	182	37	224	138	280	212	139	182	355	282	51	346	84	81	113	166	0				
27. <i>Simias</i>	453	377	121	116	138	95	284	498	675	158	216	204	97	354	275	145	254	443	231	60	379	147	141	122	683	102	0			
28. <i>Symphalangus</i>	313	98	233	278	313	145	243	395	571	124	257	281	211	262	471	235	81	281	311	215	245	359	458	193	286	186	327	0		
29. <i>Theropithecus</i>	763	931	267	831	643	631	268	312	954	873	846	386	177	135	1381	408	875	378	87	657	296	1254	987	816	989	401	778	636	0	
30. <i>Trachypithecus</i>	139	192	169	127	110	75	245	743	963	176	16	253	172	498	200	180	206	622	352	52	640	31	91	113	175	57	93	251	826	0

Discussão

De um ponto de vista amplo, as semelhanças entre as matrizes V/CV e de correlação foram altas em quase todas as comparações realizadas, o que indica a existência de um padrão de covariação/correlação de caracteres no crânio compartilhado em larga medida por todos os Catarrhini. Em todos os níveis taxonômicos investigados, encontrei similaridades amplas, que se estenderam inclusive à matriz genotípica de um macaco do Novo Mundo (*Saguinus*), o que sugere que tanto as matrizes fenotípicas quanto as genotípicas mantiveram-se relativamente constantes ao longo da diversificação de todos os primatas antropóides. Contrastando com essa aparente estase evolutiva no padrão, a magnitude das correlações entre os caracteres variou consideravelmente entre os gêneros de Catarrhini. Esses dados sugerem que mudanças na magnitude da integração morfológica, que é um aspecto pouco estudado quando se lida com a relação entre caracteres, pode ter tido um papel preponderante na diversificação craniana dos antropóides. A análise mais detalhada dos resultados revela ainda outros aspectos importantes dessa questão.

Repetibilidade das matrizes e diferenças nos métodos de comparação

A repetibilidade das matrizes foi razoavelmente alta em todos os casos e, assim sendo, o erro nas medições praticamente não interferiu nos resultados aqui descritos. As matrizes V/CV foram estimadas com um erro menor que as de correlação correspondentes, o que fica claro quando se observa seus valores mais altos de repetibilidade. Valores moderados ou baixos nesse parâmetro (inferiores a 0,5) foram registrados apenas para as matrizes de correlação de *Rhinopithecus*, *Pygathrix*, *Simias* e *Kasi*, gêneros com os menores tamanhos de amostra. Quando o erro inerente à amostragem (devido a tamanhos de amostra relativamente pequenos) foi levado em consideração por meio da repetibilidade das matrizes, os resultados de similaridade entre as matrizes foram, via de regra, altos. Esse grau de semelhança elevado existente nos padrões de correlação/covariação em caracteres cranianos de um grupo diverso e amplo como Catarrhini constitui um resultado que estimula a aplicação de modelos teóricos de genética quantitativa para interpretar a evolução morfológica.

As comparações de matrizes V/CV resultaram em similaridades mais elevadas que suas correspondentes de correlação (0,16, em média), um padrão já relatado em outros estudos (Cheverud *et al.*, 1989; Marroig e Cheverud, 2001; Ackermann, 2002; Porto *et al.*, 2009). Uma possível explicação para esse resultado poderia ser a presença de distribuições não-normais das correlações entre caracteres dentro das matrizes de correlação; como as matrizes são comparadas com um método estatístico paramétrico e sensível a dados com distribuição não-normal (correlação de matrizes seguida do teste de Mantel), o grau de similaridade poderia ser subestimado. Contudo, esse não parece ser o caso, já que utilizar testes não-paramétricos (correlação de “rankings” de Spearman) não acarretou mudança nos resultados (dados não apresentados). Um aspecto que vale ser frisado é o fato de que as diferenças entre as similaridades obtidas por meio das comparações com matrizes V/CV e de correlação reduziram-se expressivamente quando corrigidas para repetibilidade das matrizes. Considerando que a repetibilidade é inversamente associada ao tamanho da amostra, é plausível supor que os valores de similaridade mais baixos, relativos a matrizes de correlação, são devidos a uma maior sensibilidade do método de comparação a tamanhos de amostra menores. Em outras palavras, é possível que o método de “random skewers”, utilizado aqui para comparar as matrizes V/CV, seja menos afetado pelo tamanho da amostra que a correlação de matrizes elemento por elemento. Essa hipótese é apoiada pelo fato de que a similaridade tende a aumentar com o nível taxonômico, quando se considera as matrizes de correlação não corrigidas, enquanto que o mesmo não se observa em comparações de matrizes V/CV ou de correlação já corrigidas (figura 8). Portanto, isso sugere que a similaridade real entre as matrizes é aproximadamente a mesma em todos os níveis comparados, mas essa tendência é visível nas matrizes de correlação não corrigidas apenas quando o tamanho da amostra é suficientemente grande, como em comparações acima de gênero. A mudança de posições que se observa ao ordenar os gêneros de Catarrhini com base na similaridade média nas matrizes V/CV ou de correlação (figura 7) também apóia a idéia de que existe um efeito diferencial do tamanho da amostra nos métodos de comparação de matrizes: a maior parte dos gêneros que muda de posição são aqueles com menores amostras. Como último argumento em favor dessa hipótese, vale apontar que o método de “random skewers” é comprovadamente pouco sensível a tamanhos de amostra menores (Cheverud e Marroig, 2007).

Estase dos padrões de covariação em Catarrhini

O resultado de que os padrões de covariação e de correlação no crânio são altamente semelhantes em todos os Catarrhini é bastante surpreendente, especialmente se considerarmos a diversidade no formato do crânio que existe nesse grupo. Poderíamos esperar, por exemplo, que as proporções radicalmente diferentes entre caracteres da face e do neurocrânio em *Homo* tornariam esse gênero extremamente divergente em termos de relações entre caracteres. O mesmo se aplica ao focinho proeminente dos babuínos (*Papio*), ou à orientação particular da face dos orangotangos (*Pongo*). Tendo em conta a diversidade craniana de Catarrhini, é interessante procurar por desvios, ainda que não significativos estatisticamente, mas que sejam capazes de produzir similaridades abaixo da média e que possam ter um significado biológico importante. Dentro dos gêneros, pouquíssimas comparações exibiram valores de similaridade menores que 0,7; entre gêneros, todavia, as comparações corrigidas para repetibilidade envolvendo *Miopithecus*, *Papio*, *Mandrillus* e *Homo* foram mais discrepantes que a média, resultando nos menores valores de similaridade registrados. Em outras palavras, esses gêneros (e em certa medida também *Gorilla* e *Nomascus*) desviaram-se do padrão de covariação presente em todos os outros macacos do Velho Mundo.

Papio e *Mandrillus* (respectivamente os babuínos e mandris) exibem, proporcionalmente, os focinhos mais longos de todo o clado, uma característica que pode ser a responsável por esses desvios. De fato, em um estudo recente no nosso laboratório, detectamos os mesmos desvios em *Papio*, *Gorilla* e *Homo*, sendo que testes mais detalhados, baseados em hipóteses funcionais sugeriram que modificações em caracteres da face (em *Papio*) e do neurocrânio (em *Gorilla* e *Homo*) devem estar envolvidos nos desvios do padrão geral de covariação, descrito em um contexto mais amplo de mamíferos (Porto *et al.*, 2009). Contudo, isso não explica porque *Pan* e *Pongo*, que também exibem caixas cranianas relativamente grandes, ou *Theropithecus*, que também possui um focinho longo, não estão entre os gêneros com baixas similaridades nos padrões de covariação. Da mesma maneira, as proporções cranianas de *Miopithecus* parecem, visualmente, ser muito semelhantes às de *Cercopithecus*, mas esses dois gêneros diferem bastante em seu grau de similaridade média em relação aos outros Catarrhini. É importante ter em mente que os valores de similaridade apresentados aqui são apenas uma medida

ampla de quão semelhantes são duas matrizes de correlação ou de V/CV; essas matrizes, entretanto, são entidades complexas que resumem as relações par a par entre 39 caracteres. Para determinar exatamente quais relações produziram as dissimilaridades registradas no todo seria necessário um estudo aprofundado da matriz de cada táxon, para o qual não existe ainda, um método apropriado. Contudo, a descrição mais detalhada dos padrões de integração, como a verificação da presença de módulos significativamente integrados ou sua coincidência com hipóteses de desenvolvimento e/ou função comum, é uma abordagem que pode esclarecer alguns pontos, e será discutida em mais detalhe no capítulo 3.

Evolução das magnitudes das associações entre caracteres

Contrastando com a constância relativa no padrão de relações entre caracteres, a magnitude geral das correlações variou bastante entre os macacos do Velho Mundo. O intervalo de variação observado para o r^2 é considerável (0,04 a 0,28). Na realidade, os valores mais baixos estão entre os menores já registrados em mamíferos (*Presbytis*, *Homo*); ao mesmo tempo, os mais elevados (*Papio*, *Semnopithecus*) são muito próximos dos valores observados em marsupiais, os mamíferos com maior magnitude de correlação entre caracteres cranianos (Porto *et al.*, 2009). Essa amplitude de variação, aliada ao fato de que os valores mais extremos foram observados em dois grupos filogeneticamente próximos (*Presbytis* e *Semnopithecus* – figura 9), bem como a ausência de associação entre as diferenças par a par no r^2 entre gêneros e a filogenia (tabela 6), sugerem que a magnitude das correlações entre caracteres cranianos é evolutivamente mais plástica que o padrão de relação entre eles. Essa constatação pode ter conseqüências importantes, pois magnitudes mais baixas (ou seja, baixa integração morfológica) podem estar associadas a uma maior capacidade de responder rápida e precisamente à seleção (Porto *et al.*, 2009; Marroig *et al.*, 2009). Espécies que exibem magnitudes de correlação diferentes podem responder às forças evolutivas de maneiras muito discrepantes, mesmo que o padrão de relação entre os caracteres seja o mesmo (capítulo 3). Considerando ambos os aspectos da estrutura de covariação, ou seja, o padrão e a magnitude, a diversificação craniana em Catarrhini parece ter sido

produzida por evolução na magnitude das correlações entre os caracteres e não nos seus padrões, que parecem ter se mantido surpreendentemente constantes ao longo de toda a história do grupo.

Padrões de similaridade, distâncias morfológicas e filogenéticas

Detectei uma relação significativa entre a similaridade nos padrões de correlação/covariação e a matriz de distâncias filogenéticas par a par no nível de gênero, uma evidência de que as mudanças e a manutenção desses padrões estão associadas à filogenia. Além disso, a matriz de similaridade e a de distâncias morfológicas também se mostraram correlacionadas, indicando que a evolução das relações entre caracteres está, até certo ponto, associada à evolução nas médias dos caracteres. Esses achados estão em acordo com os dados obtidos para a face de homínídeos (Ackermann, 2002) e do crânio de *Saguinus* (Ackermann e Cheverud, 2000), mas contrastam com o que foi descrito para macacos do Novo Mundo (Marroig e Cheverud, 2001), para os quais a evolução dos padrões parece estar desacoplada tanto da filogenia quanto das mudanças nas médias dos caracteres (distâncias morfológicas). Esses três estudos, contudo, convergem no sentido de sugerir que um mesmo padrão básico de relações entre caracteres pode produzir grande diversidade na morfologia do crânio. Essa constatação, ao que parece, não se restringe aos primatas, e se estende para uma variedade bem mais ampla de mamíferos (Porto *et al.*, 2009).

Constância da matriz G

De maneira geral, os dados mostram uma similaridade notável nos padrões fenotípicos de correlação/covariação no crânio ao longo de toda a evolução dos Catarrhini. Essa similaridade é um reflexo da similaridade também nos padrões genotípicos subjacentes, pois, se considerarmos a diversidade de habitats e histórias de vida desses primatas, torna-se muito improvável que efeitos ambientais ao longo de mais de trinta milhões de anos de evolução tenham compensado perfeitamente mudanças ocorridas no arcabouço genético. Essa conclusão é fortemente apoiada pela semelhança significativa entre a matriz genotípica de *Saguinus* e todas as matrizes fenotípicas de Catarrhini. Levando

em conta a enorme distância filogenética que separa esses grupos (Vos, 2006), esses resultados confirmam que os padrões genotípicos e fenotípicos se mantiveram relativamente constantes ao longo de todo o tempo de evolução após a separação dos grupos. Esses achados têm duas conseqüências importantes: em primeiro lugar, demonstram que as matrizes **G** podem ser substituídas por suas correspondentes fenotípicas quando se trata de morfologia craniana de primatas antropóides. Em segundo lugar, considerando que as matrizes **P** (e portanto também as matrizes **G**), se mostraram relativamente similares também entre macacos do Novo Mundo (Marroig e Cheverud, 2001), o padrão de covariação de caracteres cranianos se manteve relativamente estático ao longo de toda a evolução dos antropóides.

Essas conclusões são derivadas da idéia de que a consistência dos padrões de covariação genética pode ser inferida a partir de comparações de padrões de covariação fenotípicos entre espécies ou populações aparentadas (Lande, 1979). Os resultados aqui apresentados rejeitam a hipótese de constância estrita dos padrões de correlação e de V/CV , uma vez que embora haja valores muito elevados de similaridade entre matrizes de espécies ou gêneros, esses valores não foram exatamente iguais a 1, o que indicaria que as matrizes são idênticas. A proposta de que a estrutura de covariação poderia se manter estritamente constante já foi rejeitada antes, tanto por estudos teóricos (Turelli, 1988; Shaw *et al.*, 1995) como empíricos (Arnold e Phillips, 1999; Ackermann e Cheverud, 2000; Begin e Roff, 2001; Marroig e Cheverud, 2001; Phillips *et al.*, 2001; Game e Caley, 2006). Dessa forma, em vez de investigar se a matriz **G** é absolutamente constante ao longo do tempo evolutivo, uma questão mais relevante é: em que ponto da história de um grupo ocorre uma quebra detectável, e biologicamente significativa, na estrutura de covariação? Os dados sugerem que desvios importantes do padrão geral observado em Catarrhini ocorreram durante a evolução de *Papio*, *Mandrillus*, *Homo* e *Gorilla*. Nos capítulos subseqüentes, aprofundo o estudo dessas questões, buscando encontrar quais caracteres (ou módulos de caracteres) estão envolvidos nessas mudanças, bem como quais forças evolutivas podem tê-las causado.

Possíveis causas

A explicação para a extraordinária estabilidade das matrizes **P** (e consequentemente das matrizes **G**) presente nos dados pode estar no tipo de caracteres que analisei. Estudos de simulação em computador demonstraram que seleção correlacionada e mutações pleiotrópicas podem manter a estabilidade da matriz **G** ao longo do tempo (Jones *et al.*, 2003; Jones *et al.*, 2004; Revell, 2007). O conjunto de dados foi inteiramente coletado no crânio, uma estrutura em que os caracteres compartilham grande parte dos seus caminhos de desenvolvimento e provavelmente são determinados, em larga medida, pelo mesmo conjunto de genes (Cheverud, 1982; Chernoff e Magwene, 1999; Mitteroecker e Bookstein, 2008). É razoável supor, seguindo esse raciocínio, que mutações nesses genes afetem vários dos caracteres medidos ao mesmo tempo. Além disso, caracteres ligados por uma função ou desenvolvimento comum podem facilitar a ação de seleção natural correlacionada (Cheverud, 1996; Wagner *et al.*, 2007). Dado que os vários caracteres interagem para desempenhar várias funções (ex.: mastigação, olfação, visão etc.), é plausível imaginar que estejam sob os mesmos regimes de seleção; da mesma forma, é esperado que genes que influenciem muitos desses caracteres ao mesmo tempo sejam altamente conservados ao longo da evolução (Mitteroecker e Bookstein, 2008). A constância dos padrões de covariação durante um tempo evolutivo extenso, como o abordado por este trabalho, sugere a ação de seleção estabilizadora (Marroig e Cheverud, 2001; Estes e Arnold, 2007).

Os dados também mostram que a filogenia dos macacos do Velho Mundo está fortemente associada aos padrões de correlação/covariação, mas não à magnitude, parâmetro no qual existem diferenças extremas entre grupos muito próximos. A grande diversidade presente no crânio de Catarrhini, portanto, pode estar relacionada à evolução da magnitude e não ao padrão da estrutura de correlação/covariação. Um resultado semelhante foi obtido utilizando-se uma amostra mais abrangente de mamíferos, em que a evolução da magnitude parece ter tido um papel preponderante (Porto *et al.*, 2009). Contudo, deve-se ter em conta que o r^2 mede a magnitude geral das correlações entre caracteres e, dessa forma, representa uma visão ampla da integração morfológica em caracteres cranianos. Baseando-se apenas nesse índice, não se pode especular, por exemplo, se a maior parte das diferenças entre dois taxa encontra-se em uma região específica do crânio. Uma descrição mais detalhada da

associação entre caracteres (ex.: investigações sobre sua organização modular dos caracteres – Ackermann, 2005; Mitteroecker e Bookstein, 2008; Porto *et al.*, 2009) seria necessária para identificar exatamente quando, na filogenia de Catarrhini, mudanças significativas ocorreram na estrutura de covariação do crânio. Da mesma maneira, a natureza adaptativa dessas diferenças permanece ainda como uma questão a ser investigada. Esses dois aspectos são justamente os alvos dos capítulos subsequentes.

Este trabalho complementa o de Marroig & Cheverud (2001) e o de Ackermann (2002), demonstrando que as matrizes de correlação e de V/CV fenotípicas são razoavelmente semelhantes entre todos os primatas antropóides. Esses resultados são surpreendentes se considerarmos a enorme escala de tempo envolvida e a diversidade morfológica que existe no crânio desses animais. De maneira conjunta, os resultados trazem a sugestão provocativa de que a diversidade na forma e no tamanho do crânio das 257 espécies de macacos do Velho e do Novo Mundo possuem uma base genética altamente semelhante. Além disso, eles indicam que essa base não mudou significativamente nos últimos quarenta milhões de anos, um achado que pode ter consequências interessantes em outros contextos, como no estudo de fósseis de primatas (Ackermann, 2002; Williams *et al.*, 2007). Entretanto, apesar da manutenção de um padrão geral de covariação nos caracteres cranianos, a magnitude das relações entre eles mudou. Essas mudanças provavelmente afetaram a maneira como as espécies responderam a forças evolutivas e, portanto, devem ter desempenhado um papel primordial na diversificação do crânio dos Catarrhini.

Referências

- Ackermann, R.R. 2002. Patterns of covariation in the hominoid craniofacial skeleton: implications for paleoanthropological models. *Journal of Human Evolution* 43:167-187.
- Ackermann, R.R. 2005. Ontogenetic integration of the hominoid face. *Journal of Human Evolution* 48:175-197.
- Ackermann, R.R. e Cheverud, J.M. 2000. Phenotypic covariance structure in tamarins (genus *Saguinus*): A comparison of variation patterns using matrix correlation and common principal component analysis. *American Journal of Physical Anthropology* 111:489-501.
- Akesson, M., Bensch, S. e Hasselquist, D. 2007. Genetic and phenotypic associations in morphological traits: a long term study of great reed warblers *Acrocephalus arundinaceus*. *Journal of Avian Biology* 38:58-72.
- Arnold, S.J. e Phillips, P.C. 1999. Hierarchical comparison of genetic variance-covariance matrices. II. Coastal-inland divergence in the garter snake, *Thamnophis elegans*. *Evolution* 53:1516-1527.
- Begin, M. e Roff, D.A. 2001. An analysis of **G** matrix variation in two closely related cricket species, *Gryllus firmus* and *G. pennsylvanicus*. *Journal of Evolutionary Biology* 14:1-13.
- Chatterjee, H.J. 2006. Phylogeny and biogeography of gibbons: A dispersal-vicariance analysis. *International Journal of Primatology* 27:699-712.
- Chernoff, B. e Magwene, P.M. 1999. Morphological Integration: Forty Years Later. In: Olson, E.C. e Miller, R.L. (eds.). *Morphological Integration*. University of Chicago Press, pp. 319-353.
- Cheverud, J.M. 1982. Phenotypic, genetic, and environmental morphological integration in the cranium. *Evolution* 36:499-516.
- Cheverud, J.M. 1988. A comparison of genetic and phenotypic correlations. *Evolution* 42:958-968.
- Cheverud, J.M. 1996. Quantitative genetic analysis of cranial morphology in the cotton-top (*Saguinus oedipus*) and saddle-back (*S. fuscicollis*) tamarins. *Journal of Evolutionary Biology* 9:5-42.
- Cheverud, J.M. e Marroig, G. 2007. Comparing covariance matrices: Random skewers method compared to the common principal components model. *Genetics and Molecular Biology* 30:461-469.
- Cheverud, J.M., Wagner, G.P. e Dow, M.M. 1989. Methods for the comparative analysis of variation patterns. *Systematic Zoology* 38:201-213.
- Estes, S. e Arnold, S.J. 2007. Resolving the paradox of stasis: Models with stabilizing selection explain evolutionary divergence on all timescales. *American Naturalist* 169:227-244.
- Game, E.T. e Caley, M.J. 2006. The stability of **P** in coral reef fishes. *Evolution* 60:814-823.
- Groves, C.P. 2005. Order Primates. In: Wilson, D.E. e Reeder, D.M. (eds.). *Mammal species of the world : a taxonomic and geographic reference*. Johns Hopkins University Press, Baltimore, pp. 111-184.
- House, C.M. e Simmons, L.W. 2005. The evolution of male genitalia: patterns of genetic variation and covariation in the genital sclerites of the dung beetle *Onthophagus taurus*. *Journal of Evolutionary Biology* 18:1281-1292.
- Jones, A.G., Arnold, S.J. e Borger, R. 2003. Stability of the G-matrix in a population experiencing pleiotropic mutation, stabilizing selection, and genetic drift. *Evolution* 57:1747-1760.

- Jones, A.G., Arnold, S.J. e Burger, R. 2004. Evolution and stability of the G-matrix on a landscape with a moving optimum. *Evolution* 58:1639-1654.
- Lande, R. 1979. Quantitative genetic-analysis of multivariate evolution, applied to brain - body size allometry. *Evolution* 33:402-416.
- Lande, R. 1980. The genetic covariance between characters maintained by pleiotropic mutations. *Genetics* 94:203-215.
- Marroig, G. e Cheverud, J.M. 2001. A comparison of phenotypic variation and covariation patterns and the role of phylogeny, ecology, and ontogeny during cranial evolution of New World Monkeys. *Evolution* 55:2576-2600.
- Marroig, G., Porto, A., Shirai, L.T., Oliveira, F.B. e Conto, V.D. 2009. The evolution of modularity in the mammalian skull II: evolutionary consequences. *Evolutionary Biology* - no prelo.
- Matta, B.P. e Bitner-Mathé, B.C. 2004. Genetic architecture of wing morphology in *Drosophila simulans* and an analysis of temperature effects on genetic parameter estimates. *Heredity* 93:330-341.
- McGuigan, K. 2006. Studying phenotypic evolution using multivariate quantitative genetics. *Molecular Ecology* 15:883-896.
- Mitteroecker, P. e Bookstein, F. 2008. The evolutionary role of modularity and integration in the hominoid cranium. *Evolution* 62:943-958.
- Osterholz, M., Walter, L. e Roos, C. 2008. Phylogenetic position of the langur genera *Semnopithecus* and *Trachypithecus* among Asian colobines, and genus affiliations of their species groups. *BMC Evolutionary Biology* 8:58-70.
- Page, S.L. e Goodman, M. 2001. Catarrhine phylogeny: Noncoding DNA evidence for a diphyletic origin of the mangabeys and for a human-chimpanzee clade. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 18:14-25.
- Phillips, P.C. e McGuigan, K.L. 2006. Evolution of genetic variance-covariance structure. In: Fox, C.W. e Wolf, J.B. (eds.). *Evolutionary genetics: concepts and case studies*. Oxford University Press, Oxford; New York, pp. 310-325.
- Phillips, P.C., Whitlock, M.C. e Fowler, K. 2001. Inbreeding changes the shape of the genetic covariance matrix in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 158:1137-1145.
- Porto, A., Oliveira, F.B., Shirai, L.T., Conto, V.D. e Marroig, G. 2009. The evolution of modularity in the mammalian skull I: morphological integration patterns and magnitudes. *Evolutionary Biology*, no prelo.
- Purvis, A. 1995. A Composite Estimate of Primate Phylogeny. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 348:405-421.
- Reale, D. e Festa-Bianchet, M. 2000. Quantitative genetics of life-history traits in a long-lived wild mammal. *Heredity* 85:593-603.
- Reusch, T. e Blanckenhorn, W.U. 1998. Quantitative genetics of the dung fly *Sepsis cynipsea*: Cheverud's conjecture revisited. *Heredity* 81:111-119.
- Revell, L.J. 2007. The **G** matrix under fluctuating correlational mutation and selection. *Evolution* 61:1857-1872.
- Roff, D.A. 1995. The estimation of genetic correlations from phenotypic correlations - a test of Cheverud's conjecture. *Heredity* 74:481-490.
- Shaw, F.H., Shaw, R.G., Wilkinson, G.S. e Turelli, M. 1995. Changes in genetic variances and covariances: **G** whiz! *Evolution* 49:1260-1267.
- Sokal, R.R. e Rohlf, F.J. 1995. *Biometry : the principles and practice of statistics in biological research*. W.H. Freeman, New York.

- Steppan, S.J., Phillips, P.C. e Houle, D. 2002. Comparative quantitative genetics: evolution of the **G** matrix. *Trends in Ecology & Evolution* 17:320-327.
- Turelli, M. 1988. Phenotypic evolution, constant covariances, and the maintenance of additive variance. *Evolution* 42:1342-1347.
- Vos, R.A. 2006. *Inferring large phylogenies: the big tree problem*. Ph.D. Dissertation, Simon Fraser University.
- Wagner, G.P., Pavlicev, M. e Cheverud, J.M. 2007. The road to modularity. *Nature Reviews Genetics* 8:921-931.
- Waite, D.E. e Levin, D.A. 1998. Genetic and phenotypic correlations in plants: a botanical test of Cheverud's conjecture. *Heredity* 80:310-319.
- Williams, F.L., Ackermann, R.R. e Leigh, S.R. 2007. Inferring Plio-Pleistocene southern African biochronology from facial affinities in *Parapapio* and other fossil papionins. *American Journal of Physical Anthropology* 132:163-174.
- Xing, J., Wang, H., Han, K.D., Ray, D.A., Huang, C.H., Chemnick, L.G., Stewart, C.B., Disotell, T.R., Ryder, O.A. e Batzer, M.A. 2005. A mobile element based phylogeny of Old World monkeys. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 37:872-880.

Capítulo 2

Seleção natural e deriva genética no crânio dos macacos do Velho Mundo

“Seleção natural não é evolução.”

Ronald Fisher

primeira frase de “Teoria Genética da Seleção Natural”

Introdução

Adaptação, seleção natural e caracteres complexos

O ajuste dos seres vivos ao ambiente é talvez a característica da vida que mais encantou os biólogos ao longo da história. Gerações de estudiosos e de leigos se maravilharam ante a maneira, por vezes espetacular, com que os organismos enfrentam as dificuldades impostas pelo ambiente, seja do ponto de vista morfológico, fisiológico ou comportamental (Gould, 2002). A complexidade dos caracteres que se complementam para executar uma função também causa admiração e, por muito tempo, especulou-se sobre como caracteres complexos, extremamente sintonizados às variáveis ambientais, poderiam surgir. Nesse contexto, a teoria de seleção natural foi a primeira proposta de um mecanismo que poderia produzir tal ajuste fino entre organismo e ambiente (Darwin, 1859). Desde então, muito do trabalho que foi feito na Biologia Evolutiva consistiu em buscar explicações, baseadas na seleção imposta por condições ambientais, para explicar certas características dos seres vivos (West-Eberhard, 1992; Gould, 2002).

Talvez por ter sido o primeiro processo proposto para explicar a “transmutação das espécies”, o termo seleção natural tornou-se quase sinônimo de evolução (Endler, 1992; Hodge, 1992). Contudo, no princípio do século XX, outros mecanismos pelos quais a evolução poderia ocorrer também foram propostos, como a deriva genética (Wright, 1931). Os avanços da teoria de genética de populações e o melhor conhecimento dos processos de desenvolvimento revelaram que mesmo estruturas complexas, com função importante para os organismos que as possuem, poderiam, ao menos em teoria, ser geradas por processos evolutivos aleatórios (Lande, 1979). Dessa maneira, o fato de uma característica ser complexa e altamente funcional não é suficiente para chamá-la de adaptação, no sentido mais estrito do termo; adaptações seriam apenas aqueles caracteres que foram gerados por seleção natural (Gould e Lewontin, 1979; Gould e Vrba, 1982; Wells, 1990; West-Eberhard, 1992). A questão imediata, nesse contexto, é: como saber se um caráter se originou por seleção natural ou por outro processo, como deriva genética?

Antes de investigar quais são as forças adaptativas que moldam a variação entre espécies, é necessário verificar se essa variação poderia ter sido produzida por seleção natural; em outras palavras, é preciso primeiro rejeitar a hipótese nula de que os caracteres em questão estão evoluindo apenas sob deriva (Merila e Bjorklund, 1999; Harmon e Gibson, 2006). Uma possibilidade é testar essa hipótese no contexto de cenários adaptativos específicos, isto é, inspecionar se a variação em possíveis agentes seletivos (ex.: variáveis ambientais) correlacionam-se com os padrões de variação entre os organismos, o que seria esperado sob seleção natural (Wainwright e Reilly, 1994; Schluter, 2000). Outra possibilidade seria inferir a presença de adaptações nos casos de convergência evolutiva, ou seja, em que organismos não relacionados repetidamente evoluíram respostas semelhantes quando confrontados com as mesmas condições ambientais (Navas, 1996; Losos *et al.*, 1998; Gillespie, 2004). Entretanto, nos casos em que seleção natural não é detectada, os resultados gerados por essas abordagens são inconclusivos. Embora seja tentador assumir que os caracteres em questão evoluíram por deriva, sempre se poderia argumentar que existem variáveis relevantes que não foram levadas em consideração (Resnik, 1989; Harmon e Gibson, 2006).

A contribuição da genética quantitativa

Existem métodos, contudo, que podem superar essas dificuldades, pois eles possibilitam que se teste a hipótese nula de diversificação por deriva sem agentes seletivos definidos *a priori* (Lofsvold, 1988; Harmon e Gibson, 2006). A teoria de genética quantitativa prevê que populações evoluindo somente por deriva genética deveriam apresentar uma relação de proporcionalidade entre a variação fenotípica existente dentro das populações e a variação entre essas mesmas populações (Lande, 1979). Em outras palavras, a variação presente entre populações (ou espécies) pode ser comparada a expectativas teóricas sobre o que se espera quando a evolução ocorre somente por deriva.

O padrão e a magnitude de variação dentro de uma população estão ligados à variação entre espécies que estão divergindo, pois a variação intraespecífica é o substrato onde os processos evolutivos atuam para promover a diversificação das populações; em outras palavras, se não há variação dentro das populações, não pode haver evolução entre elas. Esse fato permite estabelecer expectativas quanto

à dispersão da média dos caracteres fenotípicos quantitativos se apenas deriva genética estiver atuando. Essa dispersão das médias é uma função das relações de variação e covariação genética, o tamanho efetivo das populações e o tempo desde a divergência (Lande, 1979; Lofsvold, 1988):

$$\mathbf{B}_t = \mathbf{G} (t/N_e)$$

$\mathbf{B}_t$ (do inglês “between”) é a matriz de variância/covariância (V/CV) entre espécies na geração t , $\mathbf{G}$ é a matriz de V/CV genética aditiva da população das quais derivaram as espécies divergentes e N_e é o tamanho efetivo da população. Como demonstrado no capítulo 1, as matrizes $\mathbf{G}$ podem ser substituídas por suas equivalentes fenotípicas estimadas dentro de cada espécie ($\mathbf{W}$, do inglês “within”), de forma que:

$$\mathbf{B}_t = \mathbf{W} (t/ N_e)$$

Como o tempo de divergência e o tamanho populacional efetivo são os mesmos para cada comparação em particular, o padrão e a magnitude de variação entre grupos deveria ser proporcional à variação dentro de grupos. Mais formalmente, é esperado que:

$$\mathbf{B} \propto \mathbf{W}$$

Neste capítulo, utilizei essa perspectiva para examinar a evolução do crânio em Catarrhini. Como já mencionado anteriormente, esse é um grupo grande, monofilético, que contém cerca de 150 espécies distribuídas em todas as regiões tropicais da África e da Ásia, exibindo uma grande diversidade de histórias de vida, habitats e padrões de dieta (Fleagle, 1999). Os macacos do Velho Mundo, como também são chamados, apresentam uma variação considerável de tamanho, abrangendo mais de duas ordens de magnitude entre a menor e a maior espécie. Além disso, apresentam uma diversidade grande de morfologias cranianas e, como nos outros mamíferos, seu crânio é uma estrutura complexa formada por processos de desenvolvimento intrincados, decorrentes da interação entre vários genes e tecidos (Cheverud, 1996). Por causa dessa complexidade, bem como da diversidade e da importância funcional, o crânio dos macacos do Velho Mundo (e dos primatas em geral) sempre foi visto como uma estrutura moldada pela seleção natural. Nesse contexto, vários agentes seletivos foram propostos como responsáveis pela evolução do crânio, de acordo com o grupo (Antón, 1996; Singleton, 2005; Taylor,

2006). Talvez por causa da distinção morfológica e da importância para a própria definição da espécie humana, isso é especialmente válido para *Homo* (Shea, 1977; Guglielmino-Matessi *et al.*, 1979; Hernandez *et al.*, 1997). Contudo, a maior parte dessas supostas “adaptações” e seus contextos seletivos não foram baseados em testes formais e são, na realidade, tentativas *ad hoc* de explicar a diversidade craniana dos macacos do Velho Mundo.

Nesta parte do trabalho, utilizei o banco de dados de medidas cranianas já descrito no capítulo 1 para estudar o papel relativo de deriva e seleção natural na evolução do crânio. Em vez de investigar cenários adaptativos específicos, optei por abordar uma questão anterior: os padrões de divergência entre grupos desviam significativamente do que seria esperado se apenas deriva genética tivesse atuado? Caso a resposta seja sim, então uma defesa mais enfática da ação de seleção natural pode ser feita, como já aconteceu em outros grupos de primatas (Ackermann e Cheverud, 2002; Ackermann e Cheverud, 2004; Marroig e Cheverud, 2004; Marroig *et al.*, 2004). Em caso de uma resposta negativa, então deriva genética seria uma explicação suficiente para gerar a diversidade craniana que se observa entre os macacos do Velho Mundo. Como a diversidade, em termos do número de espécies e gêneros reconhecidos, não está igualmente distribuída entre os grandes grupos de Catarrhini, investiguei também, utilizando técnicas baseadas na re-amostragem de grupos muito diversos, se os métodos empregados foram influenciados pelo número de taxa incluídos em cada análise, permitindo uma avaliação crítica (e inédita) dessa abordagem.

Métodos

Amostra

Para as análises conduzidas neste trabalho, utilizei o mesmo banco de dados já descrito em detalhe no capítulo 1. A nomenclatura taxonômica e a hipótese filogenética que orientaram a organização das análises também foram as mesmas (Groves, 2005; Vos, 2006).

Pano de fundo teórico

Considerando-se que a variação dentro de cada população é o combustível utilizado pelas forças evolutivas para promover a diversificação, então a variação dentro das populações influencia a variação que existe entre espécies divergentes. Se deriva genética é o único processo operando, é esperado que a divergência fenotípica entre as médias das populações seja proporcional ao padrão e magnitude de covariação na população ancestral (Lande, 1979; Lofsvold, 1988). A evolução por deriva pode ser comparada a um processo de difusão: as médias em todos os caracteres das populações evoluem aleatoriamente, mas a proporcionalidade em relação à quantidade de variação para cada caráter (variâncias) e as associações entre eles (covariâncias) são mantidas (figura 11). As bases teóricas dessas expectativas são advindas da genética quantitativa (Lande, 1979; Lofsvold, 1988). O ponto central é que a ação de deriva pode ser avaliada por uma comparação simples entre o padrão de variação existente dentro e entre grupos, medidos na forma de matrizes V/CV .

Figura 11: Representação esquemática da evolução por deriva genética de dois caracteres correlacionados. Os eixos representam dois caracteres contínuos quaisquer e a pequena elipse central representa a matriz G da população ancestral. A elipse maior e mais externa representa o intervalo de confiança de 95% das médias das populações descendentes. As linhas com setas representam a trajetória evolutiva de cada uma dessas populações (modificado de Arnold *et al.*, 2001).

Esses métodos foram originalmente desenvolvidos para matrizes V/CV genotípicas (matrizes **G**), mas vários estudos mostraram que elas podem ser substituídas por suas equivalentes fenotípicas (matrizes **P**) se elas forem suficientemente similares (Cheverud, 1988; Marroig e Cheverud, 2001). Outra premissa dos métodos empregados aqui é a de que as matrizes fenotípicas a serem comparadas sejam similares ou proporcionais. A validade dessas duas premissas (semelhança entre as matrizes comparadas e semelhança entre **G** e **P**) já foi demonstrada e discutida em detalhe no capítulo 1, o que permite o emprego das análises descritas a seguir. Em todos os cálculos foram utilizadas matrizes de variância/covariância.

O teste de regressão

Esse teste avalia a ação de deriva por meio de uma regressão linear entre a variação intra-grupos e entre grupos de cada um dos taxa analisados. Para conduzir o teste, extraí os componentes principais das matrizes V/CV intra-grupos (**W**). A extração dos PCs (do inglês “principal components”) é uma técnica estatística comumente utilizada, que consiste em resumir as variáveis de um banco de dados em novas variáveis, os componentes principais, que agrupam em si a variação distribuída nas variáveis originais (Kline, 1994). No caso deste trabalho, as variáveis originais são os caracteres, ou seja, as distâncias entre os pontos de referência. Duas vantagens imediatas aparecem quando se utiliza os PCs em vez das matrizes originais: em primeiro lugar, os PCs são extraídos segundo a quantidade de variação que abarcam das variáveis originais; assim, a maior parte da variação do banco de dados original, que contém 39 caracteres, fica concentrada em um número menor e mais facilmente manipulável de variáveis. Em segundo lugar, a utilização de PCs permite estimar a variação entre grupos (**B**) com um cálculo simples. A desvantagem é que os resultados das análises referem-se aos PCs e não aos caracteres originais, de forma que esses resultados precisam ser interpretados em função do significado biológico de cada PC.

A variância dentro dos grupos é expressa pelos autovalores das matrizes V/CV intra-grupos (**W**). A variância entre grupos (**B**), por sua vez, é a variância entre as médias dos escores dos PCs para

cada grupo comparado. Para estimar **B**, portanto, extraí os componentes principais das matrizes intra-grupos (**W**) e calculei seus respectivos escores, multiplicando as médias de cada caráter de cada espécie pelos coeficientes dos PCs normalizados (soma dos quadrados igual a 1). A variância entre grupos em cada PC pode então ser calculada como a variância entre as médias dos escores dos PCs para cada grupo.

Caso a diversificação tenha ocorrido apenas por deriva, a variância entre grupos (calculada como a variância nos escores dentro de cada grupo) deveria ser proporcional à variação intra-grupos (dada pelos autovalores das matrizes V/CV). Em uma escala logarítmica, a relação entre as variâncias entre e intra-grupos pode ser expressada por uma regressão linear:

$$\ln \mathbf{B}_i = \ln(t/N_e) + \beta(\ln \mathbf{W}_i)$$

Onde **B** é a variação entre grupos e **W** é a variação intra-grupos para o i-ésimo autovetor, t é o tempo em gerações e N_e é o tamanho populacional efetivo (Ackermann e Cheverud, 2002). Para avaliar a ação de deriva genética, o parâmetro mais importante da equação acima é β , que representa a inclinação da reta de regressão. Se deriva é o único fator atuando, espera-se que essa inclinação seja de 1,0, o que indicaria a proporcionalidade da variação entre e intra-grupos. Se β for significativamente diferente de 1,0, **W** e **B** não são proporcionais, o que configuraria um padrão não produzido por deriva. Inclinações da reta de regressão maiores que 1,0 indicariam que um ou mais PCs são mais variáveis, em comparação aos outros, do que seria esperado sob deriva; isso poderia ocorrer se houvesse seleção diversificadora operando sobre os primeiros PCs (que abrangem a maior parte da variação, por definição) ou, alternativamente, seleção estabilizadora nos outros PCs (Marroig e Cheverud, 2004). Inclinações menores que 1,0 apontariam na direção oposta, ou seja, de que os grupos em questão são altamente divergentes nos últimos PCs e, portanto, poderiam representar evidência de seleção diversificadora nesses PCs, bem como de estabilização dos restantes.

Dois aspectos merecem ser ressaltados sobre o teste de regressão. Em primeiro lugar, vale notar que na escala logarítmica, a razão entre t e N_e não altera as expectativas de β , pois ela é a constante da regressão, que interfere apenas no intercepto e não na inclinação da reta; t e N_e são fatores

que podem, portanto, ser ignorados. Isso faz sentido se imaginarmos que, em um contexto de evolução por deriva, um tempo de divergência mais longo apenas aumentaria a dispersão entre os grupos, mantendo a proporcionalidade nas relações entre os caracteres. Em segundo lugar, a previsão gerada pelo modelo de deriva independe das relações de parentesco dentro do grupo que está sendo testado; ela depende apenas da monofilia do grupo sob investigação, ou seja, do fato de que todos os organismos envolvidos possuam um ancestral comum exclusivo (Marroig e Cheverud, 2004).

O teste de correlação

Outra característica importante dos PCs é a ausência de correlações entre eles, por definição. Assim, ao extrair os PCs de uma matriz, sabemos estar de posse de novas variáveis que não estão associadas umas com as outras como nas matrizes **W** originais (tabela 10). Esses PCs, como explicado no item anterior, foram utilizados para estimar a variação entre grupos (**B**), multiplicando-se as médias de cada caráter em cada grupo pelos respectivos coeficientes dos PCs, obtendo-se os escores, e calculando-se a variância nesses escores. A existência de correlação entre os escores dos PCs de **B** seria uma evidência de que há caracteres sendo selecionados conjuntamente, ou co-selecionados. Portanto, essa é uma maneira de detectar um outro aspecto da atuação da seleção natural (Ackermann e Cheverud, 2002; Marroig e Cheverud, 2004).

Com isso em mente, procurei por correlações significativas entre os escores dos PCs para cada comparação que envolvesse quatro ou mais taxa. Como uma regra geral, correlacionei n menos um PCs, onde n é o número de taxa comparados (Marroig e Cheverud, 2004; Harmon e Gibson, 2006). Observei então as probabilidades corrigidas segundo o critério de Bonferroni para cada correlação entre PCs, além de conduzir um teste χ^2 de Bartlett, utilizado para testar-se o grau de significância global quando se realiza múltiplas comparações. Em todas as vezes que encontrei probabilidades significativas de correlação para pelo menos um par de PCs, a hipótese nula de evolução por deriva foi rejeitada.

A rejeição da hipótese nula, portanto, pode acontecer se pelo menos um par de PCs estiver correlacionado ou, alternativamente, se a inclinação da reta de regressão de **B** sobre **W** for significativamente diferente de 1,0. Um aspecto importante desses testes é que cada um deles captura

um aspecto diferente da ação de seleção natural, de maneira que podem ser vistos como complementares: enquanto o teste de correlação detecta co-seleção (caracteres independentes sendo selecionados conjuntamente), o teste de regressão avalia se a variação dentro e entre grupos é proporcional (desvios da proporcionalidade indicariam seleção).

Comparações orientadas pela hipótese filogenética

Conduzi os testes de regressão e de correlação em cada gênero e, partindo dos gêneros como terminais, conduzi os mesmos testes para cada nó da filogenia dos Catarrhini, seguindo a hipótese proposta por Vos (2006 - figura 4). A pergunta que está por trás dos testes nos nós é: a diversificação existente a partir de um determinado nó pode ser explicada apenas por deriva? Vale lembrar que os testes utilizados não dependem da topologia a partir de um determinado nó, mas apenas da monofilia dos grupos comparados.

Efeito do número de taxa nos testes

Os testes utilizados neste trabalho baseiam-se nos procedimentos de regressão e correlação lineares, que são sabidamente influenciados pelo tamanho da amostra envolvida (Sokal e Rohlf, 1995). A amostra, nesse caso, é o número de taxa comparados e, quanto maior é esse número, maior o poder estatístico das análises. Entretanto, os macacos do Velho Mundo não fogem a um padrão comumente visto na natureza: o de heterogeneidade na diversidade de seus sub-grupos. Em outras palavras, cada uma das famílias e subfamílias da infraordem Catarrhini contém um número diferente de gêneros e espécies (em alguns casos, muito diferentes), o que poderia influenciar nos testes de detecção de deriva.

Com isso em mente, optei por realizar os testes de regressão e correlação apenas em grupos que contivessem pelo menos quatro táxons (ex.: gêneros com ao menos quatro espécies reconhecidas, famílias com ao menos quatro gêneros etc.). Esse foi um patamar que defini arbitrariamente para a apresentação dos dados referentes à diversificação de Catarrhini, com a intenção de evitar erros de interpretação devidos à falta de poder estatístico.

Contudo, para esclarecer melhor os efeitos do tamanho da amostra, conduzi vários testes em sub-amostras do banco de dados original. Para cada grupo investigado, utilizei um procedimento de amostragem com reposição (“bootstrap”) para selecionar aleatoriamente os taxa que seriam analisados. Gradualmente, aumentei o tamanho da amostra, ou seja, o número de taxa incluídos, desde dois até o número total no banco de dados; para cada tamanho de amostra, re-amostrei o banco original 1.000 vezes e, em cada uma das re-amostragens, realizei os testes de regressão e correlação.

O procedimento fica claro com um exemplo: para *Cercopithecus*, que agrupa 22 espécies, amostrarei aleatoriamente duas dessas espécies, repetindo o procedimento 1.000 vezes e realizando os testes de regressão e correlação em cada uma delas. Em seguida, amostrarei aleatoriamente três espécies, repetindo todo o protocolo, até atingir as 22 espécies. A cada vez que uma determinada espécie foi sorteada, as suas médias foram utilizadas para se calcular **B**, mas a matriz **W** (nesse exemplo, a matriz **W** de *Cercopithecus*) foi a mesma em todas as comparações para cada grupo.

Selecionei para essas análises os gêneros com maior número de espécies entre os macacos do Velho Mundo, que são *Cercopithecus* (22), *Macaca* (19) e *Presbytis* (11). Além de avaliar o efeito do número de taxa incluídos na análise, investiguei também se esse efeito é o mesmo nos nós mais próximos e mais distantes dos terminais da filogenia. Com isso em mente, realizei também os testes de re-amostragem para o nó mais basal da filogenia, que corresponde ao clado que agrupa todos os Catarrhini.

Resultados

Deriva x seleção em Catarrhini

Na maior parte dos casos analisados, a hipótese nula de que a diversificação craniana pode ser explicada apenas pela ação de deriva genética não foi rejeitada. A variação craniana presente em clados inclusivos inteiros, como a subfamília Colobinae ou a família Hominidae, foi compatível com o esperado segundo a ação de deriva genética. No entanto, em alguns casos, especialmente dentro de

Cercopithecinae, os padrões de covariação mostraram que provavelmente houve ação de seleção natural. Além disso, de uma forma geral, deriva parece ter sido o processo de diversificação predominante em níveis menos inclusivos, como entre espécies, mas a ação de seleção parece ter sido decisiva em divergências mais basais da filogenia, como entre famílias (figura 12).

Quando consideramos os testes de regressão e correlação em conjunto, deriva genética não foi rejeitada como explicação dentro da maioria dos gêneros de Catarrhini (tabela 8). Esse foi o resultado obtido para todos os gêneros de colobíneos e de homínídeos, com a exceção de *Hylobates*. Em Cercopithecinae, ao contrário, três entre cinco gêneros exibiram padrões que não são compatíveis apenas com a ação de deriva: *Papio*, *Chlorocebus* e *Cercopithecus*. Este último foi o único gênero em que deriva foi rejeitada tanto pelo teste de regressão quanto pelo de correlação.

Acima de gênero, deriva também foi mais comumente descartada nos clados dentro de Cercopithecidae (figura 12). Padrões que não podem ser explicados apenas com deriva foram detectados em vários nós da filogenia: para a tribo Cercopithecini, para a tribo Papionini excluindo *Macaca*, para a subfamília Cercopithecinae e para a família inteira, incluindo aí o nó que agrupa colobíneos e cercopithecíneos (figura 12). Da mesma maneira, quando o clado Catarrhini foi analisado como um todo, deriva genética foi rejeitada pelos dois testes como explicação possível para a diversificação craniana.

Chama a atenção o resultado de que, embora deriva não tenha sido rejeitada em nenhum dos nós dentro de Hominoidea (clado que agrupa Hominidae e Hylobatidae), o nó mais inclusivo, que agrupa toda a diversidade dessa superfamília, apresentou evidências da ação de seleção natural. Observando esses resultados como um todo (figura 12), percebe-se que nos níveis menos inclusivos da filogenia deriva foi menos frequentemente rejeitada do que nos níveis mais inclusivos. Isso representa uma evidência de que seleção foi mais importante nas diversificações mais basais da filogenia do que nas mais recentes. A única exceção a essa norma é a subfamília Cercopithecinae, onde existem vários subgrupos que apresentaram evidências de seleção natural.

Figura 12: Resultados dos testes de diversificação por deriva genética, representados na hipótese filogenética proposta para os Catarrhini. Quadrados à direita dos nomes dos taxa representam o resultado obtido para a diversificação dentro dos gêneros para os quais existem quatro ou mais espécies reconhecidas.

Tabela 8: Testes de regressão e de correlação para a hipótese de diversificação craniana por deriva genética em Catarrhini. Todas as regressões foram significativas em $p < 0,01$ e 95% delas também em $p < 0,001$. O negrito indica os casos em que a hipótese de deriva foi rejeitada e os números entre parênteses representam os nós da filogenia, conforme a figura 12. Bartlett: valor do χ^2 de Bartlett; gl: graus de liberdade; max r^2 : máxima coeficiente de correlação observado; p: probabilidade; média $|r^2|$: coeficiente de correlação médio.

Táxon	Regressão				Correlação			P (Bartlett)	max r ²	P (max r ²)	média r ²	PCs correlacionados	Consistente com deriva?
	n taxa	n crânios	β	95% confiança	Bartlett	gl	P						
<i>Cervacbus</i>	5	195	0,97	0,81	<>	1,12	5,9	0,434	0,79	0,448	0,09		sim
<i>Cercopithecus</i>	22	935	1,19	1,08	<>	1,31	507,4	0,000	-0,78	0,004	0,24	13-(17, 18)	não
<i>Chlorocebus</i>	6	302	1,09	0,91	<>	1,27	20,0	0,029	0,97	0,012	0,52	2-4	não
<i>Colobus</i>	5	364	0,96	0,78	<>	1,15	3,4	0,755	0,88	0,306	0,40		sim
<i>Homo</i>	4	267	1,03	0,85	<>	1,20	3,6	0,306	0,90	0,307	0,86		sim
<i>Hylobates</i>	7	265	0,86	0,67	<>	1,06	50,0	0,000	0,95	0,013	0,51	1-5	não
<i>Macaca</i>	19	706	1,14	0,99	<>	1,27	297,0	0,000	-0,65	0,389	0,26		sim
<i>Papio</i>	5	385	1,27	1,08	<>	1,45	9,1	0,167	-0,93	0,119	0,63		não
<i>Ptilocolobus</i>	8	380	0,99	0,82	<>	1,16	20,4	0,497	0,82	0,255	0,35		sim
<i>Presbytis</i>	11	283	0,97	0,84	<>	1,10	85,7	0,000	0,76	0,292	0,32		sim
<i>Semnopithecus</i>	6	106	0,92	0,77	<>	1,08	17,0	0,075	0,92	0,095	0,50		sim
<i>Trachypithecus</i>	9	337	1,08	0,94	<>	1,22	79,3	0,000	-0,77	0,402	0,40		sim
<hr/>													
Nós													
Hominoidea (2)	8	1240	1,20	0,99	<>	1,41	67,4	0,000	0,96	0,004	0,49	1-6	não
Hominidae (3)	4	866	1,13	0,80	<>	1,46	2,8	0,416	0,80	0,609	0,47		sim
Hylobatidae (4)	4	374	1,02	0,77	<>	1,28	6,0	0,114	-0,97	0,102	0,95		sim
Cercopithecidae (5)	22	4714	1,18	1,03	<>	1,34	564,9	0,000	0,92	0,000	0,31	1-(4, 5, 16, 17, 20); 4-16; 5-16; 6-11; 10-17; 16-17	não
Colobinae (6)	11	1710	1,07	0,92	<>	1,22	73,5	0,005	-0,76	0,284	0,33		sim
(7)	8	884	1,01	0,84	<>	1,19	26,6	0,183	0,80	0,353	0,34		sim
(8)	6	794	1,07	0,87	<>	1,27	18,7	0,044	-0,90	0,157	0,58		sim
(9)	4	719	1,14	0,88	<>	1,40	2,6	0,460	-0,71	0,862	0,46		sim
Cercopithecinae (10)	11	3004	1,20	1,00	<>	1,40	86,1	0,000	-0,93	0,001	0,36	1-5	não
Papionini (11)	6	1603	1,14	0,92	<>	1,36	10,0	0,439	0,92	0,089	0,36		sim
(12)	5	900	1,22	1,04	<>	1,41	17,5	0,008	-0,91	0,198	0,47		não
Cercopithecini (13)	5	1401	1,34	1,14	<>	1,55	7,7	0,258	-0,98	0,018	0,55	1-4	não
(14)	4	1371	1,33	1,08	<>	1,58	1,1	0,780	0,64	1,087	0,53		não
Catarrhini (1)	30	5954	1,26	1,08	<>	1,43	1439,9	0,000	0,93	0,000	0,30	1-(10, 15, 16, 20, 28, 29); 2-(15, 17, 20, 22, 23, 26; 3-28; 6-(16, 28); 8-12; 10-(13, 15, 20); 13-25; 15-20; 16-(20, 28, 29); 17-26; 19-22; 20-29; 22-(23, 26)	não

Os testes de regressão rejeitaram a hipótese de deriva em menos casos que os testes de correlação, especialmente nos níveis acima de gênero, onde a rejeição ocorreu apenas nas análises envolvendo Cercopithecinae, Cercopithecidae e o clado inteiro de Catarrhini. O desvio significativo da reta de regressão de uma inclinação de 1,0 deveu-se em grande medida ao PC1 (figura 13); quando esse componente foi excluído, as inclinações das retas de regressão não foram significativamente diferentes de 1,0 (tabela 9). Por outro lado, a remoção do PC1 nas análises infragenéricas não eliminou o desvio significativo da reta de regressão nem em *Papio* nem em *Cercopithecus* (tabela 9).

Tabela 9: Resultados dos testes de regressão excluindo-se o primeiro componente principal (PC1). Essas análises foram conduzidas apenas para os grupos em que deriva foi rejeitada pelo teste de regressão inicial, onde todos os PCs foram incluídos (tabela 8). Os números entre parênteses representam os nós da filogenia, conforme a figura 12.

	<i>n</i> taxa	β	95% confiança		
Catarrhini (1)	30	1,14	0,96	<>	1,32
Hominoidea (2)	8	1,07	0,87	<>	1,26
Cercopithecidae (5)	22	1,06	0,90	<>	1,21
Cercopithecinae (10)	11	1,05	0,84	<>	1,25
(12)	4	1,13	0,92	<>	1,33
Cercopithecini (13)	5	1,22	1,01	<>	1,43
(14)	5	1,19	0,93	<>	1,44
<i>Cercopithecus</i>	22	1,13	1,02	<>	1,25
<i>Papio</i>	5	1,22	1,00	<>	1,43

Figura 13: Regressão de **B** sobre as variâncias de **W** e o intervalo de confiança associado (95%). Números dos pontos correspondem aos PCs; nesse caso, o PC1 e o PC2 desviam-se significativamente da reta obtida para todos os PCs. O gráfico corresponde ao teste conduzido para o nó que inclui todos os Catarrhini, mas resultados semelhantes foram obtidos nas outras comparações.

Tabela 10: Associação das medidas a cada região e sub-região do crânio e os cinco primeiros componentes principais da matriz V/CV agrupada entre gêneros de Catarrhini (matriz correspondente ao nó número 1, conforme figura 12).

Medidas	Região	Sub-região	1	2	3	4	5
IS-PM	Face	Oral	0,07	0,00	0,00	-0,03	0,02
IS-NSL	Face	Nasal	0,21	-0,07	0,04	-0,07	0,07
IS-PNS	Face	Oral, nasal	0,36	-0,16	0,03	-0,17	0,08
PM-ZS	Face	Oral	0,33	-0,27	0,00	-0,13	0,09
PM-ZI	Face	Oral	0,26	-0,17	0,01	-0,10	0,12
PM-MT	Face	Oral	0,17	-0,04	0,00	-0,04	0,07
NSL-NA	Face	Nasal	0,20	-0,35	-0,09	-0,11	0,04
NSL-ZS	Face	Nasal	0,18	-0,18	-0,04	-0,10	0,06
NSL-ZI	Face	Oral, nasal	0,19	-0,06	-0,02	0,00	0,07
NA-BR	Neurocrânio	Abóbada	0,16	0,32	0,38	0,09	0,15
NA-FM	Neurocrânio	Orbital	0,09	0,05	0,00	0,01	0,05
NA-PNS	Face	Nasal	0,17	0,02	-0,03	-0,03	0,06
BR-PT	Neurocrânio	Abóbada	0,06	0,33	0,21	-0,21	0,32
BR-APET	Neurocrânio	Abóbada	0,15	0,38	0,11	-0,10	-0,01
PT-FM	Neurocrânio	Orbital	0,13	0,00	0,04	-0,07	-0,41
PT-APET	Neurocrânio	Abóbada	0,11	0,07	-0,03	0,27	-0,21
PT-BA	Neurocrânio	Abóbada	0,14	0,11	-0,04	0,31	-0,01
PT-EAM	Neurocrânio	Abóbada	0,12	0,09	-0,08	0,38	0,17
PT-ZYGO	Face	Zigomática	0,18	0,01	-0,07	0,38	-0,25
PT-TSP	Neurocrânio, face	Abóbada, zigomática	0,06	-0,03	-0,04	0,13	-0,26
FM-ZS	Neurocrânio	Orbital	0,04	0,00	0,00	0,02	0,01
FM-MT	Face	Zigomática	0,24	-0,02	0,03	-0,02	0,00
ZS-ZI	Face	Oral	0,12	0,01	0,00	0,05	0,01
ZI-MT	Face	Oral	0,11	0,01	0,04	-0,02	-0,04
ZI-ZYGO	Face	Zigomática	0,14	0,02	0,01	0,02	-0,03
ZI-TSP	Face	Zigomática	0,18	0,00	-0,03	0,21	-0,17
MT-PNS	Face	Oral	0,16	-0,07	0,02	-0,04	0,00
PNS-APET	Neurocrânio	Base	0,07	0,00	-0,02	0,06	0,03
APET-BA	Neurocrânio	Base	0,08	0,01	0,01	0,03	0,01
APET-TS	Neurocrânio	Base	0,05	0,02	-0,01	0,02	0,02
BA-EAM	Neurocrânio	Base	0,14	0,06	0,00	0,02	0,00
EAM-ZYGO	Face	Zigomática	0,11	-0,01	-0,02	0,07	-0,02
ZYGO-TSP	Face	Zigomática	0,16	0,02	-0,03	0,22	-0,17
LD-AS	Neurocrânio	Abóbada	0,13	0,21	0,11	-0,21	-0,25
BR-LD	Neurocrânio	Abóbada	0,10	0,36	-0,84	-0,27	-0,01
OPI-LD	Neurocrânio	Abóbada	0,16	0,28	0,19	-0,28	-0,34
PT-AS	Neurocrânio	Abóbada	0,14	0,21	-0,12	0,27	0,46
JP-AS	Neurocrânio	Base	0,12	0,14	0,00	-0,02	-0,02
BA-OPI	Neurocrânio	Base	0,03	0,01	-0,02	0,02	0,05
Autovalores			112,45	27,77	20,39	18,37	14,14
% da variância explicada			35,20	8,69	6,38	5,75	4,43

Efeito do número de taxa nos testes

Os resultados das análises de re-amostragem mostraram que as estimativas da inclinação da reta de regressão (β) foram muito consistentes independentemente do número de amostras envolvido (figura 14). O intervalo de confiança associado a essa inclinação mostrou-se mais variável, atingindo um platô de estimativas estáveis conquanto seis ou mais taxa sejam incluídos, e esse padrão não mudou conforme o grupo analisado. O teste de correlação pareceu responder mais rápido ao aumento no número de taxa: em *Presbytis*, por exemplo, o teste de regressão não rejeitou a hipótese de deriva em nenhuma das re-amostragens, enquanto que o de correlação o fez, principalmente quando mais de dez taxa foram incluídos. Em *Cercopithecus*, onde os dois testes descartaram deriva, o aumento do número de taxa rapidamente levou à rejeição da hipótese nula. Isso foi ainda mais visível quando a análise foi feita para o clado que inclui todos os Catarrhini, em que o resultado encontrado com todos os dados disponíveis (30 taxa) foi obtido em 90% das re-amostragens com apenas dez taxa. Os resultados das análises, portanto, variaram de acordo com cada grupo analisado, embora todos tivessem um número grande de sub-grupos. Isso demonstra que incluir um número grande de taxa na análise não é garantia de rejeição da hipótese nula de diversificação por deriva, uma indicação de que os testes aqui empregados são adequados.

Figura 14: Resultados das análises de re-amostragem em *Presbytis*, *Macaca*, *Cervopithecus* e em todos os Catarrhini para verificar o efeito do número de grupos sobre os testes de correlação e regressão. Gráficos da esquerda mostram o número de vezes (em porcentagem) em que a hipótese nula de diversificação por deriva foi rejeitada em 1.000 re-amostragens do banco de dados original. A linha cinza mostra os resultados do teste de correlação (rejeição de deriva caso haja correlação entre pelo menos um par de PCs) e a linha preta, os do teste de regressão (inclinação da reta de regressão diferente de 1,0). Gráficos à direita mostram as mudanças médias na inclinação na reta de regressão e em seu respectivo intervalo de confiança (95%), também em 1.000 re-amostragens dos dados originais.

Discussão

Deriva e seleção no crânio de Catarrhini

O crânio de mamíferos, especialmente o dos primatas, é tradicionalmente visto como uma estrutura moldada pela seleção natural. Isso se deve à sua importância funcional e aparente “bom ajuste” às histórias de vida de cada táxon e ao ambiente que ocupam (Antón, 1996; Singleton, 2005; Taylor, 2006). Entretanto, a teoria evolutiva prevê a possibilidade de que mesmo caracteres complexos e com importância funcional possam surgir e ser mantidos nas populações por meio de processos baseados no acaso, como a deriva genética (Lande, 1979; Gould e Vrba, 1982). Os resultados apresentados aqui apóiam a idéia de que esse é o caso do crânio de pelo menos parte dos macacos do Velho Mundo, um resultado surpreendente se considerarmos a escala de tempo envolvida, a diversidade de formas e as múltiplas funções desempenhadas pelo crânio. No entanto, em alguns grupos, especialmente quando se considera grandes clados, os padrões de diversificação observados não são compatíveis com a ação de deriva genética apenas, tornando a seleção natural uma alternativa plausível para explicar a diversidade.

No que diz respeito à diversificação interespecífica, deriva genética parece ter sido o processo evolutivo preponderante. Os dados evidenciam um papel mais proeminente para a seleção natural apenas dentro de *Hylobates*, *Papio*, *Chlorocebus* e *Cercopithecus*, sendo que o último foi o único gênero em que a diversificação por deriva foi descartada por ambos os testes, de regressão e de correlação. De maneira interessante, esse é o gênero com maior número de espécies entre todos os catarrinos, o que sugere que a seleção diversificadora teve um papel importante na produção de diversidade craniana entre as espécies. *Chlorocebus*, que é um parente próximo (e até recentemente considerado do mesmo gênero), também apresentou evidências de seleção entre espécies. Se considerarmos que não foi possível conduzir os testes dentro de gêneros filogeneticamente próximos devido à baixa diversidade (*Allenopithecus* e *Erythrocebus* são monoespecíficos e *Miopithecus* contém apenas

duas espécies), é razoável afirmar que seleção teve um papel importante em toda a tribo Cercopithecini; de fato, esse foi o resultado obtido ao analisar o clado como um todo.

A evidência de que seleção tenha atuado em babuínos (*Papio*) também é interessante. De certa forma, essa evidência complementa os resultados do capítulo 1, em que *Papio* mostrou-se como um dos grupos mais distintos entre os catarrinos em termos de covariação de caracteres cranianos. O mesmo resultado foi obtido analisando-se *Papio* dentro de uma amostra mais ampla de mamíferos, que incluiu animais tão diversos como antas e gambás, evidenciando que as relações entre caracteres do crânio são de fato particulares nesses primatas (Porto *et al.*, 2009). Os babuínos são talvez um dos exemplos mais extremos de dimorfismo sexual no crânio dentre todos os Macacos do Velho Mundo, e é provável que seleção sexual tenha tido um papel importante na gênese da diversidade craniana entre espécies. A existência de outros agentes seletivos, todavia, não pode ser descartada, pois em outros grupos com dimorfismo sexual acentuado, como chimpanzés e gorilas, a hipótese de deriva não foi rejeitada. Estudos da ontogenia e da biomecânica da mastigação em babuínos apontam para uma influência forte da dieta na história de vida desses animais (Singleton, 2005; Leigh, 2006); contudo, testes mais formais, em um contexto de comparação com outros grupos, ainda devem ser realizados para confirmar essa hipótese.

Hominidae, Hylobatidae e Colobinae: deriva ou seleção?

Chama a atenção, nos resultados, a ausência de evidências pró-seleção em grupos que abarcam morfologias cranianas muito variadas, como a família Hominidae. Uma possibilidade é que, devido ao pequeno número de subgrupos envolvidos (toda a família possui apenas quatro gêneros, num total de sete espécies), o poder estatístico para se rejeitar a hipótese de deriva é baixo. Outra possibilidade é que a diversificação dentro do grupo tenha sido efetivamente produzida por deriva genética, pois outros trabalhos chegaram a resultados semelhantes (Ackermann e Cheverud, 2004; Roseman, 2004). Roseman (2004) demonstrou que a maior parte da diversidade nos crânios de *Homo sapiens* é compatível com os padrões esperados por deriva e apenas um grupo muito isolado e que vive em localidades ambientalmente extremas (Sibéria) apresentam padrões que desviam dessa expectativa.

Ackermann e Cheverud (2004) demonstraram que a diversidade craniana de homínídeos fósseis (outras espécies de *Homo* e *Australopithecus*), na quase totalidade dos casos estudados, pode ser explicado apenas pela atuação de deriva genética. Para Hominidae, portanto, a evidência disponível indica que se deriva genética não foi o único processo evolutivo atuando, certamente teve um papel decisivo na geração da diversidade craniana da família.

O mesmo corpo de evidências ainda não existe para Hylobatidae e para Colobinae, grupos ainda pouco estudados desse ponto de vista. Os resultados para Hylobatidae são ambíguos na medida em que, da mesma maneira que Hominidae, esse é um grupo pouco diverso, incluindo apenas quatro gêneros. A análise no nó correspondente à família não rejeitou a atuação de deriva (tabela 8), mas o único gênero que apresentou um número de espécies para o qual se pôde realizar uma análise confiável (*Hylobates*), exibiu um padrão compatível com seleção. Para esse grupo, ainda é difícil dizer qual foi o processo evolutivo que predominou na determinação da diversidade craniana.

Em Colobinae, por sua vez, não se pode dizer que o desempenho dos testes foi prejudicado pelo tamanho das amostras. A diversidade interespecífica dentro de todos os gêneros que puderam ser analisados apresentou padrões compatíveis com a evolução guiada apenas por deriva genética (figura 12), a despeito de diversidades interespecíficas altas dentro de Colobinae; *Presbytis*, por exemplo, é o terceiro maior gênero de Catarrhini em número de espécies e apresentou um sinal claro de evolução por deriva (figura 14). O mesmo resultado se estendeu para todos os nós dentro da subfamília, mesmo aqueles que incluem um número maior de gêneros. Os colóbíneos, portanto, apresentam uma assinatura evidente de evolução por deriva, o que é surpreendente em vista do número de espécies envolvidas (59 espécies), da extensão da distribuição geográfica (toda a África extra-saariana e sudeste da Ásia, chegando às ilhas mais ao sul da Indonésia) e da diversidade de histórias de vida (Fleagle, 1999). Entre os primatas analisados neste estudo, os colóbíneos são provavelmente o grupo que representa melhor a previsão teórica de que processos evolutivos neutros são capazes de produzir grande diversidade morfológica.

Seleção ligada a tamanho corpóreo

Sempre que um padrão consistente com seleção natural foi detectado pelo teste de correlação, o primeiro componente principal das matrizes (PC1) apareceu correlacionado a um ou mais dos primeiros cinco PCs. De maneira coerente, quando o PC1 foi excluído das análises de regressão em que a inclinação da reta foi diferente de 1,0, essa diferença deixou de existir, especialmente nas análises acima do nível de gênero (tabela 9). Essas são evidências de que ocorreu seleção relacionada a tamanho corpóreo, pois o PC1 é um fator alométrico (Grant, 1999; Marroig e Cheverud, 2004; Marroig e Cheverud, 2005). Duas evidências podem ser citadas para apoiar essa interpretação do PC1: em primeiro lugar, todos os coeficientes dos caracteres originais são positivos (tabela 10); em segundo lugar, ele está altamente correlacionado com o peso médio dos grupos estudados (dados não apresentados). Interpretar o PC1 como um fator alométrico é comum em estudos que utilizam dados morfológicos, independente do grupo estudado (Grant, 1999; Marroig e Cheverud, 2005; Harmon e Gibson, 2006; Cardini e Elton, 2008; Marroig *et al.*, 2009). Dessa forma, o achado de que a diversificação craniana adaptativa em Catarrhini deve-se principalmente a uma variação maior que a esperada no PC1 pode ser considerada uma evidência de seleção diversificadora sobre o tamanho.

Efeito do número de taxa nos testes

Embora haja exceções, deriva genética foi uma explicação mais rejeitada em análises de grupos mais diversos. Por serem baseados nas técnicas de regressão e correlação, os testes utilizados neste estudo estão sujeitos a interferências do tamanho da amostra que, nesse caso, é o número de subgrupos dentro do grupo analisado; por sua vez, esse fator depende do resultado dos próprios processos evolutivos, como especiação e extinção, e não podem ser controlados nesses testes. Se um gênero tem três espécies ou menos, por exemplo, o teste de correlação estaria baseado em uma correlação com apenas dois pontos. Com isso em mente, estabeleci *a priori* um patamar mínimo de quatro taxa como condição para executar os testes. Essa escolha metodológica mostrou-se acertada em face dos resultados das análises de re-amostragem, que evidenciaram possíveis problemas que podem

ocorrer quando se utiliza um número pequeno de amostras. Se, por um lado, poucas taxa são necessários para estimar com precisão a inclinação da reta de regressão (β), isso não é válido para o intervalo de confiança correspondente, em que pelo menos seis taxa devem ser analisados. Seis taxa também é o patamar requerido pelo teste de correlação para se obter resultados confiáveis (figura 14). Entretanto, existe uma variação grande no desempenho dos dois testes em cada um dos grupos comparados, indicando que os resultados de seleção não são apenas determinados por um número grande de taxa incluídos na análise; os resultados podem ser bem diferentes dependendo do grupo analisado. Esse é um sinal importante e encorajador de que os testes efetivamente funcionam e que simplesmente aumentar o número de grupos não é condição suficiente para se rejeitar a hipótese nula de diversificação por deriva genética. Esse é o caso de *Presbytis* e *Macaca*, por exemplo: apesar do número grande de espécies nesses gêneros, a diversidade interespecífica no crânio poderia ser inteiramente explicada por processos evolutivos aleatórios (figura 14).

As análises de re-amostragem evidenciam também a importância de um banco de dados que seja representativo dos grupos, conforme o nível filogenético que está sob investigação. Uma boa amostragem é ainda mais decisiva conforme se analisa nós mais distantes dos terminais da filogenia. Deixar de amostrar algumas espécies de *Cervopithecus* ou *Presbytis*, por exemplo, não levaria a resultados diferentes, se estivermos estudando a diversificação no nível interespecífico. Por outro lado, se o grupo em foco for todo o clado dos Catarrhini, a análise de apenas alguns gêneros poderia acarretar em resultados equivocados tanto no teste de regressão quanto no de correlação. Para citar um exemplo extremo, utilizar apenas colobíneos como representantes de Catarrhini resultaria em evidências compatíveis apenas com a atuação de deriva genética, o que provavelmente não é o caso de todos os catarrinos. Em outras palavras, quanto mais inclusivo o grupo para o qual estivermos interessados em distinguir entre processos evolutivos, mais detalhada e representativa tem que ser a amostragem.

Essa discussão envolve, inclusive, a questão importantíssima da representatividade da amostragem baseada apenas em espécies atuais, omitindo fósseis. Entre os primatas, existem muitos exemplos de grupos extintos que apresentam características extremas em termos de morfologia do crânio, como o gênero *Caipora*, que tinha o dobro do tamanho da maior espécie atual de macaco do

Novo Mundo (Cartelle e Hartwig, 1996), o homínídeo diminuto da Ilha de Flores (Brown *et al.*, 2004) ou o maior primata já registrado, *Gigantopithecus* (Miller *et al.*, 2008). Entretanto, existem evidências consistentes de que os padrões covariação são muito similares entre todos os primatas antropóides (capítulo 1), estendendo-se inclusive a outros grupos de mamíferos (Porto *et al.*, 2009). Assim, o banco de dados que reunimos para espécies atuais pode ser considerado representativo da diversidade da estrutura de covariação no crânio que existe em Catarrhini.

Evolução no Velho e no Novo Mundo

Em certo sentido, este trabalho pode ser visto como complementar aos já realizados para os macacos do Novo Mundo por Ackermann e Cheverud (2002) e Marroig e Cheverud (2004). Existem, contudo, algumas diferenças entre os resultados obtidos: enquanto que em Platyrrhini seleção natural foi provavelmente o processo evolutivo dominante, em Catarrhini esse papel coube à deriva genética, principalmente no que diz respeito à diversificação abaixo do nível de família; apenas em certas subfamílias, mais especificamente entre os cercopitecíneos, é que seleção teve uma ação mais preponderante. A história dos macacos do Velho e do Novo Mundo apresenta algumas diferenças importantes, apesar do parentesco dos dois grupos e das várias semelhanças ecológicas. Enquanto os catarrinos parecem ter evoluído *in situ* no Velho Mundo, substituindo gradualmente uma fauna diversa de prosímios (Simons e Rasmussen, 1994; Kay *et al.*, 1997), os macacos do Novo Mundo invadiram a América do Sul, que nunca havia sido ocupada por primatas, em um momento em que esse continente ainda não estava conectado à América do Norte, mas já estava bem afastado da África (Oliveira *et al.*, 2009). O fóssil mais antigo de um primata na América do Sul data de 26 milhões de anos atrás (Hofstetter, 1969) e eles atravessaram um período de rápida diversificação, de forma que já no Mioceno (entre 23 e 6 milhões de anos atrás), grande parte dos gêneros atuais ou formas muito similares já estavam presentes (Kay, 1997; Schrago, 2007). Esses macacos recém-chegados provavelmente encontraram oportunidades ecológicas amplas, já que não havia primatas no continente, e sua diversificação foi provavelmente causada por pressões relacionadas à dieta e tamanho corpóreo, gerando uma irradiação adaptativa no Novo Mundo (Marroig e Cheverud, 2005). Os macacos africanos

e asiáticos, em oposição, não parecem ter sido influenciados pelos mesmos processos evolutivos, pelo menos não de uma forma geral. Segundo Schluter (2000), quatro critérios são necessários para se caracterizar uma irradiação adaptativa: ancestralidade comum, influência de seleção natural sobre os caracteres em questão, correlação entre variação ambiental e fenótipo e especiação rápida. Os dois primeiros quesitos são cumpridos no caso da diversificação craniana de Catarrhini, pois o grupo é claramente monofilético (Purvis, 1995; Vos, 2006) e os dados aqui apresentados demonstram que o crânio do grupo como um todo sofreu influência de seleção natural. Entretanto, o padrão de especiação hierárquico recuperado em vários subgrupos de Catarrhini não corresponde ao esperado no caso de uma irradiação adaptativa. Em Hominidae, por exemplo, vários estudos demonstram que a divergência entre as linhagens que levam a *Pongo*, *Gorilla*, *Pan* e *Homo* aconteceu em momentos bastante distintos (Yoder e Yang, 2000; Steiper e Young, 2006; Vos, 2006); existem, inclusive, evidências de que a taxa de cladogênese em Hominidae é bem mais lenta que em Cercopithecidae (Steiper *et al.*, 2004; Vos, 2006). O cenário de irradiação adaptativa também não se enquadra nos padrões vistos em Colobinae, visto que nesse grupo os resultados aqui apresentados não sustentam a ação de seleção natural sobre a diversificação do crânio (figura 12).

Em Hylobatidae, a rápida especiação dos grupos e a possível ação de seleção natural sobre a diversificação craniana sugere a possibilidade de irradiação adaptativa (Chatterjee, 2006; Vos, 2006). Entretanto, é em Cercopithecinae que essa explicação mais se encaixa, indicando que um processo semelhante ao que ocorreu com os platirrinos tenha se repetido no Velho Mundo. Os subgrupos de Cercopithecinae divergiram rapidamente; as espécies arbóreas dentro de *Cercopithecus*, por exemplo, aparentemente surgiram todas ao mesmo tempo (Xing *et al.*, 2007). Assim, futuras investigações buscando correlacionar a variação fenotípica com variáveis ambientais ou de história de vida dos animais poderão esclarecer melhor quais os candidatos a agentes geradores de evolução adaptativa nesse grupo.

Deriva genética como hipótese nula

A impossibilidade de rejeitar a hipótese nula de diversificação por deriva genética em muitos grupos de Catarrhini não é uma evidência cabal da ausência de seleção natural, porque alguns regimes adaptativos poderiam produzir os mesmos padrões que seriam esperados por deriva (Ackermann e Cheverud, 2002; Marroig e Cheverud, 2004; Harmon e Gibson, 2006). Seleção uniforme em todos os componentes principais, por exemplo, produziria uma relação perfeitamente proporcional entre **W** e **B**, mimetizando o padrão de evolução por deriva genética. Isso é particularmente válido em relação aos primeiros PCs, que são responsáveis pela maior parte da variação, e traduz-se no fato de que a ausência de significância nesses testes não é uma garantia de que esteja ocorrendo apenas evolução neutra (Harmon e Gibson, 2006). Outra possibilidade seria a de que as matrizes ponderadas dentro dos grupos não sejam estritamente constantes ou proporcionais, o que tornaria a aplicação dos testes de regressão e de correlação não adequada. Embora as análises do capítulo demonstrem a proporcionalidade estatística entre todas as matrizes de Catarrhini, essa proporcionalidade não é absoluta; de fato, algumas das matrizes mais divergentes do padrão geral observado para mamíferos estão dentro de Catarrhini (Porto *et al.*, 2009). Ainda assim, os testes empregados neste estudo constituem um método estatisticamente poderoso para rejeitar a hipótese de deriva em situações em que as forças que estejam potencialmente moldando as adaptações não podem ser identificadas, além de apontar os grupos onde a correlação da variação fenotípica com possíveis agentes seletivos (ex.: variáveis ambientais ou de histórias de vida) têm maiores chances de serem detectadas.

Referências

- Ackermann, R.R. 2002. Patterns of covariation in the hominoid craniofacial skeleton: implications for paleoanthropological models. *Journal of Human Evolution* 43:167-187.
- Ackermann, R.R. 2005. Ontogenetic integration of the hominoid face. *Journal of Human Evolution* 48:175-197.
- Ackermann, R.R. e Cheverud, J.M. 2000. Phenotypic covariance structure in tamarins (genus *Saguinus*): A comparison of variation patterns using matrix correlation and common principal component analysis. *American Journal of Physical Anthropology* 111:489-501.
- Ackermann, R.R. e Cheverud, J.M. 2002. Discerning evolutionary processes in patterns of tamarin (genus *Saguinus*) craniofacial variation. *American Journal of Physical Anthropology* 117:260-271.
- Ackermann, R.R. e Cheverud, J.M. 2004. Detecting genetic drift versus selection in human evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101:17946-17951.
- Akesson, M., Bensch, S. e Hasselquist, D. 2007. Genetic and phenotypic associations in morphological traits: a long term study of great reed warblers *Acrocephalus arundinaceus*. *Journal of Avian Biology* 38:58-72.
- Antón, S.C. 1996. Cranial adaptation to a high attrition diet in Japanese macaques. *International Journal of Primatology* 17:401-27.
- Arnold, S.J., Pfrender, M.E. e Jones, A.G. 2001. The adaptive landscape as a conceptual bridge between micro- and macroevolution. *Genetica* 112:9-32.
- Arnold, S.J. e Phillips, P.C. 1999. Hierarchical comparison of genetic variance-covariance matrices. II. Coastal-inland divergence in the garter snake, *Thamnophis elegans*. *Evolution* 53:1516-1527.
- Begin, M. e Roff, D.A. 2001. An analysis of **G** matrix variation in two closely related cricket species, *Gryllus firmus* and *G. pennsylvanicus*. *Journal of Evolutionary Biology* 14:1-13.
- Beldade, P. e Brakefield, P.M. 2003. Concerted evolution and developmental integration in modular butterfly wing patterns. *Evolution & Development* 5:169-179.
- Berg, R.L. 1960. The ecological significance of correlation pleiades. *Evolution* 14:171-180.
- Brandon-Jones, D., Eudey, A.A., Geissmann, T., Groves, C.P., Melnick, D.J., Morales, J.C., Shekelle, M. e Stewart, C.B. 2004. Asian primate classification. *International Journal of Primatology* 25:97-164.
- Brown, P., Sutikna, T., Morwood, M.J., Soejono, R.P., Jatmiko, Saptomo, E.W. e Due, R.A. 2004. A new small-bodied hominin from the Late Pleistocene of Flores, Indonesia. *Nature* 431:1055-1061.
- Cardini, A. e Elton, S. 2008. Variation in guenon skulls (II): sexual dimorphism. *Journal of Human Evolution* 54:638-647.
- Cartelle, C. e Hartwig, W.C. 1996. A new extinct primate among the Pleistocene megafauna of Bahia, Brazil. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93:6405-6409.
- Chatterjee, H.J. 2006. Phylogeny and biogeography of gibbons: A dispersal-vicariance analysis. *International Journal of Primatology* 27:699-712.
- Chernoff, B. e Magwene, P.M. 1999. Morphological Integration: Forty Years Later. In: Olson, E.C. e Miller, R.L. (eds.). *Morphological Integration*. University of Chicago Press, pp. 319-353.

- Cheverud, J.M. 1982. Phenotypic, genetic, and environmental morphological integration in the cranium. *Evolution* 36:499-516.
- Cheverud, J.M. 1988. A comparison of genetic and phenotypic correlations. *Evolution* 42:958-968.
- Cheverud, J.M. 1996. Quantitative genetic analysis of cranial morphology in the cotton-top (*Saguinus oedipus*) and saddle-back (*S. fuscicollis*) tamarins. *Journal of Evolutionary Biology* 9:5-42.
- Cheverud, J.M. 2004. Darwinian evolution by the natural selection of heritable variation: Definition of parameters and application to social behaviors. In: Sussman, R.W. e Chapman, A.R. (eds.). *The Origins and Nature of Sociality*. Aldine Publishing, New York, pp. 140-157.
- Cheverud, J.M. e Marroig, G. 2007. Comparing covariance matrices: Random skewers method compared to the common principal components model. *Genetics and Molecular Biology* 30:461-469.
- Cheverud, J.M., Wagner, G.P. e Dow, M.M. 1989. Methods for the comparative analysis of variation patterns. *Systematic Zoology* 38:201-213.
- Darwin, C. 1859. *On the origin of species by means of natural selection*. J. Murray, London.
- Dobzhansky, T. 1956. What is an adaptive trait. *American Naturalist* 90:337-347.
- Endler, J.A. 1992. Natural selection: current usages. In: Keller, E.F. e Lloyd, E.A. (eds.). *Keywords in evolutionary biology*. Harvard University Press, Cambridge, EUA, pp. 220-224.
- Estes, S. e Arnold, S.J. 2007. Resolving the paradox of stasis: Models with stabilizing selection explain evolutionary divergence on all timescales. *American Naturalist* 169:227-244.
- Falconer, D.S. e Mackay, T.F.C. 1996. *Introduction to quantitative genetics*. Prentice Hall, London and New York.
- Fisher, R.A. 1930. *The genetical theory of natural selection*. Clarendon Press, Oxford.
- Fleagle, J.G. 1999. *Primate adaptation and evolution*. Academic Press, San Diego.
- Game, E.T. e Caley, M.J. 2006. The stability of **P** in coral reef fishes. *Evolution* 60:814-823.
- Gilbert, S.F. e Epel, D. 2009. *Ecological developmental biology : integrating epigenetics, medicine, and evolution*. Sinauer, Sunderland, Mass., U.S.A.
- Gillespie, R. 2004. Community assembly through adaptive radiation in Hawaiian spiders. *Science* 303:356-359.
- Gonzalez-Jose, R., Van der Molen, S., Gonzalez-Perez, E. e Hernandez, M. 2004. Patterns of phenotypic covariation and correlation in modern humans as viewed from morphological integration. *American Journal of Physical Anthropology* 123:69-77.
- Goodman, M., Porter, C.A., Czelusniak, J., Page, S.L., Schneider, H., Shoshani, J., Gunnell, G. e Groves, C.P. 1998. Toward a phylogenetic classification of primates based on DNA evidence complemented by fossil evidence. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 9:585-598.
- Goswami, A. 2006. Morphological integration in the carnivoran skull. *Evolution* 60:169-183.
- Gould, S.J. 2002. *The structure of evolutionary theory*. Belknap Press (Harvard University Press), Cambridge, EUA.
- Gould, S.J. e Lewontin, R.C. 1979. Spandrels of San-Marco and the Panglossian paradigm - a critique of the adaptationist program. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 205:581-598.
- Gould, S.J. e Vrba, E.S. 1982. Exaptation - a missing term in the science of form. *Paleobiology* 8:4-15.
- Grant, P.R. 1999. *Ecology and evolution of Darwin's finches*. Princeton University Press, Princeton, EUA.

- Groves, C.P. 2005. Order Primates. In: Wilson, D.E. e Reeder, D.M. (eds.). *Mammal species of the world : a taxonomic and geographic reference*. Johns Hopkins University Press, Baltimore, pp. 111-184.
- Grubb, P., Butynski, T.M., Oates, J.F., Bearder, S.K., Disotell, T.R., Groves, C.P. e Struhsaker, T.T. 2003. Assessment of the diversity of African primates. *International Journal of Primatology* 24:1301-1357.
- Guglielmino-Matessi, C.R., Gluckman, P. e Cavalli-Sforza, L.L. 1979. Climate and the evolution of skull metrics in man. *American Journal of Physical Anthropology* 50:549-564.
- Harmon, L.J. e Gibson, R. 2006. Multivariate phenotypic evolution among island and mainland populations of the ornate day gecko, *Phelsuma ornata*. *Evolution* 60:2622-2632.
- Hernandez, M., Fox, C.L. e GarciaMoro, C. 1997. Fueguian cranial morphology: The adaptation to a cold, harsh environment. *American Journal of Physical Anthropology* 103:103-117.
- Hodge, M.J.S. 1992. Natural selection: historical perspectives. In: Keller, E.F. e Lloyd, E.A. (eds.). *Keywords in evolutionary biology*. Harvard University Press, Cambridge, EUA, pp. 212-219.
- Hofstetter, M.R. 1969. Un primate de l'Oligocène inférieur sudaméricain: *Branisella boliviana* gen. et sp. nov. *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences de Paris Série D* 269:434-437.
- House, C.M. e Simmons, L.W. 2005. The evolution of male genitalia: patterns of genetic variation and covariation in the genital sclerites of the dung beetle *Onthophagus taurus*. *Journal of Evolutionary Biology* 18:1281-1292.
- Jones, A.G., Arnold, S.J. e Borger, R. 2003. Stability of the G-matrix in a population experiencing pleiotropic mutation, stabilizing selection, and genetic drift. *Evolution* 57:1747-1760.
- Jones, A.G., Arnold, S.J. e Burger, R. 2004. Evolution and stability of the G-matrix on a landscape with a moving optimum. *Evolution* 58:1639-1654.
- Kay, R.F. 1997. *Vertebrate paleontology in the neotropics : the Miocene fauna of La Venta, Colombia*. Smithsonian Institution Press, Washington.
- Kay, R.F., Ross, C. e Williams, B.A. 1997. Anthropoid origins. *Science* 275:797-804.
- Kline, P. 1994. *An easy guide to factor analysis*. Routledge, London ; New York.
- Lande, R. 1979. Quantitative genetic-analysis of multivariate evolution, applied to brain - body size allometry. *Evolution* 33:402-416.
- Lande, R. 1980. The genetic covariance between characters maintained by pleiotropic mutations. *Genetics* 94:203-215.
- Leigh, S.R. 2006. Cranial ontogeny of *Papio* baboons (*Papio hamadryas*). *American Journal of Physical Anthropology* 130:71-84.
- Lewontin, R.C. 1970. The units of selection. *Annual Review of Ecology and Systematics* 1:1-18.
- Lewontin, R.C. 2000. *The triple helix: gene, organism, and environment*. Harvard University Press, Cambridge, EUA.
- Lofsvold, D. 1988. Quantitative Genetics of Morphological-Differentiation in *Peromyscus* .2. Analysis of Selection and Drift. *Evolution* 42:54-67.
- Losos, J.B., Jackman, T.R., Larson, A., de Queiroz, K. e Rodriguez-Schettino, L. 1998. Contingency and determinism in replicated adaptive radiations of island lizards. *Science* 279:2115-2118.
- Marroig, G. e Cheverud, J.M. 2001. A comparison of phenotypic variation and covariation patterns and the role of phylogeny, ecology, and ontogeny during cranial evolution of New World Monkeys. *Evolution* 55:2576-2600.

- Marroig, G. e Cheverud, J.M. 2004. Did natural selection or genetic drift produce the cranial diversification of neotropical monkeys? *American Naturalist* 163:417-428.
- Marroig, G. e Cheverud, J.M. 2005. Size as a line of least evolutionary resistance: Diet and adaptive morphological radiation in new world monkeys. *Evolution* 59:1128-1142.
- Marroig, G., Porto, A., Shirai, L.T., Oliveira, F.B. e Conto, V.D. 2009. The evolution of modularity in the mammalian skull II: evolutionary consequences. *Evolutionary Biology* - no prelo.
- Marroig, G., Vivo, M. e Cheverud, J.M. 2004. Cranial evolution in sakis (*Pithecia*, Platyrrhini) II: evolutionary processes and morphological integration. *Journal of Evolutionary Biology* 17:144-155.
- Matta, B.P. e Bitner-Mathé, B.C. 2004. Genetic architecture of wing morphology in *Drosophila simulans* and an analysis of temperature effects on genetic parameter estimates. *Heredity* 93:330-341.
- McGuigan, K. 2006. Studying phenotypic evolution using multivariate quantitative genetics. *Molecular Ecology* 15:883-896.
- Merila, J. e Bjorklund, M. 1999. Population divergence and morphometric integration in the greenfinch (*Carduelis chloris*) - evolution against the trajectory of least resistance? *Journal of Evolutionary Biology* 12:103-112.
- Miller, S.F., White, J.L. e Ciochon, R.L. 2008. Assessing mandibular shape variation within Gigantopithecus using a geometric morphometric approach. *American Journal of Physical Anthropology* 137:201-212.
- Mitteroecker, P. e Bookstein, F. 2008. The evolutionary role of modularity and integration in the hominoid cranium. *Evolution* 62:943-958.
- Moore, W.J. 1981. *The mammalian skull*. Cambridge University Press, Cambridge (UK); New York.
- Navas, C.A. 1996. Metabolic physiology, locomotor performance, and thermal niche breadth in neotropical anurans. *Physiological Zoology* 69:1481-1501.
- Nowak, R.M. e Walker, E.P. 1999. *Walker's primates of the world*. Johns Hopkins University Press, Baltimore.
- Oliveira, F.B., Molina, E.C. e Marroig, G. 2009. Paleogeography of the South Atlantic: a route for primates and rodents into the New World? In: Garber, P.A., Estrada, A., Bicca-Marques, J.C., Heymann, E.K., Strier, K.B. (eds.). *South American Primates: Comparative Perspectives*. Springer, New York, pp. 55-68.
- Olson, E.C. e Miller, R.L. 1958. *Morphological integration*. University of Chicago Press, Chicago.
- Osterholz, M., Walter, L. e Roos, C. 2008. Phylogenetic position of the langur genera *Semnopithecus* and *Trachypithecus* among Asian colobines, and genus affiliations of their species groups. *BMC Evolutionary Biology* 8:58-70.
- Page, S.L. e Goodman, M. 2001. Catarrhine phylogeny: Noncoding DNA evidence for a diphyletic origin of the mangabeys and for a human-chimpanzee clade. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 18:14-25.
- Phillips, P.C. e McGuigan, K.L. 2006. Evolution of genetic variance-covariance structure. In: Fox, C.W. e Wolf, J.B. (eds.). *Evolutionary genetics: concepts and case studies*. Oxford University Press, Oxford; New York, pp. 310-325.
- Phillips, P.C., Whitlock, M.C. e Fowler, K. 2001. Inbreeding changes the shape of the genetic covariance matrix in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 158:1137-1145.
- Pigliucci, M. e Preston, K. 2004. *Phenotypic integration : studying the ecology and evolution of complex phenotypes*. Oxford University Press, Oxford, New York.
- Porto, A., Oliveira, F.B., Shirai, L.T., Conto, V.D. e Marroig, G. 2009. The evolution of modularity in the mammalian skull I: morphological integration patterns and magnitudes. *Evolutionary Biology*, no prelo.

- Purvis, A. 1995. A Composite Estimate of Primate Phylogeny. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 348:405-421.
- Reale, D. e Festa-Bianchet, M. 2000. Quantitative genetics of life-history traits in a long-lived wild mammal. *Heredity* 85:593-603.
- Resnik, D.B. 1989. Adaptationist explanations. *Studies in History and Philosophy of Science* 20:193-213.
- Reusch, T. e Blanckenhorn, W.U. 1998. Quantitative genetics of the dung fly *Sepsis cynipsea*: Cheverud's conjecture revisited. *Heredity* 81:111-119.
- Revell, L.J. 2007. The **G** matrix under fluctuating correlational mutation and selection. *Evolution* 61:1857-1872.
- Richtsmeier, J.T., Corner, B.D., Grausz, H.M., Cheverud, J.M. e Danahey, S.E. 1993. The role of postnatal-growth pattern in the production of facial morphology. *Systematic Biology* 42:307-330.
- Roff, D.A. 1995. The estimation of genetic correlations from phenotypic correlations - a test of Cheverud's conjecture. *Heredity* 74:481-490.
- Roff, D.A., Mousseau, T., Moller, A.P., de Lope, F. e Saino, N. 2004. Geographic variation in the **G** matrices of wild populations of the barn swallow. *Heredity* 93:8-14.
- Roff, D.A., Mousseau, T.A. e Howard, D.J. 1999. Variation in genetic architecture of calling song among populations of *Allonemobius socius*, *A. fasciatus*, and a hybrid population: Drift or selection? *Evolution* 53:216-224.
- Roseman, C.C. 2004. Detecting interregionally diversifying natural selection on modern human cranial form by using matched molecular and morphometric data. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101:12824-12829.
- Schluter, D. 2000. *The ecology of adaptive radiation*. Oxford University Press, Oxford.
- Schrager, C.G. 2007. On the time scale of new world primate diversification. *American J. of Physical Anthropology* 132:344-54.
- Shaw, F.H., Shaw, R.G., Wilkinson, G.S. e Turelli, M. 1995. Changes in genetic variances and covariances: **G** whiz! *Evolution* 49:1260-1267.
- Shea, B.T. 1977. Eskimo craniofacial morphology, cold stress and maxillary sinus. *American Journal of Physical Anthropology* 47:289-300.
- Simons, E.L. e Rasmussen, D.T. 1994. A whole new world of ancestors: Eocene anthropoids from Africa. *Evolutionary Anthropology* 3:128-139.
- Singleton, M. 2005. Functional shape variation in the Cercopithecine masticatory complex In: Slice, D.E. (ed.). *Modern morphometrics in physical anthropology*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, pp. 319-348.
- Smith, K.K. 1997. Comparative patterns of craniofacial development in eutherian and metatherian mammals. *Evolution* 51:1663-1678.
- Sokal, R.R. e Rohlf, F.J. 1995. *Biometry : the principles and practice of statistics in biological research*. W.H. Freeman, New York.
- Steiper, M.E. e Young, N.M. 2006. Primate molecular divergence dates. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 41:384-394.
- Steiper, M.E., Young, N.M. e Sukarna, T.Y. 2004. Genomic data support the hominoid slowdown and an Early Oligocene estimate for the hominoid-cercopithecoid divergence. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101:17021-17026.
- Stephan, S.J., Phillips, P.C. e Houle, D. 2002. Comparative quantitative genetics: evolution of the **G** matrix. *Trends in Ecology & Evolution* 17:320-327.

- Taylor, A.B. 2006. Feeding behavior, diet, and the functional consequences of jaw form in orangutans, with implications for the evolution of *Pongo*. *Journal of Human Evolution* 50:377-393.
- Turelli, M. 1988. Phenotypic evolution, constant covariances, and the maintenance of additive variance. *Evolution* 42:1342-7.
- Van Couvering, J.A. e Harris, J.A. 1991. Late Eocene age of Fayum mammal faunas. *Journal of Human Evolution* 21:241-260.
- Vos, R.A. 2006. *Inferring large phylogenies: the big tree problem*. Ph.D. Dissertation, Simon Fraser University.
- Wagner, G.P. e Altenberg, L. 1996. Perspective: Complex adaptations and the evolution of evolvability. *Evolution* 50:967-76.
- Wagner, G.P., Pavlicev, M. e Cheverud, J.M. 2007. The road to modularity. *Nature Reviews Genetics* 8:921-931.
- Wainwright, P.C. e Reilly, S.M. 1994. *Ecological morphology : integrative organismal biology*. University of Chicago Press, Chicago.
- Waitt, D.E. e Levin, D.A. 1998. Genetic and phenotypic correlations in plants: a botanical test of Cheverud's conjecture. *Heredity* 80:310-319.
- Wells, R.M.G. 1990. Hemoglobin physiology in vertebrate animals: a cautionary approach to 'adaptationist thinking'. In: Boutilier, R.G. (ed.). *Advances in comparative and environmental physiology*. Springer, Heidelberg, pp. 143-161.
- West-Eberhard, M.J. 1992. Adaptation: current usages. In: Keller, E.F. e Lloyd, E.A. (eds.). *Keywords in evolutionary biology*. Harvard University Press, Cambridge, EUA, pp. 13-18.
- Wilkie, A.M. e Morriss-Kay, G.M. 2001. Genetics of craniofacial development and malformation. *Nature Reviews Genetics*. 2:458-68.
- Williams, F.L., Ackermann, R.R. e Leigh, S.R. 2007. Inferring Plio-Pleistocene southern African biochronology from facial affinities in *Parapapio* and other fossil papionins. *American Journal of Physical Anthropology* 132:163-174.
- Wright, S. 1931. Evolution in Mendelian populations. *Genetics* 16:97-159.
- Wright, S. 1932. The roles of mutation, inbreeding, crossbreeding and selection in evolution. *Proceedings of the Sixth International Congress of Genetics* 1:356-366.
- Xing, J., Wang, H., Han, K.D., Ray, D.A., Huang, C.H., Chemnick, L.G., Stewart, C.B., Disotell, T.R., Ryder, O.A. e Batzer, M.A. 2005. A mobile element based phylogeny of Old World monkeys. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 37:872-80.
- Xing, J., Wang, H., Zhang, Y., Ray, D.A., Tosi, A.J., Disotell, T.R. e Batzer, M.A. 2007. A mobile element-based evolutionary history of guenons (tribe Cercopithecini). *BMC Biology* 5:5.
- Yoder, A.D. e Yang, Z.H. 2000. Estimation of primate speciation dates using local molecular clocks. *Molecular Biology and Evolution* 17:1081-1090.

Capítulo 3

Modularidade no crânio dos macacos do Velho Mundo e suas consequências evolutivas

“Quando se quer encontrar conexões, se encontra sempre,
em toda parte e em tudo, o mundo explode numa rede,
num vórtice de parentescos.”

Umberto Eco
“O pêndulo de Foucault”

Introdução

Modularidade

Organismos vivos não são apenas um agrupamento de caracteres discretos, mas sim sistemas integrados, coesos, em que várias estruturas interagem entre si devido a origem ou função comuns (Emerson e Hastings, 1998; Steppan *et al.*, 2002; Pigliucci e Preston, 2004). Dentro dessa perspectiva, estudos sobre como os caracteres estão interconectados ocupam uma posição proeminente dentro da Biologia Evolutiva, uma vez que as relações entre caracteres podem influenciar a maneira como uma população evolui (Steppan *et al.*, 2002; McGuigan, 2006). As investigações sobre integração morfológica, que se referem à maneira como caracteres morfológicos estão interconectados, são de importância crucial para se compreender como evolui a forma dos seres vivos (Olson e Miller, 1958; Berg, 1960; Chernoff e Magwene, 1999; Pigliucci e Preston, 2004).

Dois aspectos devem ser considerados em conjunto quando se estuda integração morfológica: o padrão de integração, ou seja, a maneira como os caracteres estão conectados, e a magnitude, que é a intensidade com que as conexões se apresentam. O primeiro aspecto tem recebido bastante atenção na literatura (Cheverud, 1995; Chernoff e Magwene, 1999; Pigliucci e Preston, 2004; Goswami, 2006), mas as magnitudes de integração foram menos estudadas (Marroig e Cheverud, 2001; Porto *et al.*, 2009). Tipicamente, os padrões de integração são descritos com base em matrizes de correlação, que resumem o grau de associação entre vários caracteres quantitativos de uma maneira que independe do tamanho do organismo estudado. Usando essa abordagem, a existência de integração morfológica foi demonstrada, empiricamente, por meio da detecção de grupos de caracteres altamente correlacionados entre si e menos correlacionados com outros caracteres. Cada um desses grupos, que já foram chamados de “plêiades de correlação”, são chamados hoje de “módulos” (Olson e Miller, 1958; Berg, 1960; Wagner *et al.*, 2007).

Juntamente com as primeiras observações de organização modular nos seres vivos, foi proposta uma hipótese para explicar o porquê dessas associações (Olson e Miller, 1958; Berg, 1960).

Segundo essa hipótese, a associação entre caracteres observada no fenótipo seria o resultado de processos comuns de desenvolvimento ou, ainda, de função compartilhada entre os caracteres associados; em outras palavras, caracteres que compartilham ontogenia ou função comuns tenderiam a ser mais associados que os que não compartilham. Seguindo o raciocínio, o grau de interdependência de desenvolvimento e/ou função estaria diretamente relacionado ao grau de integração morfológica entre caracteres. O grau de integração no fenótipo, por sua vez, pode ser medido por meio da associação estatística entre caracteres quantitativos, ou seja, por meio da *correlação* entre eles. Portanto, caracteres altamente associados em termos de desenvolvimento e/ou função estariam altamente correlacionados no fenótipo (Olson e Miller, 1958; Berg, 1960; Cheverud, 1982; Wagner *et al.*, 2007). Essa hipótese abriu caminho para que, empiricamente, se buscasse por módulos nos organismos.

Consideremos um conjunto grande de caracteres fenotípicos quaisquer. A partir de considerações experimentais ou teóricas sobre o organismo em questão (ex.: estudos de ontogenia, de anatomia ou de funcionamento de um órgão), pode-se agrupar esses caracteres em grupos com função e/ou desenvolvimento comum. Comparar as correlações efetivamente observadas nos caracteres fenotípicos ao padrão esperado segundo os agrupamentos teóricos se mostrou uma estratégia frutífera para estudar a modularidade, que já foi detectada em uma grande variedade de organismos (Cheverud, 1982; Cheverud, 1995; Chernoff e Magwene, 1999; Porto *et al.*, 2009).

Conseqüências evolutivas

Embora haja um conjunto considerável de evidências que apontam para a existência de algum grau de modularidade em todos os seres vivos que já foram estudados sob esse ponto de vista, as conseqüências evolutivas da organização dos caracteres em módulos ainda não foram exploradas em detalhe (Wagner *et al.*, 2007; Marroig *et al.*, 2009). Entretanto, a maneira como caracteres fenotípicos estão interconectados pode ter implicações importantes para a evolução. Se um organismo exibisse uma organização completamente não modular, em que os caracteres estivessem absolutamente desassociados entre si, ele não conseguiria responder coordenadamente a pressões seletivas. O outro extremo, um organismo completamente integrado, com correlação máxima entre caracteres, também

fracassaria em responder à seleção, porque mudanças em um caráter afetariam todos os outros indiscriminadamente. Organismos reais, é claro, situam-se entre esses dois extremos; sua capacidade de responder à seleção, definida como evolvabilidade (do inglês “evolvability” - Hansen, 2003), é fortemente dependente das relações entre caracteres (Marroig *et al.*, 2009). A presença de módulos poderia, por exemplo, incrementar a precisão da resposta de uma espécie à seleção por permitir que caracteres dentro de um módulo mudem sem interferir em caracteres que pertencem a outros módulos (Wagner e Altenberg, 1996; Ancel e Fontana, 2000; Wagner *et al.*, 2007; Hansen e Houle, 2008). Em termos mais gerais e formais, a influência da modularidade sobre a evolvabilidade está expressa na equação de resposta multivariada à seleção:

$$\Delta \mathbf{z} = \mathbf{G} \boldsymbol{\beta}$$

Onde $\Delta \mathbf{z}$ é a resposta à seleção, $\mathbf{G}$ é a matriz de variância/covariância genética aditiva e $\boldsymbol{\beta}$ é o vetor de seleção (Lande, 1979). Embutido em $\mathbf{G}$ está o padrão de variação e covariação genética dos caracteres, o que reflete, em larga medida, o padrão de variação e covariação fenotípico (capítulo 1; Cheverud, 1988; Marroig & Cheverud, 2001). Assim, essa equação representa adequadamente a maneira pela qual seleção e padrões de variação e covariação dos caracteres interagem para produzir as mudanças evolutivas.

Um dos motivos pelos quais a integração morfológica foi abordada poucas vezes em um contexto evolutivo é o fato de que as ferramentas analíticas comumente utilizadas para esse tipo de estudo foram desenvolvidas para matrizes de correlação (Cheverud *et al.*, 1989). Todavia, muitos dos estudos sobre as trajetórias evolutivas das populações e o papel das restrições ontogenéticas na evolução derivam da teoria de genética quantitativa, que tradicionalmente utiliza matrizes de variância/covariância (V/CV - (Falconer e Mackay, 1996). Aqueles que desejam estudar as conseqüências evolutivas da integração morfológica, portanto, devem articular os dois conjuntos de ferramentas. Uma possível abordagem para conectar as duas áreas é a utilização do método de vetores de seleção aleatórios, ou “random skewers”, sobre matrizes V/CV (Cheverud, 1996; Cheverud e Marroig, 2007; Hansen e Houle, 2008; Marroig *et al.*, 2009).

Em estudos recentes, essa técnica foi usada para desenvolver métricas que ajudam a caracterizar as possibilidades evolutivas de uma população (Hansen e Houle, 2008; Marroig *et al.*, 2009). Para avaliar as implicações da integração morfológica, duas dessas métricas, o índice de restrições e a flexibilidade evolutiva, são especialmente relevantes. A flexibilidade evolutiva é definida matematicamente como sendo a correlação entre um vetor de seleção e a resposta de uma matriz V/CV a esse mesmo vetor, sendo portanto uma medida de quão próxima a resposta é, em termos de direção, da seleção que a gerou; em outras palavras, é uma medida do quanto uma população é capaz de responder na direção em que a seleção está pressionando (Marroig *et al.*, 2009). O índice de restrições, por sua vez, é a correlação entre o vetor de seleção aplicado e o primeiro componente principal da matriz em questão. Os componentes principais são extraídos de acordo com a variação que abrangem dos dados originais (Kline, 1994), de maneira que o primeiro deles representa o eixo de maior variação da matriz e, por esse motivo, foi chamado de “linha de menor resistência evolutiva” (Schluter, 1996). Como os processos evolutivos atuam sobre a variação que existe na população, sua ação ocorre mais facilmente nos eixos em que há mais variação. Em teoria, a evolução ao longo das linhas de menor resistência evolutiva seria facilitada ainda que a seleção não fosse diretamente nessa direção. O índice de restrições informa, nesse contexto, o quão restritas ao eixo de menor resistência evolutiva são as respostas de uma população à seleção natural (Marroig *et al.*, 2009).

O estudo comparativo desses índices em espécies com diferentes configurações modulares pode lançar luzes sobre o nosso entendimento das conseqüências evolutivas da associação entre caracteres. Neste capítulo, testo a presença de módulos no crânio dos macacos do Velho Mundo, comparando a associação observada entre caracteres cranianos a hipóteses teóricas de associação, baseadas em função e desenvolvimento comum; com isso, busco descrever a organização modular na morfologia do crânio desses animais. Em seguida, utilizo métricas derivadas da equação de resposta multivariada à seleção para investigar as possibilidades evolutivas dos diferentes grupos de Catarrhini, onde os padrões de covariação parecem ser razoavelmente constantes, mas existem variações consideráveis na magnitude (capítulo 1). Com essa abordagem, conciliando os modelos de integração

morfológica com a teoria de genética quantitativa, espero contribuir para a compreensão das consequências evolutivas da associação entre caracteres.

Métodos

Amostra

Nas análises conduzidas para esta parte do trabalho, utilizei o mesmo banco de dados já descrito em detalhe no capítulo 1. A nomenclatura taxonômica e a hipótese filogenética que orientaram a organização das análises também foram as mesmas (Groves, 2005; Vos, 2006). Neste capítulo, utilizei matrizes de correlação nas análises referentes à descrição da modularidade e matrizes V/CV nas análises de suas consequências evolutivas. Os métodos para estimativa dessas matrizes também estão expostos no capítulo 1.

Índice de integração morfológica

Calculei a média dos coeficientes de correlação entre caracteres, também chamada de coeficiente de determinação da matriz de correlação (r^2), para cada uma das matrizes de correlação de Catarrhini. Esse índice já foi utilizado para as análises descritas no capítulo 1: é uma medida geral da magnitude das correlações entre todos os caracteres, extensivamente utilizado em estudos de integração morfológica (Cheverud *et al.*, 1989; Sokal e Rohlf, 1995; Chernoff e Magwene, 1999; Porto *et al.*, 2009). Por ser independente de escala, esse é um índice adequado para comparar grupos com tamanhos corpóreos muito variados, como os macacos do Velho Mundo. Conforme apresentado e discutido no capítulo 1, diferenças entre gêneros nesse índice não estão correlacionadas à filogenia dos Catarrhini nem às distâncias morfológicas, mas estão negativamente associadas com a similaridade nos padrões de covariação. Para a maior parte das análises, esse índice foi linearizado por meio de transformação

logarítmica ($\ln r^2$). Por uma questão de simplicidade, ao longo do texto refiro-me a ele como índice de integração morfológica, ou simplesmente r^2 .

Padrões de modularidade

Para investigar a integração morfológica no crânio de Catarrhini, verifiquei se as matrizes de correlação entre os caracteres cranianos estavam significativamente correlacionadas a matrizes teóricas, construídas com base nas relações de desenvolvimento e/ou função comum entre os caracteres. Seguindo hipóteses já propostas para macacos do Novo Mundo (Cheverud, 1995; Marroig e Cheverud, 2001), busquei por integração significativa entre as duas principais regiões (neurocrânio e face) e seis sub-regiões: oral, orbital, zigomática, nasal, base e abóbada craniana. Testei também a integração entre caracteres neurais e, separadamente, caracteres faciais, averiguando se existe integração entre caracteres que se desenvolvem mais cedo (neurais) em contraste com os mais tardios (faciais). Por último, testei a presença de integração total no crânio, combinando as cinco sub-regiões em apenas uma matriz.

A construção das matrizes teóricas consiste em atribuir valores de 0 ou 1 para cada par de caracteres de acordo com cada hipótese de integração. Assim, se um par de caracteres pertencia ao mesmo conjunto funcional/de desenvolvimento sendo testado (ou seja, o módulo suposto pela hipótese), o valor 1 foi inserido na casela correspondente, na matriz; em caso negativo, o valor 0 foi inserido. As matrizes foram construídas, portanto, de maneira a possuir apenas valores 0 e 1, e a afiliação de cada caráter a cada hipótese teórica está explicada na tabela 11. Essas matrizes teóricas foram correlacionadas às matrizes de correlação observadas para cada gênero, sendo que utilizei um teste de Mantel para verificar qual a probabilidade referente a cada comparação.

Uma outra maneira de investigar a presença de módulos é averiguar se a média das correlações entre os caracteres supostamente integrados, segundo uma certa hipótese teórica (avg+), é maior que a média dos caracteres supostamente não-integrados (avg-). Se essa hipótese em questão efetivamente estiver relacionada com o fenótipo de um dado grupo, é esperado que a avg+ seja maior que avg-. De fato, a razão entre as duas médias (avg+/avg-), segundo uma dada hipótese, traz informações sobre a magnitude de integração entre os caracteres do módulo hipotetizado em relação a

todos os outros caracteres. A razão $\text{avg}+/\text{avg}-$, portanto, mede o grau de distinção dos módulos: se as correlações dentro de um módulo forem maiores que em outros módulos ou entre módulos, essa razão será maior que 1; caso contrário, será menor que 1.

A razão $\text{avg}+/\text{avg}-$ será designada, neste estudo, de índice de modularidade. Para testar a sua influência nas possibilidades evolutivas de cada gênero de Catarrhini, correlacionei os índices das várias hipóteses de integração às métricas derivadas da aplicação de vetores de seleção aleatórios, apresentadas a seguir.

Tabela 11: Associação das medidas cranianas a cada hipótese de integração.

Medida	Região	Hipótese	Medida	Região	Hipótese
IS-PM	Face	Oral	FM-MT	Neurocrânio	Orbital
IS-NSL	Face	Nasal	FM-ZS	Face	Zigomática
IS-PNS	Face	Oral, nasal	ZS-ZI	Face	Oral
PM-ZS	Face	Oral	ZI-MT	Face	Oral
PM-ZI	Face	Oral	ZI-ZYGO	Face	Zigomática
PM-MT	Face	Oral	ZI-TSP	Face	Zigomática
NA-FM	Neurocrânio	Nasal	MT-PNS	Face	Oral
NSL-NA	Face	Nasal	PNS-APET	Neurocrânio	Base
NSL-ZS	Face	Oral, nasal	APET-BA	Neurocrânio	Base
NSL-ZI	Face	Abóbada	APET-TS	Neurocrânio	Base
NA-BR	Neurocrânio	Orbital	BA-EAM	Neurocrânio	Base
NA-PNS	Face	Nasal	EAM-ZYGO	Face	Zigomática
BR-PT	Neurocrânio	Abóbada	ZYGO-TSP	Face	Zigomática
BR-APET	Neurocrânio	Abóbada	LD-AS	Neurocrânio	Abóbada
PT-APET	Neurocrânio	Orbital	BR-LD	Neurocrânio	Abóbada
PT-BA	Neurocrânio	Abóbada	OPI-LD	Neurocrânio	Abóbada
PT-EAM	Neurocrânio	Abóbada	PT-AS	Neurocrânio	Abóbada
PT-FM	Neurocrânio	Abóbada	JP-AS	Neurocrânio	Base
PT-ZYGO	Face	Zigomática	BA-OPI	Neurocrânio	Base
PT-TSP	Neurocrânio, face	Abóbada, zigomática			

Simulações de seleção: restrições e flexibilidade

Com a finalidade de investigar a influência do nível geral de integração morfológica sobre as possibilidades evolutivas dos diferentes gêneros de Catarrhini, correlacionei o índice r^2 a várias métricas relacionadas a capacidade das matrizes V/CV em responder a seleção natural simulada. Essa abordagem é diretamente derivada da equação de resposta multivariada à seleção (Lande, 1979), e relaciona a resposta evolutiva (Δz) ao vetor de seleção (β) e aos padrões de variação e covariação genotípicos. De acordo com a demonstração feita no capítulo 1, no caso dos Catarrhini as matrizes genotípicas podem ser substituídas por suas correspondentes fenotípicas.

A técnica descrita a seguir é muito semelhante ao método de “random skewers” empregado para comparar matrizes V/CV no capítulo 1 (figura 6, cap. 1). Para simular a seleção, gerei 1.000 vetores aleatórios, cada um com o mesmo número de elementos das matrizes (ou seja, 39), extraídos de uma distribuição uniforme e normalizados para possuir comprimento total de valor 1. É importante mencionar que esses vetores não apresentaram mais correlações entre si do que o esperado ao acaso, confirmando a aleatoriedade de sua origem (para vetores de 39 elementos, correlações maiores que 0,4 ou menores que -0,4 são significativas no nível $p < 0,001$). Multipliquei então esses vetores por cada uma das matrizes V/CV dos trinta gêneros de Catarrhini, obtendo as respectivas respostas.

Para calcular o índice de restrições, correlacionei cada uma das respostas ao primeiro componente principal da matriz V/CV correspondente (PC1), calculando em seguida a média entre as 1.000 correlações produzidas. O primeiro componente principal das matrizes V/CV, por definição, é dentre todos os componentes o que abarca a maior parte da variação presente na matriz, definindo o que Schluter (1996) chamou de “linha de menor resistência evolutiva”. Essa linha pode ser entendida como a direção em que a evolução é mais fácil de acontecer, mesmo que a seleção não atue exatamente nessa direção. Assim, a média das correlações entre as respostas derivadas de vetores aleatórios e o PC1 é uma medida do quanto as restrições, embutidas no padrão e na magnitude das relações entre caracteres, podem enviesar a evolução craniana.

Calculei também outra métrica, a flexibilidade evolutiva, que é a média das correlações das respostas da matriz com os próprios vetores que as produziram. Uma correlação alta entre uma resposta e o respectivo vetor de seleção significa que a matriz respondeu na mesma direção em que foi pressionada; médias de correlação altas, portanto, significa que a matriz respondeu, em geral, na direção em que a seleção atuou, enquanto que médias baixas indicam que a matriz na maioria das vezes responde em direções diferentes das que foi selecionada. Logo, a flexibilidade evolutiva é uma métrica que informa a capacidade de uma população em responder na mesma direção em que a seleção agiu.

Variação devida ao tamanho

A variação devida ao tamanho corpóreo é um fator importante quando se estuda qualquer carácter quantitativo. O PC1, quando se trata de dados morfológicos, geralmente expressa o tamanho e essa é uma interpretação comum em estudos morfológicos, independente do táxon (Grant, 1999; Marroig e Cheverud, 2005; Harmon e Gibson, 2006). Tal interpretação é reforçada pelo fato de que praticamente todos os coeficientes dos caracteres originais são positivos nesse componente (tabela 10, cap.2) e, além disso, ele está altamente correlacionado com o peso médio dos grupos estudados (dados não apresentados). Considerando que a variação atribuída ao tamanho possa influenciar a evolução fenotípica, para cada gênero estudado, correlacionei a porcentagem da variação total na matriz explicada pelo PC1 ao índice de integração morfológica r^2 e às várias métricas derivadas das simulações de seleção.

Investiguei também a relação entre o tamanho absoluto e os diferentes índices. Para isso, utilizei como indicativo de tamanho, para cada gênero, a média nos escores do PC1. Todas as métricas utilizadas, bem como seus respectivos significados biológicos, estão organizados na tabela 12.

Tabela 12: Abreviações das métricas utilizadas, respectivos métodos de cálculo e interpretações biológicas.

Abreviação	Como foi calculada	Significado biológico
r^2	Média dos coeficientes das correlações entre caracteres ao quadrado	Indica o quão fortemente, em média, os caracteres estão associados
avg+	Média dos coeficientes das correlações entre caracteres supostamente integrados, segundo uma dada hipótese de integração morfológica	Indica o quão fortemente associados estão os caracteres supostamente integrados, segundo uma dada hipótese
avg-	Média dos coeficientes das correlações entre caracteres supostamente não integrados, segundo uma dada hipótese de integração morfológica	Indica o quão fortemente associados estão os caracteres supostamente não integrados, segundo uma dada hipótese
(avg+/avg-)	Índice de modularidade	Indica se os caracteres supostamente integrados segundo uma certa hipótese estão mais fortemente associados que os supostamente não integrados
β	Vetor de seleção	Indica a magnitude e a direção em que está operando a seleção natural; no caso deste estudo, foram gerados aleatoriamente.
Δz	Vetor de resposta à seleção	Indica a magnitude e a direção em que uma dada matriz respondeu à seleção.
Flexibilidade evolutiva	Média da correlação entre os vetores de resposta e o respectivo vetor de seleção	Indica a capacidade de uma matriz em responder na mesma direção em que a seleção atuou
Índice de restrições	Média da correlação entre os vetores de resposta e o primeiro componente principal da matriz	Indica o quão restrita uma matriz está em responder à seleção com mudanças associadas ao primeiro componente principal (que também é chamado de linha de menor resistência evolutiva)
Variação explicada pelo PC1	Porcentagem de variação explicada pelo primeiro componente principal da matriz	Indica a quantidade de variação presente em uma dada matriz que está associada ao tamanho

Tendências filogenéticas

Para interpretar os resultados tendo como pano de fundo a história filogenética dos Catarrhini, utilizei a proposta de super-árvore de Vos (2006), bem como a matriz de distâncias filogenéticas, extraídas a partir dos comprimentos de ramos dessa proposta (capítulo 1). Construí também matrizes de diferenças par a par, entre gêneros, para o r^2 , para o índice de restrições e para a flexibilidade evolutiva. Com a intenção de verificar se esses índices estão associados à história evolutiva de Catarrhini, correlacionei essas matrizes à matriz de distâncias filogenéticas, avaliando a significância das comparações por meio de testes de Mantel com 10.000 permutações.

Essas análises já trazem informações sobre a influência da filogenia nessas métricas, mas a inspeção visual da variação desses índices plotada na própria árvore pode ser muito mais esclarecedora. Com esse objetivo, utilizei a rotina de reconstrução de caracteres quantitativos do programa Mesquite (Maddison e Maddison, 2008) para estimar os valores desses índices nos nós da filogenia. Para caracteres contínuos, o valor calculado para um nó é basicamente uma média dos terminais que ele contém ponderada pelo comprimento dos ramos do nó até os terminais. Embora esse não seja um modelo de evolução muito sofisticado, já que sempre reduz o ancestral a uma média dos seus descendentes e isso provavelmente não é válido em todos os casos (Harvey e Pagel, 1991), esse método permite a visualização dos dados no contexto da história do grupo, o que pode levar a novos “insights” sobre as tendências evolutivas em Catarrhini.

Resultados

Magnitude da integração

Como já exposto (figura 9, capítulo 1), a magnitude geral entre caracteres do crânio variou consideravelmente entre os gêneros de Catarrhini, desde um mínimo de 0,04 (*Presbytis*) até um máximo de 0,28 (*Semnopithecus*), com uma média de 0,12. A matriz de diferenças par a par entre gêneros no r^2 mostrou-se negativamente associada com a similaridade nos padrões de V/CV e de correlação, e não correlacionada nem com as distâncias morfológicas nem com as filogenéticas (tabela 6). Adicionalmente, observei que o tamanho do crânio, inferido com base nos escores do PC1, também não está correlacionado com o r^2 (figura 15).

Figura 15: Correlação entre o índice de integração morfológica r^2 e o tamanho do crânio (inferido com base nos escores do primeiro componente principal). Os nomes dos gêneros estão representados pelas três primeiras letras, com exceção de *Cercopithecus* (Cep) e *Cercocebus* (Cec).

Padrões de modularidade

A matriz teórica de integração total, que testa a hipótese de que as seis sub-regiões cranianas estão integradas, correlacionou-se significativamente a quase todos os gêneros de Catarrhini, com exceção de *Mandrillus*, *Papio* e *Procolobus*, aos quais se mostrou marginalmente correlacionada, e a *Miopithecus*, *Rhinopithecus* e *Semnopithecus*, para os quais não há correlação significativa (tabela 13). De maneira semelhante, praticamente todos os Catarrhini apresentaram integração neuro-somática e oral: a única correlação marginalmente significativa, no caso da primeira, foi registrada para *Procolobus* e, na segunda, para *Pygathrix* e *Rhinopithecus*.

A integração facial foi detectada em quase todos os grupos, com exceção de *Homo* e *Procolobus*. A integração neural, por sua vez, foi detectada apenas em *Homo* e, marginalmente, em *Gorilla* e *Presbytis*. As outras sub-regiões testadas exibiram um padrão mais irregular: a sub-região nasal mostrou-se integrada em 9 gêneros e marginalmente em outros 5 (sendo a maior parte deles da tribo Papionini); a sub-região zigomática exibiu integração em *Nasalis*, e marginalmente em *Allenopithecus*, *Mandrillus* e *Symphalangus*; a região da abóbada mostrou integração significativa em *Homo*, apenas; a região orbital mostrou integração marginalmente significativa em *Rhinopithecus*, apenas; por último, a região da base do crânio não apareceu integrada em nenhum Catarrhini.

Tabela 13: Razão entre a magnitude da correlação entre caracteres integrados (avg+) e não integrados (avg-) para cada hipótese teórica de integração (razão avg+/avg-, ou índice de modularidade). Valores em negrito e itálico indicam correlações significativas ($p < 0,05$), e os em itálico indicam correlações marginalmente significativas ($0,05 < p < 0,1$), para os testes de Mantel de integração morfológica.

Gênero	total	neuroface	facial	neural	oral	nasal	zigomática	abóbada	órbita	base
<i>Allenopithecus</i>	1.29	1.61	2.30	0.66	2.07	1.89	1.55	0.58	0.91	0.78
<i>Bunopithecus</i>	1.64	1.92	2.23	1.09	2.95	0.68	1.11	0.85	0.80	0.95
<i>Cercocebus</i>	1.20	1.20	1.56	0.80	1.98	1.79	0.84	0.70	0.34	0.73
<i>Cercopithecus</i>	1.27	1.35	1.64	1.06	1.91	1.52	0.84	0.79	0.72	0.58
<i>Chlorocebus</i>	1.23	1.25	1.48	1.09	1.78	1.35	1.00	0.82	0.65	0.44
<i>Colobus</i>	1.32	1.41	1.62	1.00	1.96	1.69	0.97	0.86	0.50	0.78
<i>Erythrocebus</i>	1.17	1.19	1.49	1.02	1.66	1.56	0.96	0.74	0.75	0.41
<i>Gorilla</i>	1.30	1.31	1.39	1.30	1.58	1.10	1.16	0.98	0.98	0.59
<i>Homo</i>	1.62	1.46	1.19	1.76	1.71	0.82	1.29	1.37	0.73	0.94
<i>Hylobates</i>	1.32	1.42	1.75	0.96	2.16	1.15	1.07	0.78	1.12	0.63
<i>Kasi</i>	1.42	1.48	1.70	1.14	1.88	1.78	1.07	0.87	1.13	0.83
<i>Lophocebus</i>	1.18	1.30	1.56	0.83	1.66	1.84	1.18	0.81	0.08	0.86
<i>Macaca</i>	1.12	1.21	1.45	0.85	1.59	1.47	1.03	0.81	0.67	0.79
<i>Mandrillus</i>	1.14	1.32	1.81	0.65	1.77	1.66	1.54	0.64	0.60	0.64
<i>Miopithecus</i>	1.09	1.30	1.69	0.83	1.55	1.45	0.84	0.71	1.22	0.83
<i>Nasalis</i>	1.34	1.35	1.74	0.79	1.91	1.70	1.81	0.72	0.94	0.84
<i>Nomascus</i>	1.69	1.64	1.67	1.26	2.56	1.21	1.27	1.05	0.95	0.94
<i>Pan</i>	1.43	1.57	2.12	0.79	2.44	2.01	1.37	0.65	0.64	0.62
<i>Papio</i>	1.10	1.19	1.56	0.68	1.70	1.64	1.24	0.68	0.63	0.71
<i>Ptilocolobus</i>	1.22	1.21	1.47	0.97	1.91	1.45	0.86	0.79	0.55	0.56
<i>Pongo</i>	1.13	1.13	1.35	0.78	1.76	1.30	1.16	0.80	0.30	0.82
<i>Presbytis</i>	1.64	1.60	1.65	1.34	2.25	1.75	1.14	1.03	0.07	0.92
<i>Procolobus</i>	1.12	1.09	1.19	0.98	1.65	1.13	0.79	0.91	0.79	0.67
<i>Pygathrix</i>	1.14	1.21	1.36	1.00	1.35	1.38	1.23	0.89	0.63	0.78
<i>Rhinopithecus</i>	0.99	1.31	1.80	0.60	1.46	1.33	1.25	0.63	1.77	0.71
<i>Semnopithecus</i>	1.00	1.11	1.37	0.69	1.51	1.26	0.77	0.76	0.99	1.02
<i>Simias</i>	1.42	1.53	2.09	0.84	2.24	1.39	1.45	0.64	0.96	1.09
<i>Symphalangus</i>	1.64	2.13	2.34	1.40	2.34	1.19	1.72	0.91	1.14	0.20
<i>Theropithecus</i>	1.25	1.29	1.39	1.03	1.83	1.64	0.64	0.96	0.60	0.80
<i>Trachypithecus</i>	1.42	1.40	1.51	1.07	2.04	1.39	1.33	0.95	0.69	0.86

Além das correlações entre as matrizes de integração teóricas e as matrizes de correlação observadas, calculei também a razão entre as médias das magnitudes dos caracteres integrados e não integrados segundo cada hipótese de integração (avg+/avg-). Essa razão, denominada índice de modularidade, apresentou-se negativamente associada ao índice r^2 para as hipóteses de integração total, neurofacial, oral e da abóbada craniana (figuras 16 e 17). Isso significa, em outras palavras, que quanto maior a integração geral de um táxon, menos evidentes tendem a ser os módulos dentro do crânio.

Figura 16: Relação do índice de integração morfológica r^2 com os índices de modularidade (avg+/avg-) correspondentes à quatro hipóteses de integração morfológica: integração total, neurofacial, facial e neural. Estão apresentados os valores dos coeficientes de correlação (r) e as respectivas probabilidades para cada associação testada. As abreviações são as mesmas da figura 15.

Figura 17: Relação do índice de integração morfológica r^2 com os índices de modularidade (avg+/avg-) correspondentes às hipóteses de integração orbital, oral, nasal, zigomática, da base e da abóbada craniana. Estão apresentados os valores dos coeficientes de correlação (r) e as respectivas probabilidades para cada associação. Abreviações: idem à figura 15.

Integração morfológica, restrições e flexibilidade evolutiva

De uma maneira geral, os gêneros com valores baixos para o índice de integração geral no crânio (r^2) foram aqueles que apresentaram maiores flexibilidades evolutivas e menores valores para o índice de restrições. Nos Catarrhini, de fato, o r^2 apresentou-se positiva e significativamente correlacionado ao índice de restrições, e a relação inversa, também significativa, ficou evidente em relação à flexibilidade evolutiva (figura 18). A quantidade de variação atribuída ao tamanho, expressa aqui como porcentagem de variação explicada pelo PC1, segue o mesmo padrão do r^2 : correlação positiva com o índice de restrições e negativa com a flexibilidade evolutiva. Coerentemente, r^2 e a quantidade de variação referente ao tamanho também estão forte e positivamente associados (figura 18).

Os mesmos índices de modularidade que se revelaram correlacionados ao r^2 (figuras 16 e 17), ou seja, os referentes à integração total, neurofacial, oral e da abóbada craniana, mostraram-se positivamente correlacionados ao índice de restrições e negativamente à flexibilidade evolutiva. Isso significa que quanto mais evidentes os módulos no crânio de um táxon, maiores as chances de responder na direção em que a seleção atua (flexibilidade evolutiva) e menores as chances de responder na linha de menor resistência evolutiva (conforme indicado pelo índice de restrições).

Figura 18: Relações entre o índice de restrições, flexibilidade evolutiva, quantidade de variação atribuída ao tamanho e o índice de integração morfológica r^2 . Ao lado de cada gráfico, estão apresentados os valores dos coeficientes de correlação (r) e as respectivas probabilidades. Abreviações: idem a figura 15.

Tendências filogenéticas

Entre os Catarrhini, não há uma tendência clara de associação entre o r^2 e a história filogenética dos grupos ($r = 0,081$, $p = 0,345$ – tabela 6, capítulo 1). O mesmo valeu para a flexibilidade evolutiva, que não apresentou um sinal filogenético claro ($r = 0,0$; $p = 0,45$). Contudo, observei uma correlação significativa entre a matriz de diferenças par a par entre gêneros no índice de restrições e a matriz de distâncias filogenéticas ($r = 0,18$; $p < 0,05$).

Uma inspeção visual da reconstrução desses índices na filogenia dá uma idéia das tendências que existem entre os diferentes clados de macacos do Velho Mundo (figura 19). Em Cercopithecinae há

uma tendência clara de manutenção de níveis altos de restrição, que parece ser ancestral e retida em todos os membros do grupo, sendo mais acentuada nos Papionini. Em Colobinae, a condição ancestral foi reconstruída como um índice de restrições mediano, que é a regra para todo grupo, com duas exceções: *Presbytis* e *Semnopithecus*, que são os valores mais extremos, para baixo e para cima, de todos os Catarrhini. Por último, em Hominoidea, a condição ancestral parece ter sido também um valor mediano, evoluindo para um valor máximo em *Pongo*, mas mantendo uma tendência de valores baixos em todos os outros Hominidae e Hylobatidae (figura 19). A flexibilidade evolutiva, coerentemente, mantém o padrão oposto do índice de restrições, com a diferença de que existe menor nitidez nas tendências.

Figura 19: Reconstrução dos índices de restrição e da flexibilidade evolutiva sobre a hipótese filogenética de Catarrhini.

Discussão

Modularidade

Observando o grupo como um todo, pode-se dizer que os macacos do Velho Mundo apresentam padrões de modularidade semelhantes, embora haja algumas singularidades importantes. Não resta dúvida de que existe algum grau de modularidade em todos os grupos, pois a matriz de correlação de todos os gêneros, sem exceção, mostrou-se positivamente correlacionada a pelo menos uma hipótese teórica de associação entre caracteres. A hipótese neurofacial, que supõe como integrados todos os caracteres de desenvolvimento mais precoce (neurais) e, ao mesmo tempo, os de mais tardio (faciais) foi a que se mostrou significativamente correlacionada a mais grupos de Catarrhini: apenas *Procolobus* resultou em um valor marginalmente significativo ($p = 0,05$). Praticamente o mesmo resultado foi obtido em relação à sub-região oral, em que apenas *Pygathrix* e *Rhinopithecus* exibiram correlações marginalmente significativas. A maior parte dos gêneros exibiu também integração total e facial, e pode-se dizer que os outros tipos de integração aparecem espalhados entre os Catarrhini.

Um padrão geral muito semelhante foi observado para os macacos do Novo Mundo (Cheverud, 1995; Marroig e Cheverud, 2001), em que as mesmas hipóteses de integração utilizadas aqui também detectaram a presença de módulos, principalmente em relação à integração total, neurofacial, facial e oral. Essa coincidência sugere que esse tipo de integração, comum a todos os primatas antropóides, provavelmente decorre de processos de desenvolvimento básicos, comuns a todo o grupo, e/ou a funções executadas pelo crânio de todos eles. Apesar desse padrão geral, de maneira interessante, também entre os macacos do Novo Mundo aparecem módulos que são particulares de alguns gêneros, o que pode estar relacionado ao modo de vida específico de cada grupo (Marroig e Cheverud, 2001). O mico-da-noite *Aotus*, por exemplo, que é o único macaco de hábitos noturnos, apresentou integração neural, que não é comum entre os macacos americanos. Explorando os resultados para Catarrhini dessa perspectiva mais específica, alguns aspectos particularmente

interessantes são a integração neural e na abóbada craniana detectada em *Homo* e a integração nasal, detectada quase que apenas dentro da tribo Papionini.

Papionini e Homo: módulos particulares

Os macacos da tribo Papionini, à qual pertencem os babuínos, mandris e babuínos-gelada, são sem dúvida os primatas antropóides que apresentam o focinho proporcionalmente mais proeminente, o que acarreta em várias implicações funcionais e biomecânicas (Singleton, 2005). Embora esteja presente em toda a tribo, fenótipos mais extremos parecem ter surgido mais de uma vez na evolução do grupo, aparentemente associados à terrestrialidade e a uma dieta composta de alimentos mais resistentes (Singleton, 2005). Além disso, o comprimento do focinho está relacionado à abertura máxima que a boca pode atingir, uma característica que parece ser de especial importância para espécies em que machos competem entre si pelas fêmeas, um contexto em que a exibição dos caninos é decisiva em confrontos agonísticos (Nowak e Walker, 1999; Singleton, 2005). A diversificação craniana dentro dessa tribo é consistente com a atuação de seleção natural (capítulo 2) e, embora todas essas considerações sejam plausíveis, seriam necessários estudos mais detalhados sobre a evolução da dieta na tribo, em um contexto filogenético, para verificar se a integração nasal está relacionada a possíveis adaptações no crânio. Além disso, é possível que a integração particular nesses grupos seja responsável pelo fato de que *Mandrillus* e *Papio* tenham apresentado padrões de covariação relativamente distintos dos outros Catarrhini (capítulo 1).

Os humanos são primatas que apresentam as proporções entre caracteres da face e do crânio muito discrepantes das dos outros, e não é surpresa que os seus padrões de modularidade sejam distintos. De fato, esses padrões saltam aos olhos mesmo quando analisados em uma amostra mais abrangente de mamíferos (Porto *et al.*, 2009). Seria tentador aventar hipóteses adaptativas para explicar a integração neural e da abóbada craniana (as únicas em todo o estudo) e, ao mesmo tempo, a falta de integração facial, que é uma exceção não só em Catarrhini, mas também entre todos os antropóides (Marroig e Cheverud, 2001). Entretanto, servem de lição os inúmeros possíveis cenários seletivos já propostos para a evolução do crânio humano, a maioria carecendo de bases sólidas no que conhecemos

sobre evolução (Shea, 1977; Gould e Lewontin, 1979; Guglielmino-Matessi *et al.*, 1979; Hernandez *et al.*, 1997); assim, um olhar mais atento revela que esse pode não ter sido o caso. Os mesmos padrões de integração foram observados entre alguns gêneros de Platyrrhini, como *Aotus*, *Saguinus* e *Callimico* (Marroig e Cheverud, 2001). Se o padrão de integração particular de humanos é uma adaptação, então ela surgiu pelo menos mais uma vez entre os primatas, nos micos do Novo Mundo. Isso não quer dizer, contudo, que o surgimento de módulos neurais e da abóbada craniana não possam ser adaptações tipicamente humanas; de fato, existe essa possibilidade, mas uma correlação consistente entre variação no ambiente e variação no fenótipo, em um contexto filogenético, é necessária para demonstrar essa hipótese (Schluter, 1996).

É importante ter em mente que o teste com as matrizes teóricas aqui reportado é um tanto rudimentar, pois ele reduz a integração morfológica em uma estrutura complexa como o crânio a uma matriz de presença ou ausência de correlações (Cheverud, 1982; Cheverud, 1995; Chernoff e Magwene, 1999). Embutida nesses testes, portanto, está a consideração de caracteres só podem ser considerados integrados quando exibem uma correlação máxima (igual a 1) entre si; uma rápida análise visual das matrizes revelaria que a realidade dos organismos está longe disso, com relações bem mais sutis. No entanto, embora grosseiro, esse teste é capaz de revelar os módulos mais evidentes, de maneira que o achado de uma correlação significativa, ou mesmo marginalmente significativa, deve ser considerado como de potencial importância biológica. Nesse contexto, apesar da baixa resolução do teste, podemos considerar que os resultados são precisos em revelar um padrão de modularidade semelhante entre todos os macacos do Velho Mundo, embora haja especificidades importantes em alguns grupos.

Modularidade e integração geral

Um resultado bastante significativo é a correlação negativa entre a magnitude geral de integração (r^2) e vários dos índices de modularidade (avg+/avg-). Isso indica, basicamente, que na medida em que a integração global no crânio aumenta, os módulos ficam menos nítidos; ou, ao contrário, quando se evidencia mais os módulos, a integração geral diminui. Esse foi um padrão idêntico ao observado em uma amostra mais ampla de mamíferos (Porto *et al.*, 2009). Nesse estudo, os

animais mais integrados, em termos globais, foram os vários grupos de marsupiais, sendo que nenhum deles apresentou integração total no crânio. Análogo a esse achado é o fato de que, entre os seis gêneros de Catarrhini em que não detectei integração total significativa, cinco estão entre os maiores valores de r^2 . De certa forma, portanto, os padrões em Catarrhini repetem um padrão mais amplo, já detectado em outros grupos de mamíferos.

Possibilidades evolutivas

Os resultados indicam uma clara associação entre a magnitude geral de integração morfológica, a presença de módulos nítidos e a capacidade de cada gênero de Catarrhini em responder à seleção. De uma maneira geral, quanto mais alta a integração geral no crânio (ou seja, associação mais estreita entre caracteres), menos evidente a presença de módulos e menor a capacidade de responder na mesma direção que a seleção está pressionando; *Papio*, *Semnopithecus* e *Mandrillus* são bons exemplos desse padrão. Outros gêneros apresentaram o padrão diametralmente oposto, isto é, baixa magnitude geral de integração, módulos bem evidentes e alta flexibilidade evolutiva; *Presbytis*, *Homo* e *Hylobates* são os casos que melhor representam isso na amostra.

A flexibilidade evolutiva mede o quanto uma população é capaz de responder na mesma direção em que a seleção está pressionando, enquanto que o índice de restrições informa que proporção dessas respostas está restrita ao eixo de menor resistência evolutiva (PC1). Dessa forma, não é surpresa que essas duas métricas estejam negativamente correlacionadas entre os gêneros de Catarrhini ($r = -0,850$; $p < 0,001$). Em outras palavras, nos grupos com altas magnitudes de integração, a grande maioria das respostas à seleção estava altamente correlacionada com PC1, que é um eixo relacionado ao tamanho (figuras 18 e 20). O padrão oposto apareceu nos gêneros com menores magnitudes de integração, que apresentaram poucas respostas alinhadas com esse eixo (figuras 18 e 20). Esses resultados mostram que, independentemente do vetor de seleção aplicado, as respostas dos grupos altamente integrados, como *Papio* e *Semnopithecus*, tendem a ser no eixo de menor resistência evolutiva. Animais que apresentam os caracteres do crânio mais frouxamente conectados, como *Presbytis* e *Homo*, tendem a seguir mais precisamente a direção da seleção.

Figura 20: Distribuição das correlações entre as respostas a 1.000 vetores de seleção e o primeiro componente principal das matrizes V/CV em dois grupos com magnitudes de integração bem diferentes, *Presbytis* (0,04) e *Semnopithecus* (0,28). Nesse último, a grande maioria das respostas à seleção são altamente correlacionadas ao PC1, enquanto que no primeiro, poucas respostas estão altamente correlacionadas. Essas distribuições foram utilizadas no cálculo do índice de restrições, mas, para as análises, utilizei o valor médio das 1.000 correlações; aqui, temos uma idéia melhor de como as correlações estão distribuídas, fortemente deslocadas para a direita em *Semnopithecus*.

Os dados apresentados no capítulo 1 tornam evidente o fato de que enquanto o padrão de conexões entre os caracteres cranianos se manteve aproximadamente constante ao longo de toda a história de Catarrhini, a magnitude dessas conexões evoluiu bastante. Em face dos resultados obtidos com os vetores de simulação aleatórios, isso tem implicações evolutivas importantes e pode ajudar a explicar como é possível, com o mesmo padrão de associação entre os caracteres, gerar uma diversidade de formas no crânio como a vista entre os macacos do Velho Mundo. Os resultados deste terceiro capítulo mostram que a magnitude geral de integração está intimamente relacionada à capacidade de uma população em responder a pressões seletivas: se, por um lado, magnitudes baixas de integração estão associadas a respostas evolutivas que seguem de perto a atuação da seleção, magnitudes altas, por outro, estão associadas a respostas ao longo da linha de menor resistência evolutiva (PC1). Isso quer dizer que uma associação firme entre caracteres desvia fortemente o caminho imposto à população pela seleção e, como a linha de menor resistência evolutiva está

relacionada ao tamanho corpóreo, independentemente da pressão exercida, a evolução será relacionada ao tamanho (figura 21). Esses dados iluminam, sob uma nova perspectiva, vários aspectos mais específicos da evolução do crânio em Catarrhini; eles podem ajudar a explicar, por exemplo, o fato de que as espécies de *Papio*, um dos gêneros com maior índice de integração, possuem tamanhos corpóreos tão díspares entre si (Leigh, 2006).

Modularidade e evolução associada a tamanho

Os dados deste capítulo ajudam a entender o caso específico da evolução do crânio de Catarrhini, mas contribuem também para um melhor entendimento, em geral, das conseqüências evolutivas da modularidade. Grupos com maiores índices de modularidade (avg+/avg-) corresponderam aos com menores magnitudes gerais de integração e maiores flexibilidades evolutivas. Em primeiro lugar, essa tendência corresponde ao que já foi registrado para amostragens filogeneticamente mais abrangentes de mamíferos (Marroig *et al.*, 2009; Porto *et al.*, 2009) e é exatamente o padrão esperado segundo a teoria de modularidade (Berg, 1960; Cheverud, 1984; Wagner e Altenberg, 1996). Nos grupos com módulos menos evidentes, as magnitudes de integração foram em geral mais altas, e a variação associada ao tamanho (PC1) atuou como uma restrição firme em relação ao potencial evolutivo das linhagens. As análises apresentadas mostram que, apesar de terem sido pressionados por seleção em várias direções possíveis (os 1.000 vetores aleatórios simulam seleção em cerca de 1.000 direções diferentes), os gêneros com valores maiores no índice de restrições respondem repetidamente com mudanças ao longo do PC1; *Papio* e *Semnopithecus*, por exemplo, os dois valores mais altos no índice de restrições, exibiram mais de 850 das 1.000 respostas associadas a variação de tamanho (figura 18). Tal coincidência das respostas com a linha de menor resistência evolutiva é ainda mais surpreendente se considerarmos que ela é apenas uma, dentre um número muito grande de possibilidades de direção, em que as populações poderiam responder, caso não houvesse restrição alguma.

Tendências filogenéticas

Observar os padrões de integração e suas consequências evolutivas em um contexto filogenético pode lançar muitas luzes sobre o nosso entendimento sobre tendências evolutivas em Catarrhini. A superfamília Hominoidea foi o grupo onde encontrei maior diversidade de tendências, principalmente em relação ao índice de restrições evolutivas. Embora de uma maneira geral os taxa desse clado exibam valores de magnitude geral de integração menores que a média, existem grupos com valores relativamente alto no índice de restrições, como *Pongo*. Como tendência geral do grupo, contudo, pode-se afirmar que os valores são baixos nesse índice e, coerentemente, mais altos em termos de flexibilidade evolutiva. Observa-se entre os Hominoidea a presença dos padrões de modularidade mais distintos dentro de Catarrhini, registrados para *Homo* e, em certa medida, também para *Gorilla*. Vale notar que os hilobatídeos, como um todo, são um grupo com pouca restrição, de maneira que se apresentam como espécies capazes de responder rápida e precisamente às pressões de seleção.

Em Colobinae, provavelmente o papel da seleção natural na diversificação do crânio é pequeno (capítulo 2) e toda a subfamília tende a níveis médios de magnitude geral de integração. Contudo, não se deve perder de vista que essa é a subfamília que contém os dois gêneros mais extremos, do ponto de vista da integração e das suas consequências: de um lado, *Presbytis*, com baixa magnitude de integração e alta flexibilidade evolutiva; do outro, *Semnopithecus*, com a mais alta integração geral e altos níveis de restrições à atuação de seleção em toda a amostra (figura 18).

O mesmo não pode ser dito do grupo-irmão de Colobinae, os Cercopithecinae, onde observei uma assinatura clara de seleção atuando sobre a variação craniana (capítulo 2). A magnitude geral de integração é relativamente alta em todos os membros da subfamília, o que está consistentemente associado a maiores níveis de restrições; em concordância, o único exemplo de flexibilidade evolutiva mediana, em todo o grupo, é *Cercopithecus* (figura 18). Esses resultados, em conjunto, parecem sugerir que a evolução do grupo deve ter ocorrido principalmente no eixo de menor resistência evolutiva, que é o tamanho. De fato, outros estudos morfométricos do crânio indicam que a variação associada ao tamanho é o fator por excelência que determina as diferenças entre as espécies,

tanto na tribo Papionini quanto na Cercopithecini (Singleton, 2005; Leigh, 2006; Cardini e Elton, 2008). Considerando que essa diversificação deve ter sido adaptativa em muitos casos (capítulo 2), a correlação da variação de tamanho com variáveis ambientais pode lançar luz sobre os possíveis agentes seletivos que atuaram na evolução dos cercopitecíneos. Na realidade, já se observa há tempos a relação existente entre o aumento no tamanho do corpo, hábitos mais terrestres e a alimentação baseada em itens mais secos, que parece ter evoluído repetidas vezes dentro do grupo (Singleton, 2005; Leigh, 2006; Cardini e Elton, 2008). Seleção sobre ancestrais arborícolas de tamanho menor, pode ter sido o fator responsável pela diversidade que vemos hoje em Cercopithecinae.

Padrões gerais e suas possíveis causas

Os resultados aqui apresentados demonstram claramente que os estudos que avaliam a magnitude geral da integração morfológica merecem mais atenção do que no passado. Dado que nos macacos do Velho Mundo e em mamíferos os padrões de inter-relação entre os caracteres cranianos são basicamente os mesmos, mudanças evolutivas que porventura modifiquem as magnitudes de integração têm o potencial de causar mudanças significativas no fenótipo. De maneira particular, se houver redução diferencial na magnitude da associação entre caracteres, sendo que os entre módulos tornem-se menos associados que os dentro de módulos (aumentando a modularidade, portanto), as análises mostram que a flexibilidade evolutiva tende a aumentar, e a população tem mais liberdade de responder em outras direções que não a de menor resistência evolutiva. Os resultados também permitem prever que se um grupo exibe uma associação forte entre caracteres, tenderá a responder à pressão de seleção com divergência no tamanho, que é a linha de menor resistência evolutiva (figura 21); embora a magnitude da integração morfológica não esteja associada ao tamanho absoluto dos organismos, ela está fortemente relacionada à proporção da variação que pode ser atribuída ao tamanho. Alguns modelos simples de genética de populações mostram que uma situação em que os efeitos de um gene sobre outros são modificados diferencialmente poderiam produzir padrões de maior ou menor modularidade (Wagner *et al.*, 2007; Pavlicev *et al.*, 2008). Como exemplo, podemos imaginar uma situação inicial envolvendo um crânio muito integrado, mas com módulos pouco nítidos. Se, em

certo momento, a atuação de genes que afetam caracteres em diferentes módulos passar a afetar mais fortemente caracteres *dentro* de um mesmo módulo do que caracteres *entre* módulos, teremos como resultado o aparecimento de módulos mais nítidos. Conforme demonstrado aqui, isso tem implicações sérias para as possibilidades evolutivas futuras da população.

Figura 21: Seleção atuando em dois caracteres, que estão associados com diferentes magnitudes em cada população. A população da esquerda apresenta uma correlação mais forte entre os caracteres, enquanto a da direita apresenta uma associação mais frouxa. Apesar de, em ambos os casos, o padrão de associação ser o mesmo (os caracteres estão positivamente associados nas duas populações), as respostas geradas por diferentes magnitudes podem ser bem diferentes: a população da esquerda segue a linha de maior variação entre caracteres, enquanto que a da direita dá uma resposta mais próxima da direção da seleção.

Um achado surpreendente deste estudo (capítulo 1) é a estase de 40 milhões de anos no padrão de relações entre caracteres do crânio, que se soma à já registrada para os macacos do Novo Mundo (Marroig e Cheverud, 2001) e para mamíferos em geral (Porto *et al.*, 2009). Embora não tenha testado hipóteses formais sobre as possíveis causas dessa estase, é muito plausível imaginar que padrões evolutivamente conservados podem dever-se a seleção estabilizadora, que estão atuando em processos muito básicos de desenvolvimento e/ou função (Estes e Arnold, 2007). A evolução da magnitude pode ter sido causada por deriva genética, seleção natural, ou ambos (Jones *et al.*, 2003). Considerando seu

potencial para gerar adaptações, podemos supor que pelo menos parte da evolução na magnitude de integração tenha sido gerada por seleção natural. Dessa forma, embora os padrões de integração tenham sido extremamente refratários a mudanças evolutivas por toda a história de Catarrhini (e quiçá dos mamíferos; Porto *et al.*, 2009), seleção direcional pode ter promovido mudanças atuando somente sobre as magnitudes de integração morfológica no crânio. Segundo esse modelo, as mudanças na magnitude são a chave para entender a evolução do crânio nos macacos do Velho Mundo.

Referências

- Ackermann, R.R. 2002. Patterns of covariation in the hominoid craniofacial skeleton: implications for paleoanthropological models. *Journal of Human Evolution* 43:167-187.
- Ackermann, R.R. 2005. Ontogenetic integration of the hominoid face. *Journal of Human Evolution* 48:175-197.
- Ackermann, R.R. e Cheverud, J.M. 2000. Phenotypic covariance structure in tamarins (genus *Saguinus*): A comparison of variation patterns using matrix correlation and common principal component analysis. *American Journal of Physical Anthropology* 111:489-501.
- Ackermann, R.R. e Cheverud, J.M. 2002. Discerning evolutionary processes in patterns of tamarin (genus *Saguinus*) craniofacial variation. *American Journal of Physical Anthropology* 117:260-271.
- Ackermann, R.R. e Cheverud, J.M. 2004. Detecting genetic drift versus selection in human evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101:17946-17951.
- Akesson, M., Bensch, S. e Hasselquist, D. 2007. Genetic and phenotypic associations in morphological traits: a long term study of great reed warblers *Acrocephalus arundinaceus*. *Journal of Avian Biology* 38:58-72.
- Ancel, L.W. e Fontana, W. 2000. Plasticity, evolvability, and modularity in RNA. *Journal of Experimental Zoology* 288:242-283.
- Antón, S.C. 1996. Cranial adaptation to a high attrition diet in Japanese macaques. *International Journal of Primatology* 17:401-427.
- Arnold, S.J., Pfrender, M.E. e Jones, A.G. 2001. The adaptive landscape as a conceptual bridge between micro- and macroevolution. *Genetica* 112:9-32.
- Arnold, S.J. e Phillips, P.C. 1999. Hierarchical comparison of genetic variance-covariance matrices. II. Coastal-inland divergence in the garter snake, *Thamnophis elegans*. *Evolution* 53:1516-1527.
- Begin, M. e Roff, D.A. 2001. An analysis of G matrix variation in two closely related cricket species, *Gryllus firmus* and *G. pennsylvanicus*. *Journal of Evolutionary Biology* 14:1-13.
- Beldade, P. e Brakefield, P.M. 2003. Concerted evolution and developmental integration in modular butterfly wing patterns. *Evolution & Development* 5:169-179.
- Berg, R.L. 1960. The ecological significance of correlation pleiades. *Evolution* 14:171-180.
- Brandon-Jones, D., Eudey, A.A., Geissmann, T., Groves, C.P., Melnick, D.J., Morales, J.C., Shekelle, M. e Stewart, C.B. 2004. Asian primate classification. *International Journal of Primatology* 25:97-164.
- Brown, P., Sutikna, T., Morwood, M.J., Soejono, R.P., Jatmiko, Saptomo, E.W. e Due, R.A. 2004. A new small-bodied hominin from the Late Pleistocene of Flores, Indonesia. *Nature* 431:1055-1061.
- Cardini, A. e Elton, S. 2008. Variation in guenon skulls (II): sexual dimorphism. *Journal of Human Evolution* 54:638-647.
- Cartelle, C. e Hartwig, W.C. 1996. A new extinct primate among the Pleistocene megafauna of Bahia, Brazil. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93:6405-6409.
- Chatterjee, H.J. 2006. Phylogeny and biogeography of gibbons: A dispersal-vicariance analysis. *International Journal of Primatology* 27:699-712.
- Chernoff, B. e Magwene, P.M. 1999. Morphological Integration: Forty Years Later. In: Olson, E.C. e Miller, R.L. (eds.). *Morphological Integration*. University of Chicago Press, pp. 319-353.

- Cheverud, J.M. 1982. Phenotypic, genetic, and environmental morphological integration in the cranium. *Evolution* 36:499-516.
- Cheverud, J.M. 1984. Quantitative genetics and developmental constraints on evolution by selection. *Journal of Theoretical Biology* 110:155-171.
- Cheverud, J.M. 1988. A comparison of genetic and phenotypic correlations. *Evolution* 42:958-968.
- Cheverud, J.M. 1995. Morphological integration in the saddle-back tamarin (*Saguinus fuscicollis*) cranium. *American Naturalist* 145:63-89.
- Cheverud, J.M. 1996. Quantitative genetic analysis of cranial morphology in the cotton-top (*Saguinus oedipus*) and saddle-back (*S. fuscicollis*) tamarins. *Journal of Evolutionary Biology* 9:5-42.
- Cheverud, J.M. 2004. Darwinian evolution by the natural selection of heritable variation: Definition of parameters and application to social behaviors. In: Sussman, R.W. e Chapman, A.R. (eds.). *The Origins and Nature of Sociality*. Aldine Publishing, New York, pp. 140-157.
- Cheverud, J.M. e Marroig, G. 2007. Comparing covariance matrices: Random skewers method compared to the common principal components model. *Genetics and Molecular Biology* 30:461-469.
- Cheverud, J.M., Wagner, G.P. e Dow, M.M. 1989. Methods for the comparative analysis of variation patterns. *Systematic Zoology* 38:201-213.
- Darwin, C. 1859. *On the origin of species by means of natural selection*. J. Murray, London.
- Dobzhansky, T. 1956. What is an adaptive trait. *American Naturalist* 90:337-347.
- Emerson, S.B. e Hastings, P.A. 1998. Morphological correlations in evolution: Consequences for phylogenetic analysis. *Quarterly Review of Biology* 73:141-162.
- Endler, J.A. 1992. Natural selection: current usages. In: Keller, E.F. e Lloyd, E.A. (eds.). *Keywords in evolutionary biology*. Harvard University Press, Cambridge, EUA, pp. 220-224.
- Estes, S. e Arnold, S.J. 2007. Resolving the paradox of stasis: Models with stabilizing selection explain evolutionary divergence on all timescales. *American Naturalist* 169:227-244.
- Falconer, D.S. e Mackay, T.F.C. 1996. *Introduction to quantitative genetics*. Prentice Hall, London and New York.
- Fleagle, J.G. 1999. *Primate adaptation and evolution*. Academic Press, San Diego.
- Game, E.T. e Caley, M.J. 2006. The stability of P in coral reef fishes. *Evolution* 60:814-823.
- Gilbert, S.F. e Epel, D. 2009. *Ecological developmental biology : integrating epigenetics, medicine, and evolution*. Sinauer, Sunderland, Mass., U.S.A.
- Gillespie, R. 2004. Community assembly through adaptive radiation in Hawaiian spiders. *Science* 303:356-359.
- Gonzalez-Jose, R., Van der Molen, S., Gonzalez-Perez, E. e Hernandez, M. 2004. Patterns of phenotypic covariation and correlation in modern humans as viewed from morphological integration. *American Journal of Physical Anthropology* 123:69-77.
- Goodman, M., Porter, C.A., Czelusniak, J., Page, S.L., Schneider, H., Shoshani, J., Gunnell, G. e Groves, C.P. 1998. Toward a phylogenetic classification of primates based on DNA evidence complemented by fossil evidence. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 9:585-598.
- Goswami, A. 2006. Morphological integration in the carnivore skull. *Evolution* 60:169-183.

- Gould, S.J. 2002. *The structure of evolutionary theory*. Belknap Press (Harvard University Press), Cambridge, EUA.
- Gould, S.J. e Lewontin, R.C. 1979. Spandrels of San-Marco and the Panglossian paradigm - a critique of the adaptationist program. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 205:581-598.
- Gould, S.J. e Vrba, E.S. 1982. Exaptation - a missing term in the science of form. *Paleobiology* 8:4-15.
- Grant, P.R. 1999. *Ecology and evolution of Darwin's finches*. Princeton University Press, Princeton, EUA.
- Groves, C.P. 2005. Order Primates. In: Wilson, D.E. e Reeder, D.M. (eds.). *Mammal species of the world : a taxonomic and geographic reference*. Johns Hopkins University Press, Baltimore, pp. 111-184.
- Grubb, P., Butynski, T.M., Oates, J.F., Bearder, S.K., Disotell, T.R., Groves, C.P. e Struhsaker, T.T. 2003. Assessment of the diversity of African primates. *International Journal of Primatology* 24:1301-1357.
- Guglielmino-Matessi, C.R., Gluckman, P. e Cavalli-Sforza, L.L. 1979. Climate and the evolution of skull metrics in man. *American Journal of Physical Anthropology* 50:549-564.
- Hansen, T. F. 2003. Is modularity necessary for evolvability? Remarks on the relationship between pleiotropy and evolvability. *Bio Systems* 69: 83–94.
- Hansen, T.F. e Houle, D. 2008. Measuring and comparing evolvability and constraint in multivariate characters. *Journal of Evolutionary Biology* 21:1201-1219.
- Harmon, L.J. e Gibson, R. 2006. Multivariate phenotypic evolution among island and mainland populations of the ornate day gecko, *Phelsuma ornata*. *Evolution* 60:2622-2632.
- Harvey, P.H. e Pagel, M.D. 1991. *The comparative method in evolutionary biology*. Oxford University Press, Oxford ; New York.
- Hernandez, M., Fox, C.L. e GarciaMoro, C. 1997. Fueguian cranial morphology: The adaptation to a cold, harsh environment. *American Journal of Physical Anthropology* 103:103-117.
- Hodge, M.J.S. 1992. Natural selection: historical perspectives. In: Keller, E.F. e Lloyd, E.A. (eds.). *Keywords in evolutionary biology*. Harvard University Press, Cambridge, EUA, pp. 212-219.
- Hofstetter, M.R. 1969. Un primate de l'Oligocène inférieur sudaméricain: *Branisella boliviana* gen. et sp. nov. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences de Paris Série D* 269:434-437.
- House, C.M. e Simmons, L.W. 2005. The evolution of male genitalia: patterns of genetic variation and covariation in the genital sclerites of the dung beetle *Onthophagus taurus*. *Journal of Evolutionary Biology* 18:1281-1292.
- Jones, A.G., Arnold, S.J. e Borger, R. 2003. Stability of the G-matrix in a population experiencing pleiotropic mutation, stabilizing selection, and genetic drift. *Evolution* 57:1747-1760.
- Jones, A.G., Arnold, S.J. e Burger, R. 2004. Evolution and stability of the G-matrix on a landscape with a moving optimum. *Evolution* 58:1639-1654.
- Kay, R.F. 1997. *Vertebrate paleontology in the neotropics : the Miocene fauna of La Venta, Colombia*. Smithsonian Institution Press, Washington.
- Kay, R.F., Ross, C. e Williams, B.A. 1997. Anthropoid origins. *Science* 275:797-804.
- Kline, P. 1994. *An easy guide to factor analysis*. Routledge, London ; New York.
- Lande, R. 1979. Quantitative genetic-analysis of multivariate evolution, applied to brain - body size allometry. *Evolution* 33:402-416.
- Lande, R. 1980. The genetic covariance between characters maintained by pleiotropic mutations. *Genetics* 94:203-215.

- Leigh, S.R. 2006. Cranial ontogeny of *Papio baboons* (*Papio hamadryas*). *American Journal of Physical Anthropology* 130:71-84.
- Lewontin, R.C. 1970. The units of selection. *Annual Review of Ecology and Systematics* 1:1-18.
- Lewontin, R.C. 2000. *The triple helix: gene, organism, and environment*. Harvard University Press, Cambridge, EUA.
- Lofsvold, D. 1988. Quantitative Genetics of Morphological-Differentiation in *Peromyscus* .2. Analysis of Selection and Drift. *Evolution* 42:54-67.
- Losos, J.B., Jackman, T.R., Larson, A., de Queiroz, K. e Rodriguez-Schettino, L. 1998. Contingency and determinism in replicated adaptive radiations of island lizards. *Science* 279:2115-2118.
- Maddison, W.P. e Maddison, D.R. 2008. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 2.5. <http://mesquiteproject.org>.
- Marroig, G. e Cheverud, J.M. 2001. A comparison of phenotypic variation and covariation patterns and the role of phylogeny, ecology, and ontogeny during cranial evolution of New World Monkeys. *Evolution* 55:2576-2600.
- Marroig, G. e Cheverud, J.M. 2004. Did natural selection or genetic drift produce the cranial diversification of neotropical monkeys? *American Naturalist* 163:417-428.
- Marroig, G. e Cheverud, J.M. 2005. Size as a line of least evolutionary resistance: Diet and adaptive morphological radiation in new world monkeys. *Evolution* 59:1128-1142.
- Marroig, G., Porto, A., Shirai, L.T., Oliveira, F.B. e Conto, V.D. 2009. The evolution of modularity in the mammalian skull II: evolutionary consequences. *Evolutionary Biology* - no prelo.
- Marroig, G., Vivo, M. e Cheverud, J.M. 2004. Cranial evolution in sakis (*Pithecia*, Platyrrhini) II: evolutionary processes and morphological integration. *Journal of Evolutionary Biology* 17:144-155.
- Matta, B.P. e Bitner-Mathé, B.C. 2004. Genetic architecture of wing morphology in *Drosophila simulans* and an analysis of temperature effects on genetic parameter estimates. *Heredity* 93:330-341.
- McGuigan, K. 2006. Studying phenotypic evolution using multivariate quantitative genetics. *Molecular Ecology* 15:883-896.
- Merila, J. e Bjorklund, M. 1999. Population divergence and morphometric integration in the greenfinch (*Carduelis chloris*) - evolution against the trajectory of least resistance? *Journal of Evolutionary Biology* 12:103-112.
- Miller, S.F., White, J.L. e Ciochon, R.L. 2008. Assessing mandibular shape variation within *Gigantopithecus* using a geometric morphometric approach. *American Journal of Physical Anthropology* 137:201-212.
- Mitteroecker, P. e Bookstein, F. 2008. The evolutionary role of modularity and integration in the hominoid cranium. *Evolution* 62:943-958.
- Moore, W.J. 1981. *The mammalian skull*. Cambridge University Press, Cambridge (UK); New York.
- Navas, C.A. 1996. Metabolic physiology, locomotor performance, and thermal niche breadth in neotropical anurans. *Physiological Zoology* 69:1481-1501.
- Nowak, R.M. e Walker, E.P. 1999. *Walker's primates of the world*. Johns Hopkins University Press, Baltimore.
- Oliveira, F.B., Molina, E.C. e Marroig, G. 2009. Paleogeography of the South Atlantic: a route for primates and rodents into the New World? In: Garber, P.A., Estrada, A., Bicca-Marques, J.C., Heymann, E.K., Strier, K.B. (eds.). *South American Primates: Comparative Perspectives*. Springer, New York, pp. 55-68.
- Olson, E.C. e Miller, R.L. 1958. *Morphological integration*. University of Chicago Press, Chicago.

- Osterholz, M., Walter, L. e Roos, C. 2008. Phylogenetic position of the langur genera *Semnopithecus* and *Trachypithecus* among Asian colobines, and genus affiliations of their species groups. *BMC Evolutionary Biology* 8:58-70.
- Page, S.L. e Goodman, M. 2001. Catarrhine phylogeny: Noncoding DNA evidence for a diphyletic origin of the mangabeys and for a human-chimpanzee clade. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 18:14-25.
- Pavlicev, M., Kenney-Hunt, J.P., Norgard, E.A., Roseman, C.C., Wolf, J.B. e Cheverud, J.M. 2008. Genetic variation in pleiotropy: Differential epistasis as a source of variation in the allometric relationship between long bone lengths and body weight. *Evolution* 62:199-213.
- Phillips, P.C. e McGuigan, K.L. 2006. Evolution of genetic variance-covariance structure. In: Fox, C.W. e Wolf, J.B. (eds.). *Evolutionary genetics: concepts and case studies*. Oxford University Press, Oxford; New York, pp. 310-325.
- Phillips, P.C., Whitlock, M.C. e Fowler, K. 2001. Inbreeding changes the shape of the genetic covariance matrix in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 158:1137-1145.
- Pigliucci, M. e Preston, K. 2004. *Phenotypic integration : studying the ecology and evolution of complex phenotypes*. Oxford University Press, Oxford, New York.
- Porto, A., Oliveira, F.B., Shirai, L.T., Conto, V.D. e Marroig, G. 2009. The evolution of modularity in the mammalian skull I: morphological integration patterns and magnitudes. *Evolutionary Biology*, no prelo.
- Purvis, A. 1995. A composite estimate of primate phylogeny. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 348:405-421.
- Reale, D. e Festa-Bianchet, M. 2000. Quantitative genetics of life-history traits in a long-lived wild mammal. *Heredity* 85:593-603.
- Resnik, D.B. 1989. Adaptationist explanations. *Studies in History and Philosophy of Science* 20:193-213.
- Reusch, T. e Blanckenhorn, W.U. 1998. Quantitative genetics of the dung fly *Sepsis cynipsea*: Cheverud's conjecture revisited. *Heredity* 81:111-119.
- Revell, L.J. 2007. The G matrix under fluctuating correlational mutation and selection. *Evolution* 61:1857-1872.
- Richtsmeier, J.T., Corner, B.D., Grausz, H.M., Cheverud, J.M. e Danahey, S.E. 1993. The role of postnatal-growth pattern in the production of facial morphology. *Systematic Biology* 42:307-330.
- Roff, D.A. 1995. The estimation of genetic correlations from phenotypic correlations - a test of Cheverud's conjecture. *Heredity* 74:481-490.
- Roff, D.A., Mousseau, T., Moller, A.P., de Lope, F. e Saino, N. 2004. Geographic variation in the G matrices of wild populations of the barn swallow. *Heredity* 93:8-14.
- Roff, D.A., Mousseau, T.A. e Howard, D.J. 1999. Variation in genetic architecture of calling song among populations of *Allonemobius socius*, *A. fasciatus*, and a hybrid population: Drift or selection? *Evolution* 53:216-224.
- Roseman, C.C. 2004. Detecting interregionally diversifying natural selection on modern human cranial form by using matched molecular and morphometric data. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101:12824-12829.
- Schluter, D. 1996. Adaptive radiation along genetic lines of least resistance. *Evolution* 50:1766-1774.
- Schluter, D. 2000. *The ecology of adaptive radiation*. Oxford University Press, Oxford.
- Schrager, C.G. 2007. On the time scale of new world primate diversification. *American Journal of Physical Anthropology* 132:344-354.

- Shaw, F.H., Shaw, R.G., Wilkinson, G.S. e Turelli, M. 1995. Changes in genetic variances and covariances: G whiz! *Evolution* 49:1260-1267.
- Shea, B.T. 1977. Eskimo craniofacial morphology, cold stress and maxillary sinus. *American Journal of Physical Anthropology* 47:289-300.
- Simons, E.L. e Rasmussen, D.T. 1994. A whole new world of ancestors: Eocene anthropoideans from Africa. *Evolutionary Anthropology* 3:128-139.
- Singleton, M. 2005. Functional shape variation in the Cercopithecine masticatory complex In: Slice, D.E. (ed.). *Modern morphometrics in physical anthropology*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, pp. 319-348.
- Smith, K.K. 1997. Comparative patterns of craniofacial development in eutherian and metatherian mammals. *Evolution* 51:1663-1678.
- Sokal, R.R. e Rohlf, F.J. 1995. *Biometry : the principles and practice of statistics in biological research*. W.H. Freeman, New York.
- Steiper, M.E. e Young, N.M. 2006. Primate molecular divergence dates. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 41:384-394.
- Steiper, M.E., Young, N.M. e Sukarna, T.Y. 2004. Genomic data support the hominoid slowdown and an Early Oligocene estimate for the hominoid-cercopithecoid divergence. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101:17021-17026.
- Steppan, S.J., Phillips, P.C. e Houle, D. 2002. Comparative quantitative genetics: evolution of the G matrix. *Trends in Ecology & Evolution* 17:320-327.
- Taylor, A.B. 2006. Feeding behavior, diet, and the functional consequences of jaw form in orangutans, with implications for the evolution of Pongo. *Journal of Human Evolution* 50:377-393.
- Turelli, M. 1988. Phenotypic evolution, constant covariances, and the maintenance of additive variance. *Evolution* 42:1342-1347.
- Van Couvering, J.A. e Harris, J.A. 1991. Late Eocene age of Fayum mammal faunas. *Journal of Human Evolution* 21:241-260.
- Vos, R.A. 2006. *Inferring large phylogenies: the big tree problem*. Ph.D. Dissertation, Simon Fraser University.
- Wagner, G.P. e Altenberg, L. 1996. Perspective: Complex adaptations and the evolution of evolvability. *Evolution* 50:967-976.
- Wagner, G.P., Pavlicev, M. e Cheverud, J.M. 2007. The road to modularity. *Nature Reviews Genetics* 8:921-931.
- Wainwright, P.C. e Reilly, S.M. 1994. *Ecological morphology : integrative organismal biology*. University of Chicago Press, Chicago.
- Waitt, D.E. e Levin, D.A. 1998. Genetic and phenotypic correlations in plants: a botanical test of Cheverud's conjecture. *Heredity* 80:310-319.
- Wells, R.M.G. 1990. Hemoglobin physiology in vertebrate animals: a cautionary approach to 'adaptationist thinking'. In: Boutilier, R.G. (ed.). *Advances in comparative and environmental physiology*. Springer, Heidelberg, pp. 143-161.
- West-Eberhard, M.J. 1992. Adaptation: current usages. In: Keller, E.F. e Lloyd, E.A. (eds.). *Keywords in evolutionary biology*. Harvard University Press, Cambridge, EUA, pp. 13-18.
- Wilkie, A.O.M. e Morriss-Kay, G.M. 2001. Genetics of craniofacial development and malformation. *Nature Reviews Genetics* 2:458-468.
- Williams, F.L., Ackermann, R.R. e Leigh, S.R. 2007. Inferring Plio-Pleistocene southern African biochronology from facial affinities in *Parapapio* and other fossil papionins. *American Journal of Physical Anthropology* 132:163-174.

- Wright, S. 1931. Evolution in Mendelian populations. *Genetics* 16:97-159.
- Xing, J., Wang, H., Han, K.D., Ray, D.A., Huang, C.H., Chemnick, L.G., Stewart, C.B., Disotell, T.R., Ryder, O.A. e Batzer, M.A. 2005. A mobile element based phylogeny of Old World monkeys. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 37:872-880.
- Xing, J., Wang, H., Zhang, Y., Ray, D.A., Tosi, A.J., Disotell, T.R. e Batzer, M.A. 2007. A mobile element-based evolutionary history of guenons (tribe Cercopithecini). *Bmc Biology* 5:5.
- Yoder, A.D. e Yang, Z.H. 2000. Estimation of primate speciation dates using local molecular clocks. *Molecular Biology and Evolution* 17:1081-1090.

Conclusões gerais

“Um cara que anda tem que chegar em algum lugar
Um cara que trabalha trabalha trabalha deve se cansar
O cara estuda tanto e ainda tem tanto pra aprender
Passa o tempo e fica mais fácil esquecer”

Arnaldo Antunes,
“Fim do dia”

Conclusões gerais

A principal conclusão deste trabalho é que existe uma conexão entre a maneira com que os caracteres estão relacionados e os caminhos evolutivos possivelmente seguidos por uma espécie. Os resultados indicam que o padrão de relações entre caracteres no crânio se manteve relativamente constante ao longo de 40 milhões de anos de evolução dos macacos do Velho Mundo, mas a intensidade da ligação entre caracteres variou. Consequentemente, a diversidade craniana que se observa entre os Catarrhini não pode ter sido gerada por mudança na maneira como os caracteres cranianos estão relacionados, mas sim na magnitude dessas relações. A variação na magnitude de integração, por si só, pode ter facilitado a produção de diversidade craniana, pois está associada às propriedades evolutivas de uma espécie.

A diversificação no início da divergência dos Catarrhini sugere fortemente a ocorrência de seleção natural; contudo, nos níveis menos inclusivos da filogenia, a diversidade craniana pode ter sido gerada por processos evolutivos neutros, como deriva genética. A exceção é a subfamília Cercopithecinae, que sofreu a ação de seleção natural até mesmo durante a diversificação entre gêneros e, em alguns casos, entre espécies. Essa subfamília parece ser, de maneira geral, composta de grupos com magnitudes de integração alta e grandes restrições às pressões de seleção. Os outros grupos de Catarrhini estão associados a níveis menores de integração geral e a um papel mais importante da deriva genética na diversificação craniana.

Embora este estudo esteja restrito, em termos empíricos, aos macacos do Velho Mundo, ele pode contribuir de uma forma ampla para o nosso entendimento sobre a evolução dos seres vivos. Aparentemente, existe uma ligação entre magnitude geral da associação entre caracteres e as possibilidades evolutivas de uma espécie: quanto maior essa magnitude, menores as chances de responder na mesma direção em que a seleção natural está atuando e maiores as chances de ter o caminho evolutivo restrito à linha de maior variabilidade da população, que no caso dos Catarrhini corresponde à variação no tamanho. Por outro lado, magnitudes menores de integração estão ligadas à modularidade mais evidente e maior flexibilidade evolutiva, aumentando as chances de que uma dada

espécie responda mais precisamente à seleção natural. Esse modelo é válido para os macacos do Velho Mundo e para mamíferos como um todo (Porto *et al.*, 2009; Marroig *et al.*, 2009) e pode ser testado empiricamente em outros grupos. Por estabelecer claramente todas essas conexões, este trabalho representa um encorajamento a todos os que desejam utilizar genética quantitativa para entender evolução e coloca nova ênfase na magnitude de integração entre caracteres que, ao menos no caso de mamíferos, parece ser a chave para entender a evolução morfológica.

Anexos

"Encher de vãs palavras muitas páginas
E de mais confusão as prateleiras."

Caetano Veloso
"Livros"

Anexos

Detalhamento da amostra de crânios de Catarrhini

Conforme explicado no capítulo 1, a amostra de crânios digitalizados foi bastante expressiva, configurando um banco de dados representativo da diversidade craniana em Catarrhini. As tabelas a seguir apresentam o número de espécimes digitalizados discriminados por sexo para cada gênero (tabela A1) e espécie (tabela A2).

Essas tabelas representam o banco de dados que foi utilizado em todas as análises aqui apresentadas. Contudo, convém ressaltar que um número ainda maior de espécimes foi analisado, mas alguns foram retirados do banco de dados. Isso aconteceu, por exemplo, quando a identificação ou sexo eram duvidosos. Outra razão que levou a exclusão foi a falta de um dos sexos de uma mesma espécie na amostra, impossibilitando a verificação da existência de dimorfismo sexual.

Tabela A1: Número de espécimes digitalizados para cada gênero.

gênero	total	fêmeas	machos	gênero	total	fêmeas	machos
<i>Allenopithecus</i>	30	12	18	<i>Nasalis</i>	58	27	31
<i>Bunopithecus</i>	51	21	30	<i>Nomascus</i>	46	26	20
<i>Cercocebus</i>	186	83	103	<i>Pan</i>	207	98	109
<i>Cercopithecus</i>	925	431	494	<i>Papio</i>	364	86	278
<i>Chlorocebus</i>	302	120	182	<i>Ptilocolobus</i>	378	190	188
<i>Colobus</i>	347	146	201	<i>Pongo</i>	101	36	65
<i>Erythrocebus</i>	62	18	44	<i>Presbytis</i>	284	145	139
<i>Gorilla</i>	291	96	195	<i>Procolobus</i>	101	55	46
<i>Homo</i>	267	74	193	<i>Pygathrix</i>	50	21	29
<i>Hylobates</i>	225	106	119	<i>Rhinopithecus</i>	24	13	11
<i>Kasi</i>	35	21	14	<i>Semnopithecus</i>	105	49	56
<i>Lophocebus</i>	198	85	113	<i>Simias</i>	32	18	14
<i>Macaca</i>	703	280	423	<i>Symphalangus</i>	50	20	30
<i>Mandrillus</i>	101	41	60	<i>Theropithecus</i>	51	28	23
<i>Miopithecus</i>	81	38	43	<i>Trachypithecus</i>	295	156	139
				Total	5.950	2.540	3.410

Tabela A2: Número de espécimes digitalizados para cada espécie.

gênero	espécie	total	fêmeas	machos	gênero	espécie	total	fêmeas	machos
<i>Allenopithecus</i>	<i>nigroviridis</i>	30	12	18	<i>Lophocebus</i>	<i>aterrimus</i>	137	57	80
<i>Bunopithecus</i>	<i>boolock</i>	51	21	30	<i>Lophocebus</i>	<i>opdenboschi</i>	3	2	1
<i>Cercocebus</i>	<i>agilis</i>	44	18	26	<i>Macaca</i>	<i>arctoides</i>	39	13	26
<i>Cercocebus</i>	<i>atys</i>	48	29	19	<i>Macaca</i>	<i>assamensis</i>	43	16	27
<i>Cercocebus</i>	<i>chrysogaster</i>	18	9	9	<i>Macaca</i>	<i>cyclopis</i>	41	19	22
<i>Cercocebus</i>	<i>galeritus</i>	8	6	2	<i>Macaca</i>	<i>fascicularis</i>	140	45	95
<i>Cercocebus</i>	<i>torquatus</i>	68	21	47	<i>Macaca</i>	<i>fuscata</i>	41	15	26
<i>Cercopithecus</i>	<i>albogularis</i>	63	32	31	<i>Macaca</i>	<i>hecki</i>	25	12	13
<i>Cercopithecus</i>	<i>ascanius</i>	77	27	50	<i>Macaca</i>	<i>leonina</i>	9	6	3
<i>Cercopithecus</i>	<i>campbelli</i>	43	18	25	<i>Macaca</i>	<i>maura</i>	40	13	27
<i>Cercopithecus</i>	<i>cephus</i>	76	33	43	<i>Macaca</i>	<i>mulatta</i>	67	35	32
<i>Cercopithecus</i>	<i>denti</i>	53	28	25	<i>Macaca</i>	<i>nemestrina</i>	44	10	34
<i>Cercopithecus</i>	<i>diana</i>	42	24	18	<i>Macaca</i>	<i>nigra</i>	43	21	22
<i>Cercopithecus</i>	<i>doggetti</i>	4	2	2	<i>Macaca</i>	<i>ochreata</i>	7	5	2
<i>Cercopithecus</i>	<i>erythrogaster</i>	13	7	6	<i>Macaca</i>	<i>pagensis</i>	4	2	2
<i>Cercopithecus</i>	<i>erythrotis</i>	24	11	13	<i>Macaca</i>	<i>radiata</i>	38	15	23
<i>Cercopithecus</i>	<i>hamlyni</i>	46	19	27	<i>Macaca</i>	<i>silenus</i>	15	9	6
<i>Cercopithecus</i>	<i>kandti</i>	7	6	1	<i>Macaca</i>	<i>sinica</i>	34	8	26
<i>Cercopithecus</i>	<i>lboesti</i>	52	17	35	<i>Macaca</i>	<i>sylvanus</i>	44	23	21
<i>Cercopithecus</i>	<i>lowei</i>	18	7	11	<i>Macaca</i>	<i>thibetana</i>	3	1	2
<i>Cercopithecus</i>	<i>mitis</i>	67	29	38	<i>Macaca</i>	<i>tonkeana</i>	26	12	14
<i>Cercopithecus</i>	<i>mona</i>	50	20	30	<i>Mandrillus</i>	<i>leucophaeus</i>	60	29	31
<i>Cercopithecus</i>	<i>neglectus</i>	58	28	30	<i>Mandrillus</i>	<i>sphinx</i>	41	12	29
<i>Cercopithecus</i>	<i>nictitans</i>	45	26	19	<i>Miopithecus</i>	<i>ogouensis</i>	10	4	6
<i>Cercopithecus</i>	<i>petaurista</i>	43	21	22	<i>Miopithecus</i>	<i>talapoin</i>	71	34	37
<i>Cercopithecus</i>	<i>pogonias</i>	53	25	28	<i>Nasalis</i>	<i>larvatus</i>	58	27	31
<i>Cercopithecus</i>	<i>preussi</i>	10	8	2	<i>Nomascus</i>	<i>concolor</i>	10	3	7
<i>Cercopithecus</i>	<i>roloway</i>	19	10	9	<i>Nomascus</i>	<i>gabrielae</i>	18	9	9
<i>Cercopithecus</i>	<i>wolfi</i>	62	33	29	<i>Nomascus</i>	<i>leucogenys</i>	18	14	4
<i>Chlorocebus</i>	<i>aethiops</i>	58	26	32	<i>Pan</i>	<i>paniscus</i>	56	33	23
<i>Chlorocebus</i>	<i>cynosuros</i>	12	6	6	<i>Pan</i>	<i>trogodytes</i>	151	65	86
<i>Chlorocebus</i>	<i>djamdjamensis</i>	4	3	1	<i>Papio</i>	<i>anubis</i>	175	43	132
<i>Chlorocebus</i>	<i>pygerythrus</i>	139	57	82	<i>Papio</i>	<i>cynocephalus</i>	57	20	37
<i>Chlorocebus</i>	<i>sabaeus</i>	48	13	35	<i>Papio</i>	<i>hamadryas</i>	58	10	48
<i>Chlorocebus</i>	<i>tantalus</i>	41	15	26	<i>Papio</i>	<i>papio</i>	23	3	20
<i>Colobus</i>	<i>angolensis</i>	62	30	32	<i>Papio</i>	<i>ursinus</i>	51	10	41
<i>Colobus</i>	<i>guereza</i>	203	73	130	<i>Piliocolobus</i>	<i>badius</i>	72	41	31
<i>Colobus</i>	<i>polykomos</i>	22	12	10	<i>Piliocolobus</i>	<i>foai</i>	102	46	56
<i>Colobus</i>	<i>satanas</i>	18	7	11	<i>Piliocolobus</i>	<i>kirkii</i>	16	12	4
<i>Colobus</i>	<i>vellerosus</i>	42	24	18	<i>Piliocolobus</i>	<i>pennantii</i>	86	40	46
<i>Erythrocebus</i>	<i>patas</i>	62	18	44	<i>Piliocolobus</i>	<i>preussi</i>	4	2	2
<i>Gorilla</i>	<i>beringei</i>	90	39	51	<i>Piliocolobus</i>	<i>rufomitratus</i>	8	6	2
<i>Gorilla</i>	<i>gorilla</i>	201	57	144	<i>Piliocolobus</i>	<i>tephrosceles</i>	25	7	18
<i>Homo</i>	<i>sapiens</i>	267	74	193	<i>Piliocolobus</i>	<i>tholloni</i>	65	36	29
<i>Hylobates</i>	<i>agilis</i>	36	13	23	<i>Pongo</i>	<i>abelii</i>	10	6	4
<i>Hylobates</i>	<i>albibarbis</i>	10	5	5	<i>Pongo</i>	<i>pygmaeus</i>	91	30	61
<i>Hylobates</i>	<i>klossii</i>	7	3	4	<i>Presbytis</i>	<i>chrysomelas</i>	44	25	19
<i>Hylobates</i>	<i>lar</i>	86	40	46	<i>Presbytis</i>	<i>comata</i>	42	19	23
<i>Hylobates</i>	<i>moloch</i>	13	5	8	<i>Presbytis</i>	<i>femoralis</i>	41	16	25
<i>Hylobates</i>	<i>muelleri</i>	54	29	25	<i>Presbytis</i>	<i>frontata</i>	7	5	2
<i>Hylobates</i>	<i>pileatus</i>	19	11	8	<i>Presbytis</i>	<i>bosei</i>	10	7	3
<i>Kasi</i>	<i>johnii</i>	8	3	5	<i>Presbytis</i>	<i>melalophos</i>	43	22	21
<i>Kasi</i>	<i>vetulus</i>	27	18	9	<i>Presbytis</i>	<i>natunae</i>	5	3	2
<i>Lophocebus</i>	<i>albigena</i>	58	26	32	<i>Presbytis</i>	<i>potenziani</i>	22	10	12

Tabela A2 (continuação): Número de espécimes digitalizados para cada espécie.

gênero	espécie	total	fêmeas	machos	gênero	espécie	total	fêmeas	machos
<i>Presbytis</i>	<i>rubicunda</i>	43	22	21	<i>Semnopithecus</i>	<i>schistaceus</i>	3	2	1
<i>Presbytis</i>	<i>siamensis</i>	19	10	9	<i>Simias</i>	<i>concolor</i>	32	18	14
<i>Presbytis</i>	<i>thomasi</i>	8	6	2	<i>Symphalangus</i>	<i>syndactylus</i>	50	20	30
<i>Procolobus</i>	<i>verus</i>	101	55	46	<i>Theropithecus</i>	<i>gelada</i>	51	28	23
<i>Pygathrix</i>	<i>nemaus</i>	25	10	15	<i>Trachypithecus</i>	<i>auratus</i>	49	29	20
<i>Pygathrix</i>	<i>nigripes</i>	25	11	14	<i>Trachypithecus</i>	<i>cristatus</i>	66	42	24
<i>Rhinopithecus</i>	<i>avunculus</i>	8	2	6	<i>Trachypithecus</i>	<i>francoisi</i>	3	1	2
<i>Rhinopithecus</i>	<i>rocellana</i>	16	11	5	<i>Trachypithecus</i>	<i>germaini</i>	11	5	6
<i>Semnopithecus</i>	<i>ajax</i>	8	2	6	<i>Trachypithecus</i>	<i>obscurus</i>	80	43	37
<i>Semnopithecus</i>	<i>dussumieri</i>	19	12	7	<i>Trachypithecus</i>	<i>phayrei</i>	42	19	23
<i>Semnopithecus</i>	<i>entellus</i>	35	13	22	<i>Trachypithecus</i>	<i>pileatus</i>	20	9	11
<i>Semnopithecus</i>	<i>hector</i>	9	3	6	<i>Trachypithecus</i>	<i>poliocephalus</i>	2	1	1
<i>Semnopithecus</i>	<i>priam</i>	31	17	14	<i>Trachypithecus</i>	<i>shortridgei</i>	22	7	15
Total							5.950	2.540	3.410

Artigos publicados durante o doutorado

Os trabalhos listados abaixo foram publicados durante o período de desenvolvimento desta tese. O texto completo de cada um está nas páginas a seguir, nessa ordem.

Oliveira, F.B., Molina, E.C. & Marroig, G. 2009. " *Paleogeography of the South Atlantic: a route for primates and rodents into the New World?*" in Garber, P.A., Estrada, A., Bicca-Marques, J.C., Heymann, E.K., Strier, K.B. (eds). "South American Primates: Comparative Perspectives" New York, Springer, pp. 55:68.

Porto, A., **Oliveira, F.B.**, Shirai, L.T., de Conto, V., Marroig, G. 2009. *The evolution of modularity in the mammalian skull I: morphological integration patterns and magnitudes*. Evolutionary Biology, no prelo.

Marroig, G., Porto, A., Shirai, L.T., **Oliveira, F.B.**, de Conto, V. 2009. *The evolution of modularity in the mammalian skull II: evolutionary consequences*. Evolutionary Biology, no prelo.

Oliveira, F.B., Porto, A., Marroig, G. 2009. *Covariance structure in the skull of Old World Monkeys: a case of pattern stasis and magnitude evolution*. Journal of Human Evolution, no prelo.

Chapter 3

Paleogeography of the South Atlantic: a Route for Primates and Rodents into the New World?

Felipe Bandoni de Oliveira, Eder Cassola Molina, and Gabriel Marroig

3.1 Introduction

The history of primates and rodents in South America started in the Oligocene, around 30 million years ago (Ma) (Hoffstetter 1969; Simpson 1980; Wyss et al. 1993; Takai et al. 2000), with the possibility of an even earlier Eocene occurrence for rodents (Frailey and Campbell 2004). By that time, South America was already separated from Africa and not yet connected to North America via the Isthmus of Panama (Scotese 2004). If primates and rodents arrived between 50 and 20 Ma, two critical questions arise: where did they come from, and how did they reach South America? The question “where” generated great controversy in the past (Ciochon and Chiarelli 1980; George and Lavocat 1993; Goldblatt 1993). During the twentieth century, the most widely accepted opinion was that the New World monkeys (Platyrrhini) and the Old World monkeys (Catarrhini) evolved their higher primate features in parallel in Africa and South America from different prosimian ancestors (Gazin 1958; Simons 1961; Fleagle and Gilbert 2006). No prosimian fossil is known from South America, but given their Eocene abundance in North America, the possibility of a migration across the Caribbean Sea was entertained in the past (Wood 1980, 1993). An equivalent hypothesis was proposed for rodents, implying convergent evolution of a specialized jaw morphology (hystricognathy) in South American caviomorphs and African phiomorph rodents (Ciochon and Chiarelli 1980; Wood 1993).

Nonetheless, with the increasing acceptance of phylogenetic methods, plenty of evidence that platyrrhines and catarrhines are sister taxa and share a common ancestry became available, rendering convergent evolution of anthropoid features from prosimians an improbable alternative. The same holds for South American caviomorphs and African phiomorphs. Recent molecular and fossil analyses clearly indicate that these South American lineages each represent monophyletic groups that are most closely related to African forms (Nedbal et al. 1994; Kay

G. Marroig (✉)

Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, Rua do Matão, 277, 05508-900, São Paulo, Brazil
e-mail: gmarroig@usp.br

et al. 1997; Flynn and Wyss 1998; Goodman et al. 1998; Takai et al. 2000; Huchon and Douzery 2001; Schrago and Russo 2003; Poux et al. 2006). In contrast to the absence of likely platyrrhine and caviomorph ancestors in North America, fossils from the Eocene of Fayum, Egypt, exhibit numerous traits similar to living and fossil platyrrhines and caviomorphs from South America (Lavocat 1980; Van Couvering and Harris 1991; Kay et al. 1997; Takai et al. 2000; Fleagle and Gilbert 2006). *Proteopithecus*, for instance, has no features that could distinguish it from basal platyrrhines, leading some authors to propose that it might be part of their early radiation (Takai et al. 2000). Altogether, phylogenetic fossil and molecular evidence favor the hypothesis that platyrrhines and caviomorphs originated from groups that migrated from Africa to South America. The other biogeographical question, however, remains unanswered: how did monkeys and rodents manage to travel across the Atlantic Ocean?

South America is separated from Africa by at least 2600 km of ocean, and primates and rodents first appeared well after the onset of the Gondwana break-up, around 100 Ma (Scotese 2004; Fleagle and Gilbert 2006). Three hypotheses have been formulated to explain their possible transatlantic migration: land bridges, volcanic island hopping, and floating island rafting (Table 3.1; Hoffstetter and Lavocat 1970; Simpson 1980; Ciochon and Chiarelli 1980; Houle 1999). Paleogeographic reconstructions and geophysical evidence clearly dismiss the existence of a complete land bridge between Africa and South America during the Cenozoic (Sclater et al. 1977; Markwick and Valdes 2004; Eagles 2007). Nonetheless, drilling studies in the South Atlantic provided evidence of subaerial exposure as late as 25 Ma for some points which are now at more than 1 km below sea level (Barker 1983; Parrish 1993). Unfortunately, due to scattered nature of these data, it is not possible to determine if the distribution of these islands in time and space would have been sufficient to enable mammals to migrate by island hopping. The floating island model remains a plausible alternative and is compatible with paleocurrent directions from 60 Ma to the present (Haq 1981; Parrish and Curtis 1982). However, a critical condition for floating island migration is that distances should be small enough to allow animals to survive until they have successfully reached a larger land mass. Other studies have modeled this kind of migration using paleogeographic reconstructions (Houle 1999, based on Nürnberg and Müller 1991). Nonetheless, recent data on sea level changes (Miller et al. 2005), more precise dating of the ocean floor (Müller et al. 1997), and new map manipulation techniques (Wessel and Smith 1998; Markwick and Valdes 2004) offer new bases to re-estimate more accurately migration distances, and the feasibility of a proposed rafting migration can be more critically examined.

In this chapter, we studied the paleogeography of the South Atlantic during the probable period of crossing of caviomorphs and platyrrhines to re-evaluate the possible role of island hopping and floating islands in their proposed migration. Both the contour and position of South America and Africa are known not to have been the same during the Cenozoic. Due to continental drift, the African and South American tectonic plates have been separating for at least 100 million years (Sclater et al. 1977; Ford and Golonka 2003; Scotese 2004). Additionally, ocean bathymetry

Table 3.1 A glossary of the terms used in this chapter

Bathymetry	The measurement of the depth of water bodies.
Floating island model	Mode of dispersal in which organisms are passively transported in an island across wide water bodies. These islands are typically formed by pieces of land and plants detached from the margins of large rivers. See Houle (1998 and 1999) for details on size and wind effects on these islands.
Island hopping model	Mode of dispersal in which organisms migrate across large water bodies through sets of islands (also called “stepping-stones”). In this scenario, all islands do not persist during the entire migration between land masses, but adjacent islands are successively connected along geological time.
Land bridge model	Mode of dispersal in which two land masses were connected in the past, but not anymore. This model was widely used to explain disjunct biogeographical patterns between continents before continental drift became accepted.
Thermal subsidence	Relative subsidence of the lithosphere due to heat loss and subsequent contraction. Empirical data show that older oceanic lithosphere lie deeper than the more recently formed, and mathematical models of thermal subsidence rates were developed to predict depth from age (e.g., Parsons and Sclater 1977).

also has changed due to thermal subsidence of the oceanic floor, with depth increasing with age (Sclater and McKenzie 1973), and due to changes in sea level over the last 65 Ma (Miller et al. 2005). We modeled these three factors, i.e., horizontal plate motion, thermal subsidence of the oceanic lithosphere, and global sea level fluctuations at four time-slices along the Cenozoic (20, 30, 40 and 50 Ma) in order to reconstruct a plausible scenario in which the migration of primates and rodents to South America could have taken place.

3.2 Material and Methods

We reconstructed the position of the continents in the period when migration of primates and rodents presumably occurred (between 20 and 50 Ma) based on magnetic anomalies. The periodic reversal of the Earth’s magnetic field can be used to date the oceanic floor and many age maps were developed using this information (e.g., Müller et al. 1997). The past position of African and South American plates can be reconstructed by fitting together magnetic lineations of a certain age from opposite sides of the Mid-Atlantic Ridge axis (Pitman et al. 1993; Scotese 2004). In this study, we used the digital age grid of the ocean floor provided by Müller et al. (1997).

We superimposed the past position of Africa and South America on paleobathymetric reconstructions of the Atlantic Ocean based on the thermal subsidence of the oceanic lithosphere. For terrains younger than 80 Ma, theoretical models predict that subsidence rates follow the relationship (Parsons and Sclater 1977; Markwick and Valdes 2004):

$$d = 2500 + 350 \sqrt{t}$$

For areas older than 80 Ma, we used the following equation (Parsons and McKenzie 1978; Kearey and Vine 1996):

$$d = 6400 - 3200 \exp(-t/62.8)$$

in both cases, t is the age of the rocks in million years and d their depth in meters. Empirical drilling reveals a strong predicting capacity for these models, with an associated error of about 300 m (Sclater and McKenzie 1973; Parsons and Sclater 1977). We applied these models assuming symmetry across spreading centers (Fairhead and Maus 2003). Where complex features exist, like in hotspots or ocean plateaus (e.g., guyots, seamounts), we superimposed them on the age-depth curves as positive features, and their past depths were calculated accordingly (Markwick and Valdes 2004).

Present deep-ocean topographic information was obtained from the datasets of the Land Processes Distributed Active Archive Center, at the United States Geological Survey (available at <http://lpdaac.usgs.gov>); this information combines direct drilling with satellite and sonar data. Maps were generated with Generic Mapping Tools (Wessel and Smith 1998).

Sea level fluctuations were incorporated in the analysis by adding the effects of the lowest sea level stand since 50 Ma. The most recent studies estimate a minimum of 150 m below the present level in the 10^6 -year scale (Miller et al. 2005). Given the uncertainty of this time scale and the possibility that the migration event could have occurred in an extreme situation, it seems reasonable to assume a minimum 150 m sea level regression, which was added to our reconstructions. Local effects such as particular subsidence of coastal areas are generally limited in space and therefore should not affect our general results substantially.

Any attempt to reconstruct paleobathymetry should consider increased subsidence rates of oceanic crust due to sediment loading and reduced depth due to sediment thickness. Other studies predict relatively thin sediment layers (less than 200 m) for oceanic crust younger than 90 Ma, which are the majority reconstructed here (Brown et al. 2006); these effects would not modify our main results, as they are probably of one order of magnitude smaller than the tectonic effects modeled. However, sediment layers could be thicker for older crust. A more detailed analysis, accounting for latitudinal variation in sediment thickness and integrating direct drilling data, would be a more complete approach to correct for sedimentation effects, but we do not attempt such precise reconstructions here. Another significant source of error is the vertical tectonic movements in fracture zones and aseismic ridges (Bonatti 1978; Barker 1983; Gasperini et al. 2001), in which subsidence rates are faster than predicted by the depth vs. age curves. Given that our paleobathymetric reconstructions are based only on paleobasement depths, and considering that in fracture zones in the South Atlantic subsidence is generally faster than predicted by the depth vs. age models used in our analyses (e.g., Bonatti 1978; Barker 1983; Gasperini et al. 2001), both effects (i.e., sediment accumulation and

vertical tectonic movements) would reduce depth. Therefore, the reconstructions presented here should be considered a “maximum depth”, which is a conservative approach to estimate paleobathymetry, and any exposed land resulting from such reconstructions could be potentially larger due to these unaccounted factors.

3.3 Results

Our reconstructions agree with previous studies in that there was no complete land connection between Africa and South America after 50 Ma (Sclater et al. 1977; Nürnberg and Müller 1991; Ford and Golonka 2003; Scotese 2004; Eagles 2007). However, they suggest the existence of considerable extensions of dry land in the South Atlantic during part of the Tertiary, especially before 40 Ma (Fig. 3.1). At 50 Ma, the shortest distance between Africa and South America is around 1000 km in a straight line (from present day Sierra Leone to Paraíba state, in Brazil); that is probably the minimum distance that intercontinental migrants would need to cover. The ocean is wider further south, but several islands of considerable size (more than 200 km in length) persisted along the present-day submerged Rio Grande Rise and Walvis Ridge. Between 20 and 30° S, at 50 Ma, a long series of close islands stretched from the African shore, and at least one large island (around 500 km in length) was formed by the emergent top of the Rio Grande Rise. The set of islands and shallow waters between 20 and 30° S is interrupted west of the Rio Grande Rise by the Pelotas Basin, a wide area where deeper waters already existed. At 40 Ma, our reconstruction exhibits some disruptions of the islands present at 50 Ma, but the general situation remained the same, with a combination of islands and shallow terrain (less than 1000 m) forming a long strip in the South Atlantic. Another noticeable feature at 40 and 50 Ma is the long set of islands (at least 800 km long) stretching from the Brazilian coast at 20° S (at the present day Martin Vaz Archipelago; Fig. 3.1).

Our data suggest that most of the islands that existed before 40 Ma did not persist after 30 Ma (Fig. 3.1). Although terrain shallower than 1000 m probably existed in the South Atlantic between 20 and 30° S until 20 Ma, by this time the number of islands is dramatically reduced and only small areas (less than 200 km in length) of Rio Grande Rise and Walvis Ridge were emergent. At 20 Ma these islands are virtually absent and the closest distance between Africa and South America is around 2000 km. At this period, the chances of a transcontinental migration for terrestrial animals seem much less probable than before 40 Ma.

3.4 Discussion

Our reconstructions suggest the existence of a series of islands and shallow terrain in the South Atlantic during the mid-Cenozoic, particularly between 40 and 50 Ma. These paleogeographic features, which are underwater today, might have reduced

Fig. 3.1 Reconstruction of South America and Africa configuration and Atlantic Ocean bathymetry at 20, 30, 40 and 50 million years ago. Present day coastlines are represented by a white continuous line. At the equator, 10° are approximately 1,100 km

considerably the distance of a possible migration of primates and caviomorph rodents from Africa to South America. It is unlikely that an uninterrupted land bridge between the two continents existed after 80 Ma (Scotese 2004), but our data suggest the existence of large islands in the South Atlantic up to 40 Ma. These islands were probably present since the separation of Africa and South America, as they also appear in late Maastrichtian (70 Ma – Markwick and Valdes 2004) and late Paleocene reconstructions (55 Ma – Lawver and Gahagan 2003). Direct drilling data also corroborate their existence, as red algae remains (which need light to grow), shallow water animals, and rocks formed under aerial exposure were found on samples from the Rio Grande Rise. The youngest sample, dated from the late Oligocene, was drilled in a spot distant from the top of the Rise, at present day 1600 m depth, and contains rocks typically formed in shallow water. This means the crest of the Rio Grande Rise could have been as much as 600 m above sea level (Deep Sea Drilling Project Leg 72; Barker 1983; Parrish 1993). Evidence of subsided islands also exists east of the Mid-Atlantic Ridge. Middle Eocene volcanic rocks, probably extruded above sea level, were drilled around 1000 km away from Africa on the western Walvis Ridge (Ocean Drilling Project Leg 208; Parrish 1993), showing that at least part of its crest was exposed by 40 Ma. The Vema Transverse Ridge, which offsets the Mid-Atlantic Ridge by 320 km and is presently 600 m below sea level, has been found to be capped by carbonate platforms (reef limestone) that formed around 3–4 Ma (Kastens et al. 1998). The size of these subaerially exposed features during the Eocene has not been clearly determined yet, but our data suggest that islands formed on top of Rio Grande Rise could have been as long as 500 km at 50 Ma (Fig. 3.1).

Some studies interpret the Rio Grande Rise and the Walvis Ridge as a part of a hotspot track generated during the late Cretaceous and the Paleogene, which was initially focused below the Paraná-Etendeka large igneous province (around 135 Ma), and is now below Tristan da Cunha and the Gough islands (O'Connor and Duncan 1990; Schettino and Scotese 2005). Our reconstructions do not account for this anomalous lithospheric structure, which probably has a different subsidence history compared to the surrounding seafloor (Barker 1983; Eagles 2007). A more accurate approach should use more complicated models, considering mantle plume temperature, magma supply rate and lithosphere loading by the extra volcanics of the hotspot. Similarly, fracture zones seem to have particular subsidence histories (Bonatti 1978; Gasperini et al. 2001). Nonetheless, regarding the Walvis Ridge and Rio Grande Rise, it seems reasonable to suppose that these features had a faster subsidence than predicted by the age vs. depth curves used here (Barker 1983). Given that tectonic processes in these anomalous lithospheric features could be much more complex and do not allow direct modeling at this moment (Fairhead and Wilson 2005), the scenario exhibited by our reconstructions should be considered a “maximum depth” estimate for the South Atlantic at 20, 30, 40 and 50 Ma; in other words, this should be viewed as the worst possible scenario for a transoceanic animal migration. Despite not accounting for the particularities stated above, our data have important implications for potential routes for mammal dispersal between Africa and South America.

Based only on our data, one can effectively discard the land bridge hypothesis and make a stronger case for the floating island model. Even in the earliest reconstruction, at 50 Ma, there is no complete connection between Africa and South America, implying that if land animals migrated from one continent to the other after this period, some kind of oceanic dispersal must have occurred. Additionally, the absence of mammals originally from South America in the African fossil record indicates a selective dispersal route, compatible with a hypothesis in which oceanic currents played a prominent role. Other studies confirm that paleocurrents and paleowinds favored a westward crossing of the Atlantic from Africa. Since the formation of deep water connection between South and Central Atlantic, currents have flowed from the southern tip of Africa, turned westwards near the equator across the Atlantic, and then southwards at the South American coastline, generating a wide counterclockwise pattern of water circulation (Haq 1981; Parrish and Curtis 1982; Parrish 1993). Models based on present-day wind speeds and in paleodistances similar to the ones presented here (around 1000 km between Africa and South America at 50 Ma, 1500 km at 40 Ma, and 2000 km at 30 Ma) predict that an eventual floating island would take 5–15 days to cross the Atlantic Ocean from Africa, making it a feasible mode of dispersal for small or medium-sized mammals (Houle 1998 and 1999). Although there was no complete land connection across the Atlantic, our data suggest that the presence of islands close to each other on the Martin Vaz hotspot track (Fig. 3.1, latitude 20°S) could have facilitated a possible crossing from Africa. Using our most migration-friendly reconstruction, at 50 Ma, these islands could have formed a peninsula stretching at least 500 km into the Atlantic, potentially reducing migration distance. However, as we did not model specific hotspot effects in the reconstructions, it is not certain how far these islands stretched, given that hotspot activity could vary in time (Barker 1983; Fairhead and Wilson 2005).

Our data do not provide enough resolution to decide between the island hopping and the floating island modes of dispersal, as both have arguments for and against. It is unlikely that a migration across the entire Atlantic would be feasible by hopping from one island to another, as their distribution in time and space does not seem to form a continuous emergent feature. However, a scenario in which part of the way was covered rapidly in a floating island and part by slow island hopping (e.g., at the Martin Vaz hotspot track) cannot be discarded. Although one of the best candidates for a source of floating islands, the Congo River, failed to flow to the Atlantic Ocean before 30 Ma (Stankiewicz and de Wit 2006), the floating island model, or a combination with the island hopping model, are the ones that best fit the paleogeographic data.

Our reconstructions also could shed light on the timing of the possible migration event of caviomorphs and platyrrhines. The mean distance to be traveled increased with time since the split between Africa and South America (Scotese 2004; Eagles 2007), and the same reasoning applies to the thermal subsidence of oceanic lithosphere, as ocean depths increased with time. Our data suggest that paleogeographic conditions remained most favorable for a transatlantic migration until 40 Ma. This is at least 10 Ma earlier than the oldest fossil occurrences for both Platyrrhini and Caviomorpha in South America. Considerable discussion exists on their oldest fossil relatives from the Old World (Marivaux et al. 2002; Fleagle and Gilbert 2006). Regarding primates, the first undisputed anthropoids are from the early Oligocene

of Fayum, Egypt (around 30 Ma; Simons and Rasmussen 1994; Seiffert 2006), suggesting that migration to South America could only happen after this period. Nevertheless, there is considerable evidence supporting an earlier anthropoid origin. Some authors defend that earlier fossils from Africa and Asia do have anthropoid features, pushing the origin of the group back at least to the middle Eocene (ca. 45 Ma; Beard et al. 1996; Kay et al. 1997; Beard 2006), and even to the Late Paleocene (ca. 55 Ma; Godinot 1994). The situation is similar with respect to rodents, given that the earliest undisputed hystricognaths are from the Oligocene of Pakistan and Egypt (ca. 35 Ma), with the possibility of a Middle Eocene origin for the group (Bryant and McKenna 1995; Marivaux et al. 2002).

Molecular studies also suggest earlier origins for both platyrrhines and caviomorphs. Coalescence analyses calibrated by fossils indicate that the Old and New World monkeys lineages split around 40 Ma (Goodman et al. 1998; Schrago and Russo 2003); a study of nuclear genes suggested that caviomorphs separated from their African counterparts (phiomorphs) sometime between 45 and 35 Ma (Poux et al. 2006). Moreover, recently described caviomorph fossils from the Santa Rosa Formation in Peru may be Eocene in age and exhibit considerable morphological variation (Frailey and Campbell 2004). This piece of evidence demonstrates that caviomorphs were already a very diversified group at this period, a finding corroborated by molecular data (Mouchaty et al. 2001; Schrago and Russo 2003; Poux et al. 2006). Coupled with the presence of hystricognaths in Asia, Africa and South America in the earliest Oligocene (ca. 35 Ma), these findings strongly point to an Eocene origin for caviomorphs (Marivaux et al. 2002). Overall, the available evidence suggests that platyrrhines and caviomorph rodents may have arisen well before than what the current fossil record indicates. If that is correct, the timing of their proposed crossing from Africa to South America is in greater agreement with our findings, and could have happened between 40 and 50 Ma, when paleogeographic conditions were most favorable.

Migration scenarios involving North America and Antarctica were also proposed in the past (Wood 1993; Houle 1999), and deserve attention. The oldest anthropoid fossils were excavated in the Old World, and phylogenetic analyses of both hystricognath rodents and anthropoid primates strongly suggest that African and South American forms are derived from a common ancestor (Nedbal et al. 1994; Kay et al. 1997; Flynn and Wyss 1998; Goodman et al. 1998; Takai et al. 2000; Huchon and Douzery 2001; Schrago and Russo 2003; Poux et al. 2006). In this context, the most probable hypothesis is that both groups originated in Africa or Asia and migrated after the Paleocene to the New World. Antarctica separated from Africa at least 130 Ma, and from South America around 30 Ma (Scotese 2004; Lawver and Gahagan 2003). Thus, if land mammals have used this route, they would have needed a transoceanic crossing from Africa or Asia to Antarctica, and a posterior land migration (if before 30 Ma), or another oceanic crossing (if later than 30 Ma) to South America. The case is similar with respect to North America, as we would expect a migration from Asia through the Bering Strait and a posterior Caribbean Sea crossing to South America. Although distances between North and South America were smaller than between Africa and South America during most of the Cenozoic, paleocurrents and paleowinds were more favorable for a migration

from Africa (Haq 1981; Parrish and Curtis 1982; Parrish 1993). Nevertheless, the strongest argument against scenarios involving North America and Antarctica is the complete absence of fossils of likely ancestors of platyrrhines and caviomorphs. If the migration route involved North America or Antarctica, one should assume that platyrrhine and caviomorph ancestors did not leave any fossils in these continents, or that they have not yet been found. Considering the abundant record of Paleocene and Eocene mammal fossils in North America, including primates, it seems unlikely to assume that only anthropoids were not preserved, especially if they had to disperse all the way from Bering Strait to Central America. Even in the relatively scarce fossil record of Antarctica, land mammals in the Paleogene are documented, but no primates or rodents (Houle 1999; Briggs 2003). Thus, the oceanic dispersal of African groups to South America sometime between 50 and 30 Ma stands as the most likely explanation to the distribution of fossil and present day caviomorph rodents and platyrrhines.

It is necessary to look carefully to the limits of the reconstructions presented here. We did not consider the effects of sedimentation and the particular tectonic behavior of anomalous areas, such as hotspot tracks. Sedimentation could cause faster subsidence due to sediment loading, or reduced depth by sediment accumulation. Brown, Gaina and Müller (2006) noted that for oceanic crust younger than 90 Ma, deviations in reconstructed bathymetry from the depth vs. age models would not be larger than 200 m. Greater discrepancies, however, are to be expected in crust older than 90 Ma: they could be up to 1000 m shallower than exhibited by our reconstructions. That would increase the number of islands close to continents and potentially favor an eventual migration. Similarly, the particular subsidence rates of the Rio Grande Rise-Walvis Ridge features are probably faster than the surrounding seafloor (Barker 1983). This makes the approach presented here a conservative way to look at the paleogeography of the South Atlantic within the context of primate and rodent migration from Africa to South America.

One interesting feature of our reconstructions is that it could provide a new background for the interpretation of the distributional patterns of other animal groups in addition to caviomorphs and platyrrhines. Some plants, freshwater fishes (cichlids and aplocheiloids), birds (parrots) and lizards (geckos) appear to have followed a post-Gondwanan dispersal pattern across the South Atlantic (Briggs 2003; Renner 2004; de Queiroz 2005). That could be explained by the favorable paleocurrents and island-punctuated scenario presented here, especially between 50 and 40 Ma. Perhaps the long lasting puzzle of the origin of South American monkeys and caviomorphs is not as unique as once thought.

3.5 Summary

The sudden appearance of platyrrhine primates and caviomorph rodents in the late Oligocene fossil record comprises an old puzzle for biologists and paleontologists, since South America was an isolated continent for most of the Tertiary.

The well-established phylogenetic relationships between these groups and African forms force acceptance of some kind of migration across the Atlantic Ocean. Many hypotheses have been put forward to account for this crossing, including floating island rafting, volcanic stepping-stone islands, and land bridges. Here we present paleogeographic reconstructions of the South Atlantic in order to re-evaluate the scenario in which such migration took place, modeling both continental drift and sea-floor thermal subsidence movements, while accounting for sea level changes. We analyse these data by bringing together evidence from the fossil record, estimated dates of phylogenetic divergence based on molecular data, geophysical modeling and paleocurrent estimates. Our reconstructions confirmed previous findings that reject complete land bridges between Africa and South America during the Cenozoic, but suggested the presence of islands of considerable size (>200 km in length) in the South Atlantic. Other paleogeographic features that could eventually reduce migration distance are discussed. Our data indicated that the most favorable period for a possible migration was between 40 and 50 million years ago. This evidence, coupled with favorable westward paleocurrents and paleowinds from Africa could have facilitated a transatlantic crossing via floating islands. Other organisms that seem to share the distributional patterns of platyrrhines and caviomorphs could also have dispersed between Africa and South America in this scenario.

References

- Barker, P. F. 1983. Tectonic evolution and subsidence history of the Rio Grande Rise. In P. F. Barker (ed.), *Initial Reports of Deep Sea Drilling Project 72* (pp. 953–976). Washington: U.S. Government Printing Office.
- Beard, K. C. 2006. Mammalian biogeography and anthropoid origins. In S. M. Lehman and J. G. Fleagle, (eds.), *Primate Biogeography* (pp. 439–468). New York: Springer.
- Beard, K. C., Tong, Y. S., Dawson, M. R., Wang, J. W. and Huang, X. S. 1996. Earliest complete dentition of an anthropoid primate from the late middle Eocene of Shanxi Province, China. *Science* 272: 82–85.
- Bonatti, E. 1978. Vertical tectonism in oceanic fracture zones. *Earth Planet. Sci. Lett.* 37: 369–79.
- Briggs, J. C. 2003. Fishes and birds: Gondwana life rafts reconsidered. *Syst. Biol.* 52(4): 548–553.
- Bryant, J. D. and McKenna, M. C. 1995. Cranial anatomy and phylogenetic position of *Tsaganomys altaicus* (Mammalia:Rodentia) from the Hsanda Gol Formation (Oligocene), Mongolia. *Am. Mus. Novit.* 3156: 1–42.
- Brown, B., Gaina, C. and Müller, R. D. 2006. Circum-Antarctic palaeobathymetry: Illustrated examples from Cenozoic to recent times. *Palaeogeogr., Palaeoclimatol., Palaeoecol.* 231: 158–168.
- Ciochon, R. L. and Chiarelli, A. B. 1980. Paleobiogeographic perspectives on the origin of the Platyrrhini. In R. L. Ciochon and A. B. Chiarelli (eds.), *Evolutionary Biology of New World Monkeys and Continental Drift* (pp. 459–493). New York: Plenum Press.
- De Queiroz, A. 2005. The resurrection of oceanic dispersal in historical biogeography. *Trends Ecol. Evol.* 20(2): 68–73.
- Eagles, G. 2007. New angles on South Atlantic opening. *Geophys. J. Intl.* 166: 353–361.
- Fairhead, J. D. and Wilson, B. M. 2005. Plate tectonic processes in the South Atlantic Ocean: do we need deep mantle plumes? In G.R. Foulger, J.H. Natland, D.C. Presnall, and D. L. Anderson

- (eds.), *Plates, plumes and paradigms (Geological Society of America Special Paper 388)* (pp.537–553). Boulder: Geological Society of America.
- Fairhead, J. D. and Maus, S. 2003. CHAMP satellite and terrestrial magnetic data help define the tectonic model for South America and resolve the lingering problem of the pre-break-up fit of the South Atlantic Ocean. *Leading Edge* 22(8): 779–783.
- Fleagle, J. G. and Gilbert, C. P. 2006. The biogeography of primate evolution: the role of plate tectonics, climate and chance. In S. M. Lehman and J. G. Fleagle (eds.), *Primate Biogeography, Primate Biogeography* (pp. 375–418). New York: Springer.
- Flynn, J. J. and Wyss, A. R. 1998. Recent advances in South American mammalian paleontology. *Trends Ecol. Evol.* 13: 449–454.
- Frailley, C. D. and Campbell, K. E. 2004. The Rodents of the Santa Rosa Local Fauna. In K. E. Campbell Jr. (ed.), *The Paleogene mammalian fauna of Santa Rosa, Amazonian Peru (Natural History Museum of Los Angeles County, Science Series 40)* (pp. 71–130). Los Angeles: Natural History Museum of Los Angeles County.
- Ford, D. and Golonka, J. 2003. Phanerozoic paleogeography, paleoenvironment and lithofacies maps of the circum-Atlantic margins. *Mar. Petroleum Geol.* 20: 249–285.
- Gasperini, L., Bernoulli, D., Bonatti, E., Borsetti, A. M., Ligi, M., Sartori, N. A. R. and von Salis, K. 2001. Lower Cretaceous to Eocene sedimentary transverse ridge at the Romanche Fracture Zone and the opening of the equatorial Atlantic. *Mar. Geol.* 176: 101–119.
- Gazin, C. L. 1958. A review of the Middle and Upper Eocene primates of North America. *Smithsonian Misc. Collect.* 136: 1–112.
- George, W. B. and Lavocat, R. 1993. The Africa-South America connection. New York and Oxford: Clarendon Press and Oxford University Press.
- Godinot, M. 1994. Early North African primates and their significance for the origin of Simiiformes (=Anthropoidea). In J. G. Fleagle and R. F. Kay (eds.), *Anthropoid Origins* (pp.235–295). Plenum Press: New York.
- Goodman, M., Porter, C. A., Czelusniak, J., Page, S. L., Schneider, H., Shoshani, J., Gunnell, G. and Groves, C. P. 1998. Toward a phylogenetic classification of primates based on DNA evidence complemented by fossil evidence. *Mol. Phylogenet. Evol.* 9: 585–598.
- Goldblatt, P. 1993. Biological Relationships between Africa and South America. New Haven: Yale University Press.
- Haq, B. U. 1981. Paleogene paleoceanography: Early Cenozoic oceans revisited. *Oceanol. Acta* 4(suppl.): 71–82.
- Hoffstetter, M. R. 1969. Un primate de l'Oligocène inférieur sudaméricain: *Branisella boliviana* gen. et sp. nov. *C. R. Acad. Sci. Paris* 269: 434–437.
- Hoffstetter, M. R. and Lavocat, R. 1970. Decouverte dans le Deseadien de Bolivie de genres pentalophodienies appuyant les affinités africaines des Rongeurs Caviornorphes. *C. R. Acad. Sci. Paris D* 271: 172–175.
- Houle, A. 1998. Floating islands: a mode of long-distance dispersal for small and medium-sized terrestrial vertebrates. *Divers. Distrib.* 4: 201–216.
- Houle, A. 1999. The origin of platyrrhines: An evaluation of the Antarctic scenario and the floating island model. *Am. J. Phys. Anthropol.* 109: 541–559.
- Huchon, D. and Douzery, E. J. P. 2001. From the old world to the new world: a molecular chronicle of the phylogeny and biogeography of hystricognath rodents. *Mol. Phylogenet. Evol.* 20: 238–251.
- Kastens, K., Bonatti, E., Caress, D., Carrara, G., Dauteuil, O., Frueh-Green, G., Tartarotti, P. and Ligi, M. 1998. The Vema Transverse Ridge (Central Atlantic). *Mar. Geophys. Res.* 20: 533–556.
- Kay, R. F., Ross, C. and Williams, B. A. 1997. Anthropoid origins. *Science* 275: 797–804.
- Kearey, P. and Vine, F. J. 1996. *Global Tectonics*. Oxford: Blackwell Science.
- Lavocat, R. 1980. The implications of rodent paleontology and biogeography to the geographical sources and origin of platyrrhine primates. In R. L. Ciochon and A. B. Chiarelli, (eds.), *Evolutionary Biology of New World Monkeys and Continental Drift* (pp. 93–103). New York: Plenum Press.

- Lawver, L. A. and Gahagan, L. M. 2003. Evolution of Cenozoic seaways in the circum-Antarctic region. *Palaeogeogr., Palaeoclimatol., Palaeoecol.* 198: 11–37.
- Mariavaux, L., Welcomme, J. L., Vianey-Liaud, M. and Jaeger, J. J. 2002. The role of Asia in the origin and diversification of hystricognathous rodents. *Zool. Scripta*, 31: 225–239.
- Markwick, P. J. and Valdes, P. J. 2004. Palaeo-digital elevation models for use as boundary conditions in coupled ocean–atmosphere GCM experiments: a Maastrichtian (late Cretaceous) example. *Palaeogeogr., Palaeoclimatol., Palaeoecol.* 213: 37–63.
- Miller, K. G., Kominz, M. A., Browning, M. A., Wright, J. D., Mountain, G. S., Katz, M. E., Sugarman, P. J., Cramer, B. S., Christie-Blick, N. and Pekar, S. F. 2005. The Phanerozoic record of global sea-level change. *Science* 310: 1293–1298.
- Mouchaty, S. K., Catzefflis, F., Janke, A. and Arnason, U. 2001. Molecular evidence of an African phiomorpha-South American caviomorpha clade and support for hystricognathi based on the complete mitochondrial genome of the cane rat (*Thryonomys swinderianus*). *Mol. Phylogenet. Evol.* 18: 127–135.
- Müller, R. D., Roest, W. R., Royer, J. Y., Gahagan, L. M. and Sclater, J. G. 1997. Digital isochrons of the world's ocean floor. *J. Geophys. Res.* 102: 3211–3214.
- Nedbal, M. A., Allard, M. W. and Honeycutt, R. L. 1994. Molecular systematics of hystricognath rodents: evidence from the mitochondrial 12S rRNA gene. *Mol. Phylogenet. Evol.* 3: 206–220.
- Nürnberg, D. and Müller, R. D. 1991. The tectonic evolution of the South Atlantic from Late Jurassic to Present. *Tectonophysics*. 191: 27–53.
- O'Connor, J. M., and Duncan, R. A. 1990. Evolution of the Walvis Ridge –Rio Grande Rise hot spot system: Implications for African and South American plate motions over plumes. *J. Geophys. Res.* 95: 17475–17502.
- Parrish, J. T. 1993. The palaeogeography of the opening South Atlantic. In W. George and R. Lavocat (eds.), *The Africa-South America Connection* (pp. 8–27). Oxford: Clarendon Press.
- Parrish, J. T. and Curtis, R. L. 1982. Atmospheric circulation, upwelling and organic-rich rocks in the Mesozoic and Cenozoic. *Palaeogeogr., Palaeoclimatol., Palaeoecol.* 40: 31–36.
- Parsons, B. and McKenzie, D. P., 1978. Mantle convection and the thermal structure of the plates. *J. of Geophys. Res.* 83: 4485–4496.
- Parsons, B. and Sclater, J. G. 1977. Analysis of variation of ocean-floor bathymetry and heat-flow with age. *J. Geophys. Res.* 82: 803–827.
- Pitman, W. C. I., Cande, S., LaBrecque, J. and Pindell, J. 1993. Fragmentation of Gondwana: the separation of Africa from South America. In P. Goldblatt (ed.), *Biological Relationships Between Africa and South America* (pp. 15–34). New Haven: Yale University Press.
- Poux, C., Chevret, P., Huchon, D., de Jong, W. W. and Douzery, E. J. P. 2006. Arrival and diversification of caviomorph rodents and platyrrhine primates in South America. *Syst. Biol.* 55: 228–244.
- Renner, S. 2004. Plant dispersal across the Tropical Atlantic by wind and sea currents. *Int. J. Plant Sci.* 165(4 Suppl.): S23–S33.
- Schettino, A., and Scotese, C. R. 2005. Apparent polar wander paths for the major continents (200 Ma – present day): A paleomagnetic reference frame for global plate tectonic reconstructions. *Geophys. J. Intl* 163(2): 727–759.
- Schrago, C. G. and Russo, C. A. M. 2003. Timing the origin of New World monkeys. *Mol. Phylogenet. Evol.* 20: 1620–1625.
- Sclater, J. G., Hellinger, S. and Tapscott, C. 1977. Paleobathymetry of Atlantic Ocean from Jurassic to Present. *J. Geol.* 85: 509–552.
- Sclater, J. G. and McKenzie, D. P. 1973. Paleobathymetry of South-Atlantic. *Geol. Soc. America Bull.* 84: 3203–3216.
- Scotese, C. R. 2004. A continental drift flipbook. *J. Geol.* 112: 729–741.
- Simons, E. L. 1961. The dentition of *Ourayia*: its bearing on relationships of omomyid primates. *Postilla* 54: 1–20.
- Seiffert, E. R. 2006. Revised age estimates for the later Paleogene mammal faunas of Egypt and Oman. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 103: 5000–5005.

- Simons, E. L. and Rasmussen, D. T. 1994. A whole new world of ancestors: Eocene anthropoideans from Africa. *Evol. Anthropol.* 3: 128–139.
- Simpson, G. G. 1980. *Splendid isolation: the curious history of South American mammals*. New Haven: Yale University Press.
- Stankiewicz, J. and de Wit, M. J. 2006. A proposed drainage evolution model for Central Africa—Did the Congo flow east? *J. Afr. Earth Sci.* 44: 75–84.
- Takai, M., Anaya, F., Shigehara, N. and Setoguchi, T. 2000. New fossil materials of the earliest new world monkey, *Branisella boliviana*, and the problem of platyrrhine origins. *Am. J. Phys. Anthropol.* 111: 263–281.
- Van Couvering, J. A. and Harris, J. A. 1991. Late Eocene age of the Fayum mammal fauna. *J. H. Evol.* 21: 241–260.
- Wessel, P. and Smith, W. H. F. 1998. New, Improved Version of Generic Mapping Tools Released. *EOS Trans. AGU* 79: 579.
- Wood, A. E. 1980. The origin of the caviomorph rodents from a source in Middle America: a clue to the area of origin of the platyrrhine primates. In R. L. Ciochon and A. B. Chiarelli (eds.), *Evolutionary Biology of New World Monkeys and Continental Drift* (pp. 79–92). New York: Plenum Press.
- Wood, A. E. 1993. The history of the problem. In W. George and R. Lavocat (eds.), *The Africa-South America connection* (pp. 1–7). Oxford: Clarendon Press.
- Wyss, A. R., Flynn, J. J., Norell, M. A., Swisher, C. C., Charrier, R., Novacek, M. J. and Mckenna, M. C. 1993. South America earliest rodent and recognition of a new interval of mammalian evolution. *Nature* 365: 434–437.

The Evolution of Modularity in the Mammalian Skull I: Morphological Integration Patterns and Magnitudes

Arthur Porto · Felipe B. de Oliveira ·
Leila T. Shirai · Valderes De Conto ·
Gabriel Marroig

Received: 30 June 2008 / Accepted: 12 September 2008
© Springer Science+Business Media, LLC 2008

Abstract Morphological integration refers to the modular structuring of inter-trait relationships in an organism, which could bias the direction and rate of morphological change, either constraining or facilitating evolution along certain dimensions of the morphospace. Therefore, the description of patterns and magnitudes of morphological integration and the analysis of their evolutionary consequences are central to understand the evolution of complex traits. Here we analyze morphological integration in the skull of several mammalian orders, addressing the following questions: are there common patterns of inter-trait relationships? Are these patterns compatible with hypotheses based on shared development and function? Do morphological integration patterns and magnitudes vary in the same way across groups? We digitized more than 3,500 specimens spanning 15 mammalian orders, estimated the correspondent pooled within-group correlation and variance/covariance matrices for 35 skull traits and compared those matrices among the orders. We also compared observed patterns of integration to theoretical expectations based on common development and function. Our results point to a largely shared pattern of inter-trait correlations, implying that mammalian skull diversity has been produced upon a common covariance structure that remained similar for at least 65 million years. Comparisons with a rodent genetic variance/covariance matrix suggest that this broad similarity extends also to the genetic factors underlying phenotypic variation. In contrast

to the relative constancy of inter-trait correlation/covariance patterns, magnitudes varied markedly across groups. Several morphological modules hypothesized from shared development and function were detected in the mammalian taxa studied. Our data provide evidence that mammalian skull evolution can be viewed as a history of inter-module parcellation, with the modules themselves being more clearly marked in those lineages with lower overall magnitude of integration. The implication of these findings is that the main evolutionary trend in the mammalian skull was one of decreasing the constraints to evolution by promoting a more modular architecture.

Keywords Constraints · Genetic architecture · Selection · Development · Phenotypic and genetic covariance

Introduction

Morphological integration refers to the relationships and connections among morphological elements (Olson and Miller 1958; Berg 1960; Chernoff and Magwene 1999). Empirically, morphological integration is recognized by detecting the existence of discrete groups of highly correlated traits, termed modules (or “correlation pleiades” sensu Berg 1960). The modular organization already observed in a variety of organisms has been claimed to be the outcome of functional and/or developmental relationships between traits (Olson and Miller 1958; Berg 1960); in other words, traits related by ontogeny or function have greater influence on each other than on those without shared function or developmental origin/interaction. Considering that traits in the same module usually share a common genetic basis (Cheverud 1982, 1984; Chernoff

A. Porto · F. B. de Oliveira · L. T. Shirai · V. De Conto ·
G. Marroig (✉)
Laboratório de Evolução de Mamíferos, Departamento de
Genética e Biologia Evolutiva, Instituto de Biociências,
Universidade de São Paulo, CP 11.461, CEP 05508-090
Sao Paulo, SP, Brasil
e-mail: gmarroig@usp.br

and Magwene 1999), they are expected to evolve as an integrated unit (Lande 1979), providing a different perspective to investigate morphological evolution than studying individual traits. To quantify and compare modularity among groups, two complementary aspects of the morphological integration should be analyzed conjointly: pattern and magnitude (Marroig and Cheverud 2001). In this context, patterns of integration refer to the relationships between morphological elements and can be assessed by examining the correlation or covariance among traits. The magnitude of integration refers to the level or intensity of these associations between traits.

From a genetic perspective, morphological integration is the product of the so called genetic architecture (Falconer and Mackay 1996), a term used as a shortcut to the number of genes underlying the phenotypes observed, the distribution of the magnitude of its phenotypic effects and type of effect (additive, dominance, epistasis) and especially, since we are talking about correlation among traits, of pleiotropy and linkage disequilibrium. Usually, the emphasis in the quantitative genetics literature is placed on correlation between traits being produced by pleiotropy (Cheverud et al. 2004), because linkage disequilibrium is usually thought to be transient (unless actively maintained by selection) due to recombination among loci. Recent studies of genetic architecture in many organisms, and especially in mammals, have found ample evidence of a modular organization with pleiotropic effects usually falling within phenotypic modules and being reduced among modules (Ehrich et al. 2003; Cheverud et al. 2004; Wagner et al. 2008; Kenney-Hunt et al. 2008). Accordingly, a prerequisite for the evolution of modularity is that pleiotropy must be genetically variable. One mechanism by which genetic variation in pleiotropy can be achieved is by means of differential epistasis (Cheverud et al. 2004; Pavlicev et al. 2008). Notice that differential epistasis in pleiotropic effects can produce changes in both morphological integration patterns and magnitudes.

Among the evolutionary implications of such modular organization, two are particularly emphasized in the literature: (1) the high intercorrelation among traits from the same functional/developmental complex ensures the coordinated evolution of different parts of the organism while maintaining its cohesion/functionality (Klingenberg 2004); (2) the low (or absent) correlation among traits from different functional/developmental complexes permits them to evolve in a quasi-independent fashion, therefore, allowing the adaptation to different functions with little or no interference with other functions (Wagner et al. 2007). However, regardless of whether the emphasis is placed on the integration of parts into a coherent structure or their ability to vary independently, one of the main questions that should be asked is: why and to what degree is the

variation of parts coordinated? A completely integrated structure would not allow any evolutionary flexibility, while a completely parcellated cranium, in which every trait behaves as an independent module, would fail to respond to evolutionary processes (e.g. selection) in a coordinated manner.

In this context, some fundamental questions should be addressed: (1) what are the pattern and magnitude of interactions among morphological traits? (2) how do patterns of intertrait relationships change through time? In particular, this last question, concerning the study of the evolution of integration patterns, remains a significant challenge to be addressed by evolutionary biologists. Theoretical studies have shown that integration patterns can evolve considerably fast (e.g., Pavlicev et al. 2008), while empirical investigations have provided inconclusive results. Several studies have shown that integration patterns remain considerably similar across species or higher taxonomic levels (e.g., Cheverud 1996; Ackermann and Cheverud 2000; Marroig and Cheverud 2001; Gonzalez-Jose et al. 2004; Preston and Ackerly 2004; Young and Badyaev 2006), but there is also evidence that strong selection can override and modify existing patterns of integration among traits (e.g., Beldade and Brakefield 2003).

The mammalian cranium is a particularly suitable structure to address these questions, since homologous cranial bones interact to cover the head organs and take part in various functions among diverse orders (Cheverud 1982, 1995). Moreover, common patterns of skull development have been found even among distant groups, providing a good opportunity to conduct comparative studies in an inclusive evolutionary context (Moore 1981; Smith 1997). Although the importance of broad comparative analyses has long been recognized (Chernoff and Magwene 1999; Eble 2004), few studies to date have presented data above the genus level (e.g., Cheverud 1989; Marroig and Cheverud 2001; Ackermann and Cheverud 2004).

Our approach here is to explore morphological integration in the mammalian skull in a broad phylogenetic framework. We sampled 15 mammalian orders to obtain a representative dataset on the diversity of integration patterns existent in this group. By examining overall similarity in phenotypic covariance/correlation patterns across orders, we evaluated the stability of modularity patterns throughout mammalian phylogenetic history. In order to assess if these patterns extended to the genetic factors underlying skull traits, we compared phenotypic data to an empirically determined genetic variance-covariance matrix (G-matrix). We also used theoretical connectivity matrices derived from functional/developmental hypotheses of morphological integration to

determine whether observed inter-trait relationship patterns mirrored predicted trait associations. Furthermore, the comparisons between theoretical and observed modularity allow us to assess whether our sample of mammalian diversity differs in integration patterns. Finally, we calculate a morphological integration index that reflects the magnitude of the overall correlation between cranial traits. This information is complementary to correlation/covariance patterns, and helps to build a broader canvas against which the evolution of modularity structure in mammals can be analyzed.

Materials and Methods

Samples

A total of 3,644 skulls, representing 15 mammalian orders, were measured in this study. Only adult specimens with completely erupted and functional dentition, as well as basioccipital synchondrosis, were measured. One species or genus was chosen to represent each order, except for primates, in which seven genera, including *Homo*, were examined to provide a more detailed perspective. Table 1 presents the taxa sampled and the respective number of

specimens analyzed. The taxonomic arrangement used throughout this study follows Wilson and Reeder (2005). Measured specimens were deposited in the following institutions: American Museum of Natural History (AMNH, New York), Anthropologisches Institut und Museum Zürich Universität (AIM, Zürich), Field Museum of Natural History (FMNH, Chicago), Museu de Anatomia Professor Alfonso Bovero (São Paulo), Museu de Anatomia Humana da Universidade Federal de São Paulo (São Paulo), Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP, São Paulo), Museu Nacional da Universidade Federal do Rio de Janeiro (MNRJ, Rio de Janeiro), Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG, Belém), Museum National d'Histoire Naturelle (MNHN, Paris), Museum für Naturkunde (ZMB, Berlin), Museum of Vertebrate Zoology (MVZ, Berkeley), Museum of Comparative Zoology Harvard University (MCZ, Cambridge), Nationaal Natuurhistorisch Museum (RMNH, Leiden), Natural History Museum (BNHM, London), Smithsonian National Museum of Natural History (NMNH, Washington DC), Powell-Cotton Museum (PCM, Birchington-on-Sea), Royal Belgian Institute for the Natural Sciences (RBINS, Brussels), and Royal Museum for Central Africa (RMCA, Tervuren). A complete list of examined specimens is available from the authors upon request.

Table 1 List of taxa used as representatives of the 15 mammalian orders surveyed in this study, with the respective sample size

Infraclass	Order	Genus/species	Sample size	Controlled variation
Metatheria	Didelphimorphia	<i>Didelphis</i>	215	S, SP, SxSP
	Paucituberculata	<i>Caenolestes</i>	60	S, G
	Dasyuromorphia	<i>Antechinus leo</i>	53	–
	Diprotodontia	<i>Macropus robustus</i>	60	SSP
	Peramelimorphia	<i>Isodon macrourus</i>	59	SSP
Eutheria	Hyracoidea	<i>Procavia capensis</i>	45	SSP
	Macroscelidea	<i>Elephantulus brachyrhynchus</i>	57	–
	Cingulata	<i>Dasybus novemcinctus</i>	60	G
	Scandentia	<i>Tupaia glis</i>	60	SSP, SxSSP
	Lagomorpha	<i>Sylvilagus brasiliensis</i>	96	–
	Carnivora	<i>Cerdocyon thous</i>	94	–
	Perissodactyla	<i>Tapirus terrestris</i>	41	–
	Artiodactyla	<i>Mazama gouazoubira</i>	55	G
	Rodentia	(P) <i>Akodon cursor</i>	255	S
	Rodentia	(G) <i>Akodon cursor</i>	23	S
	Primates	<i>Gorilla</i>	291	S, SP, SxSP
		<i>Homo sapiens</i>	267	S, G
		<i>Pan</i>	207	S, SP, SxSP
		<i>Papio</i>	364	S, SP, SxSP
		<i>Alouatta</i>	384	S, SP, SxSP
		<i>Cebus</i>	394	S, SP, SxSP
		<i>Callithrix</i>	505	S, SP
		Total	3,644	

In the last column are the sources of variation controlled for each taxon: S = sex; SP = species; SSP = subspecies; G = geography. Whenever one factor influenced differently each species or subspecies, the interactive effect was also controlled

Landmarks and Measurements

Three-dimensional coordinates were recorded for 34 landmarks (Fig. 1; Appendix Table 1) using a Microscribe 3DX (or MX, for smaller taxa) digitizer (Microscribe, IL) and some specimens with a Polhemus 3Draw digitizer (Colchester, VT). Details of the digitizing procedure are presented in Cheverud (1995). Landmarks are the same as in Marroig and Cheverud (2001), with the exception of the fronto-malare (FM). This landmark is located on the primate post-orbital bar, which is absent in other mammals. Landmarks were positioned at the intersection of sutures or other discrete (and homologous) cranial features, so that they could be easily identified in most mammal groups. This set of landmarks was chosen because it reflects important developmental and functional relationships among cranial structures while simultaneously representing the whole skull (Cheverud 1982; Marroig and Cheverud 2001). Nearly all landmarks were assumed to be homologous across the mammal groups sampled. Some taxa, however, exhibited only partial homology of two landmarks, because the temporal and/or frontal bones were expanded in such a way as to cover the sphenoidal area (*Akodon*, *Dasybus*). In these genera, the sutures formed by the parietal, frontal and alisphenoid bones (defining the PT landmark) and those formed by the temporal, alisphenoid and parietal bones (defining TSP) are replaced by a parieto-fronto-temporal suture (defined in these taxa as PT) and a temporo-alisphenoid-frontal suture (defined as TSP). PT is, therefore, placed distally in relation to TSP in these groups, the inverse position relative to all other taxa (Fig. 1a, Appendix).

Fig. 1 Thirty four landmarks on the lateral (a) and ventral (b) view of a *Cerdocyon thous* cranium. Labels on (b) are placed only in one side of the skull. Landmark definitions are presented in Appendix. For exceptions regarding the position of landmarks, see text

A set of 35 linear measurements was then calculated from the landmark coordinates (Table 2). Bilaterally symmetrical measurements were averaged, and if the skull was damaged on one side, the other was used as the average. All specimens were measured twice, allowing the estimation of repeatability to account for measurement error (Falconer and Mackay 1996). Lilliefors tests were conducted for all measurements in order to check for significant deviations from normality. The average of repeated measurements was used in all subsequent analyses.

Correlation and Variance/Covariance Matrices

Sources of variation within each taxon that are not of immediate interest for this study (sex, geography, species, subspecies and their possible interactions) were explored through multivariate analysis of variance (MANOVA). Each source of variation in the model was tested using Wilk's lambda statistic and was considered significant when $P < 0.05$. Table 1 presents the sources of variation controlled for each taxon. Pooled within-group phenotypic correlation and variance/covariance matrices (hereafter referred to as correlation and V/CV matrices, for simplicity) were estimated for each taxon using the General Linear Model routine of SYSTAT 11 (SYSTAT Inc., Richmond, CA, 2004), controlling for these sources of variation whenever appropriate. The taxonomic arrangement and the variables controlled during the computation of Platyrrhini matrices (*Allouatta*, *Cebus*, *Callithrix*) are described elsewhere (Marroig and Cheverud 2001). With the exception of primates, taxa are referred to by their order name, for simplicity.

Table 2 Cranial measurements and their association to the hypotheses of morphological integration formulated for each taxon studied

Measurement	Region	Hypotheses				
		Didelphimorphia, Dasyuromorphia, Peramelimorphia, Scandentia, Carnivora	Paucituberculata, Diprodontia, Hyracoidea, Macroscelidae	Cingulata, Lagomorpha, Rodentia	Perissodactyla, Artiodactyla	Primates
IS-PM	Face	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral
IS-NSL	Face	Nasal	Nasal	Nasal	Nasal	Nasal
IS-PNS	Face	Oral, nasal	Oral, nasal	Oral, nasal	Oral, nasal	Oral, nasal
PM-ZS	Face	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral
PM-ZI	Face	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral
PM-MT	Face	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral
NSL-NA	Face	Nasal	Nasal	Nasal	Nasal	Nasal
NSL-ZS	Face	Nasal	Nasal	Nasal	Nasal	Nasal
NSL-ZI	Face	Oral, nasal	Oral, nasal	Oral, nasal	Oral, nasal	Oral, nasal
NA-BR	Neurocranium	Vault	Vault	Vault	Vault	Vault
NA-PNS	Face	Nasal	Nasal	Nasal	Nasal	Nasal
BR-PT	Neurocranium	Vault	Vault	Vault	Vault	Vault
BR-APET	Neurocranium	Vault	Vault	Vault	Vault	Vault
PT-APET	Neurocranium	Vault	Vault	Vault	Vault	Vault
PT-BA	Neurocranium	Vault	Vault	Vault	Vault	Vault
PT-EAM	Neurocranium	Vault	Vault	Vault	Vault	Vault
PT-ZYGO	Face	Zygomatic	Zygomatic	Zygomatic	Zygomatic	Zygomatic
PT-TSP	Neurocranium, face	Vault, zygomatic	Vault, zygomatic	Vault, zygomatic	Vault, zygomatic	Vault, zygomatic
ZS-ZI	Face	Oral/zygo	Oral/zygo	Zygomatic	Oral	Oral
ZI-MT	Face	Oral	Zygomatic	Zygomatic	Oral	Oral
ZI-ZYGO	Face	Zygomatic	Zygomatic	Zygomatic	Zygomatic	Zygomatic
ZI-TSP	Face	Zygomatic	Zygomatic	Zygomatic	Zygomatic	Zygomatic
MT-PNS	Face	Oral	Oral	Oral	Oral	Oral
PNS-APET	Neurocranium	Base	Base	Base	Base	Base
APET-BA	Neurocranium	Base	Base	Base	Base	Base
APET-TS	Neurocranium	Base	Base	Base	Base	Base
BA-EAM	Neurocranium	Base	Base	Base	Base	Base
EAM-ZYGO	Face	Zygomatic	Zygomatic	Zygomatic	Zygomatic	Zygomatic
ZYGO-TSP	Face	Zygomatic	Zygomatic	Zygomatic	Zygomatic	Zygomatic
LD-AS	Neurocranium	Vault	Vault	Vault	Vault	Vault
BR-LD	Neurocranium	Vault	Vault	Vault	Vault	Vault
OPI-LD	Neurocranium	Vault	Vault	Vault	Vault	Vault
PT-AS	Neurocranium	Vault	Vault	Vault	Vault	Vault
JP-AS	Neurocranium	Vault	Vault	Vault	Vault	Base
BA-OPI	Neurocranium	Base	Base	Base	Base	Base

Genetic V/CV and correlation matrices were also produced for rodents (Rodentia G-matrix) using a dataset from a non-inbred colony of *Akodon cursor* (De Conto 2007). The breeding program was developed using 7 wild-caught males and 6 wild-caught females, and their descendants born in captivity (26 males and 27 females). The genealogies included grandparents, parents and their offspring,

full-siblings, half-siblings and other relatives. Genetic (r_g) and environmental (r_e) correlations between characters were estimated by the maximum likelihood method using a multivariate animal model implemented in the SOLAR software package (Almasy and Blangero 1998). Genetic covariances were then estimated as the product of the appropriate correlation and associated standard deviations:

$$r_p \sigma_{px} \sigma_{py} = r_g h_x \sigma_{px} h_y \sigma_{py} + r_e e_x \sigma_{px} e_y \sigma_{py}$$

where r_p is the phenotypic correlation between traits x and y , σ_{px} is the phenotypic standard deviation for trait x , σ_{py} is the phenotypic standard deviation for trait y , r_g is the genetic correlation between traits x and y , h_x is the square root of heritability for trait x , h_y is the square root of heritability for trait y , r_e is the environmental correlation between traits x and y , e_x is the square root of one minus heritability for trait x , and e_y is the square root of one minus heritability for trait y (Falconer and Mackay 1996).

Matrix Comparisons and Matrix Repeatability

Covariance patterns were compared among mammalian orders using the random skewers method, in which the evolutionary responses of each pair of V/CV matrices to 1,000 random selection vectors (normalized to a length of one) are compared (Cheverud and Marroig 2007). The comparison is done computing the vector correlation between the responses of the two matrices to each random selection vector. The vector correlation is given by the cosine of the angle between any two vectors. The average vector correlation between the matrix response vectors was used as the measure of similarity. The expected range of correlations commonly occurring among 35-element vectors by chance alone is $-0.45 < r < 0.45$, but only absolute values need to be taken into consideration because an angle of $\theta > 90^\circ$ is equivalent to one of $180^\circ - \theta$. To establish the significance of the vector correlation we used a broken stick model to obtain 1,000 random 35-element vectors from a uniform distribution to correlate each random vector to any fixed random vector (we used a fixed isometric vector with elements equal to 0.169). Our sample showed an average correlation of 0.143 and a SD = 0.107, both values being nearly the same, no matter which fixed vector was compared to the random vectors. These two statistics, based on a random sample of 35-element vectors, allow us to test whether or not the correlation of any two observed vectors is significantly different from the correlation between two vectors expected by chance. Accordingly, any vector correlation larger than 0.45 were deemed significant at $P < 0.001$ (see Marroig and Cheverud 2005; Cheverud and Marroig 2007 for more details).

Correlation matrices were compared using matrix correlation (Sneath and Sokal 1973), and statistical significance was evaluated using Mantel's test. This procedure compares the original matrix correlation with a distribution of matrix correlations expected by chance alone. This random distribution was derived from a comparison between one of the compared matrices and 10,000 permuted versions of the second matrix, obtained through random permutations of columns and associated rows. If

the original correlation exceeded 95% of these randomly simulated correlations, the matrices were considered significantly similar (Cheverud et al. 1989).

Sample size can affect the estimation of individual matrix elements due to sampling error. Thus, when evaluating structural similarity between correlation matrices, one must take into account that the maximum observable correlation between two matrices is not one. Instead, it is equal to a maximum correlation, $r_{\max}$, defined as:

$$r_{\max} = (t_1 \times t_2)^{1/2},$$

where t_1 and t_2 are the repeatabilities of matrices 1 and 2, respectively (Cheverud 1996). Accordingly, matrix correlation can be rewritten as a proportion of $r_{\max}$ as follows:

$$r_{\text{adj}} = r_{\text{obs}}/r_{\max},$$

where r_{obs} is the observed matrix correlation and r_{adj} is the adjusted matrix correlation.

Correlation matrix repeatabilities were estimated following Cheverud (1996). V/CV matrix repeatabilities were calculated using a Monte Carlo approach, in which one hundred bootstrap re-samplings of the original data were made (after removing other sources of variation, as described above and in Table 1), with the sample size held constant. V/CV matrices were calculated for each of the re-samples and compared to the original matrix using the random skewers method (outlined above). The average vector correlation was then used as a measure of the repeatability (t). Observed vector correlations were adjusted for repeatabilities as described above for correlation matrices.

The effective sample size was used as the size of the population sample to estimate Rodentia G-matrix repeatability. The effective sample size is the effective number of paired breeding values represented in the genealogical data and used in estimating any given genetic correlation. It is calculated as:

$$N_{\text{eff}} = \left\{ 2h_x^2 2h_y^2 / \left[V(h_x^2) V(h_y^2) \right]^{1/2} \right\} + 1,$$

where $V(h^2)$ is the variance of the heritability (square of the standard error) (Cheverud 1995, 1996).

Morphological Integration Hypotheses

In order to test hypotheses of morphological integration in the mammalian skull, matrix correlations were calculated between the observed correlation matrices and theoretical matrices based on functional/developmental relationships among characters (Table 2), following Cheverud (1995, 1996) and Marroig and Cheverud (2001). These matrices were constructed to test for significant integration in the

two major regions of the skull, neurocranium and face, as well as five sub-regions: oral, zygomatic, nasal, cranial base and cranial vault. The theoretical matrices were constructed as follows: whenever two traits belonged to the same functional/developmental set being tested (i.e., hypothesized module), a value of one was entered in the matrix; otherwise, a value of zero was entered. Additionally, two more matrices were constructed: the first one links all neural and, separately, all facial traits, testing for neural (early) versus somatic (later) growth integration; and the second combines all five cranial sub-regions in a single matrix, testing for ‘total’ integration. Whenever a cell in this matrix had a value greater than one, it was reduced to one. Mantel’s tests were used to assess statistically significant similarities between the taxa correlation matrices and each theoretical matrix. For more details of this procedure and its theoretical background, refer to Cheverud (1995, 1996).

Pearson’s correlation coefficient averages for integrated (avg+) and non-integrated (avg−) traits were calculated for each integration hypothesis. The ratio between the average of integrated and non-integrated traits provides information on the magnitude of integration within the proposed phenotypic modules in relation to all remaining traits. This ratio can also be envisaged as a measure of modular distinctiveness within each taxon. If correlations within a module are, on average, higher than correlations in other modules (or between modules) the ratio will be larger than one; if not, the ratio will be smaller than one.

Magnitude of Integration

The overall magnitude of integration within each matrix was evaluated through the calculation of the coefficient of determination (r^2) of the correlation matrices (see Cheverud et al. 1989). This coefficient is simply the average of squared correlation coefficients and measures the overall level of integration among all traits. The r^2 is also a scale-independent index and is particularly suitable to compare taxa with very different sizes, such as the mammal groups studied here. It should be noted, however, that r^2 refers to a general property of the correlation matrices (*overall level of integration*) and has no direct connection to the level of integration within and between phenotypic modules (*modular level of integration*), as explored by the tests of morphological integration hypotheses. In order to compare differences in the magnitude of integration with similarity in patterns of integration we also calculated a dissimilarity matrix based on the r^2 values determined for each matrix. This matrix is calculated simply by square-rooting the differences in r^2 for each pair of matrices compared.

Phylogeny and Modularity Patterns

The phylogenetic hypothesis adopted throughout this study (Fig. 2) follows the pattern recovered by most recent analyses (Murphy et al. 2001; Springer et al. 2004; Beck et al. 2006; Asher 2007). The topology seems to be well resolved and supported by many genes and character

Fig. 2 The phylogenetic hypothesis adopted in this study (see text for references) associated to the overall morphological integration index (r^2) for each terminal

combinations (Beck et al. 2006). In order to test the association of the phylogeny with the similarity in correlation/covariance patterns, a phylogenetic distance matrix was constructed from the branch length data provided by Beck et al. 2006. This matrix was then compared, via matrix correlation followed by Mantel's test, to the similarity matrix derived from the comparison of correlation and V/CV matrices among all taxa as well as to the r^2 dissimilarity matrix.

Results

Measurement Error Assessment

The repeatability of the dataset calculated separately for each of the 35 characters and taxon ranged from 0.86 to 1.00 (mean = 0.97, s.d. = 0.03). In general, all traits were normally distributed within groups. The number of measurements with significant deviation from a normal distribution (average of one per taxon) is within the range expected by chance alone on multiple tests (considering $\alpha = 0.05$). No taxon had more than four measurements with non-normal distribution and, therefore, no impact from these sources is expected in subsequent analyses.

Correlation and Covariance Structure

Raw and adjusted matrix correlations between mammal correlation matrices, along with the respective matrix repeatabilities, are presented in Table 3. In general, there was considerable similarity in the correlation and covariance structure of all matrices compared. With the exception of the comparison between Perissodactyla and Rodentia G-matrix ($P = 0.052$), all raw matrix correlations were significant at the 0.05 level, and 96% of them were also significant at the 0.001 level. Raw correlations ranged from 0.12 to 0.83 (mean = 0.45) and adjusted correlations ranged from 0.22 to 1.05 (mean = 0.58). Lower correlation values ($r < 0.3$) were associated with comparisons involving *Homo*, *Gorilla* and the Rodentia G-matrix. Higher levels ($r > 0.6$) were observed in comparisons between metatherian taxa, hyracoids, lagomorphs and carnivores, as well as within primates. Adjustment for matrix repeatability did not change the general pattern of similarity, but comparisons involving macroscelids, cingulates, scandents, perissodactyls and artiodactyls appeared among the highest correlations only when adjusted, due to their lower matrix repeatabilities. A noteworthy increase in similarity levels when accounting for repeatability was also observed when comparing the genera *Papio* and *Alouatta* with the metatherian orders and hyracoids: in these cases,

the adjusted values reached levels comparable to those found within primate genera.

Raw and adjusted vector correlations between V/CV matrices are in Table 4. Raw vector correlations varied from 0.41 to 0.88 (mean = 0.66), and adjusted vector correlations ranged from 0.42 to 0.99 (mean = 0.70). The similarity pattern observed for V/CV matrices among taxa was generally the same as observed for the correlation matrices (matrix correlation of 0.731, $P = 0.0002$); it should be noted that higher levels of similarity were found when comparing V/CV matrices (47% higher, on average).

Comparisons involving the only genetic matrix in our dataset, Rodentia G-matrix, were no exception to the overall pattern of similarity found among the taxa studied. When adjusted to matrix repeatability, a high degree of shared correlation/covariance structure was observed. When comparing correlation matrices with Rodentia G-matrix, adjusted values ranged from 0.22 to 1.08 (mean = 0.47), and the corresponding V/CV matrix similarities were even higher (ranged from 0.67 to 0.99; mean = 0.73). In some instances, comparing the Rodentia G-matrix with distantly related taxa, like metatherians, yielded higher similarities than those found when comparing phylogenetically close groups, like two primate genera.

Magnitude of Integration

Higher r^2 values, indicating higher overall level of integration, were mainly associated with metatherian taxa, with the highest value observed for peramelimorphs ($r^2 = 0.44$; Fig. 2). Other highly integrated taxa were hyracoids, lagomorphs, carnivores, cingulates and *Papio*. Even including the latter exceptions, the average r^2 value for eutherians is three times lower than for metatherians (0.13 and 0.32, respectively). Lower r^2 values included rodents, scandents, macroscelids, and most of the primates. The lowest value was found in *Homo* ($r^2 = 0.048$).

Morphological Integration

The Mantel association tests of the theoretical hypotheses of morphological integration and observed correlation matrices are presented in Table 5, with boldface values for correlations significant at $P < 0.05$ and italics for $P < 0.10$. In general, matrix correlations between total integration and observed matrices were all positive and significant for eutherian taxa ($P < 0.05$), except for lagomorphs and hyracoids. Comparisons involving macroscelids and carnivores yielded marginally significant probability values ($0.05 < P < 0.10$). None of the metatherian taxa matrices were significantly correlated with the total integration matrix.

Table 3 Similarity matrix among mammalian taxa correlation matrices for raw (below diagonal) and adjusted (above diagonal) correlations

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
1. Didelphimorphia	0.92	0.81	0.73	0.77	0.63	0.69	0.52	0.50	0.67	0.74	0.80	0.69	0.60	0.51	0.38	0.39	0.35	0.54	0.53	0.78	0.59	0.42
2. Paucituberculata	0.68	0.77	0.80	0.81	0.76	0.85	0.71	0.56	0.85	0.78	0.86	0.65	0.61	0.66	0.61	0.30	0.32	0.63	0.68	0.73	0.64	0.47
3. Dasyuromorphia	0.62	0.62	0.79	0.97	1.05	0.81	0.66	0.49	0.73	0.86	0.71	0.50	0.47	0.58	0.50	0.25	0.36	0.54	0.66	0.69	0.52	0.39
4. Diprotodontia	0.68	0.66	0.80	0.85	0.90	0.97	0.60	0.54	0.63	0.90	0.74	0.49	0.53	0.59	0.46	0.29	0.31	0.59	0.70	0.74	0.63	0.40
5. Peramelimorphia	0.54	0.59	0.83	0.74	0.79	0.73	0.53	0.42	0.63	0.83	0.67	0.44	0.32	0.55	0.39	0.25	0.22	0.56	0.75	0.64	0.44	0.29
6. Hyracoidea	0.58	0.66	0.64	0.80	0.58	0.79	0.69	0.46	0.72	0.86	0.67	0.41	0.61	0.53	0.40	0.25	0.28	0.55	0.58	0.74	0.65	0.44
7. Macroscelidea	0.40	0.49	0.46	0.44	0.37	0.48	0.62	0.75	0.79	0.58	0.66	0.66	0.75	0.72	0.56	0.33	0.53	0.64	0.50	0.61	0.60	0.72
8. Cingulata	0.41	0.43	0.38	0.43	0.32	0.36	0.52	0.76	0.59	0.54	0.66	0.71	0.77	0.65	0.50	0.45	0.44	0.54	0.54	0.47	0.37	0.57
9. Scandentia	0.50	0.59	0.50	0.45	0.43	0.50	0.49	0.40	0.61	0.61	0.74	0.49	0.67	0.66	0.54	0.29	0.37	0.48	0.45	0.63	0.66	0.67
10. Lagomorpha	0.65	0.63	0.70	0.76	0.67	0.70	0.42	0.43	0.44	0.84	0.74	0.66	0.61	0.64	0.53	0.29	0.32	0.60	0.58	0.69	0.52	0.39
11. Carnivora	0.65	0.64	0.54	0.58	0.51	0.51	0.45	0.49	0.49	0.57	0.73	0.84	0.76	0.53	0.50	0.54	0.51	0.71	0.63	0.71	0.68	0.57
12. Perissodactyla	0.48	0.41	0.32	0.32	0.28	0.26	0.37	0.45	0.28	0.43	0.52	0.52	0.66	0.50	0.26	0.50	0.46	0.62	0.40	0.57	0.41	0.45
13. Artiodactyla	0.48	0.44	0.35	0.41	0.23	0.45	0.49	0.56	0.44	0.46	0.54	0.40	0.69	0.49	0.26	0.47	0.45	0.56	0.46	0.56	0.53	0.59
14. Rodentia (P)	0.46	0.54	0.49	0.52	0.46	0.44	0.54	0.54	0.49	0.56	0.43	0.34	0.39	0.90	1.08	0.28	0.49	0.57	0.56	0.59	0.52	0.52
15. Rodentia (G)	0.24	0.35	0.29	0.28	0.23	0.23	0.29	0.29	0.28	0.32	0.28	0.12	0.14	0.67	0.43	0.22	0.41	0.52	0.50	0.48	0.46	0.45
16. <i>Gorilla</i>	0.35	0.25	0.21	0.25	0.21	0.20	0.24	0.37	0.21	0.25	0.43	0.34	0.37	0.25	0.13	0.87	0.61	0.68	0.47	0.53	0.50	0.43
17. <i>Homo</i>	0.31	0.26	0.30	0.27	0.18	0.23	0.38	0.35	0.27	0.27	0.40	0.31	0.35	0.43	0.25	0.53	0.85	0.63	0.32	0.51	0.55	0.55
18. <i>Pan</i>	0.47	0.51	0.44	0.50	0.45	0.45	0.47	0.43	0.34	0.50	0.56	0.41	0.43	0.50	0.31	0.58	0.53	0.84	0.70	0.72	0.68	0.57
19. <i>Papio</i>	0.50	0.58	0.57	0.63	0.65	0.50	0.39	0.46	0.34	0.52	0.53	0.28	0.37	0.52	0.32	0.43	0.28	0.63	0.95	0.67	0.50	0.40
20. <i>Alouatta</i>	0.73	0.62	0.59	0.66	0.55	0.63	0.47	0.40	0.47	0.61	0.59	0.40	0.45	0.54	0.31	0.48	0.45	0.65	0.63	0.94	0.81	0.66
21. <i>Cebus</i>	0.55	0.54	0.45	0.56	0.38	0.56	0.46	0.31	0.50	0.46	0.57	0.29	0.43	0.48	0.29	0.45	0.49	0.61	0.47	0.76	0.95	0.72
22. <i>Callithrix</i>	0.39	0.40	0.33	0.36	0.25	0.37	0.55	0.47	0.50	0.34	0.47	0.31	0.48	0.47	0.28	0.39	0.49	0.51	0.38	0.62	0.67	0.93

Matrix repeatabilities are on the diagonal, in boldface. Almost all correlations are significant at $P < 0.05$. Non significant values ($P > 0.05$) are underlined

Table 4 Similarity matrix among mammalian taxa V/CV matrices for raw (below diagonal) and adjusted (above diagonal) correlations

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
1. Didelphimorphia	0.93	0.82	0.92	0.89	0.88	0.82	0.67	0.78	0.76	0.85	0.92	0.77	0.76	0.75	0.79	0.59	0.57	0.64	0.79	0.79	0.62	0.59
2. Paucituberculata	0.77	0.96	0.76	0.82	0.82	0.75	0.73	0.78	0.72	0.80	0.78	0.70	0.76	0.78	0.70	0.43	0.42	0.56	0.76	0.63	0.47	0.48
3. Dasyuromorphia	0.87	0.73	0.96	0.87	0.86	0.80	0.66	0.72	0.74	0.81	0.88	0.70	0.71	0.70	0.74	0.56	0.55	0.65	0.76	0.79	0.61	0.57
4. Diprotodontia	0.84	0.79	0.84	0.97	0.89	0.86	0.69	0.80	0.72	0.86	0.85	0.70	0.78	0.76	0.75	0.52	0.49	0.61	0.79	0.73	0.57	0.56
5. Peramelimorphia	0.84	0.80	0.83	0.87	0.98	0.82	0.66	0.80	0.71	0.83	0.84	0.69	0.74	0.73	0.72	0.50	0.44	0.57	0.80	0.67	0.48	0.49
6. Hyracoidea	0.78	0.72	0.76	0.83	0.80	0.96	0.73	0.80	0.70	0.83	0.80	0.68	0.78	0.74	0.69	0.48	0.49	0.58	0.71	0.73	0.59	0.58
7. Macroscelidea	0.63	0.68	0.62	0.65	0.63	0.69	0.93	0.75	0.71	0.73	0.69	0.69	0.81	0.81	0.69	0.50	0.55	0.67	0.66	0.67	0.55	0.65
8. Cingulata	0.75	0.75	0.69	0.78	0.78	0.77	0.71	0.98	0.67	0.81	0.76	0.67	0.84	0.75	0.68	0.46	0.41	0.56	0.76	0.60	0.43	0.49
9. Scandentia	0.71	0.68	0.70	0.69	0.68	0.67	0.66	0.64	0.95	0.75	0.80	0.71	0.76	0.81	0.77	0.56	0.58	0.64	0.60	0.70	0.73	0.75
10. Lagomorpha	0.81	0.78	0.78	0.84	0.81	0.80	0.69	0.79	0.72	0.97	0.86	0.75	0.83	0.83	0.76	0.52	0.51	0.63	0.74	0.72	0.54	0.56
11. Carnivora	0.88	0.76	0.85	0.83	0.82	0.77	0.66	0.74	0.77	0.83	0.97	0.76	0.80	0.77	0.79	0.59	0.59	0.68	0.77	0.81	0.67	0.65
12. Perissodactyla	0.71	0.65	0.66	0.66	0.65	0.64	0.64	0.64	0.66	0.71	0.72	0.92	0.77	0.71	0.67	0.66	0.63	0.71	0.68	0.68	0.57	0.62
13. Artiodactyla	0.72	0.73	0.68	0.75	0.71	0.75	0.75	0.81	0.72	0.80	0.77	0.71	0.95	0.79	0.68	0.54	0.51	0.65	0.70	0.68	0.55	0.62
14. Rodentia (P)	0.70	0.74	0.66	0.72	0.69	0.69	0.75	0.72	0.75	0.79	0.73	0.66	0.74	0.93	0.99	0.60	0.65	0.71	0.71	0.72	0.64	0.70
15. Rodentia (G)	0.64	0.58	0.61	0.63	0.60	0.57	0.56	0.57	0.63	0.64	0.66	0.54	0.56	0.81	0.72	0.68	0.70	0.73	0.70	0.75	0.71	0.74
16. <i>Gorilla</i>	0.57	0.41	0.55	0.51	0.49	0.46	0.48	0.45	0.54	0.51	0.58	0.63	0.52	0.57	0.57	0.98	0.84	0.74	0.54	0.62	0.63	0.71
17. <i>Homo</i>	0.55	0.41	0.53	0.48	0.43	0.47	0.52	0.40	0.56	0.50	0.58	0.60	0.49	0.62	0.59	0.82	0.98	0.75	0.48	0.70	0.72	0.77
18. <i>Pan</i>	0.61	0.54	0.62	0.60	0.55	0.56	0.63	0.54	0.61	0.61	0.67	0.67	0.62	0.67	0.61	0.72	0.73	0.97	0.71	0.78	0.67	0.70
19. <i>Papio</i>	0.76	0.74	0.74	0.77	0.79	0.69	0.63	0.75	0.58	0.73	0.76	0.65	0.68	0.68	0.59	0.54	0.47	0.70	0.99	0.69	0.48	0.49
20. <i>Alouatta</i>	0.76	0.62	0.77	0.72	0.66	0.71	0.64	0.59	0.68	0.70	0.80	0.65	0.66	0.69	0.63	0.61	0.69	0.77	0.68	0.99	0.81	0.75
21. <i>Cebus</i>	0.60	0.46	0.59	0.56	0.48	0.58	0.53	0.43	0.70	0.53	0.66	0.55	0.53	0.62	0.59	0.63	0.71	0.66	0.48	0.80	0.99	0.86
22. <i>Callithrix</i>	0.56	0.47	0.56	0.54	0.48	0.57	0.62	0.48	0.72	0.55	0.63	0.59	0.60	0.67	0.62	0.70	0.76	0.69	0.49	0.74	0.85	0.99

Matrix repeatabilities are on the diagonal, in boldface. All correlations are significant at $P < 0.05$

Table 5 Ratio between the magnitude of integrated (avg+) and non-integrated (avg−) traits for each theoretical hypothesis

Group	Oral	Nasal	Zygo	Vault	Base	Face	Neurocranium	Neuroface	Total
Didelphimorphia	<i>1.20</i>	<i>1.26</i>	1.18	0.90	0.73	<i>1.18</i>	0.82	1.01	1.04
Paucituberculata	1.97	2.03	1.12	0.56	0.48	1.85	0.48	1.15	1.08
Dasyuromorphia	1.25	1.35	1.21	0.79	0.52	1.35	0.70	1.04	0.99
Diprotodontia	1.43	1.47	1.04	0.74	0.72	1.34	0.67	1.01	1.00
Peramelimorphia	1.32	<i>1.26</i>	1.03	0.80	0.78	1.24	0.79	1.03	1.00
Hyracoidea	1.71	1.75	1.32	0.68	0.40	1.67	0.55	1.11	1.10
Macroscelidea	2.63	2.02	0.64	0.87	0.01	1.74	0.66	1.27	<i>1.24</i>
Cingulata	1.70	1.66	0.60	1.16	0.52	1.09	0.98	1.06	1.15
Scandentia	1.68	<i>1.60</i>	0.93	1.18	0.48	<i>1.33</i>	1.01	1.29	1.31
Lagomorpha	1.75	1.75	0.82	0.79	0.51	1.33	0.71	1.03	1.02
Carnivora	1.34	1.52	0.98	0.87	0.90	1.22	0.83	<i>1.05</i>	<i>1.08</i>
Perissodactyla	2.09	1.86	0.70	1.01	0.63	<i>1.32</i>	0.84	<i>1.13</i>	1.38
Artiodactyla	1.97	1.36	0.55	1.28	0.09	1.13	0.96	1.08	1.35
Rodentia (P)	1.72	2.32	0.94	1.11	0.70	1.41	0.94	1.29	1.33
Rodentia (G)	1.04	1.90	1.28	1.18	0.65	1.35	0.99	1.30	1.27
Gorilla	1.67	1.12	1.21	1.37	0.62	<i>1.24</i>	1.00	1.20	1.40
Homo	1.80	1.27	1.34	1.87	0.98	1.06	1.38	1.35	1.85
Pan	2.55	2.07	1.41	0.80	0.63	1.93	0.63	1.37	1.57
Papio	1.68	1.62	1.22	0.67	0.70	1.68	0.62	1.19	1.12
Allouatta	1.82	1.33	1.21	0.93	0.61	1.47	0.76	1.17	1.24
Cebus	2.05	1.39	1.35	0.98	0.98	1.55	0.80	1.27	1.44
Callithrix	2.20	1.43	0.98	1.19	0.72	1.18	0.99	<i>1.15</i>	1.50

Values in bold indicate the positive and significant correlations at $P < 0.05$ and in italics for marginally significant ($P < 0.1$) for the Mantel tests of morphological integration. The “zygomatic” and “cranial base” results are not shown because there was no association with any of the mammal taxa matrices (see text)

Matrix correlations between the neuro-somatic matrix and most of the eutherian taxa were also positive and significant, except for lagomorphs, artiodactyls and cingulates; carnivores and perissodactyls were marginally significant. The only metatherian with significant neuro-somatic integration was Paucituberculata. The neural integration matrix, in contrast, was significantly correlated with only one taxon in the whole sample, *Homo* ($P = 0.05$). The facial region presented positive and significant integration for almost all taxa, with the exception of cingulates, artiodactyls, humans and marmosets. It is noteworthy that all other primates presented highly significant correlations with the facial region matrix.

Among the five cranial sub-regions, only vault, nasal and oral exhibited positive and significant correlation with the mammal taxa matrices; therefore, we report only results referring to these three sub-regions (Table 5). The vault matrix was positively and significantly correlated only with *Homo* and *Gorilla* matrices. The oral matrix, in contrast, was correlated with almost all groups, except for Rodentia G-matrix and Dasyuromorphia. The nasal matrix exhibited positive and significant correlations for most groups, with the exception of dasyuromorphs, artiodactyls and the primates *Gorilla*, *Homo*, *Allouatta*, *Cebus* and *Callithrix*.

Table 5 also reports, for each morphological integration hypothesis, the ratio (avg+/avg−) between the average of correlation coefficients for the integrated (avg+) and non-integrated traits (avg−). One point particularly important to be noted is the negative association of these ratios with the morphological integration index (r^2 values) of each taxon: taxa presenting higher ratio (avg+/avg−) tended to present lower r^2 values, and vice versa. This can be readily seen in the plots of the avg+/avg− ratios for five of the theoretical hypotheses against the morphological integration index (r^2) (Fig. 3).

Comparisons of Patterns and Levels of Integration with Phylogenetic Distances

Figure 2 presents the phylogenetic hypothesis used in this study associated with the respective coefficients of determination of the correlation matrices (r^2), which is an index of the overall level of integration. Measures of correlation and V/CV pattern similarity did not correlate significantly with phylogenetic distance (V/CV: $r = -0.048$; $P = 0.271$; correlation: $r = -0.068$; $P = 0.237$). However, the magnitude of the differences in the overall magnitude of correlation coefficients (i.e., pairwise differences in r^2

Fig. 3 Scatterplots of the relationships between the overall morphological integration index (r^2) and the ratio of integrated and non-integrated traits ($\text{avg}+/\text{avg}-$) for five of the theoretical modularity hypothesis investigated: nasal (a), oral (b), face (c), neuroface (d), and total (e). (f) Shows the relationship between r^2 and the percentage of variation explained by the first principal component of each taxon matrix, which is an indication of the amount of variation attributable to size. r^2 was log-transformed to linearize relationships

between taxa) were significantly associated with the phylogenetic distances ($r = 0.491$; $P < 0.001$).

Discussion

Correlation and Variance/Covariance Structure

In this study, levels and patterns of morphological integration in the skull were compared among several mammal groups. Direct comparisons of both correlation and V/CV

matrices revealed a moderate to high level of similarity between all groups investigated. With the exception of *Homo* and *Gorilla*, which exhibited fairly lower values than other groups, the observed level of similarity was homogeneously distributed across all comparisons. This suggests that the overall integration pattern of cranial morphological elements has remained unexpectedly similar during mammalian morphological diversification.

V/CV matrix comparisons yielded higher similarities (47% higher, on average) than comparisons between correlation matrices, a common result in similar analyses (e.g.,

Marroig and Cheverud 2001). When matrix repeatability was accounted for, such difference was reduced by half. Considering that matrix repeatability is strongly influenced by sampling error, these differences are probably related to the higher sensitivity of correlation matrix comparison methods to outliers and sampling error. The random skewers method, used here to compare V/CV matrices, was demonstrated to be less sensitive to small sample sizes than other matrix comparison methods (Cheverud and Marroig 2007); therefore, it is reasonable to hypothesize that element-wise matrix correlation, the method used in this study to compare correlation matrices, is relatively more sensitive to small sample sizes. Another possibility is that the distribution of correlations within the correlation matrices are non-normal, rendering parametric methods inadequate to this kind of data (Cheverud et al. 1989).

Nevertheless, the pattern of overall similarity holds for both correlation and covariance matrix comparisons. Especially noteworthy are the high similarities detected between the phenotypic covariance structure in the skull of all sampled mammals and the Rodentia G-matrix. The relationship between phenotypic and genetic V/CV matrices has been a disputed topic for long (e.g., Cheverud 1988; Willis et al. 1991; Roff 1997; Steppan et al. 2002), particularly because the evolutionary constancy (or proportionality) of the G-matrix, as well as the similarity with its phenotypic counterpart, are important premises for the application of Quantitative Genetics models to the study of macroevolution (Lande 1979; Steppan et al. 2002). In this context, our findings lead to the provocative suggestion that not only P-matrices are similar to G-matrices, but also that both remained remarkably stable for a long evolutionary period, despite extensive morphological change and environmental shifts. One alternative explanation would be that the corresponding environmental matrices changed in such a way to mask eventual evolutionary modifications on the G-matrix, which is highly improbable considering the number of taxa analyzed and the time scale involved. The similarity between P and G-matrices was already demonstrated, at least for morphological traits, for a variety of taxa, including several mammals groups (Cheverud 1988; Roff 1997; Ackermann and Cheverud 2000; Marroig and Cheverud 2001). Yet, it is important to keep in mind that G- and P-matrices compared here are not strictly constant or equal. In fact, it is highly improbable that any mammalian population would have strictly the same covariance structure (pattern and magnitude) than any other population. This is a simple corollary of the fact that any population is a unique entity formed by a number of individuals that carry part of the total genetic diversity of the species at all loci (with their multitude of interactions). Therefore, it is expected a priori that any population with sexual reproduction and

recombination would have a distinct variance/covariance matrix. In this context, the question we try to address here is: how similar the skull V/CV structure is across mammals? The answer is that in most situations they are sufficiently similar to allow comparative quantitative genetics studies to be performed on P-matrices with reasonable confidence (Marroig and Cheverud 2001; Marroig et al. 2008).

The remarkable similarity in correlation/covariance patterns described here is in agreement with previous observations of common developmental patterns in the skull of mammals (Moore 1981; Smith 1997), and even in tetrapods as a whole (Morriss-Kay 2001; Helms et al. 2005; Tapadia et al. 2005). Such agreement might be evidence that the conserved pattern of inter-trait relationships is maintained by internal stabilizing selection (Cheverud 1996; Marroig and Cheverud 2001). This pattern results from the requirement of structural cohesion within an organism, so that the development and function of the cranium are preserved along the diversification of lineages. Since this cohesion imposes certain limitations to individual variation, its preservation within and among populations constrains the variation available to external selection in these groups, through its effects over the genetic correlations (Cheverud 1984). Additionally, while external selection (or even drift) could theoretically cause departures from this pattern of variation, our results suggest that such deviations were small, often restricted to a specific functional sub-region of the skull (see *Modularity*). Despite the overall pattern of similarity, it should be noted that covariance structure was not strictly equal in any of the comparisons, and these differences in V/CV and correlation matrices were not significantly associated with phylogenetic history. In some instances, like in the primate genus *Papio*, the correlation/covariance structure was more similar to those of distantly related taxa, like metatherians, than to other primates (Tables 3 and 4). Therefore, in the taxa investigated here, the evolution of correlation/covariance structure seems to be relatively independent of phylogenetic history. Such dissociation has already been observed for other taxa (Marroig and Cheverud 2001; Begin and Roff 2005; Roff and Mousseau 2005; Revell et al. 2007). Moreover, our data suggest that the same basic relationships between traits might produce great variation in skull morphology, as seen in New World monkeys (Cheverud 1996; Ackermann and Cheverud 2000; Marroig and Cheverud 2001). The level of similarity reported here can be considered quite high, especially because these comparisons involve two large and inclusive sister groups, Metatheria and Eutheria, that diverged at least 65 million years ago (MYA) and perhaps as far back as 147 MYA (Beck et al. 2006; Wible et al. 2007; Kitazoe et al. 2007). This finding indicates that the pattern of inter-trait

Fig. 4 Table of correlations between three skull measurements of two hypothetical species, A and B, and their respective scatterplots. In this situation, species have exactly the same pattern of inter-trait relationships, but differ in the magnitude of the correlations (species A presents higher magnitude of integration than B; note that traits are more tightly associated in A than in B). The example is hypothetical, but a very similar situation is seen when comparing *Didelphis* and *Homo*, for instance

relationships has remained strikingly similar during an extensive time period, and underlies the diversity existent in the skull of all mammalian groups investigated here. This apparently paradoxical result can only be interpreted when considered conjointly with the results on the magnitude of integration.

While the correlation/covariance patterns remained similar, the overall magnitude of integration (r^2) exhibited substantial differentiation among groups. More derived eutherians, in general, had lower r^2 values when compared to metatherians and more basal eutherian taxa (e.g., hyracoids and cingulates), being particularly low among most primates. The values of r^2 for metatherians were almost four times higher than those of most monkeys (Fig. 2), suggesting a more constrained cranium, in evolutionary terms, among metatherians (see companion paper: Marroig et al. 2008). There were, however, exceptions to this trend (i.e., eutherians with relatively high r^2 values), like Lagomorpha, Carnivora, and especially *Papio*. These exceptions, in addition to the observation of both high and low levels found within one single order (primates—Marroig and Cheverud 2001; Oliveira et al. submitted), reveal that the magnitude of integration can evolve considerably fast, and the possibility of large r^2 variation within diverse groups (e.g., rodents) cannot be discarded. A broader generalization, however, seems possible for metatherians, where high overall integration levels seem to be the rule: high r^2 values were found in all taxa examined in this study and also in a more detailed survey within Didelphimorphia (L. T. Shirai and

G. Marroig, submitted). In short, the overall picture emerging from our broad scale comparisons of mammalian skulls is one of relative constancy of correlation and covariance patterns and, at the same time, a quite plastic magnitude of integration. Such plasticity might be an explanation for how the substantial diversity observed in the skull morphology of the mammal groups investigated could be produced even if the correlation/covariance patterns remained constant along their evolution (Fig. 4). If two groups have exactly the same inter-trait relationships, but differ significantly in the intensity of how these traits are connected (magnitude of integration), their response to evolutionary forces, like natural selection, could be strikingly different (Hansen and Houle 2008; Marroig et al. 2008). In general, groups with lower magnitudes respond more frequently in the direction of the selection gradients, while higher magnitudes are associated with lower evolvabilities. This issue was empirically addressed for the same taxa studied here, and is discussed in detail in a companion article (Marroig et al. 2008). Figure 4 also helps to understand this point. While both populations have the same correlation pattern is clear that population B with lower overall integration would respond more easily in most directions of the morphospace just because traits are not so tightly associated. In short, while mammalian skull diversity seems to have been produced by keeping relatively similar patterns of inter-trait covariance and modularity, changes in the magnitude of integration allow evolution in cranial trait averages without disrupting integration patterns.

Modularity

Modularity was assessed by comparing the correlation matrices of the sampled taxa with theoretical morphological integration matrices derived from hypotheses of developmental/functional relationships (Cheverud 1996; Marroig and Cheverud 2001). This approach was useful to test for the presence of cranial modules in the mammals orders studied.

All metatherians presented a similar modularity pattern. The five orders studied exhibited strong integration among the facial elements, especially in the oral and nasal sub-regions, and almost no integration in the neurocranium and its sub-regions (Table 5). In these taxa, the nasal and oral sub-regions were dominant modules, as detected by the ratio $\text{avg+}/\text{avg-}$, which is an index of the distinctiveness of the hypothesized modules (average = 1.47 and 1.43, respectively); moreover, these are the only evident modules in metatherians. These groups also presented the lowest values for the ratio $\text{avg+}/\text{avg-}$ in the total integration hypothesis (average = 1.02), suggesting that their phenotypic modules are the least distinct among all studied mammals. Therefore, there is a striking contrast in these taxa between the high overall level of integration (r^2) and the low level of distinctiveness of each module. The explanation for this pattern may be related to an early development of the facial traits in this group, enabling a relatively less developed newborn to suckle in the pouch, where cranial development continues (Smith 1996). The precocious facial development probably imposes a constraint over the organogenesis of the remaining cranial structures, particularly the neurocranium, resulting in prominent faces in adults (Smith 1996, 1997). Such constraint is arguably strong, because newborn survival depends directly on its ability to suckle. In fact, this hypothesis may also explain why all metatherian groups exhibited very similar, and sometimes identical, morphological integration patterns.

Eutherians, in contrast, exhibited more variable modular patterns (Table 5), and most of the groups presented significant total and neuro-somatic integration. This modularity pattern represents the main difference in comparison with metatherians and agrees with what is known about the developmental history of eutherians. First of all, embryonic development is in fact more plastic in these mammals, resulting in a wider range of neonatal states when compared to metatherians (Smith 1997, 2001). Additionally, intra-uterine growth is relatively longer and suckling starts relatively later, so that the differentiation of the central nervous system can occur before the development of the bones and muscles of the head (Smith 1996). This sequence comparatively delays the development of the face and favors the emergence of neuro-somatic

integration in eutherians. It is worth noting that these mammals also presented a relative reduction in overall integration magnitude (r^2), which is probably related to the reduction of the impact that size variation has over the total morphological variation (Fig. 3f). Groups with higher r^2 values tended to present size as the major source of variation in skull morphology, while groups with lower r^2 presented a much smaller size contribution to the total variation. In short, there seems to be a differential impact of growing on the development of each group, explaining the differences observed in the r^2 values and, therefore, the differences observed in the modular patterns.

Regarding the modularity patterns within eutherian orders, some deviations from the general trends are particularly interesting, and can be readily associated to the correlation/covariance structure analyses. Firstly, some eutherian orders have r^2 values comparable to those of metatherians (average = 0.32), like lagomorphs (0.19), and hyracoids (0.26). Contrary to other eutherians, these taxa presented a modular structure similar to those of metatherian groups, i.e., predominant facial integration and lack of total integration; therefore, in these cases the similarity in modularity patterns explains why the covariance structure of these distantly related groups was highly correlated. Secondly, only *Homo* and *Gorilla* matrices presented marked cranial vault integration. Considering that these two taxa are phylogenetically close and that both have relatively larger neurocrania with a proportionally larger brain, vault integration might be associated with highly developed brains in the primate lineage. In this context, *Pan* would be an exception, considering it has a comparably large neurocranium, but non-significant vault integration. However, the detection of integration in a given module by our approach depends on the magnitude of correlations in other modules. *Pan* shows extremely high oral and nasal integration (Table 5), a feature that might be masking an eventually high integration also in the cranial vault.

In our sample, *Homo* arguably revealed the most distinct modularity pattern. Not only it is one of the two taxa with significant vault integration, it is also the only one with neurocranial integration (Table 5). Besides, it has, by far, the highest $\text{avg+}/\text{avg-}$ ratio in the total integration matrices, reflecting the presence of very apparent modules in the skull. Finally, *Homo* yielded the lowest r^2 value among all taxa sampled, indicating an overall poorly integrated (or parcellated) cranium. These trends can be readily seen in the plots of the $\text{avg+}/\text{avg-}$ ratios against the r^2 levels for the oral and nasal sub-regions, as well as for the total integration and face hypotheses (Fig. 3). The distinctiveness of the morphological integration patterns of human skulls has already been detected in comparisons with other hominids (Ackermann 2005; Mitteroecker and

Bookstein 2008), but it is worth noting that Marroig and Cheverud (2001, Table 10) found that 5 out of 16 New World monkey genera also showed significant integration in the neurocranium. Regarding hominids, the departure from the general pattern observed in other primates seems to occur in the later stages of development, particularly in the neurocranium. It is not entirely clear why this might be so, although it indicates that selection was working in this lineage, either on humans or the apes, to distinguish them not only in morphology, but in integration patterning (Ackermann 2005). Considering that humans had a lower overall magnitude of integration in the cranium, it is possible that our species has been more responsive to natural selection than other hominids (Marroig et al. 2008), providing an explanation for its remarkable distinctiveness.

Among all taxa investigated in this study, *Homo* represents an extreme instance of low overall integration and high intra-module integration in the skull. Nevertheless, the positive and significant association between the phylogenetic history of mammals and the magnitude of the pairwise differences in r^2 between taxa indicates that the tendency towards a decrease in overall integration, and a simultaneous increase in the distinctiveness of the modules (avg+/avg− ratio), is valid for the whole phylogeny of mammals (Figs. 2 and 3). Although this finding may at first seem paradoxical, this parcellation pattern (sensu Wagner and Altenberg 1996) can be explained by a differential reduction in the level of correlations among traits within and between modules. If a more pronounced reduction occurred among traits in different modules, a decrease in the magnitude of overall integration would be expected, but the modules themselves would maintain, or even increase, their integration. Considering that phenotypic and genetic correlations can be thought as a consequence of pleiotropy (Marroig and Cheverud 2001), one possible explanation to this evolutionary trend is directional selection acting upon the epistatic variation in pleiotropy (Cheverud et al. 2004; Wagner et al. 2007; Pavlicev et al. 2008). It is important to note, however, that considerable variation in r^2 values might exist within orders, as already seen in primates (Marroig and Cheverud 2001).

Conclusions

Our data shed some light on several important aspects of the evolution of modularity in the mammalian skull. Firstly, the correlation/covariance structure of skull traits is, to a considerable degree, shared by all groups studied. Perhaps with the exceptions of *Homo*, *Gorilla* and *Pan*, morphological integration patterns are quite similar as demonstrated by the overall similarity among correlation and V/CV matrices. Also, judging from comparisons with a rodent genetic matrix, these similarities are not restricted to

the phenotypic level and seem to extend to the underlying genetic matrices as well. This is a surprising result considering the large evolutionary timescale and diversity of taxa involved in our comparisons. Secondly, the similarity patterns were not associated to historical relatedness (phylogeny). Thirdly, morphological integration indexes exhibited great variation among groups. Taken together, these results suggest that while the modular structure could evolve at a slow pace in mammals, probably maintained by stabilizing selection due to functional and developmental constraints, the magnitude of integration and the degree of modularity itself might evolve considerably fast, in spite of the maintenance of the overall integration structure.

Another important finding relates to the differences in modularity patterns detected between more basal and more derived mammalian groups. Basal mammals exhibited higher *overall level* of integration (r^2) and lower *modular level* of integration (ratio avg+/avg−), while more derived mammals, like rodents and primates, showed the opposite pattern. Therefore, in a phylogenetic perspective, the history of the mammalian skull seems to be one of overall parcellation, while the modules themselves became relatively more integrated. A major evolutionary trend detected in the mammalian cranium has been a decrease in evolutionary constraints, brought about by increasing the modular architecture of the skull while simultaneously enhancing evolvability (see companion paper: Marroig et al. 2008).

Acknowledgements We thank Campbell Rolian and Katherine Willmore for the opportunity to present this data in the 2008 AAPA meeting. Benedikt Hallgrímsson and 2 anonymous referees made constructive comments on an earlier version of this paper. We are also grateful to the people and institutions that provided generous help and access to mammal collections: E. Westwig, N. Simmons, R. Voss and R. MacPhee (AMNH); L. Tomsett, P. Jenkins and D. Hills (BMNH); B. Paterson, W. Stanley, and L. Heaney (FMNH); J. Chupasko and M. Omura (MCZ); M. Godinot, F. Renoult, C. Lefrève and J. Cuisin (MNHN); L. Salles, J. Oliveira, F. Barbosa, and S. Franco (MNRJ); S. Costa and J. de Queiroz (MPEG); Staff at the Museo de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos; M. de Vivo and J. Gualda (MZUSP); H. van Grouw and B. Bekkum-Ansari (Naturalis); R. Thorington, R. Chapman and L. Gordon (NMNH); M. Harman (Powell-Cotton Museum); Georges Lenglet (RBINS); E. Gilissen and W. Wendelen (RMCA); R. Asher, I. Thomas and D. Willborn (ZMB); F. Smith and S. Tardif (University of Tennessee, and the Oak Ridge Associated Universities Marmoset Research Center); C. Zollikofer, M. Ponce de León and T. Jashashvili (Zürich Universität); R. Smith (Museu de Anatomia da UNIFESP); E. Liberti (Museu de Anatomia “Professor Alfonso Bovero”). This research was supported by grants and fellowships from Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Ensino Superior (CAPES), Conselho Nacional de Pesquisas (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), Fundação José Bonifácio (FUJB), Projeto de Conservação e Utilização Sustentável da Diversidade Biológica (PROBIO), and an American Museum of Natural History Collections Study Grant.

Appendix

Landmark abbreviations and definitions

Landmarks		
Abbreviations	Landmarks	Position
IS	Intradentale superior	Midline
PM	Premaxillary-maxillary suture at the alveolus	Both sides
NSL	Nasale	Midline
NA	Nasion	Midline
BR	Bregma	Both sides
PT	Pterion	Both sides
ZS	Zygomaxillare superior	Both sides
ZI	Zygomaxillare inferior	Both sides
MT	Maxillary tuberosity	Both sides
PNS	Posterior nasal spine	Midline
APET	Anterior petrous temporal	Both sides
BA	Basion	Midline
OPI	Opisthion	Midline
EAM	Anterior external auditory meatus	Both sides
PEAM	Posterior external auditory meatus	Both sides
ZYGO	Inferior zygo-temporal suture	Both sides
TSP	Temporo-spheno-parietal junction	Both sides
TS	Temporo-sphenoidal junction at petrous	Both sides
JP	Jugular process	Both sides
LD	Lambda	Midline
AS	Asterion	Both sides

References

- Ackermann, R. R. (2005). Ontogenetic integration of the hominoid face. *Journal of Human Evolution*, 48, 175–197. doi:[10.1016/j.jhevol.2004.11.001](https://doi.org/10.1016/j.jhevol.2004.11.001).
- Ackermann, R. R., & Cheverud, J. M. (2000). Phenotypic covariance structure in tamarins (genus *Saguinus*): A comparison of variation patterns using matrix correlation and common principal component analysis. *American Journal of Physical Anthropology*, 111, 489–501. doi:[10.1002/\(SICI\)1096-8644\(200004\)111:4<489::AID-AJPA5>3.0.CO;2-U](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8644(200004)111:4<489::AID-AJPA5>3.0.CO;2-U).
- Ackermann, R. R., & Cheverud, J. M. (2004). Morphological integration in primate evolution. In M. Pigliucci & K. Preston (Eds.), *Phenotypic integration: Studying the ecology and evolution of complex phenotypes* (pp. 302–319). Oxford: Oxford University Press.
- Almasy, L., & Blangero, J. (1998). Multipoint quantitative trait linkage analysis in general pedigrees. *American Journal of Human Genetics*, 62, 1198–1211. doi:[10.1086/301844](https://doi.org/10.1086/301844).
- Asher, R. J. (2007). A database of morphological characters and a combined-data reanalysis of placental mammal phylogeny. *BMC Evolutionary Biology*, 7, 108. doi:[10.1186/1471-2148-7-108](https://doi.org/10.1186/1471-2148-7-108).
- Beck, R. M. D., Bininda-Emonds, O. R. P., Cardillo, M., Liu, F.-G. R., & Purvis, A. (2006). A higher-level MRP supertree of placental mammals. *BMC Evolutionary Biology*, 6, 93.
- Begin, M., & Roff, D. A. (2005). From micro- to macroevolution through quantitative genetic variation: Positive evidence from field crickets. *Journal of Evolutionary Biology*, 58(10), 2287–2304.
- Beldade, P., & Brakefield, P. M. (2003). Concerted evolution and developmental integration in modular butterfly wing patterns. *Evolution & Development*, 5, 169–179. doi:[10.1046/j.1525-142X.2003.03025.x](https://doi.org/10.1046/j.1525-142X.2003.03025.x).
- Berg, R. L. (1960). The ecological significance of correlation pleiades. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 14(2), 171–180. doi:[10.2307/2405824](https://doi.org/10.2307/2405824).
- Chernoff, B., & Magwene, P. M. (1999). Morphological integration: 40 Years later. In E. C. Olson & R. L. Miller (Eds.), *Morphological integration* (pp. 316–360). Chicago: University of Chicago Press.
- Cheverud, J. M. (1982). Phenotypic genetic and environmental morphological integration in the cranium. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 36(3), 499–516. doi:[10.2307/2408096](https://doi.org/10.2307/2408096).
- Cheverud, J. M. (1984). Quantitative genetics and developmental constraints on evolution by selection. *Journal of Theoretical Biology*, 110, 155–172. doi:[10.1016/S0022-5193\(84\)80050-8](https://doi.org/10.1016/S0022-5193(84)80050-8).
- Cheverud, J. M. (1988). A comparison of genetic and phenotypic correlations. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 42, 958–968. doi:[10.2307/2408911](https://doi.org/10.2307/2408911).
- Cheverud, J. M. (1989). A comparative analysis of morphological variation patterns in the papionins. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 43(8), 1737–1747. doi:[10.2307/2409389](https://doi.org/10.2307/2409389).
- Cheverud, J. M. (1995). Morphological integration in the saddle-back tamarin (*Saguinus fuscicollis*) cranium. *American Naturalist*, 145, 63–89. doi:[10.1086/285728](https://doi.org/10.1086/285728).
- Cheverud, J. M. (1996). Developmental integration and the evolution of pleiotropy. *American Zoologist*, 36, 44–50.
- Cheverud, J. M., Ehrich, T. H., Vaughn, T. T., Koreishi, S. F., Linsey, R. B., & Pletscher, L. S. (2004). Pleiotropic effects on mandibular morphology II: Differential epistasis and genetic variation in morphological integration. *Journal of Experimental Zoology Part B*, 302(5), 424–435. doi:[10.1002/jez.b.21008](https://doi.org/10.1002/jez.b.21008).
- Cheverud, J. M., & Marroig, G. (2007). Comparing covariance matrices: Random skewers method compared to the common principal components model. *Genetics and Molecular Biology*, 30(2), 461–469. doi:[10.1590/S1415-47572007000300027](https://doi.org/10.1590/S1415-47572007000300027).
- Cheverud, J. M., Wagner, G., & Dow, M. M. (1989). Methods for the comparative analysis of variation patterns. *Systematic Zoology*, 38(3), 201–213. doi:[10.2307/2992282](https://doi.org/10.2307/2992282).
- De Conto, V. (2007). Genética quantitativa e evolução morfológica em *Akodon* cursor. PhD thesis, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ.
- Eble, G. (2004). The macroevolution of phenotypic integration. In M. Pigliucci & K. Preston (Eds.), *Phenotypic integration: Studying the ecology and evolution of complex phenotypes* (pp. 253–273). Oxford: Oxford University Press.
- Ehrich, T., Vaughn, T. T., Koreishi, S. F., Linsey, R. B., Pletscher, L. S., & Cheverud, J. M. (2003). Pleiotropic effects on mandibular morphology I. Developmental morphological integration and differential dominance. *Journal of Experimental Zoology (Molecular and Developmental Evolution)*, 296B, 58–79.
- Falconer, D. S., & Mackay, T. F. C. (1996). *Introduction to quantitative genetics* (ed. 4). Harlow, Essex, UK: Longmans Green.
- Gonzalez-Jose, R., van der Molen, S., Gonzalez-Perez, E., & Hernandez, M. (2004). Patterns of phenotypic covariation and correlation in modern humans as viewed from morphological integration. *American Journal of Physical Anthropology*, 123(1), 69–77. doi:[10.1002/ajpa.10302](https://doi.org/10.1002/ajpa.10302).

- Hansen, T. F., & Houle, D. (2008). Measuring and comparing evolvability and constraint in multivariate characters. *Journal of Evolutionary Biology*, 21(5), 1201–1219. doi:[10.1111/j.1420-9101.2008.01573.x](https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2008.01573.x).
- Helms, J. A., Cordero, D., & Tapadia, M. D. (2005). New insights into craniofacial morphogenesis. *Development*, 132, 851–861. doi:[10.1242/dev.01705](https://doi.org/10.1242/dev.01705).
- Kenney-Hunt, J. P., Wang, B., Norgard, E. A., Fawcett, G., Falk, D., Pletscher, L. S., et al. (2008). Pleiotropic patterns of quantitative trait loci for seventy murine skeletal traits. *Genetics*, 178, 2275–2288. doi:[10.1534/genetics.107.084434](https://doi.org/10.1534/genetics.107.084434).
- Kitazoe, Y., Kishino, H., Waddell, P. J., Nakajima, N., Okabayashi, T., Watabe, T., et al. (2007). Robust time estimation reconciles views of the antiquity of placental mammals. *PLoS ONE*, 2, e384. doi:[10.1371/journal.pone.0000384](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000384).
- Klingenberg, C. P. (2004). Integration, modules and development: Molecules to morphology to evolution. In M. Pigliucci & K. Preston (Eds.), *Phenotypic integration: Studying the ecology and evolution of complex phenotypes* (pp. 213–230). Oxford: Oxford University Press.
- Lande, R. (1979). Quantitative genetic analysis of multivariate evolution applied to brain: Body size allometry. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 33, 402–416. doi:[10.2307/2407630](https://doi.org/10.2307/2407630).
- Marroig, G., & Cheverud, J. M. (2001). A comparison of phenotypic variation and covariation patterns and the role of phylogeny ecology and ontogeny during cranial evolution of New World monkeys. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 55(12), 2576–2600.
- Marroig, G., & Cheverud, J. M. (2005). Size as a line of least evolutionary resistance: Diet and adaptive morphological radiation in New World monkeys. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 59, 1128–1142.
- Marroig, G., et al. (2008). Companion paper.
- Mitteroecker, P., & Bookstein, F. (2008). The evolutionary role of modularity and integration in the hominoid cranium. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 62, 943–958. doi:[10.1111/j.1558-5646.2008.00321.x](https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2008.00321.x).
- Moore, W. J. (1981). *The mammalian skull*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Morriss-Kay, G. M. (2001). Derivation of the mammalian skull vault. *Journal of Anatomy*, 199, 143–151. doi:[10.1017/S0021878201008093](https://doi.org/10.1017/S0021878201008093).
- Murphy, W. J., Eizirik, E., Johnson, W. E., Zhang, Y. P., Ryder, O. A., & O'Brien, S. J. (2001). Molecular phylogenetics and the origins of placental mammals. *Nature*, 409, 614–618. doi:[10.1038/35054550](https://doi.org/10.1038/35054550).
- Oliveira, F. B., Porto, A., & Marroig, G. Similarity of phenotypic covariance and correlation patterns in the skull along the evolution of Old World Monkeys: A case for the G evolutionary stasis. (Submitted to the *Journal of Human Evolution*).
- Olson, E. C., & Miller, R. L. (1958). *Morphological integration*. Chicago: University of Chicago Press.
- Pavlicev, M., Kenney-Hunt, J. P., Norgard, E. A., Roseman, C. C., Wolf, J. J., & Cheverud, J. M. (2008). Genetic variation in pleiotropy: Differential epistasis as a source of variation in the allometric relationship between long bone lengths and body weight. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 62(1), 199–213.
- Preston, K. A., & Ackerly, D. D. (2004). Allometry and evolution in modular organisms. In M. Pigliucci & K. Preston (Eds.), *Phenotypic integration: Studying the ecology and evolution of complex phenotypes* (pp. 80–106). Oxford: Oxford University Press.
- Revell, L., Harmon, L. J., Langerhans, R. B., & Kolbe, J. J. (2007). A phylogenetic approach to determining the importance of constraint on phenotypic evolution in the neotropical lizard, *Anolis cristatellus*. *Evolutionary Ecology Research*, 9, 261–282.
- Roff, D. A. (1997). *Evolutionary quantitative genetics*. New York: Chapman and Hall.
- Roff, D. A., & Mousseau, T. (2005). The evolution of the phenotypic covariance matrix: Evidence for selection and drift in *Melanoplus*. *Journal of Evolutionary Biology*, 18(4), 1104–1114. doi:[10.1111/j.1420-9101.2005.00862.x](https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2005.00862.x).
- Shirai, L. T., & Marroig, G. Evolutionary constraint and freedom: A comparison between New World marsupials and monkeys skull (submitted).
- Smith, K. K. (1996). Integration of craniofacial structures during development in mammals. *American Zoologist*, 36, 70–79.
- Smith, K. K. (1997). Comparative patterns of craniofacial development in Eutherian and Metatherian mammals. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 51(5), 1663–1678. doi:[10.2307/2411218](https://doi.org/10.2307/2411218).
- Smith, K. K. (2001). The evolution of mammalian development. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology*, 156, 119–135.
- Sneath, P. H., & Sokal, R. R. (1973). *Numerical taxonomy*. San Francisco: WH Freeman and Company.
- Springer, M. S., Stanhope, M. J., Madsen, O., & de Jong, W. W. (2004). Molecules consolidate the placental mammal tree. *Trends in Ecology & Evolution*, 19(8), 430–438. doi:[10.1016/j.tree.2004.05.006](https://doi.org/10.1016/j.tree.2004.05.006).
- Steppan, S. J., Phillips, P. C., & Houle, D. (2002). Comparative quantitative genetics: Evolution of the G matrix. *Trends in Ecology & Evolution*, 17(7), 320–327. doi:[10.1016/S0169-5347\(02\)02505-3](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(02)02505-3).
- Tapadia, M. D., Cordero, D. R., & Helms, J. A. (2005). It's all in your head: New insights into craniofacial development and deformation. *Journal of Anatomy*, 207, 461–477.
- Wagner, G. P., & Altenberg, L. (1996). Complex adaptations and the evolution of evolvability. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 50(3), 967–976. doi:[10.2307/2410639](https://doi.org/10.2307/2410639).
- Wagner, G. P., Kenney-Hunt, J. P., Pavlicev, M., Peck, J. R., Waxman, D., & Cheverud, J. M. (2008). Pleiotropic scaling of gene effects and the “Cost of Complexity”. *Nature*, 452, 470–473. doi:[10.1038/nature06756](https://doi.org/10.1038/nature06756).
- Wagner, G. P., Pavlicev, M., & Cheverud, J. M. (2007). The road to modularity. *Nature Reviews Genetics*, 8, 921–931. doi:[10.1038/nrg2267](https://doi.org/10.1038/nrg2267).
- Wible, J. R., Rougier, G. W., Novacek, M. J., & Asher, R. J. (2007). Cretaceous eutherians and Laurasian origin for placental mammals near the K/T boundary. *Nature*, 447, 1003–1006. doi:[10.1038/nature05854](https://doi.org/10.1038/nature05854).
- Willis, J. H., Coyne, J. A., & Kirkpatrick, M. (1991). Can one predict the evolution of quantitative characters without genetics? *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 45(2), 441–444. doi:[10.2307/2409678](https://doi.org/10.2307/2409678).
- Wilson, D. E., & Reeder, D. M. (Eds.). (2005). *Mammal species of the world: A taxonomic and geographic reference*. Baltimore: Johns Hopkins University Press.
- Young, R. L., & Badyaev, A. V. (2006). Evolutionary persistence of phenotypic integration: Influence of developmental and functional relationships on complex trait evolution. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 60(6), 1291–1299.

The Evolution of Modularity in the Mammalian Skull II: Evolutionary Consequences

Gabriel Marroig · Leila T. Shirai · Arthur Porto ·
Felipe B. de Oliveira · Valderes De Conto

Received: 7 October 2008 / Accepted: 21 January 2009
© Springer Science+Business Media, LLC 2009

Abstract Changes in patterns and magnitudes of integration may influence the ability of a species to respond to selection. Consequently, modularity has often been linked to the concept of evolvability, but their relationship has rarely been tested empirically. One possible explanation is the lack of analytical tools to compare patterns and magnitudes of integration among diverse groups that explicitly relate these aspects to the Quantitative Genetics framework. We apply such framework here using the multivariate response to selection equation to simulate the evolutionary behavior of several mammalian orders in terms of their flexibility, evolvability and constraints in the skull. We interpreted these simulation results in light of the integration patterns and magnitudes of the same mammalian groups, described in a companion paper. We found that larger magnitudes of integration were associated with a blur of the modules in the skull and to larger portions of the total variation explained by size variation, which in turn can exert a strong evolutionary constraint, thus decreasing the evolutionary flexibility. Conversely, lower overall magnitudes of integration were associated with distinct modules in the skull, to smaller fraction of the total variation associated with size and, consequently, to weaker constraints and more evolutionary flexibility. Flexibility and constraints are, therefore, two sides of the same coin and we found it to be quite variable among mammals. Neither the overall magnitude of morphological integration, the modularity itself, nor its consequences in terms of

constraints and flexibility, were associated with absolute size of the organisms, but were strongly associated with the proportion of the total variation in skull morphology captured by size. Therefore, the history of the mammalian skull is marked by a trade-off between modularity and evolvability. Our data provide evidence that, despite the stasis in integration patterns, the plasticity in the magnitude of integration in the skull had important consequences in terms of evolutionary flexibility of the mammalian lineages.

Keywords Morphological integration · Constraints · Evolvability · Selection · Evolutionary flexibility

Introduction

Evolvability can be defined as the ability of a population or species to respond to selection (Hansen 2003) or, more precisely, it is the ability of a given species to evolve in the direction of selection (Hansen and Houle 2008). Selection and genetic architecture interact to produce evolutionary change, a relationship explicit in the multivariate response to selection equation $\Delta z = G\beta$, where Δz is the evolutionary response to selection, G is the additive genetic variance/covariance (V/CV) matrix and β is the directional selection gradient (Lande 1979). Embodied in G is the pattern of variation and covariation of genetic traits, a very important aspect of the genetic architecture because even when selection operates on single traits, other traits respond accordingly. This correlated evolution occurs due to the integration of traits within modules, as well as due to the integration among different modules, a feature that characterizes complex hierarchical systems and organisms (Wagner et al. 2008). Modularity relates directly to

G. Marroig (✉) · L. T. Shirai · A. Porto ·
F. B. de Oliveira · V. De Conto
Laboratório de Evolução de Mamíferos, Departamento de
Biologia, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo,
CP 11.461, CEP 05508-090 São Paulo, SP, Brazil
e-mail: gmarroig@usp.br

evolvability because a modular architecture may favor evolvability by allowing changes in one module without much interference in others. At the same time, modules interact among themselves. In other words, modules present a certain degree of integration and independence, which promotes coordinated or quasi-independent responses to selection. Neither extreme integration nor extreme independence are necessarily favorable in terms of the evolutionary potential of any population (Wagner and Altenberg 1996; Ancel and Fontana 2000; Hansen 2003; Schlosser and Wagner 2004). There is always a trade-off between the two and the evolvability of a population.

Modularity is empirically recognized by the presence of correlation between parts of organisms and the absence of correlations between these and other parts of the same organisms (“correlation pleiades” *sensu* Berg 1960), being a manifestation of the morphological integration principle (Olson and Miller 1958). According to this principle, a modular organization is considered to be the outcome of functional and/or developmental relationships between traits; in other words, traits related by development or function have greater influence on each other than on those without shared function or developmental origin/interaction. Furthermore, traits in the same module usually share a common genetic basis through pleiotropy, epistasis and linkage disequilibrium (Cheverud 1982, 1984; Chernoff and Magwene 1999) and, therefore, they are expected to evolve as an integrated unit.

When studying morphological integration, two aspects are important to be considered together: patterns and magnitudes of integration on one side; their evolutionary consequences in other. However, although considerable effort has been made in comparisons and analyses of integration patterns, both the magnitude of integration and their evolutionary consequences have often been neglected in the literature. The magnitude of integration has received particular attention in our companion work (Porto et al. 2009), in which we compared integration patterns and magnitudes in several mammalian taxa. The general result was that, while integration patterns remained surprisingly similar across these taxa, there was considerable variation in the overall magnitude of integration, even in closely related groups. The overall picture for the evolution of modularity in mammals was one of conservation in patterns but with changes in the overall magnitude of integration. Furthermore, smaller magnitudes of integration were associated with increased modularity (see Fig. 3 in Porto et al. 2009). While the general trends were described, the evolutionary consequences of these changes were still not addressed. Therefore, our aim here is to explore how differences in the magnitude of integration affect the direction and magnitude of evolution or, in other words,

how strong is the influence of the magnitude of integration over evolvability and flexibility.

Morphological integration studies are usually performed on correlation matrices, for which several well established analytical tools are available (Cheverud et al. 1989). Although the morphological integration framework has explicit expectations about the relationship between modularity and the evolvability of any population (e.g., Wagner and Altenberg 1996), those expectations have rarely been tested empirically. We think one possible reason for this present state of the art is the lack of analytical tools to compare morphological integration patterns and magnitudes between groups that explicitly relate these aspects to the Quantitative Genetics framework. One possible step to accomplish this fusion of morphological integration studies with evolutionary quantitative genetics is to use analytical tools suited for V/CV matrices, like the random skewers (RS) approach which is based on the multivariate response to selection equation (Lande 1979; Cheverud and Marroig 2007). Under this approach, random selection gradients are simulated and multiplied by the V/CV matrices in order to obtain simulated evolutionary responses that can then be compared between populations (Cheverud 1996; Marroig and Cheverud 2001; Cheverud and Marroig 2007). We believe that Lande’s (1979) multivariate response to selection equation can be a meaningful way to achieve the union between morphological integration studies and evolutionary quantitative genetics in a practical way. In fact, recently another group converged to the same approach independently (Hansen and Houle 2008).

The general framework used here was extensively developed by Hansen and Houle (2008) which defined several useful statistics to explore the evolutionary consequences of modularity and integration as captured in V/CV matrices. Responsability ($\bar{r}$) is the norm of the evolutionary response vector, which means that it is a measure of the magnitude of the evolutionary change. Evolvability ($\bar{e}$) is the projection of the responsability on the selection gradient and therefore corresponds to the ability of a population to evolve in the direction to which selection is pushing. Due to correlation among traits, another informative statistic is one that captures the evolvability of a trait or dimension while the others traits or dimensions are not allowed to change (Hansen and Houle 2008). This is equivalent to the expected response in one trait or dimension while the others are under stabilizing selection, and was called conditional ($\bar{c}$) evolvability by Hansen and Houle (2008). Autonomy ($\bar{a}$) is the proportion of evolvability that remains after conditioning on others traits under stabilizing selection and can be estimated by the ratio of conditional evolvability by evolvability (C/E). Finally, Hansen and Houle (2008) acknowledged that the ratio between evolvability and responsability (E/R) is equivalent

to the cosine of the angle formed between the evolutionary response and the selection gradient, even though no name was provided for this latter statistic. We here follow the suggestion (T. Hansen, personal communication) that the designation “evolutionary flexibility” could be used for the correlation between these two vectors (the evolutionary response and the selection gradient). In terms of the biological interpretation, evolutionary flexibility captures the ability of a population to track closely the direction selection is acting, irrespectively of the magnitude of evolutionary response. Another way to envisage the same point is that evolvability captures the magnitude of the evolutionary response under selection in some direction of the morphospace while evolutionary flexibility captures the alignment of the response with the selection gradient. Therefore, evolvability and flexibility capture different aspects of the ability of a given species to evolve in the direction of selection.

The orientation and magnitude of the evolutionary responses, as well as their degree of similarity with the selection gradient applied, can therefore be very informative about the evolutionary properties of the matrices/populations being compared. In this study, we applied the RS method to analyze the consequences of changes in the magnitude of integration on the morphological evolution of the skull, exploring the relationship between evolvability, evolutionary flexibility, autonomy, constraints and morphological integration magnitudes in 15 mammalian orders. As far as we know, this is the first large scale study clearly linking modularity and integration with their evolutionary consequences in a large group such as mammals.

Materials and Methods

Samples, Landmarks, Measurements and Matrices

The analyzed sample, definition of landmarks and measurements, as well as procedures to obtain V/CV matrices, were described in detail in the companion paper (Porto et al. 2009). However, we think one important point is worth emphasizing here. When dealing with modularity, as well as with its evolutionary consequences, it is important to obtain the best possible representation of phenotypic and genetic patterns and magnitudes of integration. This can only be accomplished with proper sample sizes in order to reduce the effects of sampling error on matrices estimation. Additionally, to us, the proper representation of modularity for any biological group is one that removes sources of variation and covariation that are not directly related to the genotype–phenotype map per se. For example, if one was to estimate a P-matrix without regard to sexual differences within a population, a substantial part of the correlation

observed between traits would be due to extant differences between sexes, and not directly to the underlying genetic architecture. The same rationale applies to others sources of variation like geographic variation or between-species differences. Therefore, all matrices used here and in the companion paper (including G-matrices) are pooled within-groups correlation or V/CV matrices properly controlled for these other sources of variation whenever appropriate (see Table 1 in Porto et al. 2009).

Magnitude of Integration

Besides the V/CV matrices, we also calculated the pooled within-groups correlation matrices for each taxon in our dataset. These matrices were used to calculate the average coefficient of determination (r^2), which is an index frequently employed in morphological integration studies (Cheverud et al. 1989; Marroig and Cheverud 2001; Porto et al. 2009). This index is simply the average of squared correlation coefficients and measures the overall level of integration among all traits. The r^2 is a scale-independent index and is particularly suitable to compare taxa with very different body sizes, such as the mammal groups studied here. The relationship of this index with particular modules within the cranium, as well as with the phylogeny of the mammal taxa under investigation, has been explored in detail in the companion paper (Porto et al. 2009).

Evolutionary Simulations

In order to explore the impact of the overall level of integration on the evolutionary properties of each taxon, the r^2 values were correlated with the results of a simulation of evolutionary responses to selection involving the respective V/CV matrices (Cheverud and Marroig 2007). This approach is based on the multivariate response to selection equation: $\Delta z = G\beta$ (Lande 1979). This equation explicitly relates evolutionary response (Δz) under directional selection to the force of selection operating individually upon each trait (β) and to the patterns of heritable variation (G-matrix). G-matrices can be substituted by their phenotypic counterparts, the P-matrices, if they are sufficiently similar (Arnold 1981; Arnold and Phillips 1999; Løvsfjeld 1986; Cheverud 1988, 1996; Marroig and Cheverud 2001; Roff 1995; Reusch and Blanckenhorn 1998; Waitt and Levin 1998; Reale and Festa-Bianchet 2000; House and Simmons 2005; Akesson et al. 2007; Oliveira et al. 2009). Considering that this similarity was demonstrated for the mammal groups studied here (Porto et al. 2009), we used P-matrices as a surrogate for G-matrices.

We subjected each phenotypic V/CV matrix to 1,000 random selection vectors (β) and obtained the respective

response vectors. Each random selection vector was drawn from a uniform distribution with individual values for the elements ranging from -1 to $+1$; therefore, these vectors were uncorrelated with each other (average $r = 0.136 \pm 0.101$) and spanned a wide range of possibilities in the morphological space (morphospace).

We normalized all simulated selection vectors to a length of one and multiplied them by each taxon matrix. The 1,000 response vectors obtained (Δz) were then correlated to the first principal component of each matrix and we counted the cases in which correlation coefficients were equal or higher than 0.7. The first principal component of a V/CV matrix is what Schluter (1996) called a “line of least evolutionary resistance” because it is the axis holding the largest portion of genetic (or phenotypic) variation (represented by the symbol $p_{\max}$ here). In theory, evolutionary changes along $p_{\max}$ will be facilitated even though selection may not be aligned with it. The number of evolutionary responses aligned with $p_{\max}$ is a measure of how much constraints embodied in the pattern and magnitude of integration of the phenotypic matrices would bias the cranial evolution of the mammalian lineages compared here. In fact, if we divide the absolute number of simulated responses aligned with $p_{\max}$ by the total number of random selection vectors applied (1,000), we can think of this ratio as a measure of constraints (referred hereon as constraints only, for simplicity). While any vector correlation with 35-elements above 0.45 is highly significant ($P < 0.001$), counting the absolute number of evolutionary responses aligned with $p_{\max}$ (or β , see below) still involves the choice of a threshold. Therefore, another way to present the results of these simulations is to use the average vector correlation between the evolutionary responses and $p_{\max}$. We present here both the absolute number and the average vector correlation because the former is a more intuitive number, readily interpretable in terms of the proportions of responses aligned with $p_{\max}$ while the latter is a “decision-free” statistic; only the averages were used in the following illustrations.

We also correlated simulated random selection vectors (β) and their correspondent response vectors (Δz), counting the number of responses significantly aligned with each β applied. Here we used a more relaxed criteria, counting the cases in which correlations coefficients were higher than 0.45 (or lower than -0.45), which is the expectation for correlations between 35-element vectors occurring by chance alone. This counting can be thought as a measure of the capacity of the population to respond in the same direction imposed by selection. Dividing this absolute number by the total number of responses (1,000) resulted in an index which can be seen as a measure of morphological evolutionary flexibility. Alternatively, the average correlation between the 1,000 random selection gradients and

the corresponding evolutionary responses can also be used as a measure of evolutionary flexibility. Again, we present both here since the latter statistic is a decision-free number (the average), while the former involve a somewhat arbitrary decision (the correlation threshold adopted to count a vector of response aligned or not with β , in our case $r \geq 0.45$), but it is more intuitive than the average correlation.

Variation related to size may be an important factor influencing phenotypic evolution of any quantitative trait, and can be expressed by the total variation within a taxon explained by $p_{\max}$. To study this influence, we correlated this factor to r^2 values and to the absolute numbers of responses to selection aligned with $p_{\max}$ (constraints).

Similarly, integration patterns in specific regions/modules of the skull could also affect changes in the overall phenotype. To account for this aspect, we used data derived from theoretical matrices of functional/developmental relationships among characters (Cheverud 1995; Marroig and Cheverud 2001; Porto et al. 2009). Details regarding the constructions of these matrices were described in the companion paper (Porto et al. 2009). We calculated the ratio between the average correlation of integrated (within modules) and non-integrated (between modules) traits ($\text{avg}+/\text{avg}-$) for nine developmental/functional hypotheses. We called these “modularity ratios”, and studied their correlation to the constraints and flexibility indexes, as well as other statistics, as described below.

Responsability, Autonomy and Evolvability

Hansen and Houle (2008) formally defined some indexes which could help to understand the evolutionary consequences of modularity: responsibility ($\bar{r}$), autonomy ($\bar{a}$) and evolvability (conditional and unconditional—Table 1). These indexes are also based on the multivariate response to selection equation, and can be computed through an approach similar to the one outlined above, using random selection vectors, or alternatively through approximation formulae; details of the calculations can be found in Hansen and Houle’s paper (2008). We present only the results based on random selection vectors. Similarly, calculations of those indexes can be carried on raw and mean standardized matrices and although the absolute values of the statistics varied, both resulted in very similar patterns. Therefore, we chose to present only the indexes calculated on mean standardized matrices. To further explore the consequences of morphological integration, we correlated the indexes proposed by Hansen and Houle (2008) to the r^2 values of the mammal groups studied. Table 1 summarizes all abbreviations and indexes used in this paper, as well as their associated biological meaning.

Table 1 Abbreviations and symbols used for each variable investigated in this study, how they were measured, and their biological meaning

Symbol	Measure	Simulation equations	Biological interpretation
P or P-matrix	Pooled within-group phenotypic V/CV matrix		The amount and pattern of variation and covariation within a group
$p_{\max}$	First principal component of the P-matrix		The linear combination of traits accounting for the largest portion of phenotypic variance within a group; the phenotypic line of least resistance to evolutionary change (LLER)
Δz	Vector of differences in the averages before and after selection		Direction and magnitude of the evolution
β	Selection gradient (in this paper being simulated and all of them with a norm of one)	Uniform distribution random generator number	A vector describing the directional selection operating individually upon each trait independently from the genetic covariance with other traits in the system
Size	First principal component score of any group; or cubic root of the body size		Measures the absolute size of any species
r^2	Average of the squared correlation coefficients of a given correlation matrix (coefficient of determination)		Measures the overall magnitude of integration among traits in a given correlation matrix; theoretical measurement of the constraints embodied in a correlation matrix
Flexibility ($\bar{f}$)	Cosine of the angle between the selection vector (β) and the response vector (Δz); or the ratio between evolvability and responsability		Measures how close to the direction of selection is the evolutionary response vector
Responsability ($\bar{r}$)	Norm of the response vector; or the length of the predicted response to selection (Δz)	$E \left[\left(\beta' P^2 \beta \right)^{1/2} \right]$	Measures how rapidly a population will respond under directional selection
Evolvability ($\bar{e}$)	Projection of the response vector over the selection vector; or the length of response in the direction of β	$E[\beta' P \beta]$	Ability of a given population to evolve in the direction of selection
Conditional evolvability ($\bar{e}$)	Length of the response vector assuming the presence of stabilizing selection; or the evolvability multiplied by the autonomy	$E \left[\left(\beta' P \beta \beta' P^{-1} \beta \right)^{-1} \right]$	Ability of a given species to evolve in the direction of selection when under stabilizing selection
Autonomy ($\bar{a}$)	Measures the proportion of the genetic variation in a given trait (or linear combination of traits) that is independent of other traits, given the action of stabilizing selection; or the conditional evolvability divided by the evolvability	$E \left[\left(\beta' P^{-1} \beta \right)^{-1} \right]$	Proportion of the evolvability that remains after conditioning on other traits
Constraints	Average vector correlation between the response vector and $p_{\max}$, alternatively, the absolute number of significant vector correlations		Measures the relative influence of $p_{\max}$ on the direction of the evolutionary responses

Results

Magnitude of Integration

The magnitude of integration, measured by the average of squared correlation coefficients between traits (r^2), varied considerably across taxa; the lowest value (*Homo*, $r^2 = 0.05$) was around nine times lower than the highest value (Peramelimorphia, $r^2 = 0.44$). This is equivalent to an average value of correlation among traits three times higher in Peramelimorphia than in humans. Higher r^2 values, indicating higher overall level of integration, were mainly associated with four of the metatherian orders (Peramelimorphia, Diprotodontia, Didelphimorphia and Dasyuromorphia). Besides metatherians, other highly integrated taxa were hyracoids, carnivores, cingulates and

Papio (Table 2). Lower r^2 values included rodents, scan- dents, macroscelids and most of the primates; those results were detailed in our companion paper (Porto et al. 2009).

The r^2 values (in logarithmic scale) and absolute skull size were not correlated ($r = 0.059$, $P = 0.799$; Fig. 1a). This was found when using, as a measure of size, the scores of each taxon on the first principal component extracted from the pooled-within groups V/CV matrix of all mam- mals studied. The same result was found using the cubic root of the body weight as a measure of size.

Response to Simulated Selection, Integration and Evolvability

The number of response vectors aligned with $p_{\max}$ (con- straints) followed the same basic pattern observed for r^2 , in

Table 2 All variables measured in the P-matrices and simulations of the mammalian lineages: the morphological integration index (r^2), natural logarithm of the skull size (Ln size), responsiveness ($\bar{r}$), evolvability ($\bar{e}$), conditional evolvability ($\bar{e}$), autonomy ($\bar{a}$), flexibility measured as the average correlation between the evolutionary responses and the selection gradients ($\bar{f}$), flexibility measured as the absolute number of evolutionary responses significantly correlated with the selection gradients ($\bar{f}$ abs.), constraints measured as the average vector correlation between evolutionary responses and $p_{\max}$ (Cons.), constraints measured as the number of evolutionary responses significantly correlated with $p_{\max}$ (Cons. Abs.), the percentage of variation explained by $p_{\max}$ (% $p_{\max}$), oral, neurocranium (Neural), Neuroface and Total integration modularity ratios

Group	r^2	Ln Size	$\bar{r}$	$\bar{e}$	$\bar{e}$	$\bar{a}$	$\bar{f}$	$\bar{f}$ abs.	Cons.	Cons. (abs.)	$p_{\max}$ %	Oral	Neural	Neuro-face	Total
Didelphimorphia	0.35	4.99	0.097	0.028	0.0006	0.039	0.30	96	0.89	872	68.1	1.20	0.82	1.01	1.04
Paucituberculata	0.15	3.80	0.016	0.005	0.0001	0.032	0.33	151	0.85	830	61.2	1.97	0.48	1.15	1.08
Dasyuromorphia	0.28	3.86	0.017	0.005	0.0001	0.046	0.32	154	0.87	865	63.8	1.25	0.70	1.04	0.99
Diprotodontia	0.39	5.55	0.223	0.059	0.0006	0.020	0.27	62	0.92	909	75.6	1.43	0.67	1.01	1.00
Peramelimorphia	0.44	4.74	0.095	0.024	0.0001	0.014	0.26	32	0.93	920	80.4	1.32	0.79	1.03	1.00
Hyacoidea	0.26	4.99	0.085	0.024	0.0001	0.005	0.30	89	0.89	884	67.2	1.71	0.55	1.11	1.10
Macroscelidea	0.07	3.96	0.008	0.004	0.0001	0.042	0.49	708	0.65	554	30.4	2.63	0.66	1.27	1.24
Cingulata	0.17	5.01	0.074	0.022	0.0003	0.024	0.31	102	0.88	871	64.0	1.70	0.98	1.06	1.15
Scandentia	0.09	4.29	0.011	0.005	0.0002	0.051	0.46	507	0.58	425	29.3	1.68	1.01	1.29	1.31
Lagomorpha	0.19	4.64	0.052	0.018	0.0007	0.052	0.36	201	0.84	822	54.8	1.75	0.71	1.03	1.02
Carnivora	0.21	5.29	0.077	0.027	0.0011	0.059	0.36	175	0.82	787	53.7	1.34	0.83	1.05	1.08
Perissodactyla	0.10	6.30	0.186	0.082	0.0016	0.024	0.46	546	0.69	614	35.5	2.09	0.84	1.13	1.38
Artiodactyla	0.11	5.52	0.093	0.038	0.0011	0.036	0.42	360	0.74	674	41.1	1.97	0.96	1.08	1.35
Rodentia	0.09	3.86	0.004	0.002	0.0001	0.073	0.49	685	0.68	580	33.1	1.72	0.94	1.29	1.33
Gorilla	0.07	5.92	0.171	0.080	0.0120	0.167	0.49	720	0.68	596	32.9	1.67	1.00	1.20	1.40
Homo	0.05	5.73	0.081	0.044	0.0061	0.147	0.58	963	0.58	425	23.9	1.80	1.38	1.35	1.85
Pan	0.06	5.57	0.083	0.045	0.0097	0.234	0.57	960	0.59	443	24.8	2.55	0.63	1.37	1.57
Papio	0.23	5.66	0.238	0.072	0.0060	0.130	0.31	145	0.89	882	65.2	1.68	0.62	1.19	1.12
Alouatta	0.15	5.09	0.066	0.028	0.0032	0.139	0.43	437	0.77	731	41.7	1.82	0.76	1.17	1.24
Cebus	0.12	4.95	0.063	0.027	0.0020	0.090	0.44	388	0.61	456	32.2	2.05	0.80	1.27	1.44
Callithrix	0.07	4.22	0.017	0.009	0.0013	0.162	0.54	924	0.55	362	23.0	2.20	0.99	1.15	1.50

A

Skull size

$\ln r^2$

B

Flexibility

Skull size

C

Constraints

Skull size

D

Flexibility

Constraints

E

PC1 % variation

Constraints

F

Total Integration (modularity ratio)

PC1 % variation

extremes (Table 2). Conditional evolvabilities are higher among all primates and low (close to only 1% of the highest values) among Hyracoidea, Paucituberculata, Rodentia, Peramelimorpha, Macroscelidae and Dasyurimorpha. Autonomy follows the same basic pattern observed for flexibility with low values among Hyracoidea, Peramelimorpha, Diprotodontia, Perissodactyla, Cingulata, Paucituberculata and the highest values again among primates.

The morphological integration index (r^2) was strongly correlated with the absolute number of responses aligned with $p_{\max}$ ($r = 0.902$, $P < 0.0001$) as well as with the

Fig. 2 Plots of the flexibility and constraints against the morphological integration index (r^2)

Table 3 Correlation between the natural logarithm of the morphological integration index (r^2), absolute size (Ln of the skull size), responsibility, evolvability, conditional evolvability, autonomy, evolutionary flexibility (ratio evolvability/responsibility), constraints, the percentage of variation explained by $p_{\max}$ and the modularity ratios (Oral, Neurocranium, Neuroface and Total Integration are all found below the diagonal with P values above the diagonal. Bold values significant at $P < 0.05$

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1 MI index	–	0.799	0.209	0.871	0.034	0.004	0.000	0.000	0.000	0.000	0.022	0.000	0.000
2 Skull Size	–0.059	–	0.000	0.000	0.006	0.249	0.669	1.000	0.841	0.939	0.301	0.986	0.176
3 Responsibility	0.286	0.821	–	0.000	0.058	0.803	0.247	0.138	0.160	0.349	0.739	0.327	0.704
4 Evolvability	–0.038	0.921	0.922	–	0.002	0.225	0.801	0.839	0.992	0.941	0.670	0.976	0.350
5 Conditional Evol.	–0.465	0.580	0.420	0.645	–	0.000	0.022	0.118	0.073	0.297	0.371	0.023	0.012
6 Autonomy	–0.603	0.263	0.058	0.277	0.822	–	0.001	0.005	0.003	0.069	0.289	0.003	0.001
7 Flexibility	–0.961	0.099	–0.264	0.058	0.496	0.692	–	0.000	0.000	0.001	0.018	0.000	0.000
8 Constraints	0.920	0.000	0.335	0.047	–0.351	–0.585	–0.950	–	0.000	0.001	0.018	0.000	0.000
9 Pc1%	0.957	–0.047	0.318	0.002	–0.399	–0.612	–0.975	0.973	–	0.001	0.023	0.000	0.000
10 Oral	–0.726	–0.018	–0.215	–0.017	0.239	0.404	0.686	–0.660	–0.687	–	0.698	0.002	0.007
11 Neurocranium	–0.496	0.237	–0.077	0.099	0.206	0.243	0.511	–0.511	–0.492	–0.090	–	0.249	0.002
12 Neuroface	–0.820	–0.004	–0.225	0.007	0.493	0.624	0.810	–0.797	–0.786	0.635	0.263	–	0.000
13 Total Integration	–0.881	0.307	–0.088	0.215	0.539	0.663	0.907	–0.870	–0.861	0.568	0.646	0.778	–

average correlation between the response vectors and $p_{\max}$ ($r = 0.92$, $P < 0.0001$; Fig. 2). Additionally, r^2 exhibited a high positive correlation with the percentage of variation explained by $p_{\max}$ ($r = 0.957$, $P < 0.0001$; see Fig. 3 in Porto et al. 2009) and strong negative correlation with the average correlation of the response vectors with the selection gradients ($r = -0.961$, $P < 0.0001$; Fig. 2). Table 3 presents all correlations and associated probabilities for the following variables: morphological integration index (r^2 in logarithmic scale), skull size (in logarithmic scale), responsibility, evolvability, Conditional Evolvability, Autonomy, Evolutionary Flexibility (the ratio evolvability/responsibility or the average correlation between the response vectors with the selection gradients), Constraints (the average correlation between the responses and $p_{\max}$), the percentage of variation explained by $p_{\max}$, and the modularity ratios (Oral, Neurocranium, Neuroface and Total Integration). Autonomy and flexibility were

negatively correlated with r^2 (Fig. 2) as well as with the constraints (Fig. 1d) captured in $p_{\max}$ (average correlation between the evolutionary responses and $p_{\max}$ and the % of variation explained by $p_{\max}$). Furthermore, the modularity ratios were negatively correlated also with both measures of constraints (r^2 and the number of responses aligned with $p_{\max}$ —Fig. 5) and positively correlated with both autonomy and flexibility (Table 3, Fig. 5). Additionally, the modularity ratios (Table 3, Fig. 1f) are also negatively and significantly correlated with the proportion of variation explained by size ($p_{\max}$). Both our measures of flexibility and constraints present no correlation with the skull size (Fig. 1b, c, respectively).

Results can be summarized as follows: (1) there were no significant relationships of responsibility and evolvability with other variables, except for the positive and high association with skull size and moderate correlation with conditional evolvability; (2) Conditional evolvability was

positively and highly correlated with autonomy and moderately correlated with flexibility, skull size, neuroface and total integration modularity ratios, and negatively correlated with the morphological integration index (r^2); (3) Flexibility and autonomy were positively correlated between them and additionally presented the same pattern of relationship with all remaining variables. Particularly interesting were the positive and significant correlations of flexibility and autonomy with the modularity ratios, as well as the negative correlation of flexibility and autonomy with the morphological integration index (r^2), constraints, and % of variation associated with $p_{\max}$; (4) Constraints and % of variation associated with $p_{\max}$ were also highly correlated (Fig. 1e) and additionally presented the same pattern of relationship with all remaining traits, with a strong correlation with morphological integration index and a negative correlation with modularity ratios.

Discussion

Both respondability (the total amount of evolutionary change) and evolvability were strongly correlated with absolute size. The positive relationship between absolute size and evolvability and respondability would be a trivial result, if we were dealing with non-standardized matrices, because if a fixed selection vector with the same magnitude and direction is applied upon two populations of organisms of different sizes, the larger one will have a larger response to selection and therefore a larger projection of that response upon the selection vector (evolvability). In other words, both are measures related to the magnitude of evolutionary change and therefore are scale-dependent. The same holds for conditional evolvability, that measures the population ability to respond to selection in one direction after conditioning on the stabilizing selection exerted by the correlation among traits. However, we presented results based on average standardized matrices that, in principle, were adjusted for differences in scale (every V/CV matrix is divided, element-by-element, by the result of the cross-product of the vector of averages: $\mathbf{V}\mathbf{V}^T$, where $\mathbf{V}$ is the vector of averages and $\mathbf{V}^T$ is the transposed vector). Standardized and non-standardized results were basically the same and we presented in Tables 2 and 3 the standardized results. Notice that despite this scale-correction, respondability and evolvability still show a strong correlation with absolute size of the organisms. This result is intriguing, but we can only speculate at this point that for some reason the magnitude of evolution was larger on larger organisms even after correcting for differences in scale. Moreover, this is not an artifact of the scaling standardization applied here since we tried different scaling factors (like using the skull size to scale the matrices) with

the same results. Notice also that evolvability and respondability have no correlation with any measure of constraints or modularity. These results are probably due to the macroevolutionary scale of this study. We believe that infrageneric studies relating modularity and integration to measures of evolvability and respondability will be more successful due to, usually but not necessarily, the smaller differences in the scale (size) of the organisms involved.

Conversely, evolutionary flexibility as well as autonomy were independent of absolute size (scale), because both are defined as a ratios: between evolvability and respondability in the first case, and between conditional evolvability and evolvability in the second. We will focus on these two measures (flexibility and autonomy), because we think they are the most informative for the discussion on the evolutionary consequences of morphological integration and modularity on a macroevolutionary scale. However, it is important to note that evolvability and respondability are essentially measures of the magnitude of the evolutionary change, while autonomy and flexibility are measures more related to the pattern (direction) of evolutionary change. Depending on the questions pursued and the scale of the study (micro or macroevolutionary), some of these statistics may be more useful than others.

Evolutionary flexibility is defined here as the capacity of a given species or morphological complex structure (represented by the V/CV matrix) to respond in the direction that selection is pushing. Accordingly, evolutionary flexibility can be measured by the angle (or the cosine of the angle) formed between the evolutionary response and the selection gradient. If the evolutionary response is closely aligned with the selection gradient, then the angle is small and the correlation between the vectors is high. Accordingly, we can say that the structure in question is evolutionarily flexible in that direction of the morphospace. Conversely, if the evolutionary response is not closely aligned with the selection gradient, then the angle is large and the correlation between the vectors is low. Consequently, we can say that such structure is not flexible in that direction of the morphospace, which means that V/CV patterns heavily deflected the evolutionary response from the path through which selection has pushed the population. Autonomy ($\bar{\alpha}$) is the proportion of evolvability that remains after conditioning on others traits under stabilizing selection and can be estimated by the ratio between conditional evolvability and evolvability. Notice that both autonomy and flexibility were highly correlated in our sample (Fig. 3) and also presented the same pattern of correlation with all remaining variables analyzed (Table 3).

Evolutionary constraints are defined here as any limitation on the course or outcome of evolution (Arnold 1992), which is usually translated as bias on the direction, ratio or magnitude of evolutionary change. On the

Fig. 3 Plot of the autonomy against flexibility

following discussion, it is important to keep in mind that the morphological integration index is a measure of constraints related directly to the matrix itself (see Cheverud et al. 1989; Marroig and Cheverud 2001), while the average vector correlation of the responses with $p_{\max}$ is a measure related to the interaction between selection and constraints embodied in the P -matrix (or G -matrix). Additionally, considering that the morphological integration index r^2 captures the overall magnitude of correlation among traits, the average vector correlation between response and $p_{\max}$ (constraints) is a metric that evaluates the evolutionary consequence of this magnitude.

Our results revealed a clear association among the overall morphological integration, the degree of modularity and the relative capacity of each mammalian taxa to respond to selection. In general, the higher the overall integration in the skull (i.e., tighter association between traits), the lower the ability to respond in the same direction to which selection is pushing (i.e., lower evolutionary flexibility); marsupials were clear examples of this behavior. In contrast, taxa with low overall integration respond more often in the direction of the simulated selection vectors, i.e., had higher evolutionary flexibility, like most primates in our sample. Moreover, the response to random selection vectors of taxa with low flexibilities most of the time followed the main axis of variation in the population ($p_{\max}$), which is a size-related axis. Less integrated taxa, in turn, presented only a fraction of the responses aligned with $p_{\max}$. This means that highly integrated taxa, like marsupials, tended to exhibit size-related responses regardless of the selection vector applied, while loosely integrated mammals could generally follow the

evolutionary path pushed by natural selection. Furthermore, mammals with larger modularity ratios were exactly those with lower overall magnitudes of integration and had higher evolutionary flexibility and autonomy, and less influence of the constraints; the reverse was true for those taxa with lower modularity ratios (had larger magnitude of integration, lower flexibility and autonomy, and higher constraints values, Porto et al. 2009).

In our companion work, we provided evidence that changes in modularity in mammals are not related to pattern evolution, but are instead related to changes in the magnitude of integration within and between modules (Porto et al. 2009). Our results on the responses to random selection vectors suggest that this has interesting evolutionary implications. First, the number of selection responses aligned with $p_{\max}$ presented a high positive correlation with the morphological integration magnitude (r^2), evidencing that more integrated skulls responded more often along the line of $p_{\max}$; methaterians and *Papio* (baboons) are good instances of this norm. Another important finding in these lineages was that, despite selection was uniformly distributed in the morphospace (excluding size selection vectors), around 90% of all responses were aligned with size. This illustrates that larger overall magnitude of integration strongly bias the direction in which evolutionary change can happen. Additionally, in groups with high overall integration, the distribution of vector correlations between responses to selection and $p_{\max}$ was highly skewed towards higher correlations when compared to lineages with low overall integration (Fig. 4).

Conversely, higher overall integration (r^2) was strongly and negatively associated with the capacity of a taxon to respond in the direction of selection (Fig. 2). Taxa with high overall integration generally have poorly modularized skulls (as measured by the modularity ratios—Porto et al. 2009), and, therefore, low modularization was associated to lower evolutionary flexibility (Fig. 5), as expected by the theory of modularity (Berg 1960; Cheverud 1984; Wagner and Altenberg 1996). Moreover, these groups with the highest integration also presented the highest percentages of within-group variation explained by $p_{\max}$ ($r = 0.957$). Taken together, these results show that an overall tight integration of traits constrains evolutionary change to occur along the axis defined by $p_{\max}$, implying in low evolutionary flexibility and autonomy. In other words, in those groups where the overall magnitude of integration was larger, the amount of the total variation attributed to size was also larger (see Fig. 3 in Porto et al. 2009); in these groups, $p_{\max}$ (variation related to size) acts as a strong constraint on the potential evolutionary change. Two good examples are Peramelimorphia and Diprotodontia, which presented around 90% of all responses to random selection

Fig. 4 The vector correlation distribution observed between $p_{\max}$ and the Δz for two groups: *Homo* and Didelphimorphia. Notice that *Homo* yields a much more uniform distribution, meaning that many evolutionary responses are not aligned with $p_{\max}$, while in Didelphimorphia the bulk of responses presented high correlations with $p_{\max}$

vectors aligned with $p_{\max}$ and, at the same time, almost 80% of the total variation explained by $p_{\max}$ alone. In fact, this result is even more impressive if we consider that the size dimension is only a tiny portion of the total morphospace available (can be calculated as $(1/2)^{n-1}$ where n corresponds to the number of dimensions, in our case 35). For example, with only two axis, the total space corresponding to size variation is 50%, with three traits would be 25%, with four traits 12.5%, and with 35 traits is only 0.0000000058% of the total space available.

It is important to note that although our dataset is large and representative, some mammalian groups have not been sampled, and with the exception of primates, we have little resolution of the variation within orders. Nevertheless, given the diversity of skulls analyzed, it is reasonable to conclude that morphological integration patterns are conserved among mammals, while magnitudes are variable (see our companion paper Porto et al. 2009). This has already been demonstrated for New World monkeys (Marroig and Cheverud 2001) and preliminary analyses of

Fig. 5 Plot of the modularity ratios (total integration and neuroface) against evolutionary flexibility and constraints

other primates (Oliveira et al. 2009) and Didelphimorphia (Shirai and Marroig, submitted), indicate that, within mammalian orders, the magnitude of integration is certainly much more plastic than the patterns.

Our results demonstrate that this has important evolutionary consequences showing that the studies of morphological integration magnitudes deserve more attention than they had in the past. Given that integration patterns among populations is basically similar in all mammals sampled, evolutionary changes that decrease the overall magnitude of integration will impact evolutionary flexibility and autonomy, especially if between-module correlation is reduced more than within modules correlation, as we found for mammals (Porto et al. 2009). Therefore, enhanced modularity will allow a population to track more closely adaptive environmental changes because the constraints imposed by the genetic variance/covariance among traits will not be strong and generally the evolutionary response will follow the direction of natural selection. Our results also allow us to predict that mammalian groups with high magnitudes of integration in the skull will have their evolutionary changes strongly biased by the line of least evolutionary resistance ($p_{\max}$) which in our samples is basically attributable to size (allometric variation). The overall magnitude of morphological integration is not associated with the absolute size of organisms but it is strongly associated with the proportion of the total variation in skull morphology captured by size.

At this point we can only speculate about the mechanisms causing stasis of pattern and evolution of magnitudes in the integration of the mammalian skull. However, it seems likely that pattern conservation is due to internal stabilizing selection acting on largely shared developmental/functional processes and relationships among traits (Porto et al. 2009; Estes and Arnold 2007). Changes in magnitudes of integration could be a result of genetic drift, natural selection or both (Jones et al. 2003); nevertheless, considering the potential adaptive significance of those changes, we suspect that they were driven by selection. Following this rationale, although patterns of integration have been strongly refractory to change due to constraints imposed by stabilizing selection on basic developmental processes, directional selection could promote significant changes by acting on magnitudes of integration in the mammalian skull. Changes in magnitude, therefore, are the key to understand cranial diversity in mammals.

Conclusions

The evolution of modularity in the mammalian skull was dominated by a stasis of integration patterns associated

with changes in overall integration magnitudes. Larger magnitudes were associated with less distinct modules, larger variation associated with $p_{\max}$, less evolutionary flexibility, and stronger constraints. In contrast, lower overall magnitudes of integration were associated with more noticeable modules in the skull, smaller fraction of the total variation associated with $p_{\max}$ and, consequently, more evolutionary flexibility and weaker constraints. Therefore, the apparent plasticity in the integration magnitude observed in mammals probably had important consequences for the evolutionary potential of these lineages, with stronger integration associated with a smaller capacity to respond in the same direction of selection, and with weaker integration associated to responses more aligned to selection. We suspect that pattern stasis is due to stabilizing selection acting through shared developmental and functional processes, while magnitude changes are due to directional selection.

Acknowledgements We thank Campbell Rolian and Katherine Willmore for the opportunity to present this data in the 2008 AAPA meeting. Many thanks also to an anonymous reviewer for comments that helped us to improve an earlier version of the text, and to Thomas Hansen, for his suggestion of the term flexibility for the correlation between selection vector and the evolutionary responses. We are also grateful to those people and institutions that provided generous help and access to mammal collections: E. Westwig, R. Voss and R. MacPhee (AMNH); L. Tomsett, P. Jenkins and D. Hills (BMNH); B. Paterson, W. Stanley, and L. Heaney (FMNH); J. Chupasko and M. Omura (MCZ); M. Godinot, F. Renoult, C. Lefrève and J. Cuisin (MNHN); L. Salles, J. Oliveira, F. Barbosa, and S. Franco (MNRJ); S. Costa and J. de Queiroz (MPEG); Staff at the Museo de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos; M. de Vivo and J. Gualba (MZUSP); H. van Grouw and B. Bekkum-Ansari (Naturalis); R. Thorington, R. Chapman and L. Gordon (NMNH); M. Harman (Powell-Cotton Museum); Georges Lenglet (RBINS); E. Gilissen and W. Wendelen (RMCA); R. Asher, I. Thomas and D. Willborn (ZMB); F. Smith and S. Tardif (University of Tennessee, and the Oak Ridge Associated Universities Marmoset Research Center); C. Zollikofer, M. Ponce de León and T. Jashashvili (Zürich Universität); R. Smith (Museu de Anatomia da UNIFESP); E. Liberti (Museu de Anatomia “Professor Alfonso Bovero”). This research was supported by grants and fellowships from Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Ensino Superior (CAPES), Conselho Nacional de Pesquisas (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), and an American Museum of Natural History Collections Study Grant.

References

- Akesson, M., Bensch, S., & Hasselquist, D. (2007). Genetic and phenotypic associations in morphological traits: A long term study of great reed warblers *Acrocephalus arundinaceus*. *Journal of Avian Biology*, 38, 58–72. doi:10.1111/j.2006.0908-8857.03669.x.
- Ance, L. W., & Fontana, W. (2000). Plasticity, evolvability and modularity. *The Journal of Experimental Zoology*, 288, 242–283. doi:10.1002/1097-010X(20001015)288:3<242::AID-JEZ5>3.0.CO;2-O.

- Arnold, S. J. (1981). Behavioral variation in natural populations. I. Phenotypic, genetic and environmental correlations between chemoreceptive responses to prey in the garter snake, *Thamnophis elegans*. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 35, 489–509. doi:[10.2307/2408197](https://doi.org/10.2307/2408197).
- Arnold, S. J. (1992). Constraints on phenotypic evolution. *American Naturalist*, 140, S85–S107. doi:[10.1086/285398](https://doi.org/10.1086/285398).
- Arnold, S. J., & Phillips, P. C. (1999). Hierarchical comparison of genetic variance-covariance matrices. II. Coastal-island divergence in the garter snake, *Thamnophis elegans*. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 53, 1516–1527. doi:[10.2307/2640897](https://doi.org/10.2307/2640897).
- Berg, R. L. (1960). The ecological significance of correlation pleiades. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 14(2), 171–180. doi:[10.2307/2405824](https://doi.org/10.2307/2405824).
- Chernoff, B., & Magwene, P. M. (1999). Morphological integration: 40 years later. In E. C. Olson & R. L. Miller (Eds.), *Morphological integration*. Chicago: University of Chicago Press.
- Cheverud, J. M. (1982). Phenotypic genetic and environmental morphological integration in the cranium. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 36(3), 499–516. doi:[10.2307/2408096](https://doi.org/10.2307/2408096).
- Cheverud, J. M. (1984). Quantitative genetics and developmental constraints on evolution by selection. *Journal of Theoretical Biology*, 110, 155–172. doi:[10.1016/S0022-5193\(84\)80050-8](https://doi.org/10.1016/S0022-5193(84)80050-8).
- Cheverud, J. M. (1988). A comparison of genetic and phenotypic correlations. *Evolution*, 42, 958–968.
- Cheverud, J. M. (1995). Morphological integration in the saddle-back tamarin (*Saguinus fuscicollis*) cranium. *American Naturalist*, 145, 63–89.
- Cheverud, J. M. (1996). Developmental integration and the evolution of pleiotropy. *American Zoologist*, 36, 44–50.
- Cheverud, J. M., & Marroig, G. (2007). Comparing covariance matrices: Random skewers method compared to the common principal components model. *Genetics and Molecular Biology*, 30(2), 461–469. doi:[10.1590/S1415-47572007000300027](https://doi.org/10.1590/S1415-47572007000300027).
- Cheverud, J. M., Wagner, G., & Dow, M. M. (1989). Methods for the comparative analysis of variation patterns. *Systematic Zoology*, 38(3), 201–213. doi:[10.2307/2992282](https://doi.org/10.2307/2992282).
- Estes, S., Arnold, S. J. (2007). Resolving the paradox of stasis: Models with stabilizing selection explain evolutionary divergence on all timescales. *American Naturalist*, 169, 227–244.
- Hansen, T. F. (2003). Is modularity necessary for evolvability? Remarks on the relationship between pleiotropy and evolvability. *Bio Systems*, 69(2–3), 83–94. doi:[10.1016/S0303-2647\(02\)00132-6](https://doi.org/10.1016/S0303-2647(02)00132-6).
- Hansen, T. F., & Houle, D. (2008). Measuring and comparing evolvability and constraint in multivariate characters. *Journal of Evolutionary Biology*, 21(5), 1201–1219. doi:[10.1111/j.1420-9101.2008.01573.x](https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2008.01573.x).
- House, C. M., & Simmons, L. W. (2005). The evolution of male genitalia: patterns of genetic variation and covariation in the genital sclerites of the dung beetle *Onthophagus taurus*. *Journal of Evolutionary Biology*, 18, 1281–1292. doi:[10.1111/j.1420-9101.2005.00926.x](https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2005.00926.x).
- Jones, A. G., Arnold, S. J., Borger, R. (2003). Stability of the G-matrix in a population experiencing pleiotropic mutation, stabilizing selection, and genetic drift. *Evolution*, 57, 1747–1760.
- Lande, R. (1979). Quantitative genetic analysis of multivariate evolution applied to brain: Body size allometry. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 33, 402–416. doi:[10.2307/2407630](https://doi.org/10.2307/2407630).
- Lovsfold, D. (1986). Quantitative genetics of morphological differentiation in *Peromyscus*. I. Tests of the homogeneity of genetic covariance structure among species and subspecies. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 40, 559–573. doi:[10.2307/2408577](https://doi.org/10.2307/2408577).
- Marroig, G., & Cheverud, J. M. (2001). A comparison of phenotypic variation and covariation patterns and the role of phylogeny ecology and ontogeny during cranial evolution of New World monkeys. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 55(12), 2576–2600.
- Oliveira, F. B., Porto, A., & Marroig, G. (2009). Covariance structure in the skull of Old World Monkeys: A case of pattern stasis and magnitude evolution. *Journal of Human Evolution*, in press.
- Olson, E. C., & Miller, R. L. (1958). *Morphological integration*. Chicago: University of Chicago Press.
- Porto, A., Oliveira, F. B., Shirai, L. T., De Conto, V., & Marroig, G. (2009). The evolution of modularity in the mammalian skull I: Morphological integration patterns and magnitudes. *Evolutionary Biology*. doi:[10.1007/s11692-008-9038-3](https://doi.org/10.1007/s11692-008-9038-3).
- Reale, D., & Festa-Bianchet, M. (2000). Quantitative genetics of life-history traits in a long-lived wild mammal. *Heredity*, 85, 593–603. doi:[10.1046/j.1365-2540.2000.00795.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2540.2000.00795.x).
- Reusch, T., & Blanckenhorn, W. U. (1998). Quantitative genetics of the dung fly *Sepsis cynipsea*: Cheverud's conjecture revisited. *Heredity*, 81, 111–119. doi:[10.1046/j.1365-2540.1998.00368.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2540.1998.00368.x).
- Roff, D. A. (1995). The estimation of genetic correlations from phenotypic correlations—A test of Cheverud's conjecture. *Heredity*, 74, 481–490. doi:[10.1038/hdy.1995.68](https://doi.org/10.1038/hdy.1995.68).
- Schlosser, G., & Wagner, G. P. (2004). *Modularity in development and evolution*. Chicago: University of Chicago Press.
- Schluter, D. (1996). Adaptive radiation along genetic lines of least resistance. *Evolution*, 50, 1766–1774.
- Wagner, G. P., & Altenberg, L. (1996). Complex adaptations and the evolution of evolvability. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 50(3), 967–976. doi:[10.2307/2410639](https://doi.org/10.2307/2410639).
- Wagner, G. P., Pavlicev, M., & Cheverud, J. M. (2008). The road to modularity. *Nature Reviews. Genetics*, 8, 921–931. doi:[10.1038/nrg2267](https://doi.org/10.1038/nrg2267).
- Waitt, D. E., & Levin, D. A. (1998). Genetic and phenotypic correlations in plants: A botanical test of Cheverud's conjecture. *Heredity*, 80, 310–319. doi:[10.1046/j.1365-2540.1998.00298.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2540.1998.00298.x).

**Covariance structure in the skull of Catarrhini:
a case of pattern stasis and magnitude evolution**

Felipe Bandoni de Oliveira¹, Arthur Porto¹ and Gabriel Marroig^{1,2}

¹Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, Rua do Matão, 277, 05508-900, São Paulo, Brazil.

²Corresponding author: gmarroig@usp.br

Running title: Covariance structure in Catarrhini

Keywords: Quantitative Genetics; P-matrix; G-matrix; covariance structure; skull morphology; Old World monkeys; apes.

IN PRESS: Journal of Human Evolution, 2009

Abstract

The study of the genetic variance/covariance matrix (G-matrix) is a recent and fruitful approach in evolutionary biology, providing a window to investigate the evolution of complex characters. Although G-matrix studies were originally conducted for microevolutionary timescales, they could be extrapolated to macroevolution as long as the G-matrix remains relatively constant, or proportional, along the period of interest. A promising approach to investigate the constancy of G-matrices is to compare their phenotypic counterparts (P-matrices) in a large group of related species; if significant similarity is found among several taxa, it is very likely that the underlying G-matrices are also equivalent. Here we studied the similarity of covariance and correlation structure in a broad sample of Old World monkeys and apes (Catarrhini). We made phylogenetically structured comparisons of correlation and covariance matrices derived from 39 skull traits, ranging from between species to the superfamily level. We also compared the overall magnitude of integration between skull traits (r^2) for all Catarrhini genera. Our results showed that P-matrices were not strictly constant among catarrhines, but the amount of divergence observed among taxa was generally low. There was significant and positive correlation between the amount of divergence in correlation and covariance patterns among the 30 genera and their phylogenetic distance derived from a recently proposed phylogenetic hypothesis. Our data demonstrate that the P-matrices were kept relatively similar along the evolutionary history of catarrhines, and comparisons with the G-matrix available for a New World monkey genus (*Saguinus*) suggests that the same holds for all anthropoids. The magnitude of integration, in contrast, presented considerable variation between genera, indicating that evolution of the magnitude, rather than the pattern of inter-trait correlations, might have played an important role on the diversification of the catarrhine skull.

Introduction

The study of evolution of organisms is the study of changes in a complex system in which several characters interact by shared genetic, developmental or functional pathways. Within the framework of Quantitative Genetics, these interactions are summarized by the genetic variance-covariance matrix (G-matrix). The examination of covariance (and correlation) patterns is essential to understand, for instance, how selective pressures could determine coordinated evolution in suites of traits (Steppan et al., 2002). Although the study of G-matrix was originally developed for microevolutionary timescales (typically a few generations), it could be extrapolated to macroevolution under some conditions. The most crucial of them is the constancy, or proportionality, of the G-matrix along the evolutionary period of interest (Lande, 1979). Many theoretical models have been developed to predict the evolution of the G-matrix, but none of them assure its evolutionary constancy, leaving this premise to be empirically tested in a group-specific basis (Lande, 1980; Turelli, 1988). The G-matrix, however, is difficult to obtain empirically. The estimation of genetic correlations and covariances requires hundreds, and sometimes thousands, of individuals with known genealogies, a research program difficult to pursue even in the most favorable circumstances (Steppan et al., 2002; Matta and Bitner-Mathe, 2004; McGuigan, 2006). In many cases, an accurate estimation of correlation and covariance patterns is ultimately impossible, like in fossil or rare species. Nevertheless, there is considerable evidence supporting that the G-matrix could be substituted for its phenotypic correspondent, at least for morphological characters (Cheverud, 1988; Roff, 1995; Cheverud, 1996; Reusch and Blanckenhorn, 1998; Waitt and Levin, 1998; Reale and Festa-Bianchet, 2000; House and Simmons, 2005; Akesson et al., 2007). Phenotypic correlation and covariance patterns, in contrast to genetic correlation/covariance patterns, are much easier to obtain, as they require relatively smaller sample sizes and no data from genealogy (Cheverud, 1988). Therefore, one promising approach to check for the constancy of G-matrices is to analyze their phenotypic counterparts in a broad phylogenetic context, spanning considerable evolutionary timescales (Marroig and Cheverud, 2001). Given that phenotypic patterns are the result of genetic and environmental influences, the eventual constancy or proportionality of P-matrices in several related taxa constitutes strong evidence that the underlying G-matrices also remained constant. The alternative explanation would be that the corresponding environmental matrices changed in such a way to mask eventual evolutionary changes on the G-matrix, which is highly improbable if the number of taxa analyzed and the time scale are sufficiently large.

Therefore, in order to study the evolutionary dynamics of G-matrices, we tested the similarity of the correlation and covariance patterns in the skull of most species of Catarrhini (Old World monkeys and apes). We thoroughly sampled this large, monophyletic primate group and compared phenotypic correlation and variance/covariance patterns among 61 species, thirty genera, four

subfamilies, three families, and two superfamilies. It is important to note that these comparisons were taxonomically and also phylogenetically structured, because the classification adopted here reflects the phylogenetic relationships among catarrhines. Additionally, we tested the similarity of catarrhine P-matrices and one New World monkey G-matrix (*Saguinus*), which could provide indirect information on the evolutionary dynamics of genotypic matrices in Catarrhini. In this sense, this study can be seen as an extension of Marroig & Cheverud's (2001) approach for the New World monkeys and Ackermann's (2002) for Hominidae.

We also compared the overall magnitude of correlation coefficients within each genus correlation matrix. Changes in magnitudes of integration among traits may influence the ability of a species to respond to different selection pressures (Marroig et al., 2008) and therefore might have played an important role in Catarrhini skull diversification. Additionally, based on a recently proposed phylogeny (Vos, 2006), we also investigated whether the evolutionary history of this group had any influence over the similarity in covariance/correlation patterns and magnitudes.

Methods

Sample: We examined 6,012 Catarrhini specimens deposited in the following institutions: American Museum of Natural History (AMNH, New York), Anthropological Institute and Museum of the University of Zürich (AIM, Zürich), Field Museum of Natural History (FMNH, Chicago), Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP, São Paulo), Museu de Anatomia Humana Professor Alfonso Bovero (MAHPAB, São Paulo), Museu de Anatomia Humana da Universidade Federal de São Paulo (MAH-UNIFESP, São Paulo), Natural History Museum (BNHM, London), Powell-Cotton Museum (PCM, Birchington-on-Sea), Museum für Naturkunde (ZMB, Berlin), Museum National d'Histoire Naturelle (MNHN, Paris), Museum of Comparative Zoology of the Harvard University (MCZ, Cambridge, USA), Nationaal Natuurhistorisch Museum (Naturalis, RMNH, Leiden), National Museum of Natural History (NMNH, Washington DC), Royal Museum for Central Africa (RMCA, Tervuren) and Royal Belgian Institute for the Natural Sciences (RBINS, Brussels). A complete list of studied specimens is available upon request.

We recorded three-dimensional coordinates for 36 landmarks using a digitizer (Microscribe 3DX – figure 1), and based on them calculated a set of 39 linear measurements describing cranial morphology, averaging those present on both sides of the skull (Table 1). The same landmarks and measurements were already digitized for New World monkeys and a detailed description can be found in Marroig & Cheverud (2001). If a specimen had any lateral landmarks damaged, we used the measurement on the intact side as the average. We restricted the sample to adult specimens, i.e., in which dentition was completely functional and spheno-occipital and spheno-ethmoid sutures were fused. We digitized the whole sample twice, allowing repeatability calculations and precise assessment

of measurement error. Repeatability calculated separately for each of the 30 genera and 39 characters ranged from 0.85 to 1.00, with an average of 0.98 and a standard deviation of 0.05. Measurement error in our data is low and should have a negligible impact on the results; therefore, we used the average of the repeated measurements for all subsequent analyses.

Taxonomy: We followed the Catarrhini arrangement proposed by Groves (2005). Although there is still much taxonomic dispute, particularly at the species level, there is considerable stability in and above the genus level, for which taxonomy largely reflects phylogenetic history (Figure 2; Vos 2006). The only exception is the genus *Trachypithecus*, which is probably a paraphyletic association of two monophyletic subgenera, *Trachypithecus* and *Kasi*, with the monophyletic genus *Semnopithecus* (Vos, 2006; Osterholz et al., 2008). In our analyses, we considered these three taxa as separate genera; grouping *Trachypithecus* and *Kasi* in one genus, however, did not lead to different results. No subfamilies were recognized within Hylobatidae and Hominidae (Groves, 2005); in this case, “Hylobatinae” and “Homininae” matrices are identical to their family level counterparts.

Comparisons of correlation/covariance patterns: Some sources of variation present in our data were not of immediate interest for this study. To us, the proper representation of the covariance structure for any biological group is one that removes sources of variation and covariation that are not directly related to the genotype-phenotype map *per se*. For example, if one were to estimate a P-matrix without regard to sexual differences within a population, a substantial part of the correlation observed between traits would be due to extant differences between the two sexes, and not directly to the underlying genetic architecture. Therefore, differences between sex, subspecies and species, as well as their possible interactions, were explored through multivariate analysis of variance tests based on Wilk’s lambda statistic, and considered significant at $p < 0.05$. As a result, we identified and controlled for significant sources of variation when estimating the residual pooled within-group phenotypic correlation and variance/covariance matrices for each taxa (referred hereon for simplicity as correlation and V/CV matrices only).

We compared V/CV matrices using the random skewers method, which is based on the multivariate response to selection equation (Lande, 1979; Cheverud, 1996). This method consists in multiplying each matrix by random selection vectors and comparing the response vectors between each pair of matrix. The cosine of the angle formed between any two vectors is a measure of their correlation. The resultant response vectors are then correlated and the average across a large number of vectors is a measure of the similarity between the matrices compared. In our case, we analyzed the evolutionary responses of each pair of V/CV matrices to 1,000 random selection vectors, extracted from a uniform distribution and normalized to a length of one (Cheverud and Marroig, 2007). Because each random selection vector applied on both matrices is equal, any differences in the orientation of the responses would be due to differences in the matrices compared. Therefore, the correlation between

the response vectors is a measure of matrix similarity. Average vector correlations lower than -0.40 or greater than 0.40 are statistically significant for 39-element vectors ($p < 0.001$). Correlation matrices were compared using element-wise matrix correlations (Cheverud et al., 1989). In this procedure, we evaluated statistical significance through Mantel's tests, comparing the original matrix correlation to a distribution expected by chance; if the original correlation was greater than 95% of 10,000 randomly simulated correlations, we considered the patterns significantly similar (Cheverud et al., 1989).

Sampling error associated to the estimation of individual matrix elements might affect comparisons by limiting the maximum possible correlation between any two matrices. Therefore, the maximum possible correlation is not one, but an $r_{\max}$ value obtained by taking the square root of the product of the repeatability of the involved matrices. The repeatability-adjusted matrix correlation is a function of $r_{\max}$:

$$r_{\text{adj}} = r_{\text{obs}} / r_{\max}$$

where r_{obs} is the observed matrix correlation and r_{adj} is the adjusted matrix correlation (Cheverud, 1996).

The repeatability (t) of a matrix is defined as the proportion of the variance in the observed elements (V_{obs}) due to variation in the true population values (V_t), i.e. excluding variation due to sampling error (V_{err}) (Cheverud, 1996). V_{err} is the squared standard error of the average correlation in the matrix, and therefore correlation matrix repeatabilities can be directly calculated:

$$t = (V_{\text{obs}} - V_{\text{err}}) / V_{\text{obs}}$$

We determined V/CV matrices repeatabilities with a self-correlation procedure. Using a Monte Carlo approach, we re-sampled the original data one-hundred times, holding sample size constant, and then calculated V/CV matrices for each of the re-samples, comparing them to the original matrix with the random skewers method. The average vector correlation of the response vectors is, in this case, the matrix repeatability (Marroig and Cheverud, 2001).

Overall magnitude of inter-trait correlations: We evaluated the overall magnitude of the correlation coefficients within each genus correlation matrix with the coefficient of determination (r^2), which is simply the average of squared correlation coefficients (Cheverud et al., 1989). The r^2 measures the overall level of correlation among all traits and is regarded as an important descriptor in morphological integration studies (Cheverud et al., 1989; Porto et al., 2008). It is also scale-independent, making it particularly suitable to compare taxa that vary considerably in size, such as the primate groups studied here. In order to statistically test for differences in r^2 between taxa, we bootstrapped the data for each genus, calculating the correspondent correlation matrices and r^2 for each of the one-hundred re-samplings. Considering that nearly all of our matrices are pooled-within groups matrices already accounting for other sources of variation (such as sex, species, or sex-species interaction), we used the

residuals of the appropriate MANOVA for each genus as the data input for the this test. After generating the r^2 distribution for each genus, we then performed an ANOVA followed by Tukey's test to check for significant variations in r^2 .

Phylogenetic and morphological distances: In order to investigate if the similarity observed in V/CV and correlation patterns has been influenced by the phylogenetic history of catarrhines, we built a phylogenetic distance matrix between genera. Phylogenetic distances were extracted from a recently proposed supertree covering 219 primate species (Figure 2; Vos 2006); phylogenetic distances are the branch lengths of the supertree, which were calculated based on molecular data only. Correlating the phylogenetic distances to the matrix similarity results informs the extent to which V/CV and correlation patterns are historically structured. We used Vos's phylogenetic hypothesis (2006) because it includes all catarrhine genera and provides branch lengths for all taxa of interest to this study. Its topology, however, is very similar to other hypotheses available for subsets of the taxa investigated here (Purvis, 1995; Page and Goodman, 2001; Xing et al., 2005; Chatterjee, 2006; Osterholz et al., 2008). Therefore, using a different phylogenetic hypothesis would not lead to significantly different results.

We also determined morphological distances for each pair of genera. We calculated the pooled within-group V/CV matrix of all catarrhines ($\mathbf{W}$), accounting for all undesired sources of variation (e.g., sex and species) as described above. We then used the inverse of this matrix ($\mathbf{W}^{-1}$) to calculate Mahalanobis distances (D^2) between genera:

$$D^2_{ij} = (\mu_i - \mu_j)' \mathbf{W}^{-1} (\mu_i - \mu_j)$$

where μ_i is the vector of means for the i^{th} population, μ_j is the vector of means for the j^{th} population (Ackermann, 2002). Mahalanobis distance (D^2) is a statistic that measures dissimilarity using information on population variances and covariances, and can be used to calculate the morphological distance between two taxa (i and j). Therefore, we built a morphological distance matrix, which was used to investigate whether dissimilarities observed in covariance/correlation structure among catarrhines corresponded to the distances between their multivariate mean. Additionally, we checked if the pairwise differences in the integration index (r^2) at the genus level were correlated with both morphological and phylogenetic distances. All comparisons were made using matrix correlation followed by Mantel's test, with 10,000 permutations.

Direct comparisons of P and G-matrices: Cheverud (1996) used the same cranial characters measured in this study to estimate the G-matrix for *Saguinus*, a New World Monkey genus. Considering the large phylogenetic gap that separates *Saguinus* from Catarrhini (Vos, 2006), finding significant similarity between its G-matrix and catarrhine P-matrices would constitute a strong evidence of the relative constancy of the G-matrix along the evolution of these groups. Additionally, such finding would also

support the hypothesis of similarity of the relationship between P and G-matrices in catarrhines, and a suggestion that the same pattern might hold for all anthropoids. Therefore, we compared the *Saguinus* genetic V/CV matrix and its correlation equivalent to the phenotypic matrices of each Catarrhini genus using random skewers and matrix correlations, respectively.

Results

Similarity in V/CV and correlation matrices: In general, V/CV and correlation matrix similarities were quite high in almost all comparisons made, suggesting the existence of a correlation/covariance structure largely shared by all Old World monkeys and apes. This pattern was found among species within genera, but also extended to higher levels. More dissimilar patterns were observed at lower taxonomic levels, like species and genera, perhaps because at these levels sample sizes, and therefore matrix repeatabilities, were lower.

All V/CV and correlation matrix comparisons between species in the same genus were significant at the $p < 0.001$ level. Only 6 out of 180 correlation matrix comparisons exhibited similarity values lower than 0.7 after adjusting for matrix repeatability (Table 2). Lower raw similarities were consistently associated with lower sample sizes and, consequently, with lower matrix repeatabilities ($r = 0.453$; $p < 0.001$); such association disappears when comparisons were adjusted. Therefore, at this level, the general pattern was one of high and significant similarity in covariance/correlation matrices.

At the genus level, the random skewers method revealed significant similarity in all V/CV matrix comparisons (Table 3). The lowest values were found for comparisons between *Mandrillus* and *Nomascus* (0.377 raw and 0.398 adj) and between *Papio* and *Nomascus* (0.393 raw and 0.401 adj). On average, comparisons involving *Mandrillus*, *Nomascus*, *Papio* and *Miopithecus* were significantly lower than among other genera (ANOVA followed by Tukey's post-hoc test, $p < 0.05$).

Similarly, all 435 comparisons of correlation matrices between genera were statistically significant at $p < 0.001$ (Table 4). Only three comparisons revealed moderate to low similarities (lower than 0.4) after the adjustment for repeatabilities: *Homo* x *Papio* (0.297 raw and 0.331 adj), *Homo* x *Mandrillus* (0.318 raw and 0.377 adj), and *Papio* x *Miopithecus* (0.350 raw and 0.396 adj). In fact, comparisons involving *Miopithecus*, *Papio*, *Gorilla* and *Homo* were significantly lower than other genera, both raw and adjusted (ANOVA followed by Tukey's post-hoc test, $p < 0.05$).

It is noteworthy that the average similarity results were almost the same if calculated by V/CV or by correlation matrices (Figure 3). Most of the differences between V/CV and correlation matrices results were lower than 0.05 and the largest was only 0.132 (*Homo*). The five lowest average similarities in V/CV patterns were also the lowest observed in correlation patterns (*Mandrillus*, *Papio*, *Miopithecus*, *Homo* and *Gorilla*). *Cercopithecus*, *Chlorocebus*, *Trachypithecus*, *Macaca*, *Colobus*, and *Nasalis* yielded average

similarities higher than 0.80 both in V/CV and correlation matrix comparisons. The most notable differences were observed for *Homo*, *Rhinopithecus*, *Pygathrix*, *Simias*, *Allenopithecus*, and *Gorilla*.

At the subfamily, family and superfamily levels, all V/CV and correlation matrices were highly similar (Table 5). Raw comparison values tended to be slightly higher in groups with larger sample sizes (e.g., Cercopithecidae), but such tendency was not statistically significant, and disappeared when comparisons were adjusted for matrix repeatability.

Raw vector correlations for V/CV matrices were, on average, 0.16 higher than their pairwise matrix correlation counterparts. Such difference was reduced to 0.02 when comparisons were adjusted for matrix repeatability. It also decreased accordingly to the taxonomic level compared: more inclusive level comparisons (e.g., superfamily) exhibited lower differences than the species level (Figure 4).

Overall magnitude of inter-trait correlations: The overall level of correlation among traits, as measured by the coefficient of determination r^2 , varied considerably among Catarrhini genera, from 0.04 (*Presbytis*) to 0.28 (*Semnopithecus*), with an average of 0.12 (Figure 2). A matrix of pairwise differences in r^2 between genera was negatively associated with similarity in V/CV and correlation patterns, and uncorrelated with the phylogenetic and the morphological distance matrix (Table 6).

Similarity patterns, phylogenetic and morphological distances: In general, matrix similarity results suggested the presence of a shared correlation/covariance pattern in all catarrhines. Given that the current taxonomic arrangement from superfamily down to the genus level in Catarrhini completely reflects phylogenetic history, the high similarity found among matrices in all taxonomic levels might suggest that V/CV and correlation patterns are independent of phylogenetic history (Figure 4). However, there was significant correlation between the phylogenetic distance matrix and the similarity matrices among genera, whether based on V/CV or correlation patterns (Table 6; figure 5). Additionally, morphological distances (Table 7) were highly correlated with similarity patterns, especially with regard to correlation matrices (Table 6). Morphological and phylogenetic distances were also significantly associated, indicating that groups with small differences in morphological distances are phylogenetically close (Table 6). Taken together, these results indicate that the phylogenetic history of Catarrhini is reflected in differences in correlation/covariance patterns as well as the amount of morphological diversification.

Similarity between P and G-matrices: All direct comparisons between catarrhine P-matrices and the *Saguinus* G-matrix also yielded high and significant similarities (Tables 3 and 4). The lowest values were observed in comparisons involving *Mandrillus* (raw = 0.411; adjusted = 0.481) and *Papio* (raw = 0.452; adjusted = 0.523). The *Saguinus* P-matrix was also highly similar to all Catarrhini genera, and the similarity level was in every case higher than the correspondent G-matrix comparison. Interestingly, the lowest values were also observed in comparisons involving *Mandrillus* (raw = 0.530; adjusted = 0.543) and *Papio* (raw =

0.559; adjusted = 0.569). Correlation matrix results revealed the same overall similarity pattern (Table 4): most of the comparisons were significant at the $p < 0.001$ level, and only four genera yielded probabilities values between 1% and 5%, which corresponded to the lowest similarities: *Miopithecus* (adj = 0.316; $p = 0.025$), *Mandrillus* (adj = 0.315, $p = 0.020$), *Papio* (adj = 0.345, $p = 0.014$), *Allenopithecus* (adj = 0.403, $p = 0.014$), and *Rhinopithecus* (adj = 0.472, $p = 0.007$).

Discussion

V/CV and correlation matrix similarities: Similarities between V/CV and correlation matrices were high in almost all comparisons made, pointing to a common correlation/covariance pattern shared by all the members of the catarrhine clade. Broad similarity was found in all taxonomic levels studied, and extended even to a genetic matrix of a New World Monkey genus (*Saguinus*), suggesting that both phenotypic and genetic matrices remained similar along the diversification of all anthropoids. In contrast to this apparent stasis of *pattern*, the *magnitude* of inter-trait correlation varied considerably between Catarrhini genera. Variation in overall correlation magnitudes might lead to strikingly different responses to selection, even if the pattern of inter-trait relationships remains the same (Marroig et al., 2008). This suggests that changes in this latter aspect of covariance/correlation structure played a major role in shaping skull diversity in anthropoids.

Matrix repeatability was fairly high in this study, and therefore measurement error did not substantially affect our results on comparisons of correlation/covariance structure among catarrhines. V/CV matrices were estimated with less error than their correlation counterparts, as revealed by their higher repeatability values. Moderate to low repeatabilities (lower than 0.5) were observed only for the estimated correlation matrices of *Rhinopithecus*, *Pygathrix*, *Simias* and *Kasi*, genera with the lowest sample sizes. Also, the within-group correlation and V/CV patterns among Catarrhini species, genera, and higher taxa were fairly stable, indicating a moderate to high degree of similarity. When sampling error (due to limited sample size used for matrix estimation) was taken into account by controlling for matrix repeatability, correlation and V/CV matrix similarity results were generally high. The high similarities in correlation/covariance patterns in the skull of Catarrhini are an encouraging result for those interested in applying quantitative genetic models to interpretations of morphological evolution.

V/CV matrix comparisons yielded higher similarities than their correlation counterparts (0.16, on average), a pattern already reported in other studies (Cheverud et al., 1989; Marroig and Cheverud, 2001; Ackermann, 2002; Marroig et al., 2008). This result probably cannot be attributed to non-normal distributions in inter-trait correlations within correlation matrices, as the similarity results using non-parametric methods were the same as those found with parametric techniques (Spearman rank correlations - data not shown). It is worth noting that differences between V/CV and correlation similarities were greatly reduced when matrix repeatabilities were accounted for. Considering that

matrix repeatability is inversely associated to sample size, it is possible that lower values found while studying raw correlation matrices are related to a higher sensitivity of the comparison methods to small sample sizes. The random skewers method, used here to compare V/CV matrices, might be less affected by limited samples than element-wise matrix correlations. This hypothesis is supported by the tendency of similarity levels in raw correlation matrices to increase with taxonomic inclusiveness, whereas V/CV and adjusted correlation similarities tended to be relatively constant (figure 4). This suggests that the actual similarity is roughly the same in all levels, as shown by V/CV and adjusted correlation matrix comparisons, but such tendency is visible in raw correlation data only when sample sizes are large enough, like those found in above-genera comparisons. A differential effect of sample size in the comparison methods is further supported by the variation observed when ranking Catarrhini genera based either on V/CV or correlation average similarities (figure 3): most of the genera that changed positions in the similarity ranks comprised the lowest sample sizes in our study. It should be noted that random skewers were already demonstrated to be less sensitive to small sample sizes in comparison to other matrix comparison methods (Cheverud and Marroig, 2007).

The finding that covariance/correlation patterns of skull traits are highly similar among all catarrhines is quite surprising in light of their diversity of skull forms. One should expect, for instance, that the radically different proportions between neurocranial and facial traits in *Homo* would have rendered it extremely divergent in terms of inter-trait relationships. The same applies to the long snout of *Papio* or the particular facial orientation of *Pongo* (airorynchy – Shea, 1985). In this context, it is interesting to look for deviations that, if not statistically significant, at least produce lower than average similarities that may be biologically meaningful. At the within-genera level, very few adjusted similarity values fell below 0.7; between genera, however, adjusted comparisons involving *Miopithecus*, *Papio*, *Mandrillus* and *Homo* were more dissimilar than seen on average, and represent the lowest similarities among catarrhines. In other words, these genera, and to some degree also *Gorilla* and *Nomascus*, deviated from the covariance pattern shared by all other catarrhines. *Papio* and *Mandrillus* have proportionally the longest face among all genera, and *Gorilla* and *Homo* have relatively larger braincases, features that may be responsible for the deviation from the general covariance pattern seen in other catarrhines. Indeed, a recent study detected the same dissimilarities in *Papio*, *Gorilla* and *Homo*, and detailed tests based on functional hypotheses suggested that modifications in the face (in *Papio*) and in neurocranial traits (in *Gorilla* and *Homo*) accounted for deviations from the shared correlation/covariance pattern in a wider phylogenetic context (Porto et al., 2008). However, that does not explain why *Pan* and *Pongo*, that also have relatively large braincases, or *Theropithecus*, that also has a long snout, are not among the genera with lower similarities. Likewise, the cranial proportions of *Miopithecus* seem to be very similar to those of *Cervopithecus*, but these taxa differ in their similarity degree in relation to other catarrhines. It is important to keep in mind that the similarity values reported here are a broad measure of how similar two covariance or correlation matrices are as a whole; nonetheless,

these matrices are complex entities that summarize the pairwise relationships between 39 traits. To determine exactly what relationships produced the dissimilarities in the whole of the matrix, an in-depth scrutiny of each taxon matrix would be necessary. Likewise, the question of whether these changes in covariance/correlation patterns are adaptive and, if so, what were the underlying selective agents, remain open. To adequately tackle these issues, detailed tests of morphological integration hypotheses (Ackermann, 2005; Porto et al., 2008) and selection gradient reconstructions (Ackermann and Cheverud, 2004; Marroig and Cheverud, 2005) are necessary, especially if they can be rooted in functional hypotheses.

In contrast to the relative constancy of the *pattern* of inter-trait relationships, the overall *magnitude* of inter-trait correlations varied considerably in Catarrhini. The range of variation observed for r^2 is quite large (0.04 to 0.28), including both genera with very low magnitudes of inter-trait correlations (like *Presbytis*, *Homo*) and others with quite high magnitudes (*Papio*, *Semnopithecus*). In fact, the smallest r^2 values seen in catarrhines are among the lowest encountered in a wide variety of mammals; at the same time, the highest values are comparable to some marsupials, the mammalian groups with higher magnitudes in cranial trait correlations (Porto et al., 2008). Such amplitude of variation, the fact that the most extreme values were observed in closely related taxa (*Presbytis* and *Semnopithecus* – figure 2), and the lack of association between the pairwise differences in r^2 among genera and phylogeny (Table 6) suggest that the magnitude of inter-trait correlations is more labile than the pattern of inter-trait relationships. This has important evolutionary consequences. Lower overall correlation magnitudes (or lower overall morphological integration) are associated with more evolutionary flexibility, i.e., the capacity of a complex structure to respond in multiple directions of the morphospace (Hansen and Houle, 2008; Marroig et al., 2008). Populations that vary in overall correlation magnitudes might respond to evolutionary forces in strikingly different ways, even if the pattern of inter-trait relationships remains the same. Higher magnitudes indicate that most traits are tightly associated and there is little variation outside their associations; in this case, most evolutionary responses would be constrained, reducing the flexibility to evolve in directions other than those determined by the tight inter-trait associations (Steppan et al., 2002; Marroig and Cheverud, 2005; Marroig et al., 2008). Organisms with lower overall magnitudes, in contrast, due to the looser association between traits, could evolve in relatively more directions. Considering both aspects of the phenotypic covariance structure, pattern and magnitude, the cranial diversification of Catarrhini seems to have been produced by evolution in the magnitude of inter-trait correlations rather than in the pattern, which remained fairly similar throughout their phylogenetic history.

Similarity patterns, phylogenetic and morphological distances: We detected a significant association between the similarity in covariance/correlation patterns at the genus level and the pairwise phylogenetic distance matrix, an indication that changes and maintenance of these patterns are associated with phylogenetic

relationships. Additionally, covariance/correlation similarity patterns and the morphological distance matrix were also correlated, indicating that the evolution of inter-trait relationships is to a certain degree associated with the evolution of the average values of the characters. This finding is concordant to data on facial patterns of African apes and humans (Ackermann, 2002) and on the skull of tamarins (Ackermann and Cheverud, 2000), but contrasts to what was described for New World monkeys as a whole (Marroig and Cheverud, 2001), in which the evolution of covariance patterns has been decoupled both from phylogeny and from changes in the average values of characters (morphological distances). There is, however, considerable agreement among all studies in suggesting that the same basic pattern of inter-trait relationships might produce great diversity in skull morphology not only in primates (Cheverud, 1996; Ackermann and Cheverud, 2000; Marroig and Cheverud, 2001), but also in mammals as a whole (Porto et al., 2008).

G-matrix constancy: As a general finding, our data show a remarkable similarity of phenotypic covariance/correlation patterns in the skull during the evolution of Catarrhini. This similarity most probably reflects the relative similarity of the underlying genotypic covariance matrices: if one considers the diversity of habitats and life histories of these primates, it becomes very improbable that environmental effects along more than 30 million years perfectly compensated changes in G-matrices. This conclusion is strongly supported by the significant similarity of the *Saguinus* G-matrix and all P-matrices of Catarrhini genera. Considering that *Saguinus* is distantly related to catarrhines (Vos, 2006), these results confirm that genetic and phenotypic covariance patterns were relatively similar along the whole evolutionary period that separate these two groups. These results have two important consequences: firstly, they demonstrate that P-matrices can be used as a surrogate for their genetic equivalents when regarding primate skull morphology, at least for anthropoids. Secondly, considering that P-matrices, and therefore G-matrices, were shown to be relatively similar also in all New World monkeys (Marroig and Cheverud, 2001), the covariance pattern of skull traits has probably been relatively similar along the whole period of anthropoid evolution.

These conclusions are drawn from the idea that consistency of genetic covariance patterns can be inferred from comparisons of phenotypic variation patterns in related populations or species (Lande, 1979). Our data reject the hypothesis of strict constancy of correlation and V/CV patterns; although we observed very high matrix correlations among species or genera, these correlations were not strictly equal to one. The proposition of literal constancy of covariance structure was already refuted in the past, both from a more theoretical perspective (Turelli, 1988; Shaw et al., 1995) and also on empirical grounds (Arnold and Phillips, 1999; Ackermann and Cheverud, 2000; Begin and Roff, 2001; Marroig and Cheverud, 2001; Phillips et al., 2001; Game and Caley, 2006). Therefore, rather than asking if the G-matrix is absolutely constant during evolutionary diversification, a more relevant question is at what point during phylogenetic history disruption of covariance structure is detectable and biologically

meaningful. Our data suggest that important deviations from the general covariance pattern observed in Catarrhini probably occurred during the evolution of *Papio*, *Mandrillus*, *Homo* and *Gorilla*. As noted above, in *Papio* these deviations may be due to a more pronounced association between facial traits, and considering their morphological similarity, this is probably the case also in *Mandrillus*. *Homo* and *Gorilla*, in contrast, deviate from the general pattern in having significant integration between neurocranial traits (Porto et al., 2008). More in-depth studies, considering which characters (or sets of characters) are involved in these changes, as well as which evolutionary forces could have caused them, will certainly bring to light important aspects of primate evolution.

The explanation for the remarkable stability of P-matrix, and therefore G-matrix, seen in our results may lie on the kind of character analyzed. Simulation studies have demonstrated that correlational selection and pleiotropic mutations can sustain strong stability of G-matrix along time (Jones et al., 2003; Jones et al., 2004; Revell, 2007). Our dataset was entirely collected on the cranium, a structure in which traits share a large proportion of their developmental pathways and are probably determined, to a large extent, by the same set of genes; therefore, it is reasonable to assume that mutations might affect several traits at the same time. Moreover, shared development and/or function among skull traits might also facilitate evolution by correlated selection (Cheverud, 1996). Given that the various skull traits interact to perform several essential cranial functions (e.g., mastication, olfaction, vision, etc.) one might expect them to be under similar selection regimes; likewise, genes that influence several (or all) traits at the same time are expected to be strongly conserved along evolution (Mitteroecker and Bookstein, 2008). The constancy of covariance patterns along such vast evolutionary timescale, like the one shown by this study, suggests the action of stabilizing selection (Marroig and Cheverud, 2001; Estes and Arnold, 2007; Arnold et al. 2008).

Our data also showed that Catarrhini phylogeny was strongly related to the similarity in correlation/covariance *pattern*, but not to *magnitude*, for which there were significant differences between closely related taxa. The remarkable skull diversity seen in Catarrhini, therefore, is probably related to the evolution of magnitude rather than the pattern of covariance structure. The same pattern has been noticed in a broader sample of mammals, in which magnitude evolution seems to have played a major role (Porto et al., 2008). Nevertheless, it should be noted that r^2 measures the overall magnitude of inter-trait correlations, and therefore only represents a broad picture of the morphological integration in skull traits; based only in this index, we cannot tell, for instance, whether or not most differences between taxa are concentrated in some skull regions. A more detailed description of the association between traits (e.g., investigations on the modular organization of cranial traits – Ackermann, 2005; Mitteroecker and Bookstein, 2008; Porto et al., 2008) is needed in order to pinpoint where in Catarrhini phylogeny significant changes had occurred regarding the skull covariance structure. Similarly, the potential adaptive nature of these differences remains yet to be investigated.

Conclusions

This study is complementary to that of Marroig & Cheverud (2001) and to Ackermann (2002) in demonstrating that phenotypic covariance and correlation matrices are roughly similar for skull traits along the whole evolutionary history of anthropoid primates. These results are quite surprising, considering the broad timescale involved and the large morphological diversity in the skull of anthropoids. Taken together, they provocatively suggest that the variety of form and size in the skull of the 257 species of New and Old World monkeys and apes have a fairly similar genetic basis. Moreover, they indicate that such basis has not changed significantly along the past 40 million years, a finding that might have interesting consequences for the study of primate fossils (Ackermann, 2002; Williams et al., 2007). Nevertheless, despite the maintenance of a general pattern of covariation between skull traits, the magnitude of the relationships has changed. These changes probably affected the way populations responded to evolutionary forces, such as natural selection, and therefore might have played an important role in Catarrhini skull diversification.

Acknowledgements

We are especially grateful to all generous people who helped with lodging during visits to museums: M. T. de Oliveira, O. and T. Sanchez, M. Arndt, B. Henn, C. Meertens, A. Vasco, J. Lendemer, G. Perez and C. Paris. The associate editor and two anonymous referees wrote very encouraging reviews and made criticisms that improved the quality of the manuscript. We also thank the people and institutions that provided help and access to mammal collections: R. Voss, R. MacPhee and E. Westwig (AMNH); L. Tomsett, P. Jenkins and D. Hills (BMNH); B. Paterson and B. Stanley (FMNH); J. Chupasko and M. Omura (MCZ); M. Godinot, F. Renoult, C. Lefrère and J. Cuisin (MNHN); M. de Vivo and J. Gualda (MZUSP); H. van Grouw and B. Bekkum-Ansari (Naturalis); R. Thorington, R. Chapman and L. Gordon (NMNH); M. Harman (Powell-Cotton Museum); Georges Lenglet (RBINS); E. Gilissen and W. Wendelen (RMCA); R. Asher, I. Thomas and D. Willborn (ZMB); C. Zollikofer, M. Ponce de León and T. Jashashvili (Zürich Universität). We thank J. Cheverud for providing the *Saguinus* G and P-matrices, and R. Vos and A. Mooers for early access to their primate supertree. This research was supported by grants and fellowships from Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Ensino Superior (CAPES), and Conselho Nacional de Pesquisas (CNPq).

References

- Ackermann, R.R. 2002. Patterns of covariation in the hominoid craniofacial skeleton: implications for paleoanthropological models. *Journal of Human Evolution* 43:167-187.
- Ackermann, R.R. 2005. Ontogenetic integration of the hominoid face. *Journal of Human Evolution* 48:175-197.
- Ackermann, R.R., Cheverud, J.M. 2000. Phenotypic covariance structure in tamarins (genus *Saguinus*): A comparison of variation patterns using matrix correlation and common principal component analysis. *American Journal of Physical Anthropology* 111:489-501.
- Ackermann, R.R., Cheverud, J.M. 2004. Detecting genetic drift versus selection in human evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101:17946-17951.
- Akesson, M., Bensch, S., Hasselquist, D. 2007. Genetic and phenotypic associations in morphological traits: a long term study of great reed warblers *Acrocephalus arundinaceus*. *Journal of Avian Biology* 38:58-72.
- Arnold, S.J., Phillips, P.C. 1999. Hierarchical comparison of genetic variance-covariance matrices. II. Coastal-inland divergence in the garter snake, *Thamnophis elegans*. *Evolution* 53:1516-1527.
- Arnold, S.J., Bürger, R., Hohenlohe, P.A., Ajie, B.C., Jones, A.G. 2008. Understanding the evolution and stability of the **G**-matrix. *Evolution* 62: 2451-2461.
- Begin, M., Roff, D.A. 2001. An analysis of G matrix variation in two closely related cricket species, *Gryllus firmus* and *G. pennsylvanicus*. *Journal of Evolutionary Biology* 14:1-13.
- Chatterjee, H.J. 2006. Phylogeny and biogeography of gibbons: A dispersal-vicariance analysis. *International Journal of Primatology* 27:699-712.
- Cheverud, J.M. 1988. A comparison of genetic and phenotypic correlations. *Evolution* 42:958-968.

- Cheverud, J.M. 1996. Quantitative genetic analysis of cranial morphology in the cotton-top (*Saguinus oedipus*) and saddle-back (*S. fuscicollis*) tamarins. *Journal of Evolutionary Biology* 9:5-42.
- Cheverud, J.M., Marroig, G. 2007. Comparing covariance matrices: Random skewers method compared to the common principal components model. *Genetics and Molecular Biology* 30:461-469.
- Cheverud, J.M., Wagner, G.P., Dow, M.M. 1989. Methods for the comparative analysis of variation patterns. *Systematic Zoology* 38:201-213.
- Estes, S., Arnold, S.J. 2007. Resolving the paradox of stasis: Models with stabilizing selection explain evolutionary divergence on all timescales. *American Naturalist* 169:227-244.
- Game, E.T., Caley, M.J. 2006. The stability of P in coral reef fishes. *Evolution* 60:814-823.
- Groves, C.P. 2005. Order Primates. In: Wilson, D.E., Reeder, D.M., (Eds.), *Mammal species of the world : a taxonomic and geographic reference*. Johns Hopkins University Press, Baltimore pp. 111-184.
- Hansen, T.F. and Houle, D. 2008. Measuring and comparing evolvability and constraint in multivariate characters. *Journal of Evolutionary Biology* 21: 1201-1219.
- House, C.M., Simmons, L.W. 2005. The evolution of male genitalia: patterns of genetic variation and covariation in the genital sclerites of the dung beetle *Onthophagus taurus*. *Journal of Evolutionary Biology* 18:1281-1292.
- Jones, A.G., Arnold, S.J., Borger, R. 2003. Stability of the G-matrix in a population experiencing pleiotropic mutation, stabilizing selection, and genetic drift. *Evolution* 57:1747-1760.
- Jones, A.G., Arnold, S.J., Burger, R. 2004. Evolution and stability of the G-matrix on a landscape with a moving optimum. *Evolution* 58:1639-1654.
- Lande, R. 1979. Quantitative genetic-analysis of multivariate evolution, applied to brain - body size allometry. *Evolution* 33:402-416.
- Lande, R. 1980. The genetic covariance between characters maintained by pleiotropic mutations. *Genetics* 94:203-215.
- Marroig, G., Cheverud, J.M. 2001. A comparison of phenotypic variation and covariation patterns and the role of phylogeny, ecology, and ontogeny during cranial evolution of New World Monkeys. *Evolution* 55:2576-2600.
- Marroig, G., Cheverud, J.M. 2005. Size as a line of least evolutionary resistance: Diet and adaptive morphological radiation in new world monkeys. *Evolution* 59:1128-1142.
- Marroig, G., Porto, A., Shirai, L.T., Oliveira, F.B., Conto, V.D. 2008. The evolution of modularity in the mammalian skull II: evolutionary consequences. *Evolutionary Biology* - in press.
- Matta, B.P., Bitner-Mathe, B.C. 2004. Genetic architecture of wing morphology in *Drosophila simulans* and an analysis of temperature effects on genetic parameter estimates. *Heredity* 93:330-341.
- McGuigan, K. 2006. Studying phenotypic evolution using multivariate quantitative genetics. *Molecular Ecology* 15:883-896.
- Mitteroecker, P., Bookstein, F. 2008. The evolutionary role of modularity and integration in the hominoid cranium. *Evolution* 62:943-958.
- Osterholz, M., Walter, L., Roos, C. 2008. Phylogenetic position of the langur genera *Semnopithecus* and *Trachypithecus* among Asian colobines, and genus affiliations of their species groups. *BMC Evolutionary Biology* 8:58-70.
- Page, S.L., Goodman, M. 2001. Catarrhine phylogeny: Noncoding DNA evidence for a diphyletic origin of the mangabeys and for a human-chimpanzee clade. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 18:14-25.
- Phillips, P.C., Whitlock, M.C., Fowler, K. 2001. Inbreeding changes the shape of the genetic covariance matrix in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 158:1137-1145.
- Porto, A., Oliveira, F.B., Shirai, L.T., Conto, V.D., Marroig, G. 2008. The evolution of modularity in the mammalian skull I: morphological integration patterns and magnitudes. *Evolutionary Biology* in press.

- Purvis, A. 1995. A Composite Estimate of Primate Phylogeny. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 348:405-421.
- Reale, D., Festa-Bianchet, M. 2000. Quantitative genetics of life-history traits in a long-lived wild mammal. *Heredity* 85:593-603.
- Reusch, T., Blanckenhorn, W.U. 1998. Quantitative genetics of the dung fly *Sepsis cynipsea*: Cheverud's conjecture revisited. *Heredity* 81:111-119.
- Revell, L.J. 2007. The G matrix under fluctuating correlational mutation and selection. *Evolution* 61:1857-1872.
- Roff, D.A. 1995. The estimation of genetic correlations from phenotypic correlations - a test of Cheverud's conjecture. *Heredity* 74:481-490.
- Shaw, F.H., Shaw, R.G., Wilkinson, G.S., Turelli, M. 1995. Changes in genetic variances and covariances: G whiz! *Evolution* 49:1260-1267.
- Shea, B.T. 1985. On aspects of skull form in African apes and orangutans, with implications for hominoid evolution. *American Journal of Physical Anthropology* 68: 329-342.
- Steppan, S.J., Phillips, P.C., Houle, D. 2002. Comparative quantitative genetics: evolution of the G matrix. *Trends in Ecology & Evolution* 17:320-327.
- Turelli, M. 1988. Phenotypic evolution, constant covariances, and the maintenance of additive variance. *Evolution* 42:1342-1347.
- Vos, R.A. 2006. Inferring large phylogenies: the big tree problem. Ph.D. Dissertation, Simon Fraser University.
- Waitt, D.E., Levin, D.A. 1998. Genetic and phenotypic correlations in plants: a botanical test of Cheverud's conjecture. *Heredity* 80:310-319.
- Williams, F.L., Ackermann, R.R., Leigh, S.R. 2007. Inferring Plio-Pleistocene southern African biochronology from facial affinities in *Parapapio* and other fossil papionins. *American Journal of Physical Anthropology* 132:163-174.
- Xing, J., Wang, H., Han, K.D., Ray, D.A., Huang, C.H., Chemnick, L.G., Stewart, C.B., Disotell, T.R., Ryder, O.A., Batzer, M.A. 2005. A mobile element based phylogeny of Old World monkeys. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 37:872-880.

Table 1: Thirty-nine linear skull measurements (distances between the landmarks in figure 1) and their respective location in the two major cranial regions.

Measurements	Region
IS-PM	Face
IS-NSL	Face
IS-PNS	Face
PM-ZS	Face
PM-ZI	Face
PM-MT	Face
NA-FM	Neurocranium
NSL-NA	Face
NSL-ZS	Face
NSL-ZI	Face
NA-BR	Neurocranium
NA-PNS	Face
BR-PT	Neurocranium
BR-APET	Neurocranium
PT-APET	Neurocranium
PT-BA	Neurocranium
PT-EAM	Neurocranium
PT-FM	Neurocranium
PT-ZYGO	Face
PT-TSP	Neurocranium, face
FM-MT	Neurocranium
FM-ZS	Face
ZS-ZI	Face
ZI-MT	Face
ZI-ZYGO	Face
ZI-TSP	Face
MT-PNS	Face
PNS-APET	Neurocranium
APET-BA	Neurocranium
APET-TS	Neurocranium
BA-EAM	Neurocranium
EAM-ZYGO	Face
ZYGO-TSP	Face
LD-AS	Neurocranium
BR-LD	Neurocranium
OPI-LD	Neurocranium
PT-AS	Neurocranium
JP-AS	Neurocranium
BA-OPI	Neurocranium

Table 3: Average vector correlations between variance/covariance matrices responses to 1000 random selection vectors for each pairwise genera comparison. Vector correlation with the *Saguinus* P-matrix and G-matrix matrices are also presented. The bolded diagonal contains the matrix repeatability for each genus. Raw average vector correlations are in the lower half, and adjusted vector correlations are above the diagonal. All comparisons were significant at $p < 0.001$.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
1. <i>Alouatta palliata</i>	0.92	0.67	0.84	0.88	0.88	0.81	0.84	0.69	0.65	0.69	0.64	0.85	0.87	0.75	0.72	0.85	0.56	0.79	0.79	0.82	0.81	0.72	0.66	0.76	0.78	0.84	0.79	0.69	0.78	0.77	0.69	0.60
2. <i>Bunopithecus</i>	0.61	0.91	0.67	0.78	0.74	0.77	0.65	0.68	0.78	0.90	0.76	0.73	0.68	0.50	0.64	0.77	0.81	0.74	0.51	0.76	0.69	0.84	0.77	0.76	0.70	0.66	0.72	0.83	0.69	0.85	0.79	0.64
3. <i>Cercopithecus</i>	0.79	0.63	0.97	0.91	0.89	0.86	0.84	0.70	0.67	0.70	0.71	0.93	0.93	0.79	0.72	0.84	0.57	0.85	0.83	0.87	0.82	0.75	0.74	0.79	0.71	0.86	0.74	0.66	0.80	0.79	0.76	0.68
4. <i>Ceropithecus</i>	0.84	0.74	0.90	0.99	0.97	0.92	0.89	0.77	0.76	0.80	0.78	0.93	0.92	0.72	0.78	0.89	0.66	0.87	0.76	0.93	0.84	0.84	0.82	0.86	0.78	0.89	0.83	0.77	0.80	0.88	0.81	0.73
5. <i>Chlorocebus</i>	0.84	0.70	0.87	0.96	0.98	0.91	0.86	0.78	0.76	0.79	0.77	0.92	0.92	0.71	0.78	0.88	0.64	0.84	0.75	0.93	0.83	0.82	0.83	0.85	0.79	0.90	0.79	0.77	0.82	0.88	0.81	0.73
6. <i>Callobus</i>	0.77	0.73	0.84	0.91	0.90	0.98	0.79	0.74	0.77	0.79	0.84	0.91	0.87	0.66	0.73	0.90	0.64	0.87	0.69	0.91	0.80	0.86	0.83	0.86	0.78	0.85	0.78	0.78	0.75	0.92	0.82	0.75
7. <i>Erythrocebus</i>	0.78	0.60	0.81	0.86	0.83	0.76	0.95	0.66	0.63	0.66	0.63	0.84	0.88	0.74	0.69	0.81	0.54	0.80	0.79	0.82	0.78	0.69	0.68	0.77	0.75	0.82	0.76	0.64	0.77	0.71	0.67	0.63
8. <i>Gorilla</i>	0.66	0.65	0.68	0.76	0.77	0.72	0.63	0.98	0.82	0.72	0.67	0.74	0.73	0.56	0.61	0.69	0.62	0.75	0.57	0.80	0.81	0.79	0.75	0.76	0.67	0.66	0.65	0.67	0.75	0.76	0.72	0.66
9. <i>Homo</i>	0.62	0.73	0.65	0.75	0.74	0.75	0.61	0.80	0.98	0.79	0.75	0.73	0.69	0.48	0.64	0.75	0.66	0.74	0.48	0.78	0.75	0.86	0.82	0.78	0.67	0.66	0.70	0.72	0.67	0.84	0.79	0.69
10. <i>Hylobates</i>	0.65	0.85	0.68	0.79	0.77	0.77	0.64	0.70	0.77	0.97	0.80	0.78	0.71	0.50	0.66	0.78	0.90	0.75	0.51	0.78	0.71	0.88	0.83	0.77	0.68	0.70	0.74	0.89	0.70	0.88	0.84	0.70
11. <i>Kasi</i>	0.59	0.68	0.66	0.74	0.72	0.79	0.58	0.63	0.70	0.74	0.90	0.78	0.72	0.57	0.64	0.76	0.69	0.75	0.58	0.78	0.70	0.83	0.82	0.75	0.68	0.70	0.70	0.73	0.66	0.87	0.76	0.66
12. <i>Lophocebus</i>	0.80	0.69	0.90	0.92	0.90	0.89	0.80	0.73	0.71	0.76	0.73	0.97	0.93	0.76	0.71	0.85	0.66	0.88	0.79	0.90	0.83	0.79	0.79	0.82	0.75	0.86	0.80	0.74	0.81	0.86	0.79	0.67
13. <i>Macaca</i>	0.84	0.65	0.91	0.92	0.91	0.86	0.86	0.72	0.68	0.70	0.68	0.91	0.99	0.81	0.73	0.87	0.58	0.85	0.85	0.88	0.85	0.74	0.76	0.84	0.77	0.90	0.78	0.69	0.85	0.81	0.75	0.67
14. <i>Mandrillus</i>	0.71	0.48	0.77	0.71	0.69	0.65	0.71	0.55	0.47	0.49	0.53	0.74	0.80	0.97	0.58	0.69	0.40	0.69	0.93	0.65	0.70	0.54	0.54	0.62	0.60	0.71	0.64	0.48	0.73	0.57	0.54	0.48
15. <i>Miopithecus</i>	0.66	0.59	0.68	0.74	0.74	0.69	0.64	0.58	0.60	0.63	0.58	0.67	0.70	0.55	0.92	0.72	0.55	0.67	0.61	0.73	0.69	0.70	0.70	0.73	0.69	0.76	0.64	0.63	0.64	0.71	0.67	0.62
16. <i>Nasalis</i>	0.79	0.71	0.79	0.85	0.83	0.86	0.76	0.66	0.71	0.74	0.69	0.81	0.84	0.66	0.67	0.92	0.64	0.84	0.72	0.84	0.57	0.77	0.72	0.84	0.80	0.85	0.82	0.75	0.77	0.87	0.77	0.71
17. <i>Nomascus</i>	0.52	0.74	0.54	0.63	0.61	0.61	0.50	0.59	0.63	0.86	0.63	0.62	0.55	0.38	0.50	0.59	0.93	0.60	0.41	0.64	0.57	0.77	0.72	0.63	0.55	0.57	0.58	0.83	0.65	0.76	0.73	0.61
18. <i>Pan</i>	0.74	0.69	0.82	0.86	0.82	0.85	0.76	0.73	0.72	0.73	0.70	0.86	0.83	0.67	0.64	0.79	0.57	0.97	0.71	0.86	0.83	0.79	0.77	0.79	0.73	0.75	0.78	0.70	0.80	0.85	0.73	0.64
19. <i>Papio</i>	0.76	0.48	0.82	0.76	0.75	0.68	0.76	0.56	0.48	0.50	0.55	0.78	0.85	0.91	0.58	0.69	0.39	0.70	0.99	0.70	0.72	0.54	0.56	0.65	0.64	0.77	0.66	0.50	0.76	0.59	0.57	0.52
20. <i>Ptilodotus</i>	0.78	0.72	0.85	0.92	0.92	0.89	0.79	0.78	0.76	0.76	0.73	0.88	0.87	0.64	0.70	0.80	0.61	0.84	0.69	0.98	0.82	0.84	0.84	0.86	0.76	0.84	0.76	0.75	0.79	0.89	0.82	0.71
21. <i>Pongo</i>	0.76	0.65	0.79	0.82	0.81	0.78	0.74	0.78	0.72	0.69	0.65	0.80	0.83	0.67	0.64	0.77	0.53	0.80	0.70	0.79	0.96	0.75	0.76	0.81	0.80	0.82	0.74	0.65	0.80	0.79	0.73	0.70
22. <i>Presbytis</i>	0.68	0.80	0.73	0.83	0.80	0.84	0.66	0.77	0.84	0.85	0.77	0.77	0.72	0.52	0.66	0.76	0.73	0.77	0.53	0.82	0.73	0.97	0.87	0.83	0.70	0.72	0.74	0.83	0.71	0.92	0.83	0.74
23. <i>Procolobus</i>	0.61	0.72	0.71	0.80	0.80	0.80	0.65	0.73	0.79	0.80	0.75	0.76	0.73	0.51	0.65	0.72	0.67	0.74	0.54	0.81	0.73	0.83	0.95	0.83	0.70	0.73	0.71	0.76	0.69	0.88	0.81	0.74
24. <i>Pygathrix</i>	0.70	0.69	0.75	0.82	0.81	0.82	0.72	0.72	0.74	0.73	0.68	0.78	0.81	0.59	0.67	0.77	0.59	0.75	0.62	0.82	0.76	0.78	0.77	0.92	0.76	0.81	0.76	0.73	0.74	0.88	0.80	0.69
25. <i>Rhinopithecus</i>	0.69	0.62	0.65	0.72	0.73	0.72	0.67	0.62	0.61	0.62	0.60	0.69	0.71	0.55	0.61	0.72	0.49	0.67	0.59	0.69	0.72	0.64	0.63	0.68	0.86	0.79	0.73	0.65	0.68	0.76	0.66	0.66
26. <i>Semnopithecus</i>	0.79	0.62	0.84	0.87	0.87	0.83	0.79	0.64	0.64	0.68	0.65	0.83	0.89	0.69	0.72	0.80	0.54	0.73	0.75	0.82	0.79	0.70	0.70	0.70	0.77	0.97	0.73	0.68	0.76	0.80	0.74	0.70
27. <i>Simias</i>	0.71	0.65	0.68	0.77	0.73	0.73	0.69	0.61	0.65	0.68	0.62	0.74	0.73	0.59	0.57	0.73	0.52	0.72	0.61	0.71	0.68	0.68	0.64	0.68	0.64	0.67	0.88	0.72	0.69	0.78	0.70	0.61
28. <i>Symphalangus</i>	0.64	0.76	0.63	0.74	0.74	0.74	0.60	0.64	0.68	0.85	0.67	0.71	0.66	0.46	0.58	0.69	0.77	0.66	0.48	0.72	0.62	0.79	0.71	0.68	0.58	0.65	0.65	0.93	0.69	0.84	0.81	0.70
29. <i>Theropithecus</i>	0.72	0.63	0.76	0.77	0.78	0.72	0.72	0.72	0.64	0.67	0.60	0.77	0.81	0.69	0.59	0.72	0.60	0.75	0.73	0.75	0.76	0.68	0.65	0.68	0.61	0.72	0.62	0.64	0.93	0.73	0.71	0.59
30. <i>Trachypithecus</i>	0.73	0.81	0.77	0.87	0.86	0.91	0.69	0.75	0.82	0.86	0.81	0.84	0.80	0.56	0.67	0.83	0.72	0.82	0.59	0.87	0.76	0.90	0.85	0.83	0.70	0.78	0.72	0.80	0.70	0.98	0.85	0.74
31. <i>Saguinus P</i>	0.65	0.74	0.74	0.79	0.79	0.81	0.65	0.70	0.77	0.81	0.71	0.77	0.74	0.53	0.63	0.73	0.70	0.71	0.56	0.80	0.70	0.81	0.78	0.75	0.60	0.72	0.65	0.77	0.68	0.83	0.97	0.83
32. <i>Saguinus G</i>	0.50	0.53	0.58	0.63	0.63	0.64	0.53	0.57	0.59	0.60	0.54	0.58	0.58	0.41	0.51	0.59	0.51	0.55	0.45	0.61	0.59	0.63	0.63	0.58	0.53	0.60	0.49	0.59	0.49	0.64	0.71	0.75

Table 4: Correlations between correlation matrices for each pairwise genera comparison. The bolded diagonal contains the matrix repeatability for each genus. Raw and adjusted matrix correlations are in the lower half and upper half, respectively. All comparisons were significant at $p < 0.05$ and 99% were significant at $p < 0.001$ in 10,000 permutations.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	
1. <i>Allanopithecus</i>	0.58	0.89	0.86	0.91	0.93	0.92	0.80	0.65	0.51	0.81	0.77	0.82	0.99	0.86	0.82	1.14	0.65	0.85	0.87	0.81	0.85	0.80	0.59	0.92	1.12	1.03	1.03	0.80	0.79	0.88	0.49	0.40	
2. <i>Banopithecus</i>	0.49	0.52	0.68	0.90	0.81	0.79	0.80	0.57	0.63	0.97	0.76	0.68	0.74	0.57	0.74	0.94	0.98	0.78	0.52	0.74	0.63	0.85	0.77	0.87	0.89	0.79	0.95	0.94	0.67	0.87	0.63	0.55	
3. <i>Cercocebus</i>	0.62	0.46	0.88	0.86	0.84	0.87	0.76	0.59	0.57	0.74	0.84	0.96	0.95	0.80	0.70	0.88	0.63	0.85	0.77	0.84	0.81	0.73	0.80	0.98	0.76	0.91	0.80	0.64	0.73	0.81	0.62	0.54	
4. <i>Ceropithecus</i>	0.69	0.64	0.79	0.97	0.96	0.87	0.92	0.61	0.56	0.86	0.81	0.85	0.87	0.66	0.76	0.89	0.81	0.83	0.66	0.84	0.68	0.78	0.81	0.87	0.86	0.84	0.86	0.82	0.70	0.82	0.55	0.55	
5. <i>Chloracebus</i>	0.68	0.55	0.76	0.90	0.91	0.89	0.86	0.68	0.60	0.83	0.84	0.82	0.88	0.69	0.75	0.92	0.78	0.79	0.67	0.86	0.71	0.77	0.85	0.86	0.91	0.82	0.81	0.83	0.77	0.85	0.62	0.62	
6. <i>Colobus</i>	0.67	0.55	0.78	0.81	0.81	0.91	0.74	0.67	0.62	0.78	0.96	0.90	0.89	0.76	0.65	0.96	0.74	0.85	0.74	0.89	0.75	0.86	0.82	1.00	0.88	0.87	0.87	0.81	0.77	0.94	0.66	0.65	
7. <i>Erythraeobus</i>	0.51	0.48	0.60	0.77	0.69	0.59	0.71	0.45	0.50	0.77	0.62	0.71	0.80	0.56	0.65	0.83	0.78	0.69	0.63	0.70	0.62	0.63	0.68	0.76	0.82	0.68	0.74	0.62	0.50	0.64	0.49	0.47	
8. <i>Gorilla</i>	0.46	0.39	0.52	0.56	0.61	0.60	0.35	0.87	0.60	0.56	0.57	0.62	0.67	0.55	0.44	0.61	0.54	0.69	0.49	0.71	0.78	0.65	0.65	0.80	0.63	0.55	0.62	0.68	0.80	0.68	0.46	0.62	
9. <i>Homo</i>	0.36	0.42	0.50	0.51	0.52	0.55	0.39	0.52	0.85	0.62	0.60	0.60	0.59	0.38	0.50	0.64	0.59	0.64	0.33	0.55	0.53	0.68	0.68	0.67	0.59	0.55	0.64	0.65	0.61	0.72	0.54	0.49	
10. <i>Hylobates</i>	0.57	0.65	0.65	0.79	0.73	0.69	0.60	0.48	0.53	0.86	0.75	0.76	0.78	0.56	0.72	0.88	0.93	0.77	0.55	0.71	0.61	0.79	0.77	0.82	0.81	0.84	0.90	0.98	0.66	0.84	0.63	0.67	
11. <i>Kasi</i>	0.41	0.38	0.55	0.56	0.56	0.64	0.36	0.37	0.39	0.48	0.49	0.92	0.85	0.89	0.55	0.92	0.66	0.80	0.86	0.83	0.73	0.81	0.93	0.97	0.92	0.75	0.94	0.71	0.76	0.88	0.64	0.57	
12. <i>Lophocebus</i>	0.58	0.46	0.84	0.78	0.72	0.80	0.56	0.54	0.51	0.65	0.60	0.86	0.92	0.83	0.61	0.86	0.72	0.88	0.82	0.80	0.74	0.71	0.82	0.90	0.78	0.82	0.86	0.72	0.75	0.83	0.59	0.46	
13. <i>Macaca</i>	0.74	0.52	0.88	0.84	0.82	0.83	0.66	0.62	0.54	0.70	0.59	0.84	0.96	0.83	0.73	0.95	0.64	0.86	0.82	0.83	0.73	0.78	0.99	0.92	0.94	0.89	0.70	0.80	0.84	0.57	0.45		
14. <i>Mandrillus</i>	0.60	0.38	0.68	0.59	0.60	0.66	0.43	0.47	0.32	0.47	0.57	0.71	0.75	0.84	0.46	0.84	0.40	0.72	0.96	0.58	0.81	0.52	0.60	0.79	0.74	0.71	0.73	0.53	0.62	0.70	0.43	0.32	
15. <i>Miopithecus</i>	0.57	0.49	0.60	0.68	0.65	0.68	0.56	0.50	0.37	0.42	0.61	0.35	0.51	0.65	0.38	0.82	0.79	0.66	0.66	0.40	0.64	0.53	0.67	0.66	0.76	0.79	0.85	0.65	0.64	0.53	0.64	0.41	0.32
16. <i>Nasalis</i>	0.68	0.53	0.65	0.69	0.68	0.72	0.55	0.45	0.46	0.64	0.50	0.63	0.73	0.60	0.56	0.62	0.77	0.86	0.82	0.80	0.80	0.83	0.76	0.99	1.10	1.00	0.99	0.80	0.71	0.95	0.61	0.53	
17. <i>Nomascus</i>	0.39	0.56	0.47	0.63	0.59	0.56	0.52	0.40	0.43	0.68	0.37	0.53	0.50	0.29	0.48	0.48	0.63	0.65	0.45	0.67	0.46	0.79	0.73	0.73	0.68	0.69	0.68	0.93	0.72	0.76	0.69	0.74	
18. <i>Pan</i>	0.59	0.52	0.74	0.75	0.69	0.75	0.54	0.60	0.54	0.66	0.52	0.76	0.78	0.61	0.55	0.63	0.48	0.85	0.72	0.80	0.81	0.76	0.79	0.90	0.79	0.80	0.84	0.70	0.73	0.85	0.50	0.45	
19. <i>Papio</i>	0.64	0.37	0.71	0.63	0.63	0.69	0.52	0.45	0.30	0.49	0.59	0.74	0.78	0.85	0.35	0.62	0.35	0.65	0.95	0.59	0.73	0.51	0.57	0.75	0.76	0.70	0.77	0.48	0.68	0.66	0.43	0.35	
20. <i>Ptilodolobus</i>	0.59	0.51	0.76	0.79	0.79	0.81	0.56	0.63	0.49	0.63	0.56	0.71	0.78	0.51	0.56	0.60	0.51	0.70	0.55	0.92	0.68	0.80	0.84	0.95	0.80	0.79	0.73	0.70	0.77	0.83	0.60	0.54	
21. <i>Pongo</i>	0.56	0.40	0.66	0.58	0.59	0.61	0.45	0.63	0.42	0.49	0.44	0.59	0.71	0.64	0.42	0.54	0.32	0.64	0.61	0.57	0.75	0.63	0.73	0.85	0.85	0.80	0.70	0.55	0.78	0.71	0.48	0.57	
22. <i>Presbytis</i>	0.57	0.57	0.64	0.72	0.68	0.76	0.49	0.56	0.58	0.68	0.52	0.61	0.66	0.44	0.57	0.60	0.58	0.65	0.46	0.71	0.50	0.86	0.80	0.93	0.74	0.75	0.75	0.87	0.71	0.92	0.58	0.60	
23. <i>Procolobus</i>	0.36	0.44	0.60	0.64	0.65	0.63	0.46	0.49	0.50	0.57	0.52	0.61	0.61	0.44	0.48	0.48	0.46	0.58	0.45	0.64	0.50	0.59	0.64	0.91	0.69	0.69	0.74	0.73	0.71	0.86	0.60	0.60	
24. <i>Pygathrix</i>	0.48	0.43	0.63	0.59	0.56	0.65	0.44	0.51	0.42	0.52	0.46	0.57	0.67	0.49	0.47	0.53	0.40	0.57	0.50	0.62	0.50	0.59	0.50	0.47	0.94	0.93	1.02	0.77	0.88	0.98	0.67	0.49	
25. <i>Rhinopithecus</i>	0.58	0.43	0.49	0.57	0.58	0.57	0.47	0.40	0.37	0.51	0.43	0.49	0.61	0.46	0.49	0.58	0.37	0.49	0.50	0.52	0.49	0.46	0.37	0.43	0.46	1.03	1.05	0.77	0.75	0.86	0.43	0.47	
26. <i>Semnopithecus</i>	0.71	0.52	0.78	0.75	0.70	0.75	0.52	0.46	0.46	0.70	0.48	0.69	0.83	0.59	0.70	0.71	0.50	0.67	0.62	0.69	0.62	0.63	0.50	0.58	0.63	0.82	0.86	0.73	0.75	0.85	0.54	0.49	
27. <i>Simias</i>	0.54	0.47	0.52	0.58	0.53	0.57	0.43	0.40	0.41	0.57	0.46	0.55	0.60	0.46	0.40	0.53	0.37	0.53	0.52	0.48	0.42	0.48	0.41	0.48	0.49	0.54	0.47	0.85	0.70	0.88	0.58	0.50	
28. <i>Symphalangus</i>	0.46	0.52	0.46	0.61	0.59	0.58	0.39	0.48	0.45	0.69	0.38	0.51	0.52	0.37	0.44	0.48	0.56	0.49	0.35	0.50	0.36	0.61	0.44	0.40	0.39	0.50	0.44	0.57	0.68	0.86	0.68	0.77	
29. <i>Theropithecus</i>	0.46	0.37	0.53	0.53	0.56	0.56	0.32	0.57	0.43	0.47	0.41	0.53	0.60	0.43	0.37	0.43	0.44	0.52	0.51	0.56	0.52	0.50	0.43	0.46	0.39	0.52	0.37	0.39	0.58	0.74	0.60	0.48	
30. <i>Trachypithecus</i>	0.63	0.59	0.72	0.76	0.76	0.84	0.50	0.59	0.62	0.73	0.58	0.72	0.77	0.60	0.55	0.70	0.57	0.74	0.60	0.75	0.58	0.80	0.65	0.63	0.55	0.72	0.57	0.61	0.53	0.88	0.65	0.68	
31. <i>Saguinus P</i>	0.37	0.45	0.57	0.54	0.58	0.62	0.41	0.42	0.50	0.58	0.44	0.54	0.55	0.39	0.37	0.47	0.54	0.45	0.41	0.57	0.41	0.53	0.48	0.45	0.29	0.48	0.39	0.51	0.45	0.61	0.97	0.82	
32. <i>Saguinus G</i>	0.18	0.23	0.30	0.32	0.35	0.36	0.23	0.34	0.26	0.37	0.24	0.25	0.26	0.17	0.17	0.25	0.35	0.25	0.20	0.31	0.29	0.33	0.28	0.20	0.19	0.26	0.21	0.34	0.22	0.38	0.48	0.35	

Table 5: Matrix correlation and average vector correlation of random selection vectors between higher taxa of Catarrhini (subfamilies, families, and superfamilies). Dotted lines separate comparisons at different taxonomic ranks. The maximum possible correlation ($\sqrt{t_1 t_2}$) is shown for each taxon pair compared. Observed and adjusted matrix correlations or average vector correlations are also presented. All matrix correlations are significant at $p < 0.0001$ and all average vector correlations are significant at $p < 0.001$. The average and standard deviation of all comparisons is presented at the bottom.

Taxon 1	Taxon 2	V/CV matrices				Correlation matrices			
		t_1	t_2	observed	adjusted	t_1	t_2	observed	adjusted
Cercopithecinae	Colobinae	0.998	0.996	0.845	0.848	0.990	0.976	0.904	0.920
Cercopithecinae	Homininae	0.998	0.991	0.762	0.766	0.990	0.941	0.788	0.816
Cercopithecinae	Hylobatinae	0.998	0.984	0.644	0.650	0.990	0.909	0.771	0.813
Colobinae	Homininae	0.996	0.991	0.874	0.880	0.976	0.941	0.822	0.858
Colobinae	Hylobatinae	0.996	0.984	0.832	0.840	0.976	0.909	0.792	0.841
Homininae	Hylobatinae	0.991	0.984	0.768	0.777	0.941	0.909	0.681	0.737
Cercopithecidae	Hominidae	0.998	0.991	0.798	0.802	0.992	0.941	0.817	0.846
Cercopithecidae	Hylobatidae	0.998	0.983	0.691	0.697	0.992	0.909	0.795	0.837
Hominidae	Hylobatidae	0.991	0.983	0.768	0.778	0.941	0.909	0.681	0.737
Cercopithecoidea	Hominioidea	0.998	0.992	0.803	0.806	0.992	0.958	0.875	0.898
Average				0.778	0.784			0.793	0.830
SD				0.070	0.069			0.072	0.059

Table 6: Matrix correlations between covariance and correlation similarity patterns, morphological and phylogenetic distances, and pairwise differences in the overall correlation magnitude index r^2 among Catarrhini genera. Boldface indicates $p < 0.05$; italicized boldface indicate $p < 0.0001$.

	Covariance	Correlation	Morphological	Phylogenetic	r^2
Covariance	1				
Correlation	<i>0.665</i>	1			
Morphological	<i>-0.234</i>	<i>-0.535</i>	1		
Phylogenetic	<i>-0.362</i>	<i>-0.362</i>	<i>0.424</i>	1	
r^2	<i>-0.346</i>	<i>-0.218</i>	0.028	0.080	1

Table 7: Mahalanobis distances (D^2) between the multivariate means (centroids) of Catarrhini genera.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
1. <i>Allenopithecus</i>	0																													
2. <i>Bunopithecus</i>	445	0																												
3. <i>Cercocebus</i>	87	282	0																											
4. <i>Cerapithecus</i>	24	262	93	0																										
5. <i>Chlorocebus</i>	45	289	77	18	0																									
6. <i>Colobus</i>	117	158	122	114	80	0																								
7. <i>Erythrocebus</i>	181	336	49	106	90	133	0																							
8. <i>Gorilla</i>	512	466	471	1061	728	652	380	0																						
9. <i>Homo</i>	652	622	736	1561	1012	957	588	462	0																					
10. <i>Hyllobates</i>	217	61	217	214	211	175	270	678	863	0																				
11. <i>Kasi</i>	582	216	155	115	119	68	391	487	643	167	0																			
12. <i>Lophocebus</i>	139	368	21	117	119	166	107	524	756	250	278	0																		
13. <i>Macaca</i>	51	253	28	65	67	120	60	534	1105	199	156	48	0																	
14. <i>Mandrillus</i>	270	427	144	523	384	370	158	268	611	424	476	187	181	0																
15. <i>Miopithecus</i>	180	543	212	63	82	202	295	750	944	299	470	301	129	577	0															
16. <i>Nasalis</i>	160	240	99	154	138	125	176	389	615	174	236	142	86	264	319	0														
17. <i>Nomascus</i>	334	45	268	197	219	158	274	488	588	33	317	293	209	356	491	297	0													
18. <i>Pan</i>	455	348	403	798	596	504	313	167	395	466	441	451	416	295	747	353	302	0												
19. <i>Papio</i>	188	351	93	309	237	303	132	338	785	283	346	114	114	30	380	159	305	309	0											
20. <i>Ptilocolobus</i>	96	207	93	82	59	23	113	699	1025	176	41	127	83	358	178	112	183	525	242	0										
21. <i>Pongo</i>	349	337	441	877	554	542	249	136	464	495	337	494	635	263	599	357	306	132	367	567	0									
22. <i>Presbytis</i>	234	262	219	142	122	110	358	839	1023	172	39	343	215	650	220	278	263	725	433	69	744	0								
23. <i>Procolobus</i>	220	433	158	92	98	110	290	647	825	216	144	260	155	526	175	229	318	587	359	55	554	76	0							
24. <i>Pygathrix</i>	397	180	218	228	192	92	286	420	598	108	229	345	210	366	344	121	187	321	310	114	329	147	218	0						
25. <i>Rhinopithecus</i>	1690	527	230	311	280	124	263	389	555	192	1120	331	230	337	852	332	493	286	331	137	308	219	326	155	0					
26. <i>Semnopithecus</i>	187	181	121	163	114	63	165	356	598	182	37	224	138	280	212	139	182	355	282	51	346	84	81	113	166	0				
27. <i>Simias</i>	453	377	121	116	138	95	284	498	675	158	216	204	97	354	275	145	254	443	231	60	379	147	141	122	683	102	0			
28. <i>Symphalangus</i>	313	98	233	278	313	145	243	395	571	124	257	281	211	262	471	235	81	281	311	215	245	359	458	193	286	186	327	0		
29. <i>Theropithecus</i>	763	931	267	831	643	631	268	312	954	873	846	386	177	135	1381	408	875	378	87	657	296	1254	987	816	989	401	778	636	0	
30. <i>Trachypithecus</i>	139	192	169	127	110	75	245	743	963	176	16	253	172	498	200	180	206	622	352	52	640	31	91	113	175	57	93	251	826	0

Figure 1: Cranial landmarks recorded from Catarrhini skulls using a three-dimensional digitizer, exemplified here in a mangabey specimen (*Cercocebus albigena*). IS: intradentale superior; PM: premaxillary suture at the alveolus (right and left); NSL: nasale; NA: nasion; BR: bregma; PT: pterion (right and left); FM: fronto-malare (right and left); ZS: zygomaxillare superior (right and left); ZI: zygomaxillare inferior (right and left); MT: maxillary tuberosity (right and left); PNS: posterior nasal spine; APET: anterior petrous temporal (right and left); BA: basion; OPI: opisthion; EAM: anterior external auditory meatus (right and left); PEAM: posterior external auditory meatus (right and left); ZYGO: inferior zygo-temporal suture (right and left); TSP: temporo-spheno-parietal junction (right and left); TS: temporo-sphenoidal junction at the petrous (right and left); JP: jugular process (right and left); LD: lambda; AS: asterion (right and left).

Figure 2: The phylogenetic hypothesis adopted in this study (see text for references) associated to the overall correlation index (r^2) for each terminal. Error bars correspond to 2 standard deviations, and most pairwise comparisons in r^2 were statistically significant at the $p = 0.05$ level.

Figure 3: Average similarity between Catarrhini genera based on comparisons of V/CV (left) and correlation matrices (right).

Figure 4: Average similarity of raw and adjusted comparisons of correlation and variance/covariance matrices among Catarrhini. Average values are shown for all species compared within genus, between genera, between subfamilies, families and superfamilies.

Figure 5: Plot of the V/CV similarity matrix values against the phylogenetic distance for pairwise comparisons of Catarrhini. The correlation is statistically significant according to a Mantel test ($r = -0.362$, $p < 0.001$), indicating the presence of phylogenetic signal in V/CV similarity patterns. A very similar plot was obtained substituting the V/CV similarity matrix for its correlation counterpart.