

## QLT, SELEZIONE ARTIFICIALE

Miglioramento delle produzioni → selezione artificiale → fonda i suoi effetti in considerazione di genetica quantitativa.

QTL → Quantitative trait loci → regioni cromosomiche dove mappano i geni responsabili per un carattere poligenico. Ovvero, intanto stiamo parlando di caratteri poligenici e quindi determinati da un assetto genetico a più loci ed anche, spesso, dall'ambiente. Si tratta di caratteri interessanti, in quanto la maggior parte dei caratteri che ci interessano → produzione di latte da parte delle mucche, tasso di crescita del grano o anche le malattie umane, si tratta di caratteri appunto poligenici.

Per caratteri poligenici le mappature sono state difficili da risolvere fino a quando non si sono potute applicare delle tecniche di individuazione a livello di genoma intero, proprio perché ci sono più geni che interagiscono in maniera complessa e tutti insieme determinano un carattere. Quindi una volta che sono stati individuati i geni causa per un tratto di interesse → possono essere genotipizzati in una popolazione, vedere quindi chi porta quale variante genica a questi loci, oppure possono essere manipolati con tecniche di ingegneria genetica oppure possono essere reintrodotti nella popolazione attraverso incroci mirati tra individui che portano un carattere buono e la popolazione generale.

Primo passaggio di isolamento di un tratto QTL è uno studio di associazione, il risultato di questo studio di associazione è l'identificazione di una regione cromosomica in cui è presente il fattore determinante per quel tratto, regione cromosomica che conterrà più geni, che sono buoni candidati come causa del tratto → vengono sequenziati, studiati per trovare quale gene, quale parte della sequenza del gene è determinante per l'insorgenza del tratto di interesse (o meglio, una delle cause → tratti multigenici, sono determinati da più geni sparsi nel genoma).

Esempio → contenuto d'olio nel mais. Studi di questo tipo richiedono incroci, grandi allevamenti, tecniche di genotipizzazione su moltissimi marcatori, tendono quindi ad essere studi costosi → pertanto normalmente non si rivolgono a specie di interesse di base (un insetto interessante) ma si usano per risolvere problemi che hanno un impatto economico importante → la produzione di energia è un fattore importante per la sostenibilità della crescita delle popolazioni e da un punto di vista economico → chi produce di più guadagna di più → la possibilità, crescendo piante di mais, di produrre piante che producono più olio, diventa un aspetto importante → vale la pena condurre uno studio di questo tipo.

2008 → si vuole identificare il QTL, gene causa, che determina la produzione di molto olio.

Si inizia facendo un incrocio tra ceppi di mais, linee pure (idealmente tutti omozigoti) diverse tra loro → una che ha alti quantitativi di olio e una che ha bassi quantitativi di olio → si procede con gli incroci e si ottiene come risultato della mappatura QTL che il fattore causale della produzione di olio nel mais si trova in una regione del cromosoma 6 lunga 4.2 centiMorgan, una zona delimitata di un cromosoma. Ciò ricorda che il QTL non è un gene, ma una zona cromosomica entro cui mappa il fattore causale. All'interno della zona si trovavano 5 geni diversi che codificano per proteine, uno di questi, DGATI-2 codifica per uno degli enzimi coinvolti nella fase finale della sintesi del diacil-glicerolo → candidato principe per un effetto sulla produzione di olio. Questo gene è stato sequenziato in numerose varietà diverse di mais ed è stato notato che l'aumento di produzione di olio è legato ad una singola mutazione del gene → inserzione di tre paia di basi che inserisce un codone che codifica per una fenilalanina, varianti del gene senza la fenilalanina sono meno produttive, è stato anche notato che se la fenilalanina è rara nelle varietà di mais coltivato, è invece abbastanza comune nei parenti selvatici del mais → ciò indica che nel gene DGAT-2 originario, evidentemente, c'era la fenilalanina, che poi nel processo di domesticazione delle varie varietà di mais questa fenilalanina è andata persa, ed oggi si vorrebbe reintrodurre → ciò apre a diversi scenari → o una manipolazione genetica del gene oppure un approccio più morbido in cui si fanno degli incroci tra varietà che hanno la fenilalanina e varietà che non la posseggono x riportare l'allele nelle varietà coltivate.

Come procede un esperimento di mappatura QTL → dal punto di vista tecnico ciò che lo rende possibile è la disponibilità di marcatori numerosissimi e ben distribuiti sul genoma (più sono numerosi più il QTL mappato avrà una dimensione piccola → più si andrà vicini ad isolare il fattore causa, per specie molto studiate per cui si hanno gli strumenti tecnici- processi biotecnologico che sono stati standardizzati- si avranno centinaia di migliaia di marcatori → possibilità di localizzare un QTL di piccole dimensioni, molto stretto intorno al gene di interesse. I marcatori oggi hanno la forma di SNPs e dunque mutazioni di nucleotidi singoli.

A livello di incroci si parte da due ceppi omozigoti diversi tra loro, ad ognuno delle centinaia di migliaia di geni differenti sul genoma sono fissati per alleli differenti ipoteticamente (questo non è visualizzabile sul momento) → quindi si parte da linee pure il più differenti possibile, che quindi differiscono anche per il tratto di interesse → la progenie F1 sarà totalmente eterozigote, pertanto tutti gli individui di F1 saranno geneticamente uguali tra loro, presenteranno dunque un fenotipo simile (eventuali differenze sono da addurre a cause ambientali), poi questa F1 si reincroci ad ottenere una F2 che ha ampia variabilità genetica, perché i tanti loci eterozigoti in F1 segregano in maniera differente → ampia variabilità genetica e variazioni nel tratto di interesse. Dunque si genotipizzano questi individui per marcatori sparsi sul genoma e si andranno a cercare correlazioni, ovvero, per la gran parte (quasi totalità) dei marcatori non ci sarà una correlazione con il tratto di interesse, mentre è possibile che un limitato numero di questi marcatori correli con il tratto → tutte le piante che presentano il tratto hanno uno specifico allele di quel marcatore, in questo caso si dimostra l'associazione e si è trovata, in base alla posizione dei marcatori sul genoma, la regione genomica su cui si trova il fattore causale per la differenza del tratto che ci interessa, a questo punto abbiamo il QTL mappato e si può procedere ad una ricerca più fine a livello di geni o mutazioni singole.

Esempio: stiamo cercando un QTL relativo all'altezza della pianta, incrocio due diverse varietà di piante omozigote (di cui conosco le posizioni dei marcatori) con fenotipi differenti.

La generazione F1 è eterozigote, fenotipicamente, probabilmente, una via di mezzo. Il reincrocio delle F1 crea infinite combinazioni di alleli a geni diversi (qui sono 3 quindi non abbiamo tante combinazioni) → questi individui si genotipizzano e si nota che il genotipo al locus C correla, gli individui con genotipo C2C2 sono alti, quelli con genotipo C1C1 sono bassi → quindi ciò significa che il locus di interesse per il tratto altezza si eredita in maniera associata al locus C, quindi nota la posizione del marcatore C, posso andare a cercare il gene per il tratto di interesse nelle sue vicinanze.

Uno sviluppo tecnico di questi esperimenti QTL sono le associazioni genome wide, la differenza è che nella mappatura QTL si predispongono tramite incroci le condizioni migliori per la mappatura (ovvero si parte da una generazione parentale di due linee pure il più diverse possibile, si fa un F1 ibrida e poi un reincrocio per ottenere la F2) con le associazioni genome wide si salta tutta questa parte e si genotipizzano individui scelti a caso nella popolazione (che ovviamente presentino una differenza nel tratto di interesse), di fatto la differenza, dal punto di vista pratico → è più pratico, dal punto di vista analitico → si cercano differenze più sottili, quindi sono necessari più dati. In ogni caso si sfrutta una condizione della popolazione naturale, all'interno della quale vi sono stati incroci e si è naturalmente creata quella serie di ricombinazione, di variabilità genetica, di combinazione di genotipi diversi → questo crea le condizioni adatte all'analisi (che con gli esperimenti QTL si crea incrociando le varietà).

#### SELEZIONE ARTIFICIALE

- Si tratta di una serie di azioni, un processo, operate dall'uomo mirate a modificare specie naturale (che si trovano in natura, che sono così per normali processi di evoluzione, migrazione etc, specie come sono naturalmente dell'ambiente) secondo un proprio progetto utilitaristico.

Esempio → il Teosinte, erbetta che fa pochi semi, attraverso selezione artificiale e vari livelli intermedi di selezione → è stata trasformata in una specie non NATURALE, che è il mais → la

pannocchia ha molti più chicchi, più grandi, più ordinati. Teosinte è stata modificata per un progetto dell'uomo, progetto che aveva uno scopo → avere piante che producono di più. Oggi questi processi vengono fatti in maniera mirata, ma che storicamente vanno avanti da un periodo molto lungo, la selezione di piante come il mais è cominciata migliaia di anni fa, l'uomo primitivo agli arbori dell'agricoltura non aveva chiaramente cognizione di genetica, non aveva un'idea precisa di quello che stesse facendo, ma aveva una volontà, voleva che queste piante producessero il più possibile → piantava quindi i semi prodotti dagli individui che producevano di più, la selezione artificiale comincia in questo momento.

Specie vegetali quali mais, la famiglia dei cavoli, ma anche negli animali (il lupo è diventato cane, il cinghiale maiale etc) è stata operata questa selezione, talvolta è stata fatta anche per ragioni di tipo estetico → si pensi alle razze di cane, il cane probabilmente è stato uno dei primi animali ad essere oggetto di selezione artificiale → sempre per motivi utilitaristici, il cane è utile nella caccia, nella pastorizia etc, successivamente è diventato anche un "hobby" quello di possedere cani diversi, più slanciati etc → la selezione dunque si attua per ottenere cani con una migliore estetica.

La selezione artificiale mima la selezione naturale, l'idea alla base è abbastanza semplice, abbastanza nota → in natura gli individui che portano caratteri positivi, che comportano un miglior adattamento, si riproducono di più. La selezione artificiale ripete in piccolo questo processo per uno scopo preciso operato dall'uomo. L'agente che opera la selezione nella selezione naturale è l'ambiente, nel caso della selezione artificiale è l'uomo, il contadino, che sceglie i riproduttori → seleziona le spighe più belle da un campo di grano da far crescere l'anno successivo, gli individui più forti da far riprodurre.

La selezione naturale ha una velocità bassa (si parla di milioni di anni), nella selezione artificiale, con gli strumenti tecnologici di oggi poi, si può fare molto più velocemente.

Cosa si seleziona? Nella selezione naturale si selezionano quei tratti che aumentano la fitness (possibilità di fare più figli) nella selezione artificiale viene selezionato, massimizzato, un tratto che interessa all'allevatore, contadino.

Quali sono i rapporti con la fitness? La selezione naturale aumenta la fitness, la selezione artificiale generalmente diminuisce la fitness, massimizza cioè un tratto di interesse (più latte, più lana, più chicchi) a scapito della fitness.

Non tutti i caratteri si possono selezionare per selezione artificiale, ci sono due requisiti che devono essere tenuti a mente:

- Un tratto deve essere almeno in parte geneticamente determinato, deve essere ereditabile e quindi avere una base genetica, non è necessario che sia totalmente ereditabile, spesso si tratta di tratti multifattoriale (hanno una parte genetica ed una ambientale).
- Ci deve essere una variabilità genetica nella popolazione per il tratto di interesse → questo perché generazione x generazione si va a scegliere individui che mostrano un tratto migliore degli altri individui, coevi, della stessa popolazione, pertanto questo richiede che ci sia una differenza, se non c'è una differenza, e nello specifico una differenza genetica, non si può scegliere → non c'è niente da selezionare (si ricordi l'esperimento di Nihelson Hele, una volta che tutti gli individui della popolazione per la versione dell'allele che crea il pigmento, non c'è più niente da selezionare).

Una selezione si quantifica con due parametri → differenziale di selezione e risposta alla selezione.

C'è una popolazione non selezionata, la popolazione di partenza, che ha una media di popolazione di 80 L di latte, tra queste si trovano mucche che producono più latte e meno latte → l'allevatore prende gli individui che producono di più e li fa incrociare (questi sono i RIPRODUTTORI, la loro prole sarà la progenie selezionata e dunque il risultato di una generazione di selezione) → la media dei riproduttori è più alta della popolazione originale → la progenie selezionata avrà una media maggiore della popolazione generale ma tendenzialmente minore dei riproduttori (in realtà nella progenie selezionata ci saranno anche individui che producono più latte dei genitori, i riproduttori, e questi saranno i riproduttori successivi). La differenza tra popolazione generale e riproduttore → è il differenziale di selezione, quantifica lo sforzo, quanto ha lavorato il selezionatore, è riuscito a trovare mucche che producono 40L in più, in media, della popolazione generale.

La risposta alla selezione è la differenza tra la popolazione generale e la progenie selezionata, indica di quanto ho migliorato il carattere di interesse.

Un differenziale di selezione alto normalmente porta ad una risposta alla selezione intermedia, se fosse un tratto totalmente ereditabile allora la risposta di selezione sarebbe pari al differenziale di selezione.

Esiste un rapporto facile tra questi due parametri e l'ereditabilità additiva, in senso stretto ( $H^2$ ):

$$H^2 = R/S$$

Facendo un esperimento di selezione si possono calcolare R ed S e da qui trovare l'ereditabilità.  $R=0$  non si riesce a fare selezione.

Quindi → se si conosce  $h^2$  si può prevedere l'esito di una selezione → per conoscere  $h^2$  si possono utilizzare modi diversi (vedi lezioni precedente) → se un carattere ha un'ereditabilità alta prevedo un buon successo di selezione. Ma si può anche lavorare al contrario e quindi conosco R ed S, posso conoscere  $h^2$ , che non ora è l'ereditabilità in senso stretto, ma l'ereditabilità realizzata, quella che posso osservare sperimentalmente, che, con le dovute cautele, è assimilabile ad  $h^2$ .

Un esempio di selezione, protratta per più generazioni:

Sulla  $y$ , un carattere → il numero di setole

Sono stati condotti in parallelo due esperimenti → quello marcato in rosso per cui si selezionava per più numero di setole, quello marcato in nero per cui si selezionava per un minor numero di setole.

L'esperimento è stato protratto ed è stato graficizzato il numero medio di setole generazione per generazione → si può osservare che non troviamo una linea ordinata, pulita → questo deriva dal fatto che un esperimento di questo tipo ha anche molti fattori casuali, particolarità del singolo incrocio, si allevano popolazioni numericamente limitate, è possibile che ci siano effetti casuali che si amplificano nell'esperimento → andamento altalenante.

L'altra cosa da notare è che, a differenza di quanto ci si potrebbe aspettare, non si può procedere all'infinito, si ha un andamento a plateau, le prime selezioni sono molto efficaci, poi la selezione si stabilizza, non si incrementa oltre, anche se continuo a selezionare. Perché questo accade? Uno dei motivi è la variabilità genetica, la scelta si basa sulla scelta da parte dei riproduttori tra individui che hanno una differenza fenotipica, via via che la selezione procede si ha un aumento degli alleli positivi e una diminuzione di quelli negativi → sempre meno

variabilità genetica per il tratto di interesse, se non c'è variabilità genetica non c'è niente da selezionare e la selezione si interrompe.

L'altro evento, più subdolo, è costituito dagli effetti negativi sulla fitness → si ha una massimizzazione di un tratto, il che impatta sugli equilibri interni di un organismo (nel caso del mais l'aumento di chicchi impatta sulla quantità di nutrienti, quantità di acqua che la pianta deve ricreare, stabilità della pianta, ha un effetto quindi sull'economia generale della pianta, sull'equilibrio interno di quest'ultima) → diminuzione di fitness.

Quindi da una popolazione naturale variabile si possono selezionare efficacemente individui differenti, ma da una popolazione che è già stata sottoposta a selezione è difficile operare ancora una selezione artificiale, perché ci si va a scontrare con l'uniformità genetica e con il fatto che deve essere mantenuto un equilibrio nell'organismo in questione che se viene ulteriormente stressato porta al non funzionamento/non sopravvivenza dell'individuo stesso.

- La selezione operata sui cani, che ha portato alla formazione delle diverse razze canine che oggi conosciamo è stata una selezione estremamente veloce e spinta (è cominciata nell'800), quindi c'è una differenza di fitness tra i cani di razza, super selezionata, e il cane meticcio (che si è stato selezionato, perché non è un lupo, ma che non è stato soggetto alla selezione dei cani razza o che comunque viene da razze reincrociate tra loro ed ha quindi riacquisito variabilità genetica) → i cani di razza vivono poco (non è esattamente fitness, ma è un parametro che posso utilizzare per approssimare la fitness → un cane che vive di più è un cane che sta bene e che forse fa anche più figli).

Gli studi pubblicati su Conservation Genetics hanno rivelato, tramite un'analisi statistica piuttosto complessa (perché ci sono diversi fattori che impattano sulla longevità del cane, cani piccoli vivono di più dei cani grandi, ad esempio), però anche correggendo per tutti gli altri fattori → questi autori vivono che l'aspettativa di vita di un meticcio può essere maggiore di quella di un cane di razza di 1,8 anni. Andando a vedere un caso più controllato, di cui si conoscono i pedigree e per cui si può sapere quante generazioni di inbreeding si sono avute → si osserva che i cani con inbreeding maggiore del 2% hanno un'aspettativa di vita nettamente minore di quelli soggetti ad inbreeding più basso, questo fa vedere che operando selezione artificiale abbiamo abbassato la fitness dei cani.

Risposte correlate: talvolta due caratteri che sembra non c'entrino niente l'uno con l'altro variano insieme, questo può avere cause ambientali o cause genetiche.

Un esempio di cause ambientali:

- Prendiamo due caratteri in un albero da frutto: crescita e produzione di frutti, se in una popolazione metà degli alberi non vengono annaffiati bene a dispetto dell'altra metà avremo da una parte meno crescita e meno frutti → questi due caratteri variano insieme, per una causa ambientale.
- Ma vi sono anche correlazioni genetiche → ci sono geni che hanno effetti su due o più caratteri che sembrano non evidentemente correlati (pleiotropia), ad esempio la quantità di ormone GH nell'uomo è determinato geneticamente → più ormone GH → più altezza, ma anche mani più grandi.

Queste correlazioni si possono osservare e misurare tra caratteri anche di interesse, quindi:

Quantità di latte e percentuale di grasso nel latte bovino → correlazione negativamente

Peso delle uova e produzione di uova nel pollo → correlazione negativa

Cosa ci dice questo in termini di selezione artificiale? Quando si seleziona un carattere, si selezionano anche tutti i caratteri ad esso associati, quando ad un singolo tratto sono associati altri tratti, modificando il primo modifico anche gli altri (in maniera minore, in base cioè alla correlazione esistente tra questi).

Ad esempio → peso uova e numero uova nel pollo → uno potrebbe selezionare una linea di polli che sono più produttivi, quindi sceglie come riproduttori polli che fanno più uova, contemporaneamente però sta selezionando, in maniera negativa, polli che fanno uova più piccola. Esistono quindi razze selezionate per motivi diversi, si pensi alle mucche: esistono razze da latte e razze da carne, la selezione di un carattere quindi porterà probabilmente al detrimento di un altro carattere ad esso correlato → più carne meno latte.