

Struttura genetica delle popolazioni di piante

E' determinata dal sistema riproduttivo e quindi è diversa per le specie a propagazione vegetativa, a riproduzione prevalentemente autogama e prevalentemente allogama

- Popolazioni naturali di specie prevalentemente autogame sono assimilabili ad un insieme di differenti linee pure
- Popolazioni naturali di specie prevalentemente allogame sono composte da diversi individui eterozigoti che si interincrociano liberamente
- Popolazioni naturali di specie che si propagano per via vegetativa sono normalmente multiclonali

Specie a propagazione vegetativa

La propagazione asessuale, o vegetativa, riproduce fedelmente il genotipo e permette di ottenere, indipendentemente dal grado di eterozigosi del genotipo stesso, un gran numero di individui geneticamente identici tra loro (CLONE).

Clone

popolazione di individui ottenuti a partire da un singolo individuo mediante propagazione vegetativa. La popolazione è costituita da un numero infinitamente grande di individui geneticamente identici (CLONE)

Come si genera nuova variabilità da sfruttare per il miglioramento genetico ?

Il miglioramento genetico è basato sulla ricerca di pregevoli ricombinanti tra le piante che si ottengono per via sessuale, Sia usando i semi prodotti dalle piante senza alcun intervento dell'uomo, sia usando i semi ottenuti da autofecondazioni ed incroci controllati.

Incrocio -> Segregazione e ricombinazione

Mutazione spontanea o indotta

Colture *in vitro* e variazione somaclonale. Variazioni fenotipiche indotte dalla coltura *in vitro*

Le varietà coltivate sono cloni

La **selezione clonale** ha il compito di mantenere il genotipo

Specie a riproduzione prevalentemente autogama

L'autofecondazione ripetuta porta all'omozigosi, quindi una popolazione di una specie strettamente autogama dovrebbe essere costituita da individui omozigoti a tutti i loci

Si parla anche di **inincrocio** o **inbreeding**

- Quota di eterozigosi si dimezza ad ogni generazione
- Nelle popolazioni naturali esiste variabilità dovuta a differenze tra gli omozigoti
- Variabilità insorge ex-novo nelle **linee pure** per:
 - mutazioni spontanee
 - incrocio naturale

Riduzione dell'eterozigosi a un *locus* in successive generazioni di autofecondazione

Generazione	Individui omozigoti %		Individui eterozigoti %
F ₁	0,00	1600 <i>Aa</i>	100,00
F ₂	50,00	400 AA 800 <i>Aa</i> 400 aa	50,00
F ₃	75,00	400 AA 200 AA 400 <i>Aa</i> 200 aa 400 aa	25,00
F ₄	87,50	600 AA 100 AA 200 <i>Aa</i> 100 aa 600 aa	12,50
F ₅	93,75	700 AA 50 AA 100 <i>Aa</i> 50 aa 700 aa	6,25

Percentuale di individui omozigoti a tutti i loci dopo 2, 5, 8 generazioni di autofecondazione di individui inizialmente ibridi a 5, 10, 20, 40 loci

Numero di loci inizialmente eterozigoti	Numero di generazioni segreganti		
	2 (F ₃)	5 (F ₆)	8 (F ₉)
5	23,7	85,3	98,1
10	5,6	72,9	96,2
20	0,3	53,0	92,5
40	0,001	28,1	85,5

Nelle popolazioni ibride di piante autogame l'eterozigosi si dimezza nelle generazioni successive, mentre la frazione di omozigoti agli n loci inizialmente ibridi aumenta, secondo la seguente espressione:

$$X = \frac{(2m-1)^n}{(2m)}$$

X = % di omozigoti a tutti i loci

m = n° generazioni segreganti

n = n° coppie alleliche eterozigoti inizialmente

Percentuale di genotipi omo- ed eterozigoti al locus A dopo varie generazioni di autofecondazione (I)

Generazione		Percentuale dei genotipi		
F	I	<i>AA</i>	<i>Aa</i>	<i>aa</i>
1	—	0	100	0
2	1	25	50	25
3	2	37,50	25	37,50
4	3	43,75	12,50	43,75
5	4	46,88	6,25	46,88
6	5	48,44	3,12	48,44
7	6	49,22	1,56	49,22
8	7	49,61	0,78	49,61
9	8	49,80	0,40	49,80
10	9	49,90	0,20	49,90
11	10	49,95	0,10	49,95
12	11	49,97	0,05	49,97

LINEE PURE

- Sono linee omozigoti a tutti i loci
- La linea pura viene definita come un insieme di individui derivati per autofecondazione da un capostipite omozigote
- Il numero possibile di linee pure è 2^n , dove n è il numero di loci inizialmente eterozigoti

Che cosa può determinare variazioni genetiche in una linea pura?

- Mutazioni spontanee
- Incrocio naturale

Mutazioni spontanee

La loro frequenza in natura è compresa tra 10^{-5} e 10^{-6} .

Quelle che interessano geni che controllano caratteri quantitativi non hanno un effetto fenotipico evidente, ma accumulandosi in periodi di tempo sufficientemente lunghi, generano variabilità genetica entro linee pure, in modo tale che la selezione al loro interno può essere efficace

Incrocio naturale

Nessuna specie è autogama al 100%

L'incrocio occasionale, il vantaggio degli eterozigoti e la mutazione garantiscono il mantenimento di variabilità genetica indispensabile alla sopravvivenza della specie

Specie a riproduzione prevalentemente allogama

- Quando la popolazione è formata da individui a sessi separati (**specie dioiche**), oppure da individui **ermafroditi** con barriere riproduttive che impediscono **l'autofecondazione**, **l'incrocio** rappresenta la unica forma possibile di riproduzione o comunque quella prevalente.
- Qualora non esista unione preferenziale tra i gameti, tali popolazioni sono dette **panmittiche** poiché nell'ambito di una popolazione ognuno dei gameti maschili ha la stessa probabilità di accoppiarsi con uno dei possibili gameti femminili. In condizioni di panmissia le unioni sessuali tra piante sono totalmente casuali (**random mating**) e ciascuna cellula uovo di un individuo può essere potenzialmente fecondata da uno qualsiasi dei nuclei spermatici di un altro individuo della popolazione.
- Nelle popolazioni **naturali di specie allogame** tutti gli individui sono eterozigoti ad un gran numero di loci e ciascun genotipo è differente in una certa misura dagli altri. La variabilità genetica è ampia ed è distribuita fra tutti gli individui.
- Le popolazioni di queste specie sono comunità riproduttive di organismi sessuati a riproduzione incrociata che **condividono un pool genico** comune.
- **La frequenza dei singoli geni nel pool comune** è determinata dalla capacità riproduttiva dei genotipi: quando i geni contribuiscono a produrre genotipi dotati di **notevole valore adattivo la loro frequenza tenderà a crescere**, viceversa **se hanno effetti negativi sul genotipo la loro frequenza tenderà a diminuire**
- Le popolazioni naturali di tali specie sono caratterizzate, di norma, da unioni sessuali casuali che consentono di mantenere **inalterate nel tempo le frequenze geniche e le frequenze genotipiche**
- Tali popolazioni vengono comunemente **dette in equilibrio Hardy-Weinberg** nel senso che **la composizione genetica di una popolazione** sufficientemente numerosa **rimane costante**, relativamente a ciascun gene, **nel corso delle generazioni in presenza di unioni casuali ed in assenza di fattori di disturbo** (migrazione, mutazione differenziale e selezione).
 - ✓ Piante non tolleranti all'inbreeding;
 - ✓ Capacità di adattamento notevole ad ambienti diversi;
 - ✓ Manifestazione dell'eterosi

COSTITUZIONI VARIETALI NELLE SPECIE AUTOGAME E ALLOGAME

SPECIE PREVALENTEMENTE AUTOGAME

- 1) LINEA PURA

SPECIE PREVALENTEMENTE ALLOGAME

- 1) VARIETA' IN EQUILIBRIO HARDY-WEINBERG
- 2) VARIETA' SINTETICHE
- 3) VARIETA' IBRIDE

Selezione per linea pura

Una linea pura è un insieme di individui derivati per autofecondazione da un capostipite omozigote.

A partire da :

- Popolazioni locali ben adattate all'ambiente in cui è presente una notevole variabilità genetica
- Necessita di una attenta selezione iniziale per conservare i migliori genotipi per le generazioni successive

Considerazioni sulla selezione per linea pura

- Vantaggi: rapida; relativamente poco costosa; conduce a cultivar uniformi; applicabile per caratteri a bassa ereditabilità (selezione sulla base della media di linee omozigoti)
- Svantaggi: bassa adattabilità delle cultivar in relazione all'uniformità genetica, necessità che il genotipo ideale sia già presente nella popolazione

Ibridi F1

Per varietà ibrida si intende comunemente la generazione F1 ottenuta dall'incrocio di due linee inbred (specie allogame) o due linee pure (specie autogame) opportunamente selezionate sulla base di prove di progenie

Un ibrido, per definizione, è un individuo risultante dall'unione di gameti differenti per uno o più alleli, cioè un individuo eterozigote a uno, più o tutti i loci.

Le "linee inbred" sono popolazioni di piante di specie allogame ottenute attraverso autofecondazione praticata per più generazioni successive

- Oggi, ibridi F1 sono prodotti un po' per tutte le specie ad alto reddito, sia autogame che allogame (incluse le ortive)
- Vantaggi delle costituzioni ibride sono la loro uniformità (maggiore rispetto a varietà in equilibrio H. W.), il maggiore sfruttamento dell'eterosi, e, per il costitutore, l'impossibilità di reimpiego del seme
- Svantaggi: bisogna effettuare incroci controllati oppure sfruttare particolari barriere riproduttive

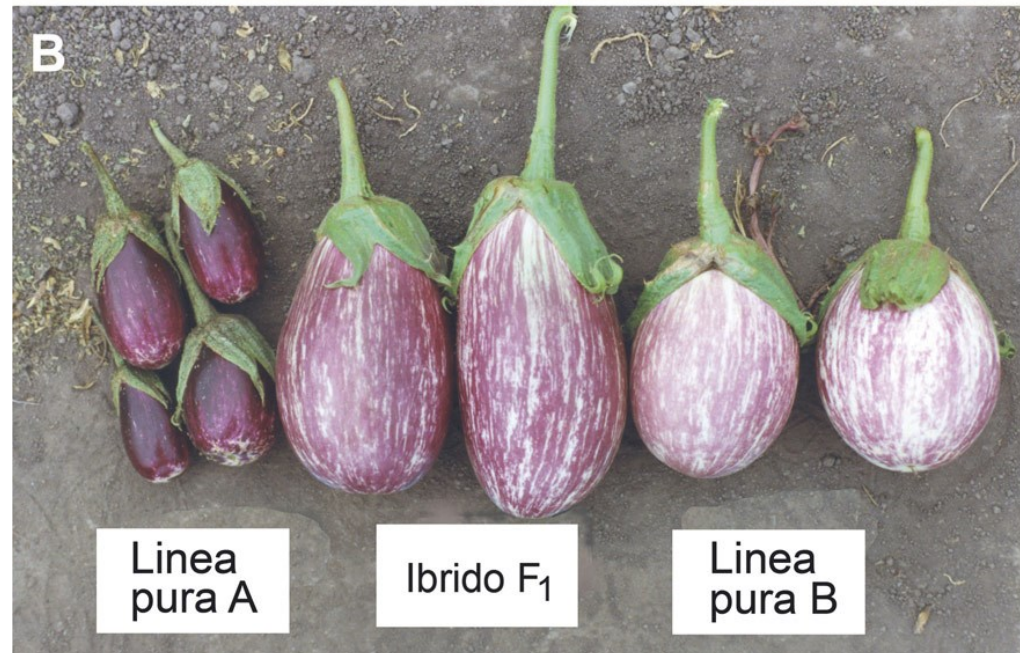
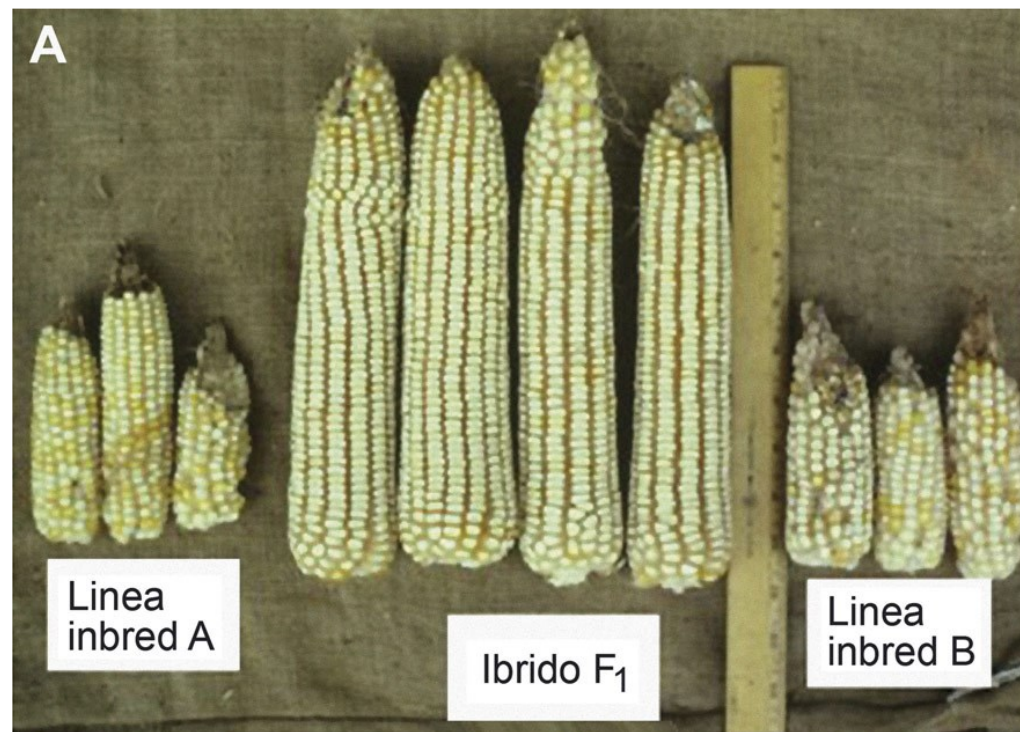
Produzione della semente ibrida

- Sincronizzazione della fioritura dei parentali (semine scalari)
- Adeguato rapporto file portaseme-impollinanti
- Attenzione a contaminazioni ed eliminazione dei fuori tipo
- Emasculazione manuale portaseme e incrocio controllato (pomodoro, peperone, melanzana)
- Sfruttamento monoicia (es. Cucurbitaceae) Sfruttamento autoincompatibilità in associazione a metodi fisici o chimici in grado di rompere tale barriera e assicurare il mantenimento delle linee parentali (Brassicaceae)
- Maschiosterilità (es. barbabietola, carota, cipolla)
- Massime cure colturali e raccolta a maturità fisiologica

Eterosi

- L'eterosi (sinonimo vigore ibrido) è definita come l'incremento in dimensioni, vigore fertilità e produttività (in generale, la performance) di un ibrido rispetto alla media dei parentali
- L'effetto eterotico è positivamente correlato al numero di loci eterozigoti dell'ibrido e, dunque, generalmente si ha che esso aumenta all'aumentare della distanza genetica tra i parentali
- Perché l'effetto eterotico sia di interesse per il breeder, non basta che l'ibrido abbia performance superiore alla media dei parentali, ma superiore al migliore dei due parentali
- L'effetto eterotico è maggiore nelle allogame, ma è stato dimostrato anche per specie autogame come i frumenti o il pomodoro

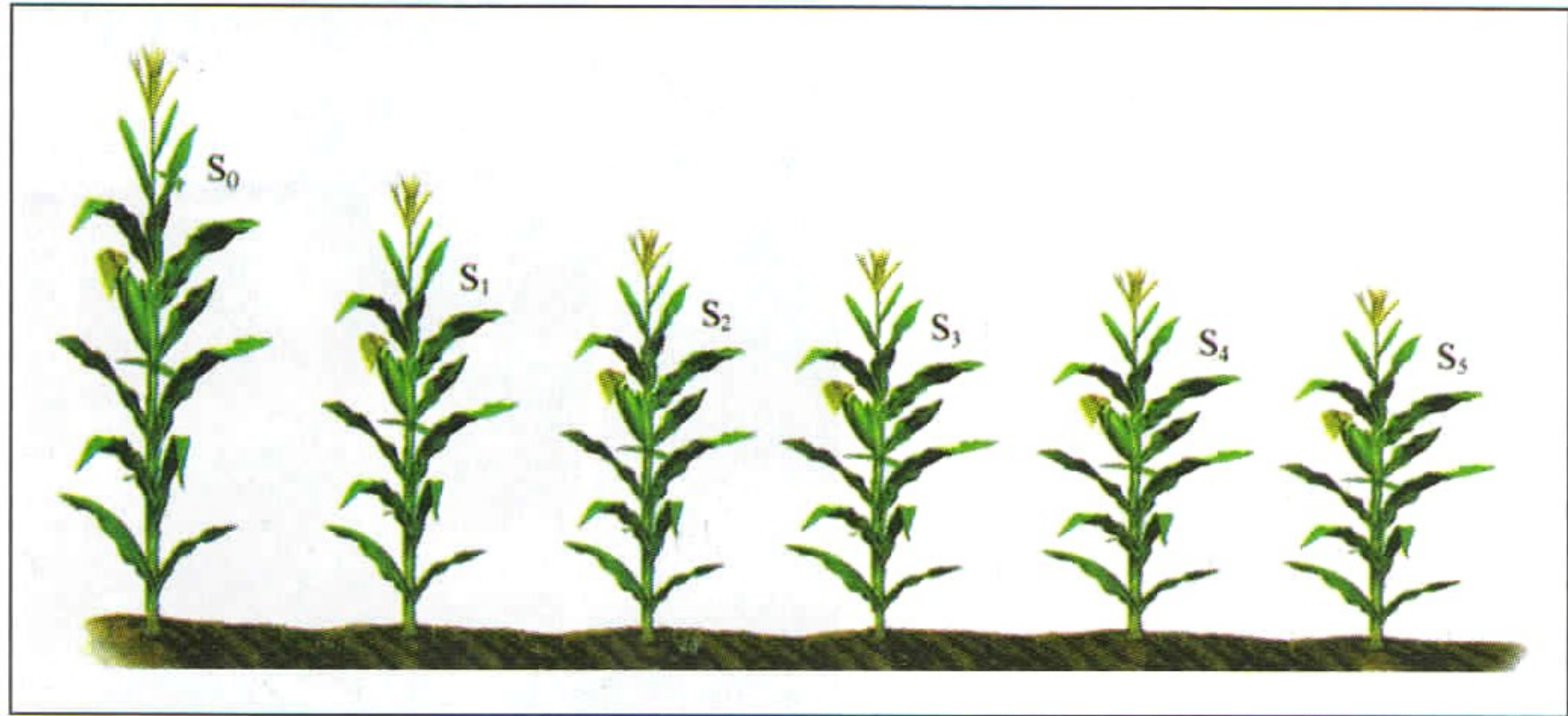
Eterosi



Teorie per spiegare l'eterosi (e la depressione da inbreeding)

- Secondo la teoria della dominanza, la depressione da inbreeding è determinata da mutazioni recessive deleterie, che l'inbreeding stesso porta in omozigosi. Particolari incroci tra parentali geneticamente diversi minimizzano la percentuale di alleli deleteri allo stato omozigote, con conseguente eterosi.
- Infatti, specie autogame sono meno soggette a depressione da inbreeding. Ciò è compatibile con il fatto che mutazioni deleterie in specie autogame, a differenza che in specie allogame, sono sottoposte all'azione della selezione e dunque eliminate.
- In ogni modo, come detto in precedenza una certa eterosi è ottenibile anche in specie autogame, tanto che per specie autogame di pregio è comune produrre varietà ibride

Depressione da inbreeding in mais



Depressione da inbreeding e costituzione varietale

- In specie allogame, la produzione dell'ibrido richiede la costituzione di linee inbred attraverso ripetute autofecondazioni.
- Nel corso di tali autofecondazioni si rende evidente il fenomeno della depressione da inbreeding, ovvero lo scadimento della performance agronomica man mano che si raggiungono livelli elevati di omozigosi
- Alcune specie allogame (es. erba medica) risentono moltissimo della depressione da inbreeding, tanto che l'autofecondazione è associata a ibridi non vitali o sterili. Altre specie tollerano più autofecondazioni. Tra queste mais, girasole e, soprattutto, Cucurbitaceae da orto.
- Le varietà eterozigoti, e in particolare gli ibridi, sono le uniche in grado di sfruttare il fenomeno eterotico

Varietà sintetiche

- Per varietà sintetica si intende la varietà ottenuta dall'interincrocio di genotipi (linee inbred o cloni) selezionati sulla base di appropriate prove di progenie
- Sono generalmente costituite da specie per le quali il costo di produzione di varietà ibride sarebbe molto elevato (es. foraggere)
- Infatti, per alcune generazioni (2-5), le varietà sintetiche non subiscono importanti variazioni per ciò che concerne frequenze geniche e genotipiche (equilibrio Hardy-Weinberg). Ciò permette di riutilizzarne il seme.
- Oltre tali generazioni, le sintetiche vanno incontro ad un processo di “ecotipizzazione”, a causa dell' adattamento ambientale. Ciò comporta generalmente un certo scadimento agronomico
- ✓ Dunque, per aumentare il valore di una sintetica, il breeder può utilizzare linee inbred che producano ibridi più produttivi, utilizzare linee inbred più produttive o aumentare il numero di linee inbred

Il controllo dell'impollinazione nel miglioramento genetico

- Nel miglioramento genetico gli individui selezionati devono essere quasi sempre incrociati tra loro per ottenere la popolazione migliorata
- L'incrocio è il mezzo principale per creare nuove combinazioni di geni e di caratteri da cui selezionare quelle migliori
- L'incrocio con uno stesso partner (tester) è un modo per confrontare il valore di diversi genotipi in selezione
- L'autofecondazione controllata è necessaria per ottenere linee inbred



Dobbiamo quindi escludere che avvengano autofecondazioni o incroci indesiderati: il polline è piccolo e vola! Da solo o trasportato dai pronubi

1. Autoimpollinazione controllata

- Nelle allogame può essere sufficiente isolare singoli fiori/infiorescenze/piante
- A volte dobbiamo intervenire: fiori diclini (es. mais, cucurbitacee) o fiori che “scattano”
- Nelle autogame (se non sono cleistogame) è prudente comunque isolare le piante o i fiori

2. Incrocio intraspecifico

- E' necessario l'**isolamento** dei partner dagli altri individui
- Spesso è necessaria l'**emasculazione** o castrazione manuale/meccanica/chimica/**genetica** del genitore femminile (portaseme)
- E' molto utile avere un marcatore genetico (dominante nell'impollinante o codominante) per distinguere le progenie da incrocio da quelle da autofecondazione

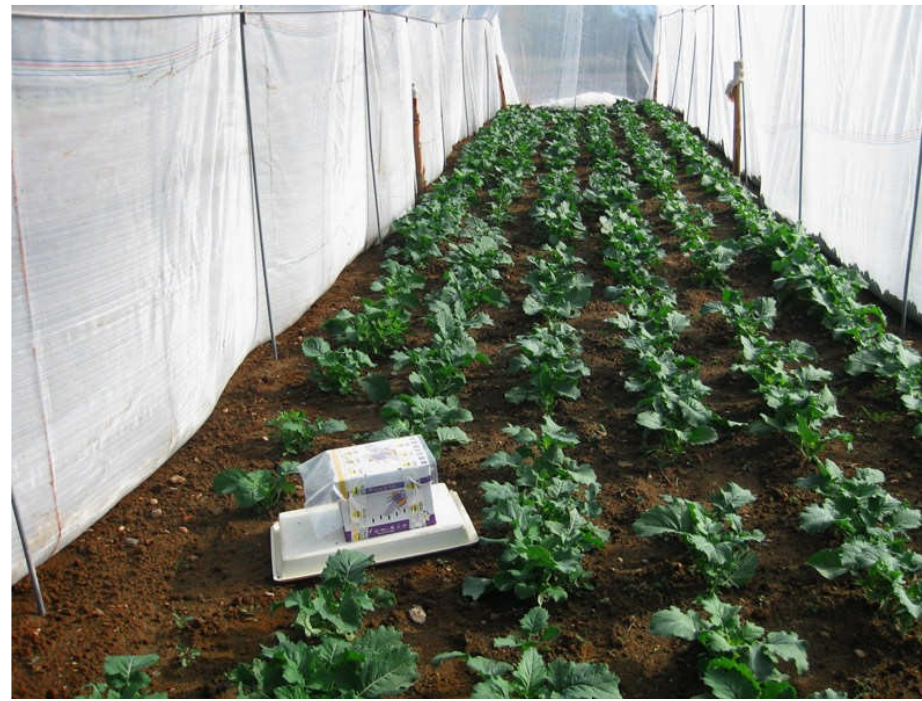


X



Es. *Medicago sativa*
Fiore giallo x violetto“
= “variegato“

Isolamento



Strutture mobili per
isolamento e
impollinazione
controllata



Incrocio intraspecifico

Le tecniche per realizzare l'impollinazione controllata sono molto diverse a seconda della specie
Manuale, portando le antere o il polline raccolto sui fiori del partner maschile sullo stigma del portaseme (di solito emasculato)

Mediato da insetti pronubi allevati *ad hoc* o comprati dagli apicoltori

In cipolla si usano api o mosche



Impollinazione manuale in zucchini



3. Incrocio interspecifico

E' importantissimo per utilizzare la diversità genetica presente nelle specie affini
In pomodoro, patata e altre specie geni di resistenza alle avversità si trovano molto spesso in specie selvatiche e non nel germoplasma coltivato, ad esempio:



Lycopodium peruvianum



Solanum pimpinellifolium

Solanum pureja



Sterilità dell'ibrido

Per definizione gli incroci interspecifici, quando riescono, danno progenie **sterili** a causa di barriere pre- o post-zigotiche alla fertilità

Una fertilità anche bassissima dell'ibrido può permettere di fare il **reincrocio** con la specie coltivata

Se la specie è propagata **vegetativamente** l'ibrido può essere coltivato

La sterilità dell'ibrido spesso può essere superata mediante **raddoppiamento cromosomico**

Sintesi

- ✓ La biologia della riproduzione è un vincolo per il breeder e determina i tipi di varietà che possono essere costituiti;
- ✓ L'autoincompatibilità, in particolare, è spesso un ostacolo per l'ottenimento di varietà omogenee;
- ✓ Le percentuali di auto e allogamia devono essere note per le specie, i genotipi e gli ambienti in cui si opera;
- ✓ Le strutture genetiche delle popolazioni autogame e allogame sono molto diverse: le prime sono composte da genotipi ad alto grado di omozigosi, le seconde da genotipi eterozigoti tutti diversi tra loro;
- ✓ Il controllo accurato dell'impollinazione è un requisito di ogni programma di miglioramento genetico;
- ✓ L'incrocio interspecifico è una risorsa essenziale per attingere alla biodiversità naturale.