

# Il sesso nelle piante

Le angiosperme possono essere **DIOICHE** con fiori maschili e femminili su piante diverse (5% delle specie). Esempi: Asparago, Kiwi, Papaia, Ortica, Pioppo, Spinacio, Canapa, Palma.

Nel caso del kiwi (*Actinidia chinensis*) per ottenere frutti di qualità, in condizioni climatiche favorevoli il rapporto fra piante maschili e femminili può essere di 1:6 o 1:8. In condizioni sfavorevoli si aumenta il numero di impollinatori fino ad 1 ogni 3-4 femmine. Entrato in coltivazione in Italia nel 1969, il kiwi è coltivato su 22.000 ettari, di cui 7.000 nella provincia di Latina. L'Italia è in secondo produttore mondiale dopo la Cina (>60.000 ha)



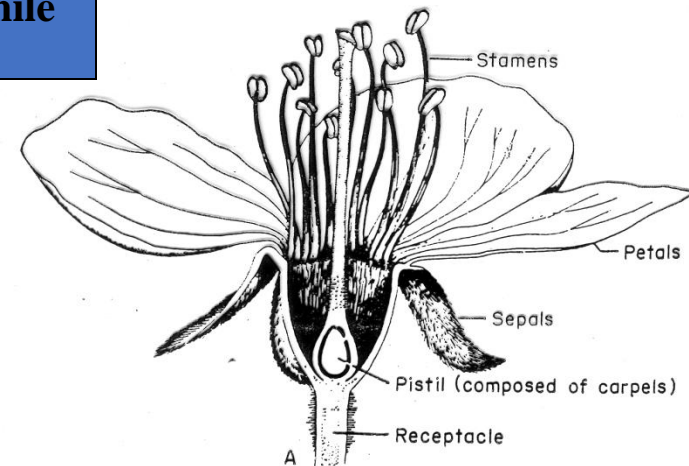
# Il sesso nelle piante

Le angiosperme possono essere **MONOICHE** cioè con fiori maschili e femminili sulla stessa pianta. Se entrambi i sessi sono nello stesso fiore si parla di piante **MONOCLINE** o **ERMAFRODITE** (esempio tulipano, radicchio, pomodoro, patata, grano). Se i fiori maschili sono separati dai fiori femminili si parla di piante **DICLINE** (esempio mais).



**Infiorescenze maschili di mais**

**Infiorescenza femminile di mais.**



**Fiore ermafrodita**

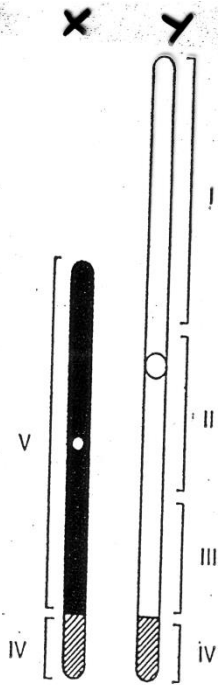
# Il sesso nelle piante

Le angiosperme possono essere **SUBDIOICHE** cioè piante dioiche con individui monoichi. In particolare le piante **subandroiche** sono piante maschili che talvolta hanno rari fiori femminili o ermafroditi (es. asparago) , mentre le piante **subginoiche** sono piante femminili che talvolta presentano rari fiori maschili o ermafroditi. In queste piante l'espressione del sesso è fortemente influenzata dall'ambiente.

# Il sesso nelle piante

Il dioicismo è controllato geneticamente. Sono noti quattro tipi di determinazione del sesso.

1. **Digametia maschile** con cromosomi del sesso eteromorfici e cromosoma Y mascolinizzante. Si trova ad esempio in **pioppo**, salice, **kiwi** e *Melandrium*.



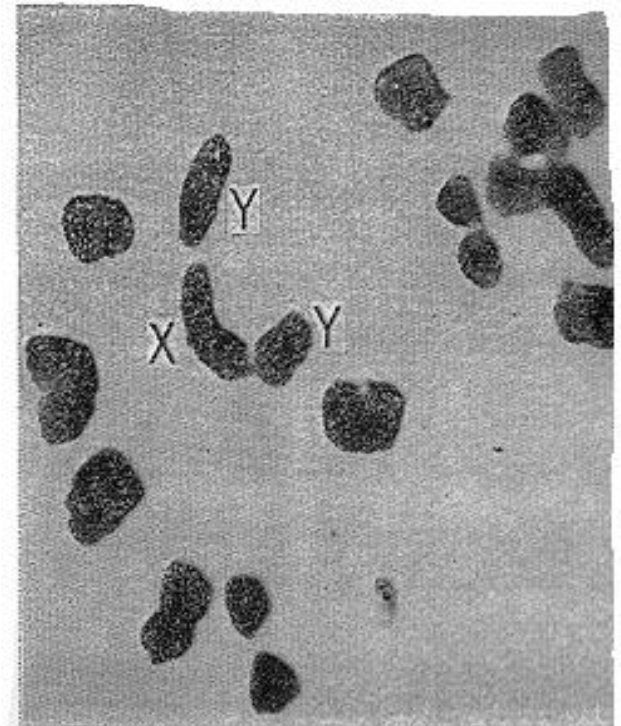
Il maschio XY ha una coppia di cromosomi eteromorfici in cui il cromosoma X è circa 2/3 del cromosoma Y. L'effetto mascolinizzante del cromosoma Y è tale che gli individui XXXY sono maschi mentre gli XXXXY hanno fiori ermafroditi e fiori maschi. In *Melandrium*, la regione I del cromosoma Y (a lato) contiene i geni repressori del sesso femminile, i segmenti II e III i geni per lo sviluppo delle antere, il segmento IV i determinanti del sesso femminile. In questo segmento avviene l'appaiamento tra X e Y in meiosi.

Y in meiosi.

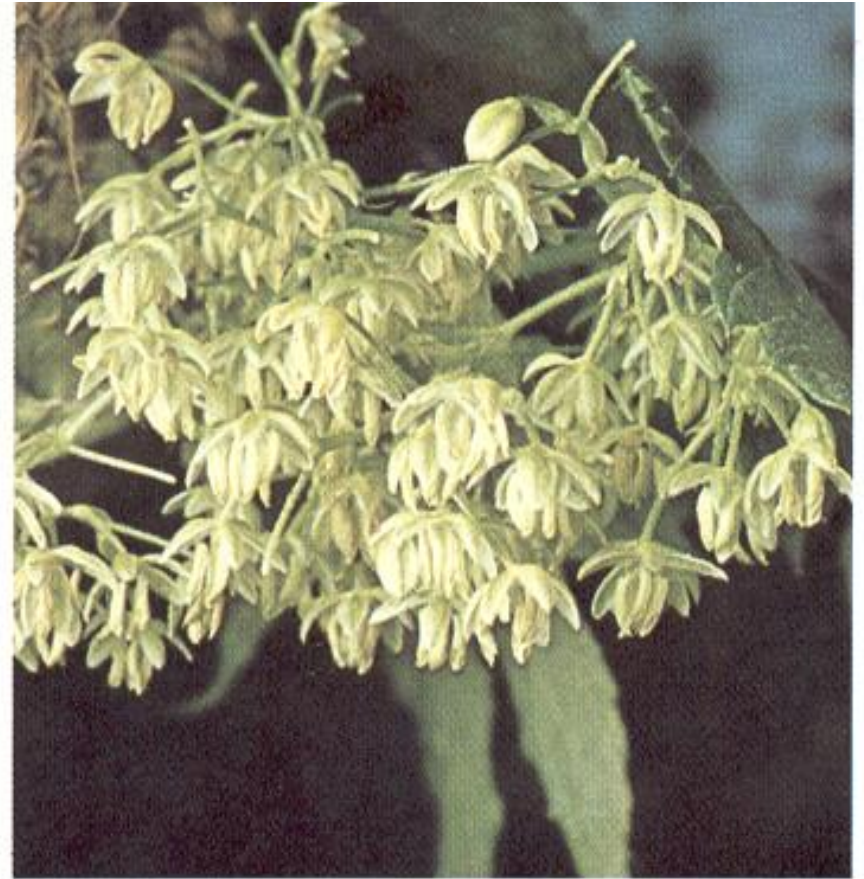
# Il sesso nelle piante

2. **Digametia maschile** con cromosomi del sesso eteromorfici e sesso determinato dal rapporto A:X.

Si trova in *Rumex* e *Humulus lupulus* (il luppolo). In *Rumex acetosa* la femmina è  $2n=14$  (12 autosomi + XX) mentre il maschio è  $2n=15$  (12 autosomi + XY<sub>1</sub>Y<sub>2</sub>). In meiosi i cromosomi del sesso si appaiano testa a testa a formare una catena di 3 elementi e segregano X: Y<sub>1</sub>Y<sub>2</sub> (foto). Nei cromosomi Y non ci sono geni per il sesso maschile. Il sesso dipende dal rapporto tra cromosomi X ed autosomi come accade in *Drosophila* (A : X=1 nella femmina, A : X= 2 nel maschio).



# Il sesso nelle piante



**Fiore maschile (sinistra) e fiore femminile (destra) di luppolo (*Humulus lupulus*) specie dioica con sesso maschile digametico e cromosomi del sesso eteromorfi.**

# Il sesso nelle piante

## 3. **Digametia maschile** con cromosomi del sesso omomorfi

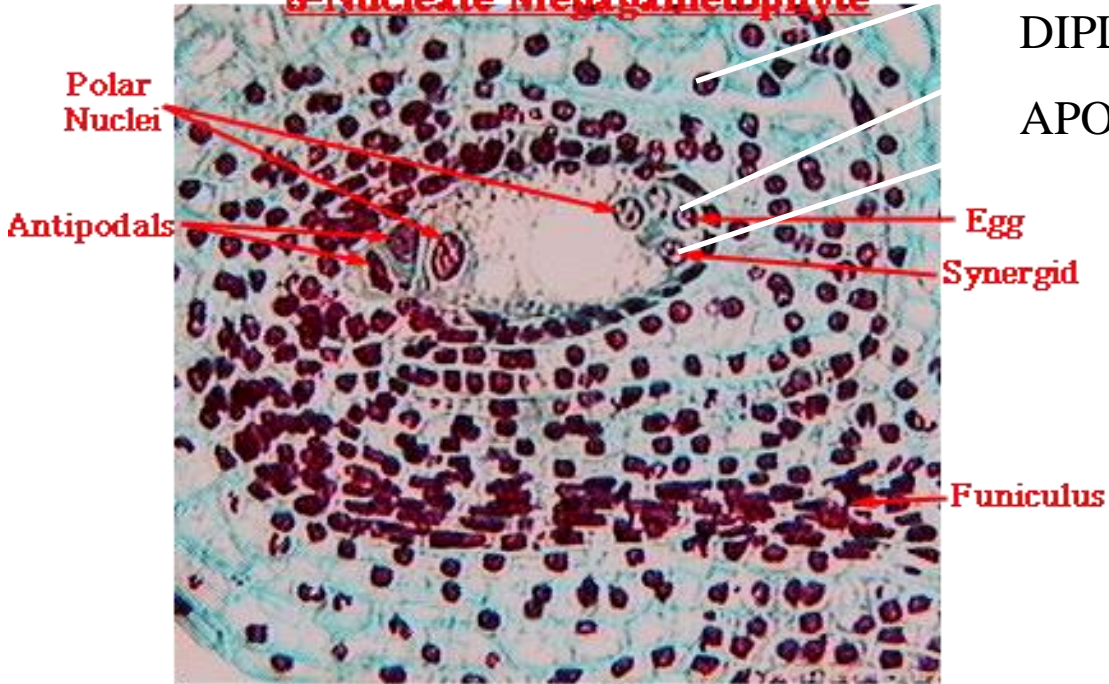
Si riscontra in asparago (*Asparagus officinale*), in *Mercurialis* ecc. In queste specie si hanno piante subandroiche XY. I fiori ermafroditi per autofecondazione producono piante femminili e maschili nel rapporto 1: 3 (1XX, 2XY, 1YY). Le piante YY sono supermaschi che nell'incrocio con femmine XX danno solo progenie maschile o subandroica.

4. **Digametia femminile** con cromosomi del sesso eteromorfi. Si trova in *Fragaria eliator*.



**PRODUZIONE ASESSUATA DI SEME. VIENE ANCHE DETTA AGAMOSPERMIA (AGAMO= SENZA MATRIMONIO; SPERMIA= PRODUZIONE DI SEME). SE IL IL SEME APOMITTICO DERIVA DA UNA CELLULA SOMATICA DELL'OVARIO SI PARLA DI AOSPORIA, SE DERIVA DA UNA CELLULA UOVO NON RIDOTTA (PER ALTERAZIONE DELLA MEIOSI) SI PARLA DI DIPLOSPORIA, SE DERIVA DA UNA SINERGIDE NON RIDOTTA, SI PARLA DI APOGAMETIA.**

**Lilium Ovule Showing  
8-Nucleate Megagametophyte**



**AOSPORIA**  
**DIPLOSPORIA**  
**APOGAMETIA**

**Talvolta l'embrione si sviluppa direttamente da una cellula somatica senza passare attraverso un embriosacco (embriogenesi avventizia)**





Il dente di leone (*Taraxacum officinale*) è una specie che si riproduce per APOMISSIA. Pertanto non necessita di impollinazione anche se ha fiori vistosi.

In alcune specie è necessaria la fecondazione dei nuclei polari per il normale sviluppo del seme apomittico. Il fenomeno è noto come **pseudogamia**.

Genotipi particolari e genotipi ibridi difficili o impossibili da moltiplicare per via sessuale possono essere mantenuti per riproduzione apomittica.



***Poa pratensis* si riproduce per apomissia aposporica oltre che per via sessuale sia autogama che allogama. Talvolta la cellula diploide aposporica viene fecondata e produce individui poliploidi. La specie presenta infatti un numero cromosomico somatico elevato e irregolare con individui tetraploidi  $2n=4x=28$  ma anche  $2n=22x=154$ . L'apomissia in *P.pratensis* è pseudogama.**

# AUTOINCOMPATIBILITA'

**Nelle specie monoiche ermafrodite esistono sistemi genetici che determinano incompatibilità tra polline e stilo della stessa pianta o di piante con lo stesso genotipo. Ciò costringe all'impollinazione incrociata (il tabù dell'incesto).**

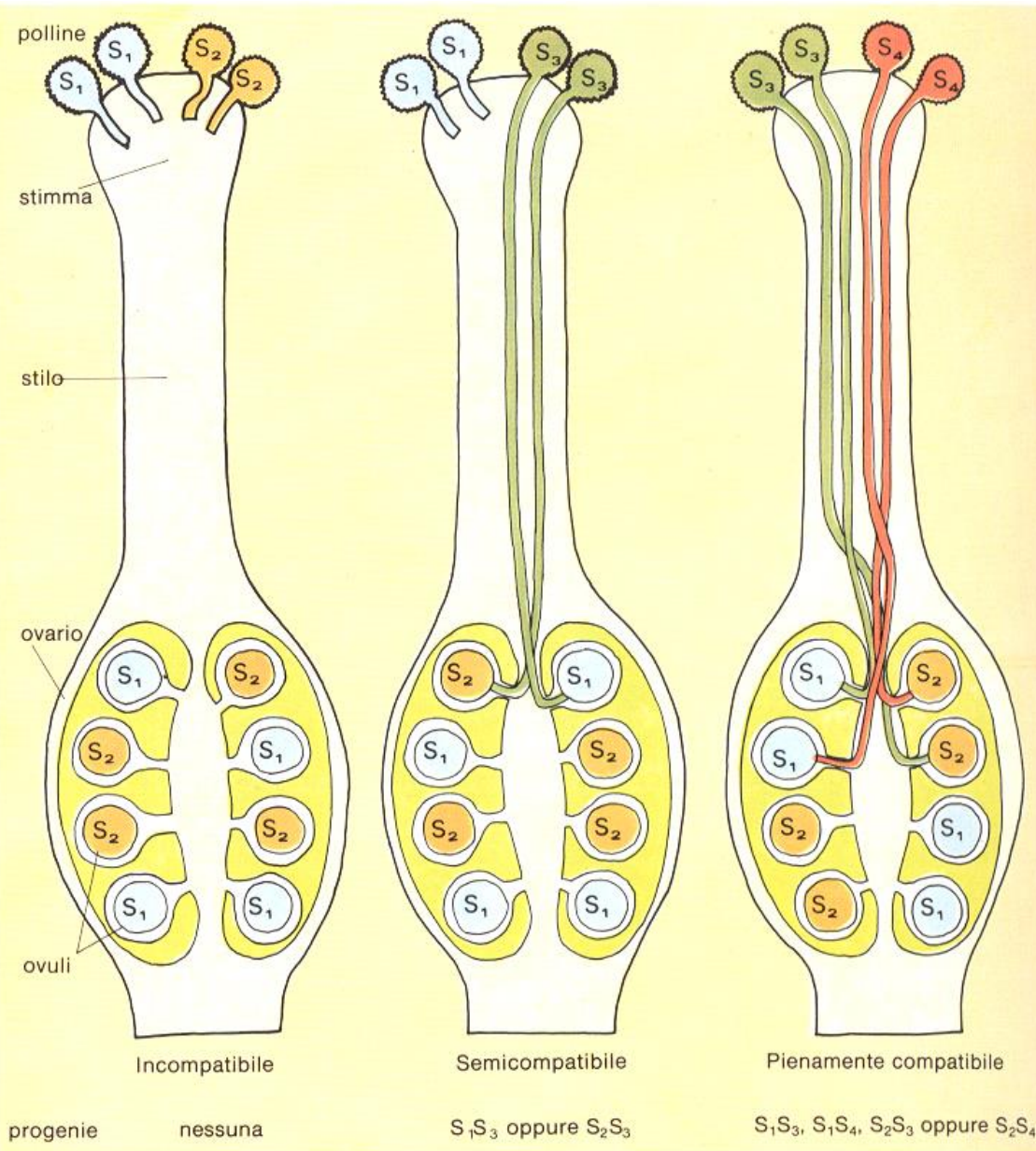
**L'incompatibilità è un processo biochimico presente in oltre 3000 specie di fanerogame. E' efficace come il dioicismo nel costringere le piante all'incrocio ma ha il vantaggio che ogni pianta produce semi.**

**Si riconoscono due sistemi di incompatibilità:**

**-SISTEMA GAMETOFITICO**

**-SISTEMA SPOROFITICO (ETEROMORFICO O OMOMORFICO)**

# AUTOINCOMPATIBILITA'



L'autoincompatibilità **GAMETOFITICA** si manifesta con un'interazione tra stigma e granulo pollinico. Quest'ultimo è aploide e porta un solo allele del gene S, mentre lo stigma diploide porta due alleli diversi del gene S. Il tubulo pollinico che possiede uno degli alleli presenti nello stigma non è in grado di penetrare nel tessuto dello stilo. I tubuli con alleli diversi da quelli stilari penetrano nello stilo e fecondano. Questa forma di incompatibilità è presente nelle **Solanaceae**, **Rosaceae**, **Leguminosae**, **Malvaceae**. Si basa su un singolo gene S, presente in molte forme alleliche (400 alleli in *Trifolium pratense*). Nelle **graminacee** (ad esempio segale) ci sono due geni con alleli multipli che controllano l'incompatibilità, nella **bietola** (*Beta spp*) quattro geni.

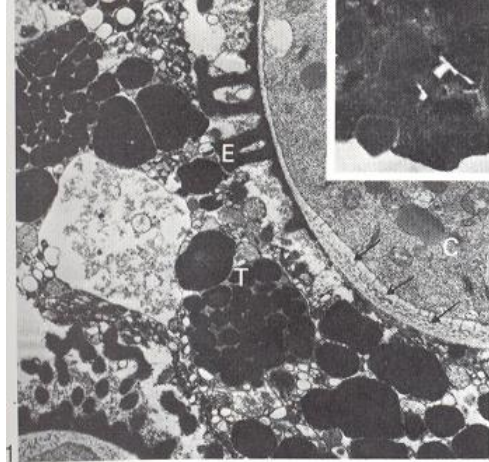
# INCOMPATIBILITA' GAMETOFITICA

L' incompatibilita' nel ciliegio (*Prunus avium*) e nel pero (*Pyrus communis*) obbliga il coltivatore ad allevare almeno due varieta' compatibili . In pero il raddoppiamento del numero cromosomico (autotetraploidia) comporta la perdita dell'autoincompatibilita'.

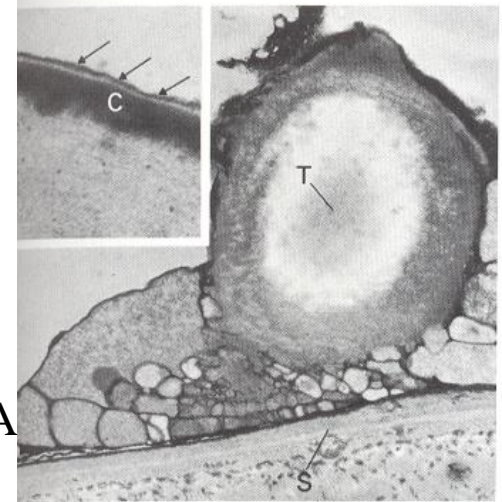
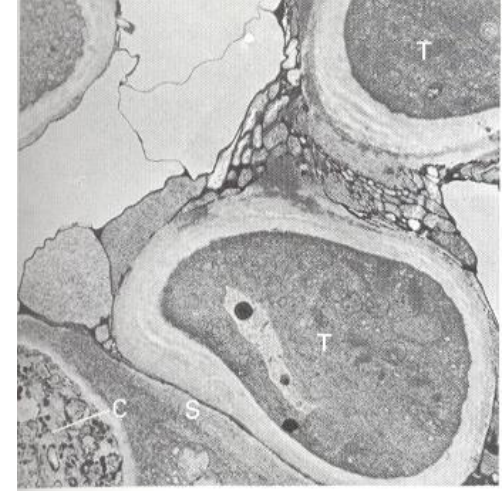
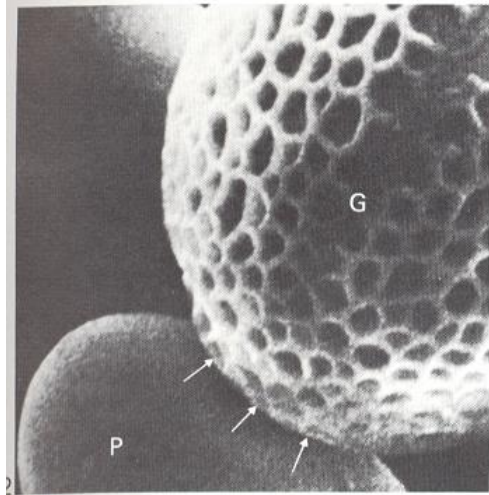
In segale (*Secale cereale*) l'allele  $S_F$  elimina l'incompatibilita' per cui l'incrocio  $S_F S_2 \times S_F S_2$  è fertile e produce piante  $S_2 S_2$  non ottenibili in altro modo.

Anche in *Nicotiana sanderae* esiste un allele  $S_T$  che elimina l'incompatibilita' in associazione con qualunque altro allele  $S$ . Le piante  $S_T S_X$  (dove  $X$  è un allele qualunque) per autofecondazione producono piante  $S_T S_X$  e  $S_T S_T$ . Un altro allele  $S_Y$  impedisce la crescita del tubulo pollinico  $S_T$





L'INCOMPATIBILITA' SPOROFITICA DIPENDE DAL FENOTIPO DELLA PIANTA MADRE. IN *RAPHANUS* L'INCOMPATIBILITA' E' CAUSATA DA UN RIVESTIMENTO CHE CIRCONDA IL GRANULO POLLINICO DURANTE LE ULTIME FASI DI MATURAZIONE DEL POLLINE. IL RIVESTIMENTO, NOTO COME TRIFINA (T), E' PRODOTTO DALLE CELLULE DEL TAPPETO E SI STRATIFICA SULL'ESINA (E) (IN ALTO A SIN.). IL GRANULO ADERISCE AD UNA CELLULA PAPILLARE (P) DELLO STIGMA MEDIANTE UN SOTTILE

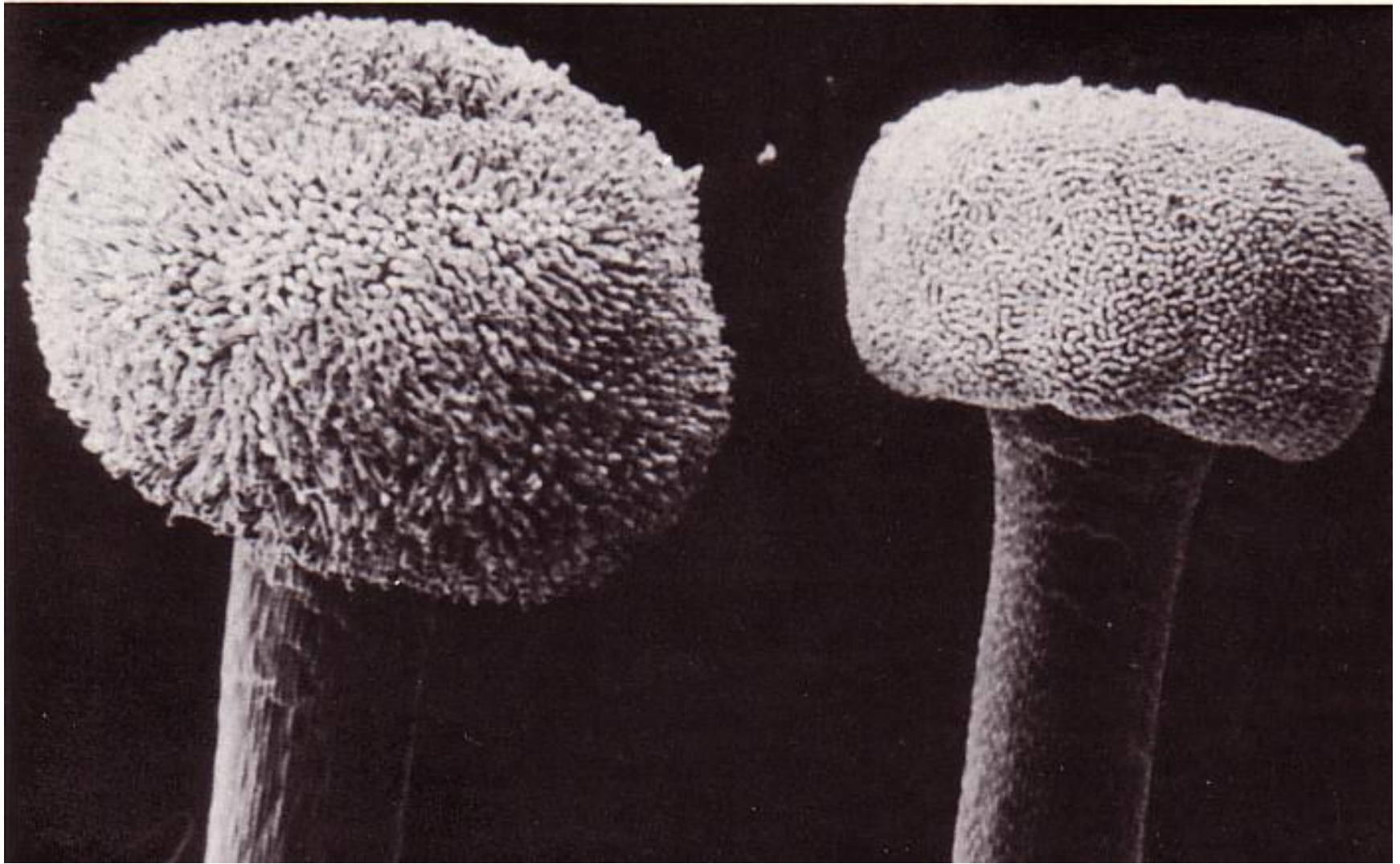


STRATO DI TRIFINA (FRECCE, IN BASSO A SIN.). IL TUBULO T (IN ALTO A DES.) PRENDE CONTATTO CON LA SUPERFICIE STIGMATICA (S), MA NON ESSENDO COMPATIBILE, NON RIESCE A PENETRARE NELLO STILO, MENTRE UN TUBULO COMPATIBILE C E' RIUSCITO AD ENTRARE. IL TUBULO T CONTINUA A SPOSTARSI SULLA SUPERFICIE DELLO STIGMA (IN BASSO A DES.). L'INCOMPATIBILITA' E' DOVUTA ALL'INTERAZIONE TRA LA TRIFINA E LO STRATO ESTERNO (CUTICOLA) DELLO STIGMA (FRECCE)



I fiori di primula esistono in due forme: fiori brevistili o “a spazzola” (a destra) con le antere che sporgono dalla corolla e stilo breve non visibile e fiori **longistili** o “a spillo” (a sinistra) con lo stigma che fuoriesce dalla corolla e antere con corto filamento. I primi sono **Ss** mentre i secondi sono **ss**. Nei fiori a spazzola vengono prodotti due tipi di polline (**S** oppure **s**) ma anche il polline **s** si comporta come se fosse **S**. Anche lo stilo **Ss** si comporta come se fosse **SS**. Pertanto l’impollinazione è efficace solo tra fiori a spazzola e fiori a spillo.

<b>Incrocio</b>	<b>Genotipo</b>	<b>Progenie</b>	
<b>Spillo (F) x Spazzola</b>	<b>ss x Ss</b>	<b>1 Ss : 1 ss</b>	
<b>Spazzola (F) x Spillo</b>	<b>Ss x ss</b>	<b>1 Ss : 1 ss</b>	
<b>Spazzola (F) x Spazzola</b>	<b>Ss x Ss</b>	<b>incompatibile*</b>	<b>*si può avere qualche seme</b>
<b>Spillo (F) x Spillo</b>	<b>ss x ss</b>	<b>incompatibile*</b>	



**I fiori longistili di primula hanno stigmi grandi con lunghe papille (a sinistra) e producono granuli pollinici piccoli, mentre i fiori brevistili hanno stigmi piccoli con papille brevi (a destra) e producono grossi granuli pollinici. Immagini ottenute con microscopio elettronico a scansione.**



# INCOMPATIBILITA' SPOROFITICA

Questa forma di incompatibilità è controllata da un unico gene con alleli multipli, alcuni dominanti e altri recessivi. Possiamo avere diversi tipi di incrocio:

$S_1s_1 \times S_1s_4$  INCOMPATIBILE

$S_1s_1 \times S_2s_2$  COMPATIBILE

$S_1S_2 \times s_3s_4$  COMPATIBILE

$s_1s_2 \times S_1s_1$  COMPATIBILE

L'incompatibilità sporofitica eteromorfa è rara (primula, lino, grano saraceno). In *Nicotiana* e *Brassica* gli alleli S producono nello stilo delle glicoproteine con attività ribonucleasica, e nel polline di ci sono mRNA omologhi alle glicoproteine dello stigma della stessa pianta.

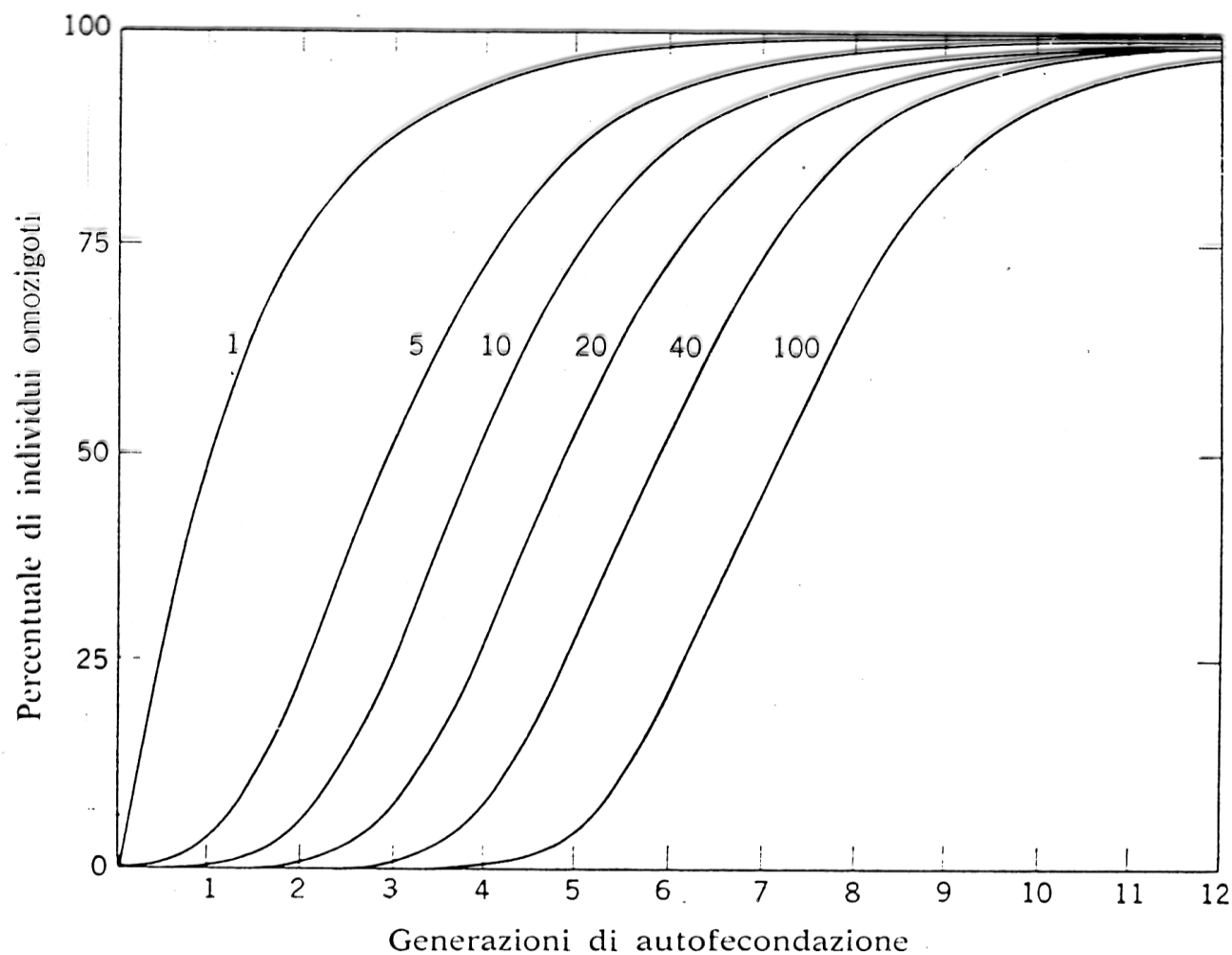


Grano saraceno *Fagopyrum esculentum*

# SISTEMI DI RIPRODUZIONE

L'autogamia è rara in specie perenni e frequente in specie annuali a vita breve che vivono in ambienti instabili. Le specie autogame sono monoiche, hanno antere e stimmi che maturano nello stesso momento e solitamente situati in stretta vicinanza. In alcune specie l'autogamia è obbligatoria, ma generalmente l'autogamia è parziale. Ad esempio in grano tenero (*Triticum aestivum* L.) l'autogamia può variare dal 70% al 100% in funzione del genotipo e delle condizioni ambientali.





Percentuale di omozigoti (ordinata) dopo  $m$  generazioni di autofecondazione (ascissa) quando il numero di loci indipendenti in eterozigosi ( $n$ ) varia da 1 a 100.

La formula per calcolare la percentuale di omozigoti è :  **$[1 - 0,5^m]^n \times 100$**

Esempio: Dopo una generazione di autofecondazione dall'eterozigote Aa si ottiene 50% di omozigoti (AA + aa). Dopo due generazioni di autofecondazione gli omozigoti sono il 75%.

# FENOMENI CHE FAVORISCONO L'ALLOGAMIA

Dioicismo

Autoincompatibilità

Proterandria

Proteroginia

Stili



La **proterandria** che si riscontra ad esempio in mais (a lato), è la liberazione del polline alcuni giorni prima della fuoriuscita dei lunghi stili filamentosi dalle brattee che proteggono la spiga (infiorescenza femminile). Anche la carota è proterandra.

In alcune specie monoiche lo stigma è recettivo prima della maturazione del polline della stessa pianta. Si parla in questo caso di **proteroginia**

# METODO DI RIPRODUZIONE DELLE PRINCIPALI PIANTE COLTIVATE

## AUTOGAME

<i>Cereali</i>	<u>Grano</u> , orzo, <u>riso</u> , avena, sorgo*
<i>Leguminose</i>	<u>Soia</u> , fagiolo, pisello, arachide, veccia, fava*
<i>Alberi</i>	Albicocco, <u>pescio</u> , <u>agrumi</u>
<i>Altre specie</i>	<u>Pomodoro</u> , melanzana, peperone, tabacco, lattuga, lino, cotone*

## ALLOGAME

<i>Cereali</i>	<u>Mais</u> , segale**, loietto**, festuca**, erba mazzolina**
<i>Leguminose</i>	Erba medica, trifoglio violetto**, trifoglio bianco**
<i>Alberi</i>	Castagno, nocciolo, noce, <u>melo</u> **, <u>ciliegio</u> **, <u>olivo</u> **, <u>pero</u> **, susino**, mandorlo**, pistacchio^, papaia^, palma da datteri^, <u>fico</u> ^***, <u>banano</u> ***
<i>Altre specie</i>	Carciofo, carota, sedano, cipolla, prezzemolo, <u>girasole</u> , <u>bietola</u> , rapa, melone, fragola, cocomero, asparago^, canapa^, spinacio^, cavoli**, cicoria**, patata dolce**, <u>colza</u> **

\* Con frequente (>10%) allogamia; \*\* autoincompatibilità ; \*\*\* partenocarpiche; ^ dioiche

# Miglioramento genetico di specie prevalentemente autogame: selezione massale

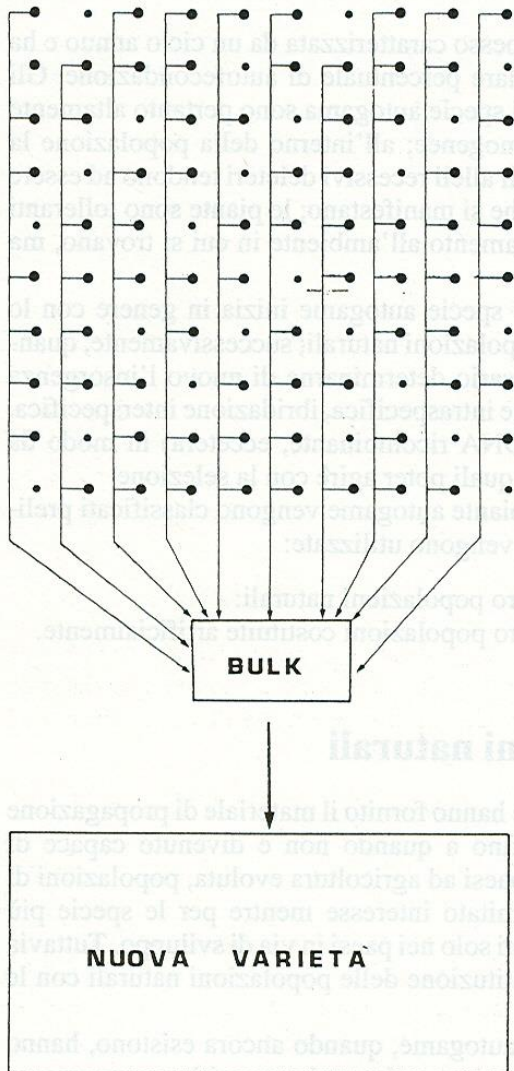


Figura 13.1 - Schema di selezione massale.

La selezione massale è un metodo di miglioramento genetico che si basa sulla selezione di piante fenotipicamente superiori all'interno di popolazioni naturali o commerciali. Il metodo prevede la scelta di un certo numero di piante sulla base delle loro caratteristiche fenotipiche e nel seminare "in bulk" (in massa, mescolato) il seme prodotto da queste piante per avere una nuova popolazione commerciale (varietà).



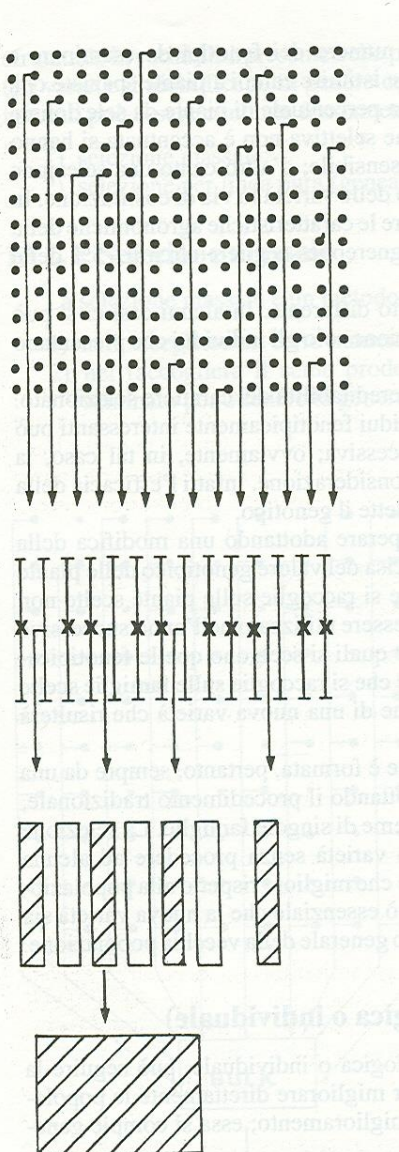
In generale, per evitare di modificare troppo la popolazione originale si sceglie il 75% delle piante presenti. L'efficacia del metodo dipende dalla ereditabilità dei caratteri selezionati. La selezione può essere fatta per limitare o eliminare le piante fenotipicamente inferiori (selezione negativa).

# Miglioramento genetico di specie prevalentemente autogame: selezione per linea pura.

E' un metodo di miglioramento genetico che si compie attraverso tre fasi successive: (i) Selezione di molte piante (200 – 300) all'interno di una popolazione e raccolta del loro seme separatamente; (ii) allevamento delle 200- 300 progenie in file separate (fila-spiga o fila-pianta) allo scopo di osservarne il fenotipo e selezionare le 10-20 migliori; (iii) raccolta del seme prodotto dalle file selezionate e allevamento in parcelle separate per produrre seme da utilizzare per l'allestimento di prove agronomiche comparative in blocchi randomizzati insieme con le migliori varietà presenti sul mercato. Dopo 2 – 3 anni di prove agronomiche in diversi ambienti, si individuano le linee migliori.

Queste andranno a costituire la nuova varietà multilinea. In alternativa si può utilizzare una sola linea per costituire la nuova varietà (varietà monolinea). Le varietà attualmente coltivate di molte specie autogame (grano, riso, pomodoro, orzo ecc.) sono costituite da una singola linea pura.

*File-spiga di grano duro*



## Incrocio e selezione genealogica

Genotipi  
parentali



Il metodo si applica alla progenie di incroci tra due genotipi parentali e mira alla selezione di genotipi ricombinanti superiori per la costituzione di nuove varietà. Richiede l'allevamento di 9-10 generazioni oltre a quella parentale.

La prima fase del metodo consiste nella scelta dei genotipi parentali da incrociare e nella castrazione dei fiori del genitore femminile per la produzione di semi F1 mediante impollinazione incrociata. In alternativa si ricorre alla maschiosterilità o a gametocidi\* .

Si allevano 50 –150 piante F1 per ottenere 2500 – 5000 piante F2 da allevare ben spaziate tra loro allo scopo di valutarne il fenotipo. Il seme prodotto dal 10% circa delle piante F2 (250 – 500 piante selezionate) viene raccolto e seminato in file-pianta separate (1pianta F2 → 1 fila F3). All'interno di ciascuna di 125 – 250 file F3 selezionate si sceglie una pianta e con il seme prodotto da queste piante si allevano 125 – 250 file o linee F4.

File-spiga F4



Spighe di grano emasculate

\*Sostanze chimiche che, spruzzate sulle piante, causano maschiosterilità.

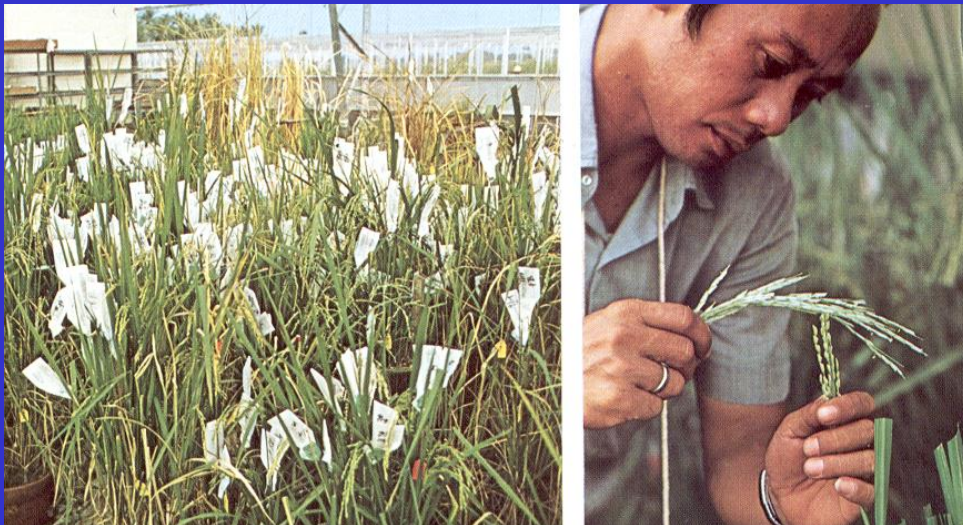


## Incrocio e selezione genealogica

Incroci per produrre seme F1 di grano e riso . Una volta emasculate mediante prelievo delle antere con le pinzette, le spighe vengono impollinate inserendo nei fiori le antere prelevate dal genitore maschile , o scuotendo sopra di esse le spighe del genitore maschile ( foto ).



Una volta impollinate, le spighe sono coperte con sacchetti per evitare impollinazioni indesiderate

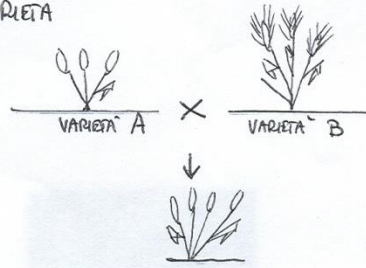


Incroci in riso

# Incrocio e selezione genealogica

La selezione inizia in F2, eliminando i fenotipi indesiderabili. Le piante sono allevate ben spaziate per facilitare la valutazione. Le piante F3 sono allevate in file-pianta. In F3 molti loci arrivano all'omozigosi e si vedono le differenze tra file (famiglie). Si selezionano singole piante dalle file migliori e più uniformi. Se non ci sono piante promettenti, tutto il materiale viene scartato. In F4 le differenze tra famiglie sono maggiori di quelle entro famiglie. Si selezionano singole piante come in F3, tenendo conto del valore medio della famiglia. In F5 le famiglie sono molto uniformi e vengono seminate in due o più file. La selezione viene fatta a livello di famiglia, conducendo anche prove di valutazione tecnologica. Se c'è seme sufficiente si conducono prove parcellari per stimare la resa. In F6-F9 si continua come in F5 selezionando le linee superiori. Si fanno anche prove agronomiche in più località per 2-3 anni. Negli anni successivi si fanno confronti varietali e si verifica la uniformità e la distinguibilità delle linee ai fini della loro iscrizione al registro varietale.

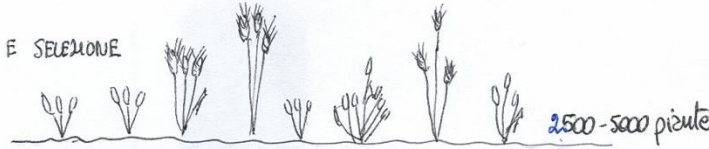
① INCROCIO DI DUE LINEE O VARIETÀ



② ALLEVAMENTO PIANTE F1

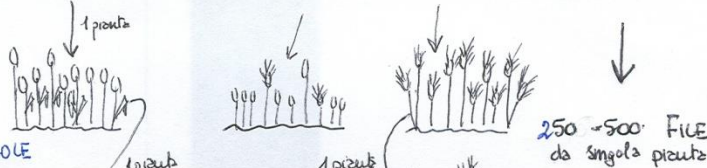
50-150 piante

③ ALLEVAMENTO PIANTE F2 E SELEZIONE SINGOLE PIANTE



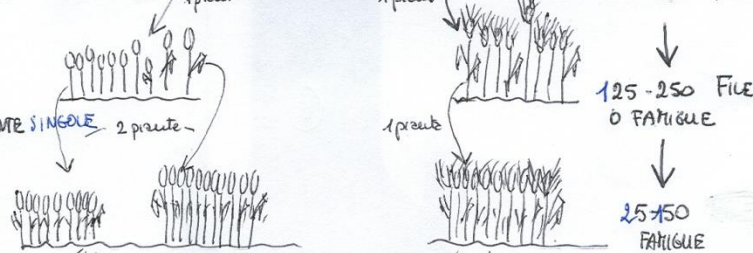
2.500-5000 piante

④ ALLEVAMENTO FILE F3 E SELEZIONE PIANTE SINGOLE



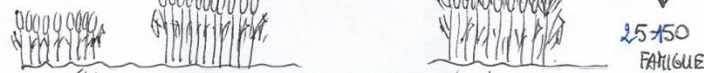
250-500 FILE da singola piante

⑤ ALLEVAMENTO FILE F4 E SELEZIONE PIANTE SINGOLE



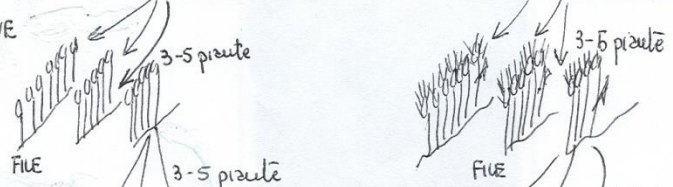
125-250 FILE o FAMIGLIE

⑥ ALLEVAMENTO FILE F5 E SELEZIONE



25-50 FAMIGLIE

⑦ ALLEVAMENTO FILE F6 E SELEZIONE DA FILE OMOGENEE



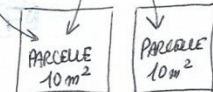
10-20 FAMIGLIE - LINEE

⑧ ALLEVAMENTO FILE F7 -> F9



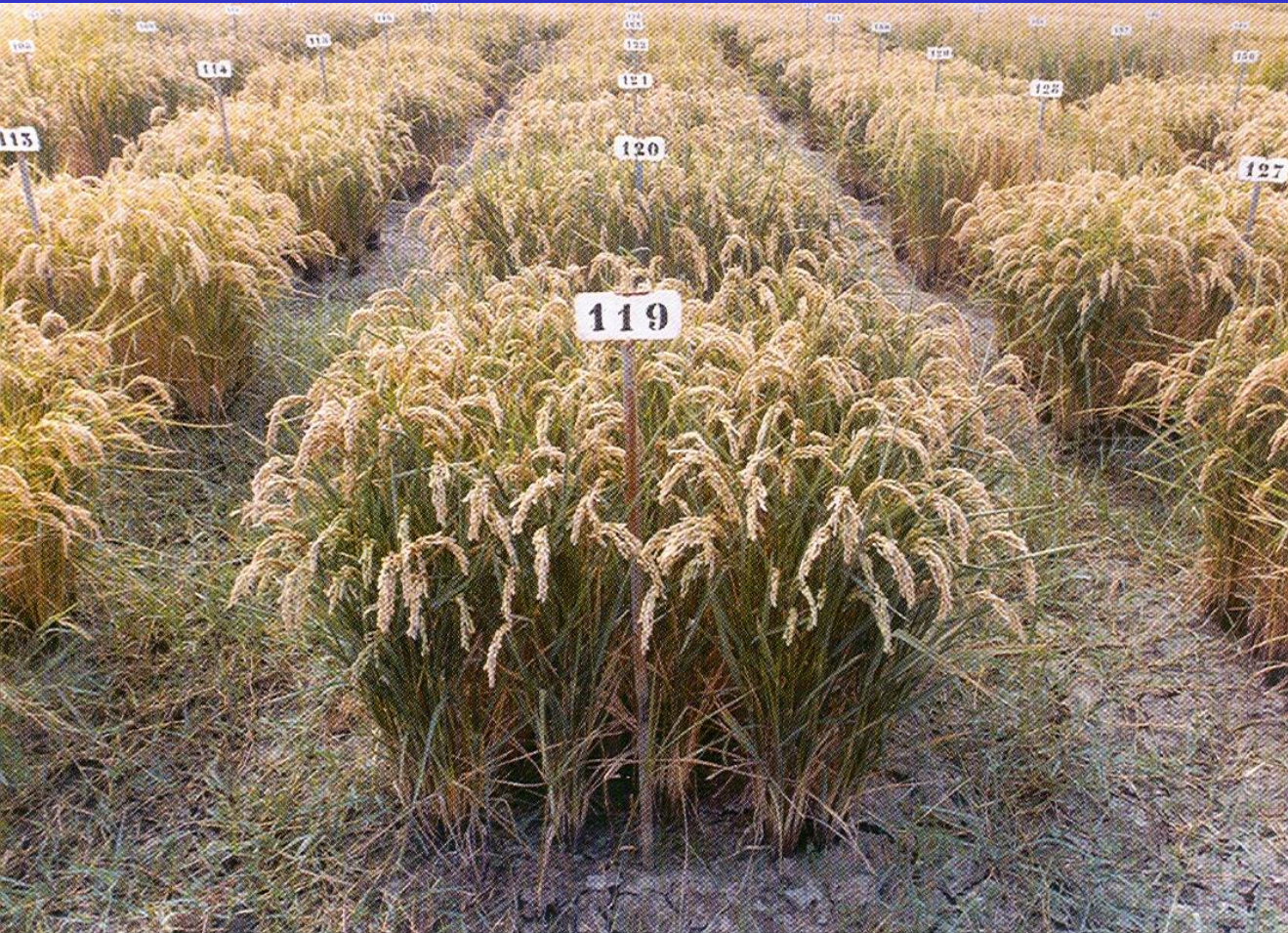
10-20 FAMIGLIE - LINEE

⑨ PROVE AGRONOMICHE DI CONFRONTO IN PIÙ LOCALITÀ PER 2-3 ANNI



1-2 VARIETÀ

## Prove parcellari di progenie F7 in riso



Nella fase finale del programma di miglioramento, le linee più promettenti vengono sottoposte a prove di produzione in confronto con le migliori varietà commerciali in blocchi randomizzati e in numerose località.

Campi sperimentali  
di miglioramento  
genetico di cereali.

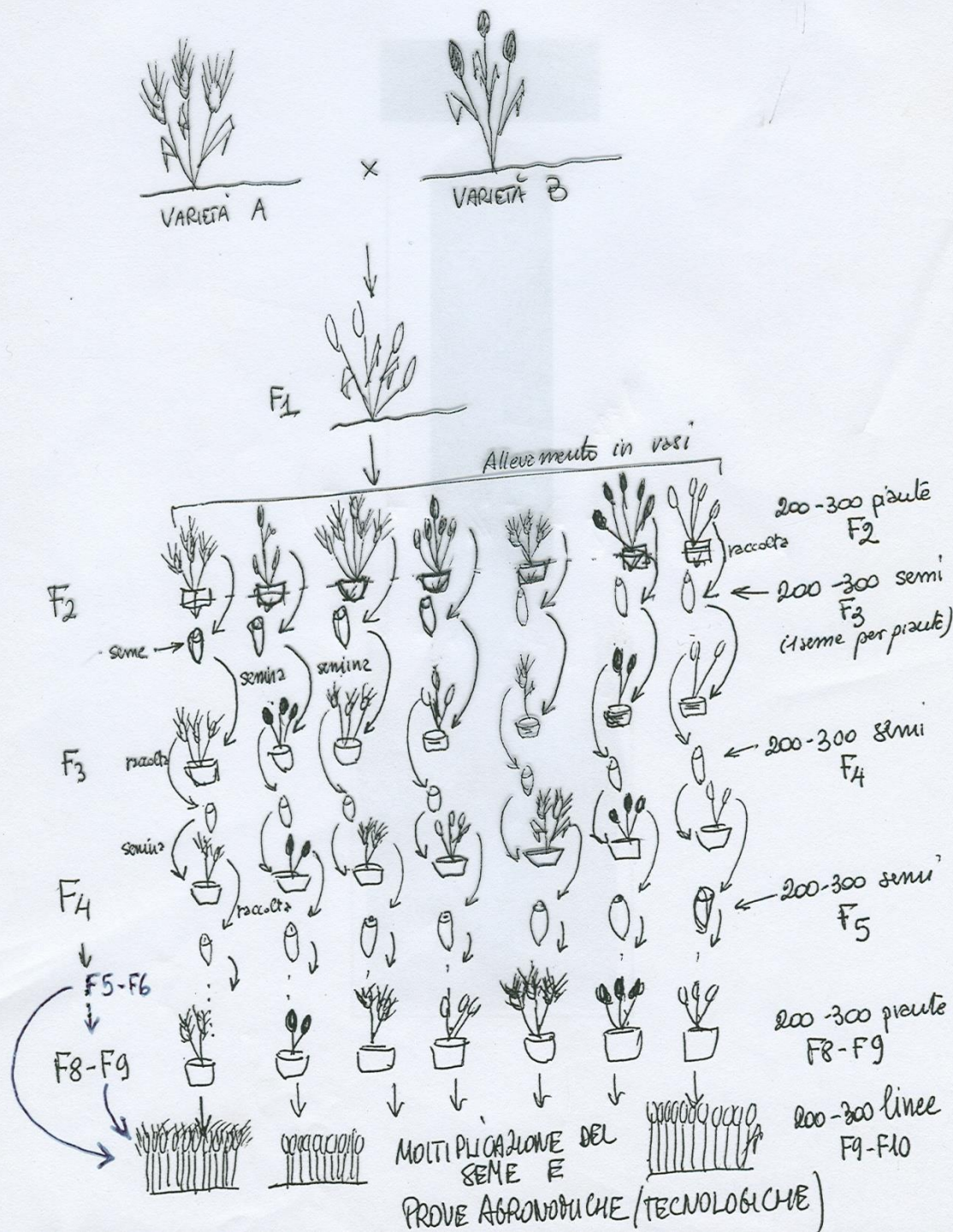


La selezione effettuata per piante singole in F2 – F4 deve tener conto che le condizioni di coltura non sono quelle proprie di pieno campo e che le piante migliori potrebbero essere tali per effetto dell'eterosi, condizione che si perderà nelle generazioni successive di autofecondazione.

Tuttavia per molti caratteri qualitativi e per i caratteri quantitativi controllati da major genes ad alta ereditabilità (altezza, resistenza a patogeni ecc) è possibile fare una selezione negativa efficace.

# SINGLE SEED DESCENT DISCENDENZA DA SINGOLO SEME

La selezione effettuata in F2 – F3 ha scarsa efficacia perché il materiale è altamente eterozigote. Inoltre se la selezione determina la perdita di alleli favorevoli nelle prime generazioni, questi alleli non sono più recuperabili. Infine il metodo genealogico comporta la disponibilità di estensioni di terreno relativamente grandi per alcuni anni (7-8) per condurre le prove di campo. Il metodo SSD non presenta questi inconvenienti. Tuttavia con questo metodo non è possibile sapere se gli incroci eseguiti hanno prodotto genotipi ricombinanti superiori se non dopo 5-6 generazioni di autofecondazione, quando si allevano le piante in pieno campo.



# METODO PER POPOLAZIONE RIUNITA

Varietà  
parentali



Selezione  
piante  
singole



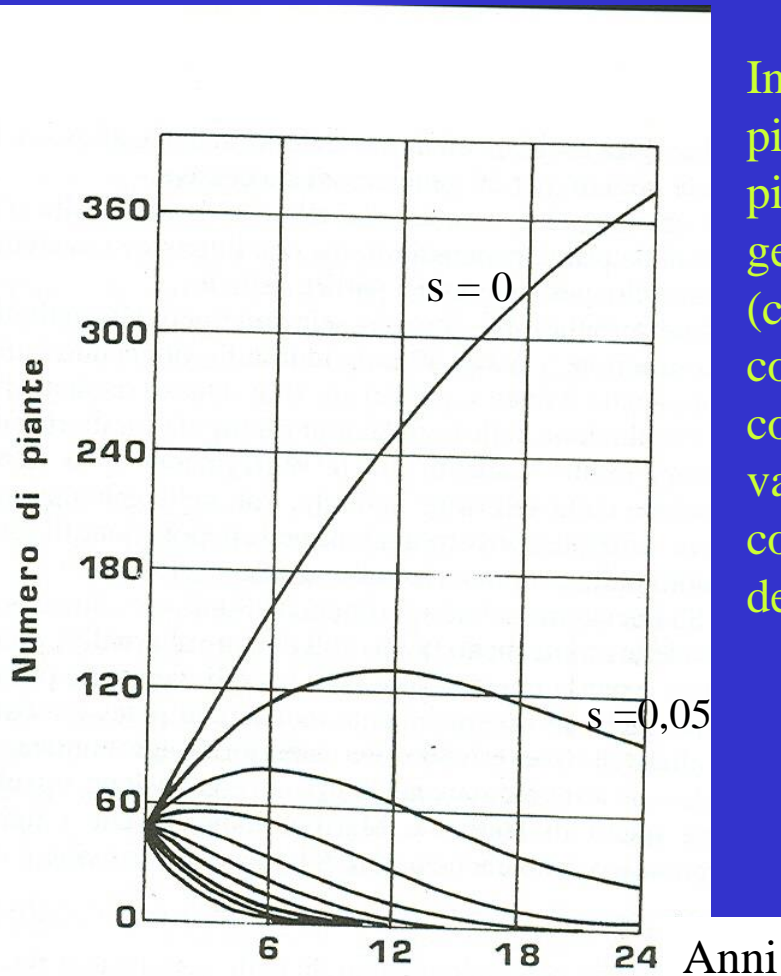
File -pianta

## POPOLAZIONE RIUNITA E SELEZIONE NATURALE

Harlan e Martini hanno coltivato in 10 località degli USA per 4 –12 anni una popolazione costituita in parti uguali da 11 varietà di orzo. La tabella riporta la composizione varietale percentuale della popolazione al termine dell'esperienza. Coast e Trebi risultarono altamente competitive in molte località. A Moro, località caratterizzata da clima arido, White Smyrna eliminò quasi tutte le altre varietà. Il prevalere di una varietà in una località corrispondeva bene con il successo commerciale della varietà stessa nella località o regione circostante.

Varietà	Arlington Va.	Ithaca N.Y.	St. Paul Minn.	Fargo N. Dak.	North Platte Nebr.	Moccasin Mont.	Aberdeen Idaho	Pullman Wash.	Moro Ore.	Davis Calif.
Anni di prova . .	4	12	10	6	8	12	12	6	10	4
Coast e Trebi . .	89,2	11,4	16,6	31,2	44,8	17,4	42,0	30,0	1,2	72,4
Gatami . . . . .	2,6	1,8	3,0	4,0	1,4	11,6	2,0	0,2	0,0	0,2
Smoot Awn . . .	1,2	10,4	2,8	4,6	2,4	5,0	0,0	1,0	0,2	0,0
Lion . . . . .	2,2	0,6	5,4	2,8	2,6	7,4	0,4	0,6	0,0	1,6
Meloy . . . . .	0,8	0,0	0,0	0,0	1,4	0,8	1,6	1,2	0,0	5,4
White Smyrna . .	0,8	0,0	0,8	3,4	38,8	48,2	31,4	55,2	97,8	13,0
Hannchen . . . .	0,8	6,8	61,0	30,4	2,6	3,8	18,0	6,0	0,8	6,8
Svanhals . . . . .	2,2	0,4	10,0	16,0	5,2	1,6	3,6	4,6	0,0	0,4
Deficiens . . . .	0,0	0,0	0,0	0,2	0,6	0,0	0,4	1,0	0,0	0,2
Manchuria . . . .	0,2	68,6	0,4	7,4	0,2	4,2	0,6	0,2	0,0	0,0

# POPOLAZIONE RIUNITA E SELEZIONE NATURALE



In una popolazione costituita da un ugual numero di piante di 10 varietà di orzo, assumiamo che la varietà più competitiva del miscuglio contribuisca alla generazione successiva con 90 semi per pianta (coefficiente di selezione  $s = 0$ ), la seconda più competitiva con 85 [ $s = (90 - 85) / 90 \cong 0,05$ ], la terza con 80 ( $s = 0,11$ ) e così via fino ai 45 semi della decima varietà ( $s = 0,5$ ). La selezione naturale modificherà la composizione varietale della popolazione nel corso degli anni nel modo illustrato dal grafico.



# POPOLAZIONE RIUNITA E SELEZIONE NATURALE

Tab. 102 - Risultati delle esperienze di Suneson (modificate da Suneson, 1966)

Anni di campionamento	Generazioni	Produzione (t ha <sup>-1</sup> )		% di Atlas
		Composita	Atlas	
1927-28 . . . . .	F <sub>3</sub> - F <sub>4</sub>	5,04	7,46	67,6
1933-34 . . . . .	F <sub>7</sub> - F <sub>8</sub>	6,17	7,25	85,1
1937-40 . . . . .	F <sub>11</sub> - F <sub>14</sub>	6,28	7,07	88,8
1941-46 . . . . .	F <sub>15</sub> - F <sub>20</sub>	6,50	6,13	106,0
1947-49 . . . . .	F <sub>21</sub> - F <sub>25</sub>	4,59	4,53	101,3
1951-55 . . . . .	F <sub>26</sub> - F <sub>29</sub>	4,40	4,25	103,5

Suneson allevò una popolazione costituita con i semi F1 di 378 incroci tra 28 varietà di orzo per 29 generazioni successive in confronto con Atlas, la varietà più produttiva tra quelle utilizzate negli incroci suddetti. La popolazione riunita fornì rese inferiori a quelle di Atlas nelle prime generazioni, ma la superò a partire dalla F15. In F24 l'autore fu in grado di costituire 9 varietà superiori ad Atlas selezionando all'interno della popolazione riunita. Sembrerebbe dunque che i genotipi caratterizzati da basso valore agronomico siano anche poco competitivi, fatto che depone a favore della efficacia del metodo di selezione a popolazione riunita.

# POPOLAZIONE RIUNITA, SELEZIONE NATURALE E SELEZIONE ARTIFICIALE

Per orientare la popolazione riunita verso i genotipi agronomicamente desiderabili si può praticare la selezione artificiale eliminando i tipi indesiderabili, soprattutto se competitivi. Ad esempio si può selezionare per l'altezza (in grano o fagiolo), per la precocità di maturazione o per caratteri che non condizionano la sopravvivenza o la competitività ma che hanno un valore commerciale o tecnologico come il colore dei semi, la durezza del seme, la forma del frutto.

I pregi del metodo a popolazione riunita

- Minimo sforzo e minima spesa
- Allevamento delle piante in condizioni simili a quelle praticate in agricoltura
- Sfruttamento della selezione naturale per i caratteri di adattamento
- Selezione per caratteristiche poco evidenti ma agronomicamente importanti

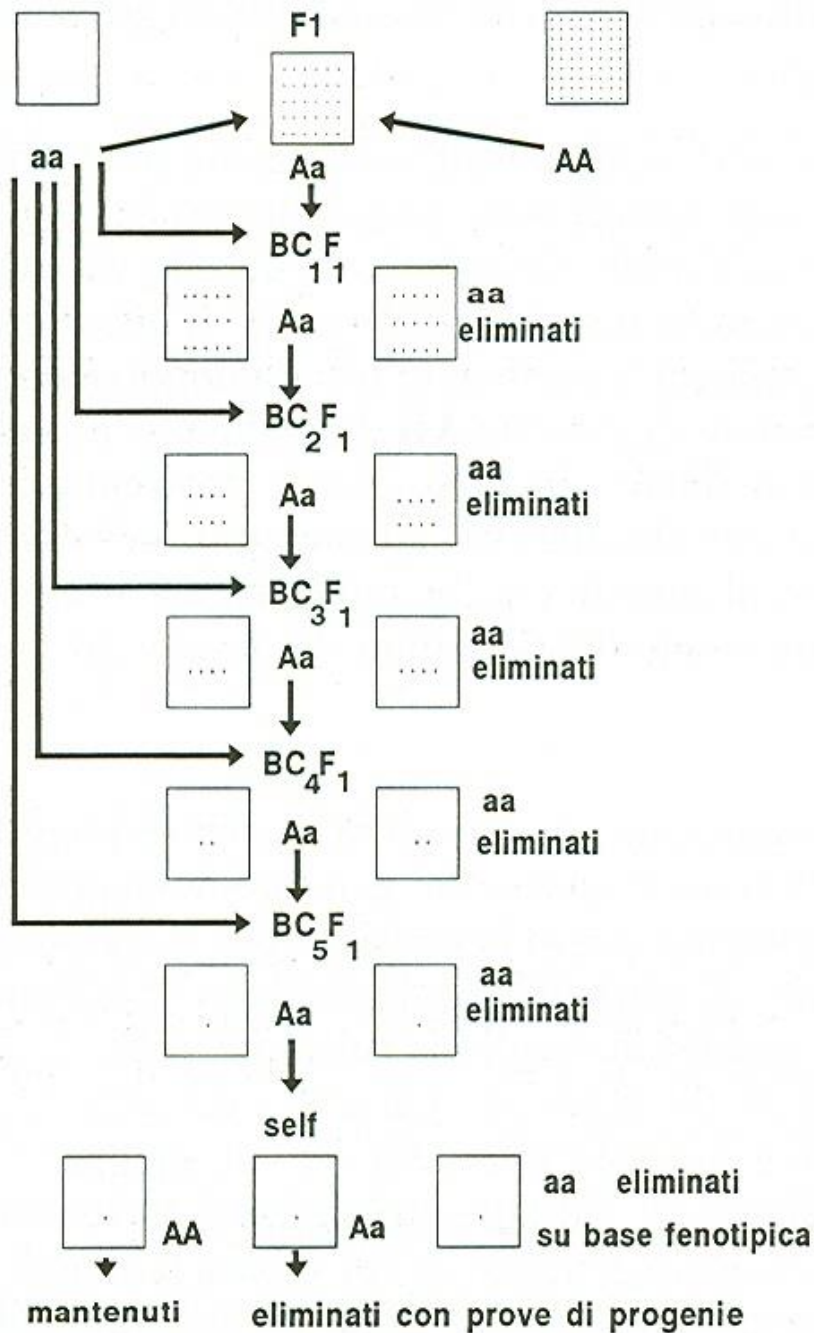
Svantaggi del metodo a popolazione riunita.

Eccessiva durata. Fino alla F6 la selezione naturale tende a favorire gli eterozigoti per la loro eterosi, con il risultato che occorre allevare la popolazione riunita per un elevato numero di generazioni, in alcuni casi per oltre 25 anni, prima di poter isolare genotipi superiori al suo interno. Ciò non toglie che la popolazione riunita possa rappresentare un serbatoio di variabilità genetica da cui attingere in modo continuo nel corso degli anni.

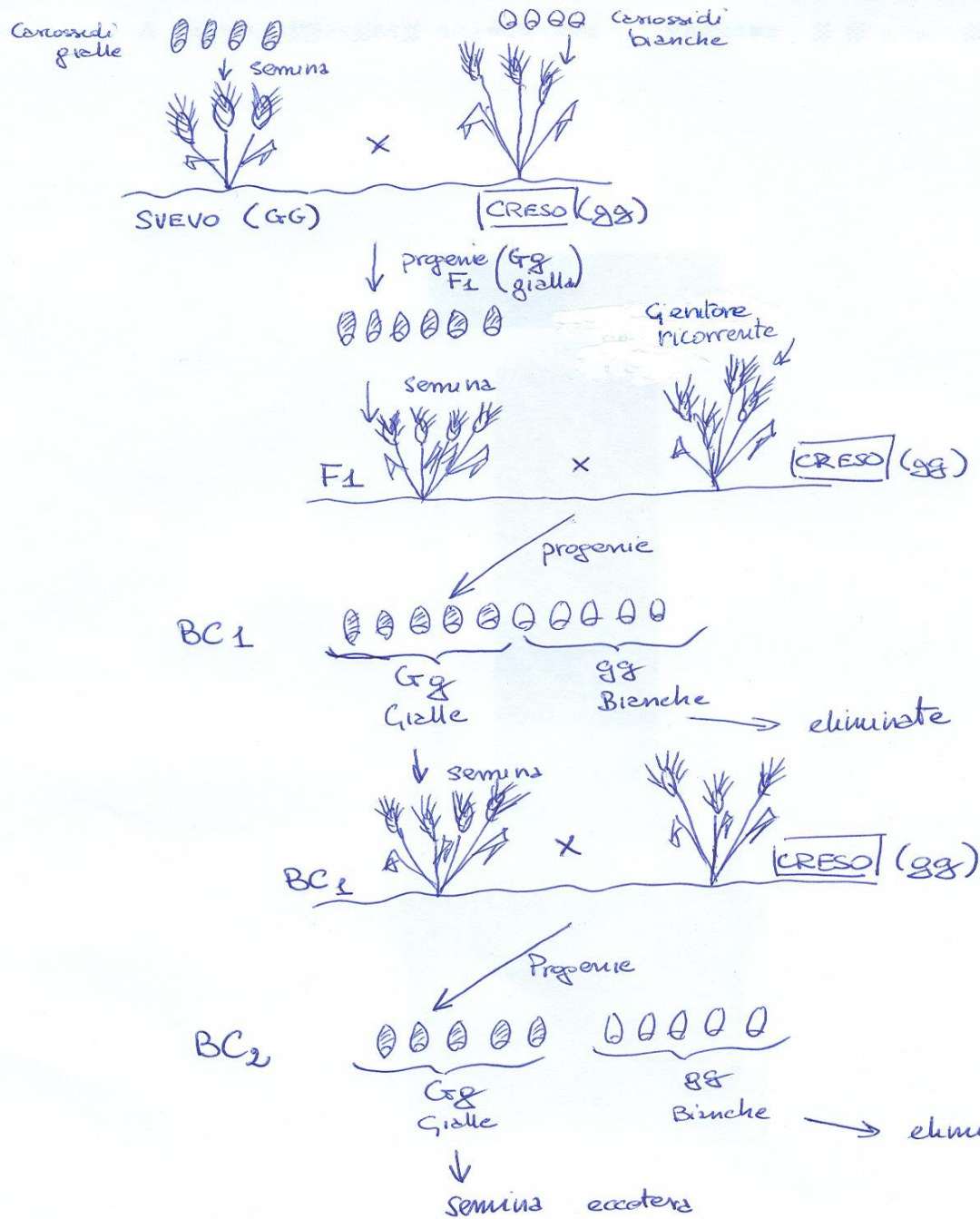
## **POPOLAZIONE RIUNITA E METODO GENEALOGICO : UN COMPROMESSO**

Per superare il difetto principale del metodo a popolazione riunita , cioè la sua durata, nel 1937 Harrington propose di allevare la popolazione riunita fino alla comparsa di una stagione colturale con le condizioni climatiche favorevoli alla selezione per i caratteri desiderati. Ad esempio una stagione secca non consente di selezionare efficacemente per l'altezza della pianta, la resistenza del fusto all'allettamento, la resistenza ai patogeni fungini o virali in frumento o orzo. La selezione per questi caratteri potrà essere fatta efficacemente in presenza di una stagione fresca e umida. Ovviamente, la popolazione riunita può essere allevata in molte località climaticamente diverse per aumentare la probabilità di avere le migliori condizioni pedo-climatiche per esercitare la selezione. Le piante selezionate verranno successivamente valutate seguendo il metodo genealogico (pedigree).

# Reincrocio per il trasferimento di un carattere dominante.

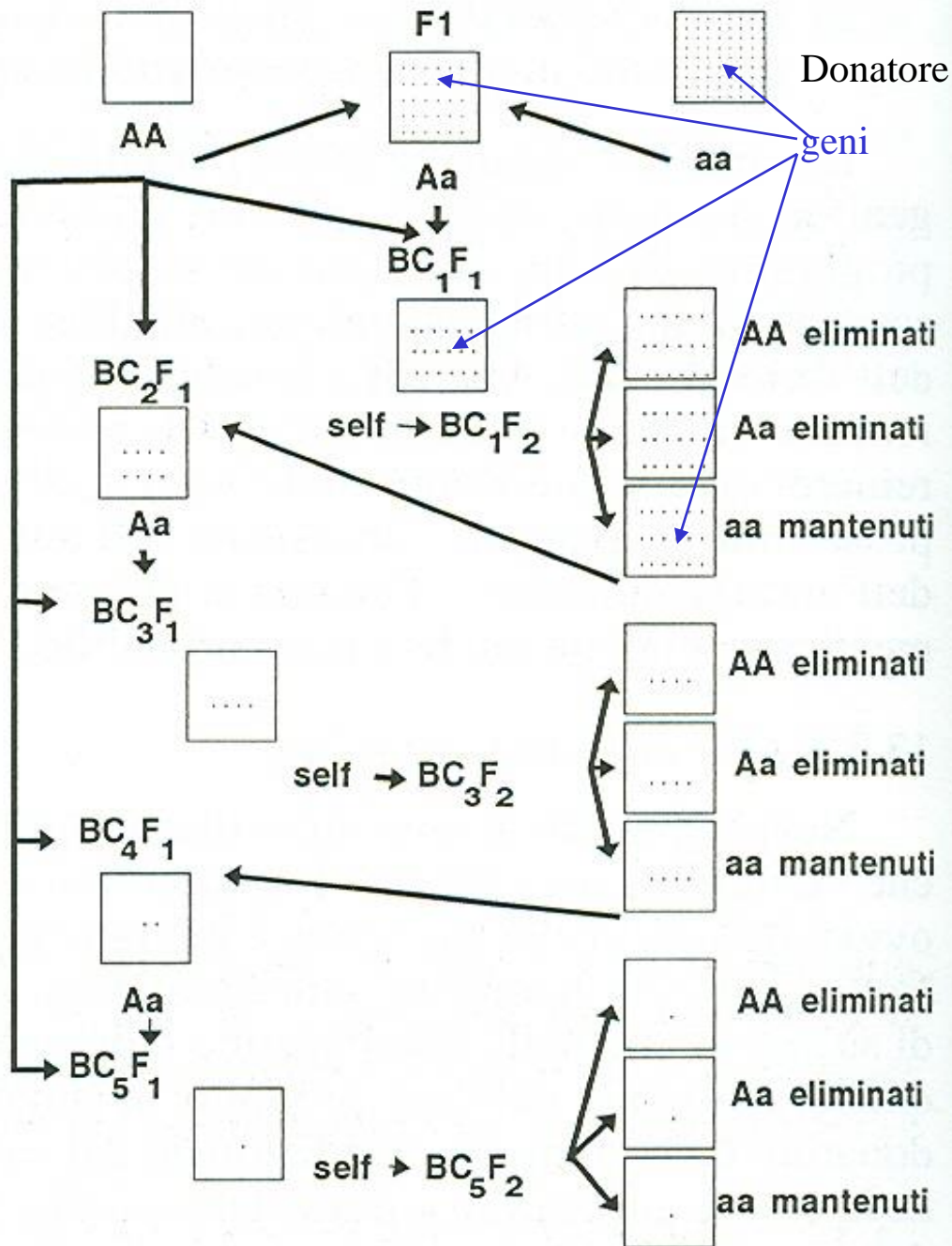


Il reincrocio ripetuto di piante in cui è presente un carattere desiderato, con una varietà ricorrente di pregio, è un metodo efficace per trasferire in quest'ultima il carattere stesso. Nel primo incrocio, la varietà ricorrente è usata come femmina per conservarne il citoplasma. In ogni successiva generazione, il contributo genetico della pianta donatrice si dimezza; dopo  $m$  generazioni esso è  $1/2^m$ , mentre quello della varietà ricorrente è  $(1 - 1/2^m)$ . Analogamente, a partire dalla prima generazione da reincrocio (o BC1), la quota di eterozigoti ad un locus si dimezza, per cui avremo  $(1 - 1/2^m)$  omozigoti dopo  $m$  generazioni di reincrocio. Se i loci sono  $n$ , la quota di omozigoti è  $(1 - 1/2^m)^n$ . Se si trasferisce un carattere dominante, esso è facilmente riconoscibile. Le piante ottenute dall'ultimo reincrocio sono moltiplicate per autofecondazione e nella progenie si selezionano gli omozigoti per il nuovo carattere.



# Reincrocio per un carattere dominante

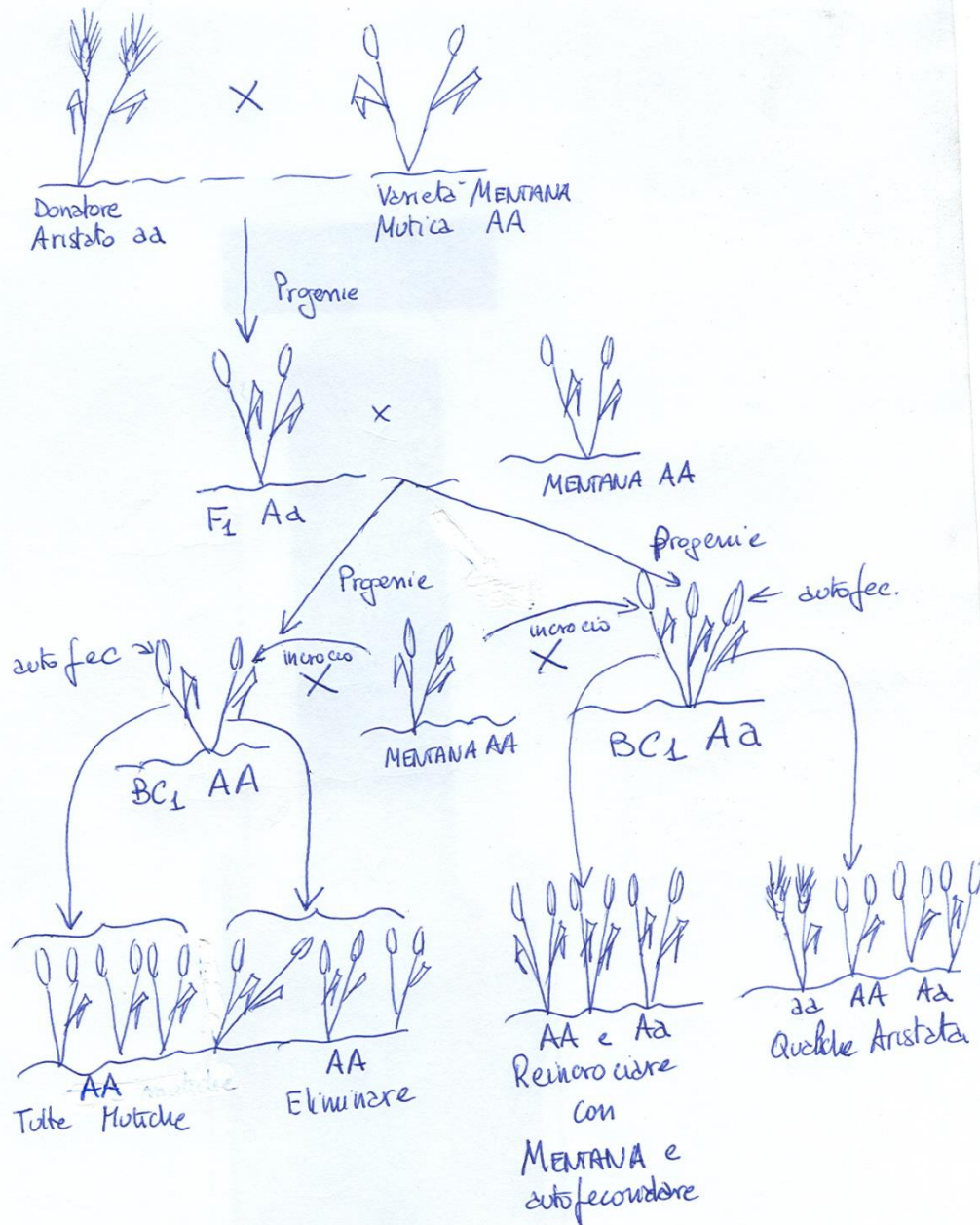
La varietà di grano duro Cresco ha cariossidi bianche da cui si ottengono paste bianche poco gradite dai consumatori, che preferiscono un colore giallo brillante. Nel genotipo Svevo l'alto contenuto in carotenoidi, determinato da un gene principale dominante  $G$ , rende gialle le cariossidi. Lo schema illustra il programma di reincroci per avere cariossidi gialle nella varietà Cresco prelevando l'allele  $G$  da Svevo.



## Reincrocio per un carattere recessivo

Il reincrocio per introgradire un carattere recessivo richiede l'analisi genetica della progenie di ogni generazione di reincrocio per identificare gli individui da usare nel successivo reincrocio. A questo scopo le piante ottenute dal reincrocio vengono sottoposte a "test di progenie" cioè sono autofecondate (vedi schema a lato) o incrociate con un genotipo recessivo per identificare quelle che contengono l'allele recessivo. Si noti che l'autofecondazione delle piante ottenute dal reincrocio produce una progenie in cui rimane costante il contributo genetico del parentale donatore.

# Reincrocio per un carattere recessivo



Nel grano la presenza di reste è un carattere recessivo. Per trasferire il carattere nella varietà Mentana si è usato un donatore aristato  $aa$  e nella generazione  $BC_1$  sono state reincrociate con Mentana 10 piante mutiche, usando una spiga per pianta, mentre un'altra spiga della stessa pianta è stata lasciata libera di autofecondarsi. Per ciascuna pianta reincrociata si allevano in due file separate le piante ottenute dalla spiga reincrociata e quelle provenienti dalla spiga autofecondata. Se tra queste ultime ci sono piante aristate, 10 piante dell'altra fila sono nuovamente reincrociate con Mentana. La progenie dell'ultimo reincrocio è riprodotta per autofecondazione per isolare le piante aristate ( $aa$ ) che rappresentano la versione aristata della varietà Mentana.

# Reincrocio: pregi e difetti

E' utile per migliorare caratteri morfologici, qualitativi o quantitativi controllati da pochi geni come precocità di fioritura, altezza, forma del seme, colore del seme, resistenza a patogeni fungini o batterici. L'ereditabilità del carattere deve essere medio-elevata ( $h^2 = 0,6-0,9$ ).

Può essere applicato in qualunque ambiente che consenta la manifestazione del carattere critico. Si possono trasferire due o più caratteri, ma la quota di progenie utile ad ogni generazione diminuisce in modo esponenziale con il numero di geni indipendenti da trasferire. Per 4 caratteri controllati da 4 geni indipendenti, una pianta su 16 ( $= 1/2^4$ ) è eterozigote per i 4 geni ad ogni generazione di reincrocio.

I geni concatenati con quello critico tendono ad essere ereditati assieme a quest'ultimo. La probabilità  $P$  di eliminare questi geni dipende dalla frequenza di ricombinazione  $R$  e dal numero di reincroci  $m$  secondo l'equazione  $P = 1 - (1 - R)^{m+1}$ . La tabella riporta la probabilità  $P$  in funzione della ricombinazione  $R$  dopo cinque reincroci e dimostra che la probabilità di perdere i geni localizzati a 0,5 (50%) o più unità di ricombinazione è 0,98 (98%). Tuttavia i geni localizzati a 0,01 unità (1%) hanno una probabilità di  $(1-0,06) = 0,94$  (94%) di essere ancora presenti.

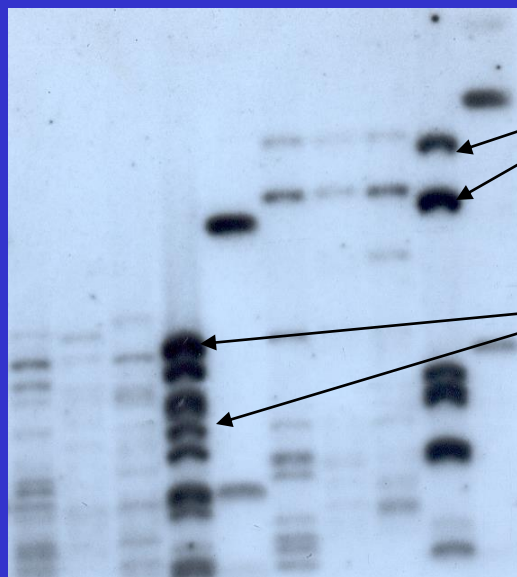
$R$      $P$

0,5   0,98



# Reincrocio: pregi e difetti

La probabilità di eliminare i geni associati a quello critico e la quota di geni della varietà ricorrente introgressata in ogni generazione da reincrocio aumenta significativamente se le progenie sono selezionate per somiglianza fenotipica con la varietà ricorrente e se si dispone di marcatori molecolari (microsatelliti, RFLP, proteine ecc.) associati con il carattere critico.

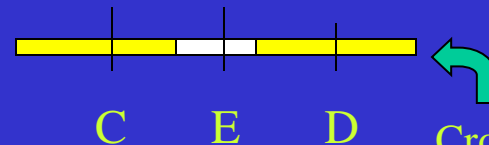
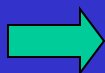
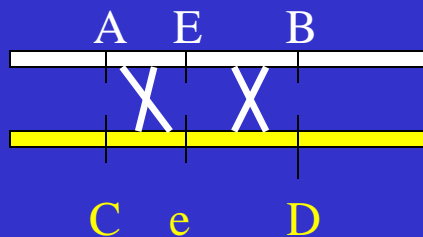


RFLP (A, B) associati al gene critico nel genotipo donatore

RFLP allelici (C,D) nella varietà ricorrente

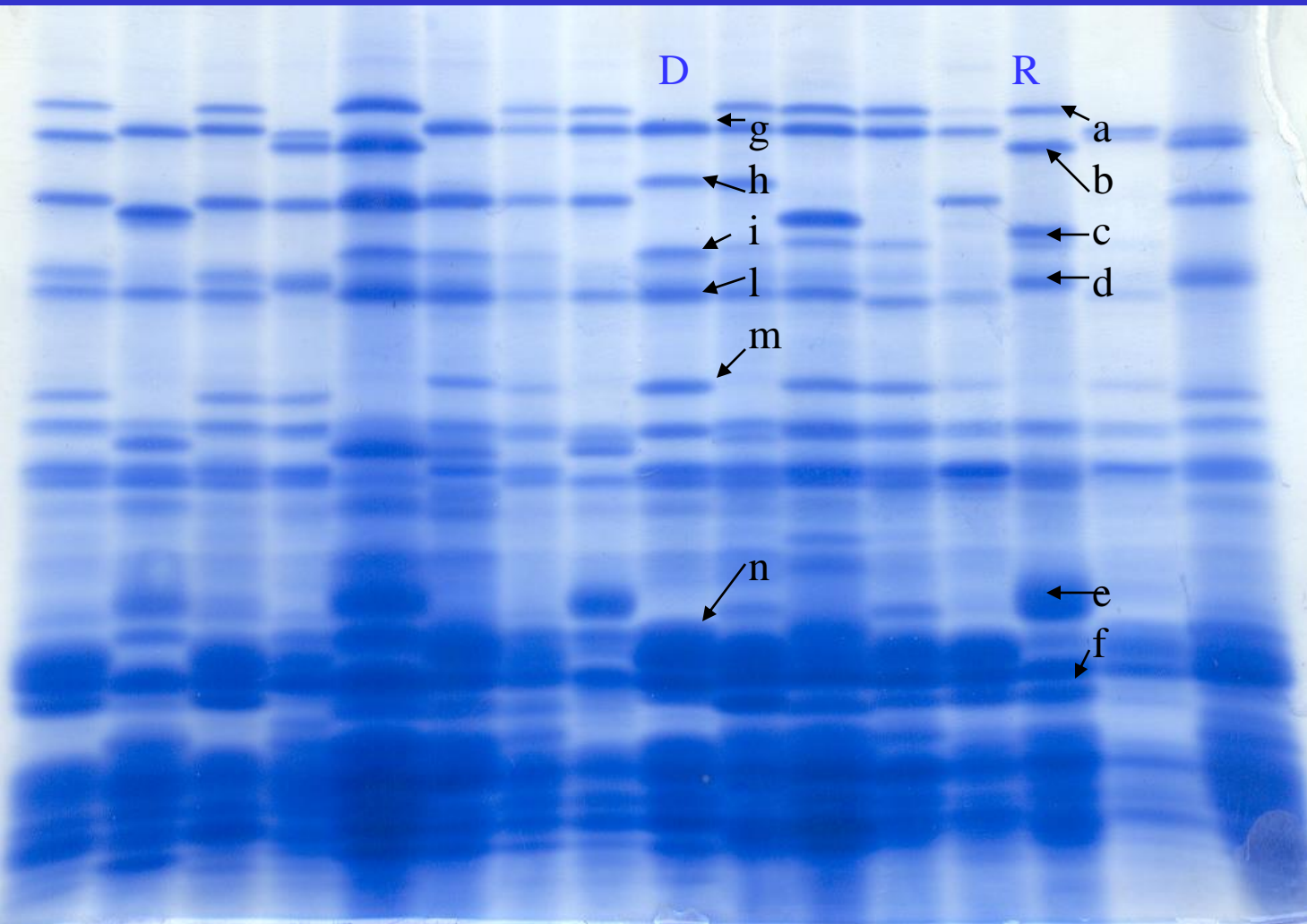
Se le bande RFLP *A* e *B* sono strettamente concatenate al carattere critico *E* nel genotipo donatore e le bande *C* e *D* presenti nel genitore ricorrente sono alleli delle bande *A* e *B*, la progenie da reincrocio che contiene il carattere critico ma manca delle bande *A* e *B* proviene da gameti contenenti un cromosoma frutto di ricombinazione tra il gene *E* e i geni marcatori concatenati *A* e *B*.

Crom. donatore  
Crom. ricorrente



Cromosoma ricombinante

# Reincrocio: pregi e difetti



Separazione elettroforetica di proteine della cariosside di grano mediante SDS-PAGE. Le lettere minuscole indicano le proteine tipiche della varietà donatrice D e della varietà ricorrente R.

La selezione per la presenza delle bande a,b,c,d,e,f e per l'assenza delle bande g,h,i,l,m,n nella progenie da reincrocio accelererà il processo di introgressione del carattere critico nella varietà ricorrente. La selezione per i caratteri del ricorrente equivale a due generazioni di reincrocio.

## Miglioramento genetico di specie prevalentemente allogame

Le specie allogame (mais, loglio, trifoglio, erba medica, colza, radicchio, girasole, asparago, spinacio ecc.) sono caratterizzate da sistemi di unione che si avvicinano alla panmissia. Le loro popolazioni sono costituite da individui eterozigoti a molti loci, diversi gli uni dagli altri. La variabilità genetica è distribuita tra gli individui e non tra le linee come nelle specie autogame.

Sono eterotiche e soffrono di depressione da inincrocio.

Sono più duttili dal punto di vista evolutivistico ma non sono perfettamente adattate all'ambiente.

Il miglioramento genetico in queste specie mira soprattutto a sfruttare l'eterosi e pertanto tende a mantenere l'eterozigosi nella varietà commerciale migliorata geneticamente.

# Miglioramento genetico di specie prevalentemente allogame

## Costituzione varietale

Le varietà commerciali devono essere, per legge, distinguibili, uniformi e stabili nei loro caratteri essenziali. Ovviamente devono anche essere di alto valore agronomico. Nelle specie allogame queste caratteristiche si ottengono sfruttando due principi fondamentali della genetica: l'equilibrio di Hardy-Weinberg e la prima legge di Mendel sull'uniformità della generazione F1.

Il miglioramento genetico di varietà in equilibrio Hardy-Weinberg (o panmittiche) si ottiene mediante

SELEZIONE MASSALE

SELEZIONE FENOTIPICA E MIGLIORAMENTO PER LINEE

PRODUZIONE DI VARIETA' SINTETICHE

REINCROCIO

Il miglioramento genetico che sfrutta l'uniformità della F1 si ottiene mediante:

INCROCIO TRA LINEE INBRED SUPERIORI

## EQUILIBRIO HARDY-WEINBERG

Se da due urne contenenti ciascuna 100 gettoni di cui 70 sono bianchi (frequenza relativa = 0,7) e 30 sono neri (frequenza relativa = 0,3) prendiamo un gettone, la probabilità di avere:

2 gettoni bianchi è  $P(bb) = 0,7 \times 0,7 = 0,49$

2 gettoni neri è  $P(nn) = 0,3 \times 0,3 = 0,09$

2 gettoni di diverso colore è  $P(bn \text{ o } nb) = 0,7 \times 0,3 \times 2 = 0,42$

Pertanto esiste una relazione tra frequenza dei gettoni e frequenza delle coppie di gettoni. Questa relazione è data dal polinomio  $p^2, q^2, 2pq$ , dove  $p$  e  $q$  sono le frequenze dei gettoni e  $p^2, q^2, 2pq$  sono le frequenze delle coppie di gettoni. Poiché  $p + q = 1$  anche  $(p^2 + q^2 + 2pq) = 1$  in quanto è lo sviluppo di  $(p + q)^2$ . Se i gettoni sono i gameti maschili e femminili che contengono gli alleli di un locus e le coppie di gettoni sono gli zigoti formati dall'unione casuale di quei gameti, l'equazione  $(p^2 + q^2 + 2pq) = 1$  è nota come **legge di Hardy-Weinberg**. Essa afferma che in una popolazione ottenuta dall'incontro casuale tra gameti di cui uno, con frequenza  $p$ , contiene l'allele A e l'altro, con frequenza  $q$ , contiene l'allele A\*, la frequenza dello zigote AA è  $p^2$ , quella dello zigote A\*A\* è  $q^2$ , mentre gli eterozigoti AA\* sono  $2pq$ . Se le frequenze degli zigoti AA o AA\* sono diverse dall'atteso vuol dire che (i) gli incroci non sono stati casuali, (ii) un allele è stato sottoposto a selezione, o (iii) sono avvenuti fenomeni di mutazione, migrazione o letalità zigotica. Le popolazioni in cui vale la legge di Hardy-Weinberg sono dette **panmittiche o in equilibrio**.

## EQUILIBRIO HARDY-WEINBERG

Per verificare la presenza di equilibrio H-W conoscendo il numero di individui AA (=70), AA\*(=228) e A\*A\*(=36) in una popolazione di 334 individui, dobbiamo calcolare le frequenze alleliche e le frequenze zigotiche attese e poi confrontare queste ultime con quelle osservate. Orbene abbiamo:

$$p(A) = [(70 \times 2) + 228] / (334 \times 2) = 0,55$$

$$q(A^*) = 1 - p = 0,45.$$

Le frequenze attese degli zigoti AA, A\*A\* e AA\* in una popolazione in equilibrio sono rispettivamente  $p^2$ ,  $q^2$ ,  $2pq$ . Nel nostro esempio abbiamo  $p^2 = 0,55 \times 0,55 = 0,3025$ ;  $q^2 = 0,45 \times 0,45 = 0,2025$ ;  $2pq = 0,4950$ . Su un totale di 334 individui, gli omozigoti AA attesi sono 101 (osservati 70), gli omozigoti A\*A\* attesi sono 67,6 (osservati 36), gli eterozigoti attesi sono 165,3 (osservati 228). Il test chi quadrato ci dice che le differenze tra frequenze attese e frequenze osservate sono statisticamente significative, suggerendo che la nostra popolazione non è in equilibrio.

La frequenza attesa dell'allele A in una popolazione in equilibrio si può calcolare estraendo la radice quadrata della frequenza relativa dello zigote AA. Nel nostro esempio la radice quadrata di  $70/334$  ( $= 0,21$ ) è 0,459, valore inferiore a quello osservato (0,55).

# Miglioramento genetico di specie prevalentemente allogame

## Selezione massale (1)

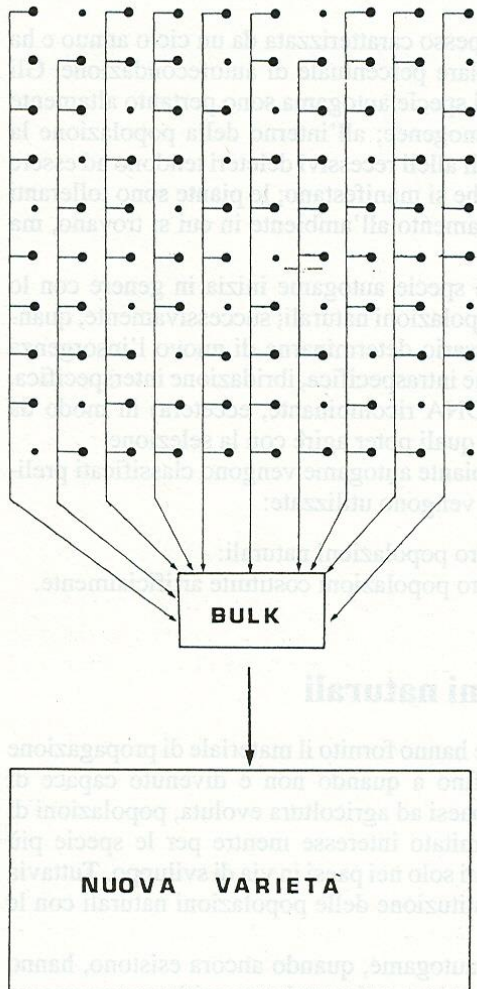


Figura 13.1 - Schema di selezione massale.

La selezione massale si basa sulla selezione entro una popolazione naturale o ecotipo. Il metodo prevede la scelta di un certo numero di piante sulla base delle loro caratteristiche fenotipiche e nel seminare “in bulk” (in massa, mescolato) il seme prodotto da queste piante per avere il seme di base di una nuova popolazione commerciale (varietà).

Il metodo funziona per i caratteri qualitativi e per i caratteri quantitativi ad alta ereditabilità.

L'impossibilità di conoscere la fonte pollinica in una popolazione a impollinazione libera comporta che metà del patrimonio genetico del seme raccolto è di origine ignota.

In caso di selezione intensa si riduce l'ampiezza della popolazione con conseguente crescita della probabilità di incrocio tra parenti, che porta all'omozigosi e alla depressione del vigore.

# Miglioramento genetico di specie prevalentemente allogame

## Selezione massale (2)

In una popolazione panmittica ( $P_0$ ) il gene  $A$  controlla l'altezza della pianta con un effetto additivo (senza dominanza) e senza effetti ambientali. In essa riconosciamo i seguenti genotipi e fenotipi.

Genotipo	$A^*A^*$	$AA^*$	$AA$
Fenotipo	6	4	2
Frequenza	0,04	0,32	0,64
Media	$= 6 \times 0,04 + 4 \times 0,32 + 2 \times 0,64 = 2,8$		

$$f_{A^*}(p) = 0,2$$

Ora eliminiamo le piante con altezza inferiore a 4 (piante  $AA$ ), lasciando riprodurre solo i genotipi  $A^*A^*$  e  $A^*A$ . Poiché l'allele  $A^*$  è presente in 2 dosi nel genotipo  $A^*A^*$  e in una dose in  $AA^*$ , mentre l'allele  $A$  è presente in una dose in  $AA^*$ , dopo la selezione abbiamo: N. alleli  $A^* = 0,04 \times 2 + 0,32 = 0,4$ ; N. alleli  $A = 0,32$ ;  $f_{A^*}(p) = 0,4 / (0,4 + 0,32) = 0,5555$   
 $f_A(q) = 1 - 0,5555 = 0,4445$ . Per la legge H-W, nella generazione successiva ( $P_1$ ) avremo:

Genotipo	$A^*A^*$	$AA^*$	$AA$
Fenotipo	6	4	2
Frequenza	0,3086	0,4938	0,1975

$$Media = 6 \times 0,3086 + 4 \times 0,4938 + 2 \times 0,1975 = 4,22$$

$$f_{A^*}(p) = 0,5555$$

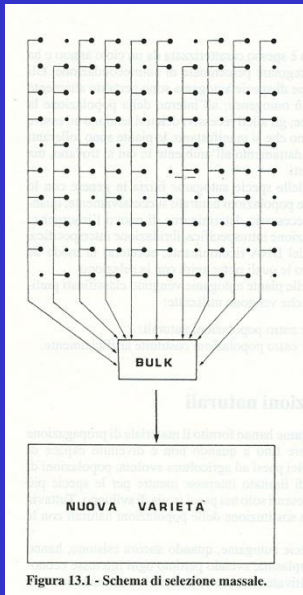


Figura 13.1 - Schema di selezione massale.



# Miglioramento genetico di specie prevalentemente allogame

## Selezione massale (3)

Se nella popolazione P1 eliminiamo le piante con altezza inferiore a 4, nella generazione seguente (P2) avremo:

Genotipo	A*A*	AA*	AA
Fenotipo	6	4	2
Frequenza	0,478	0,43	0,09
Media	$= 6 \times 0,478 + 4 \times 0,43 + 2 \times 0,09 = 4,766$		
$f_{A^*}(p)$	$= 0,692$		

Infine se ripetiamo ancora la selezione nella popolazione P2, nella generazione P3 avremo:

Genotipo	A*A*	AA*	AA
Fenotipo	6	4	2
Frequenza	0,584	0,36	0,056
Media	$= 6 \times 0,584 + 4 \times 0,36 + 2 \times 0,056 = 5,05$		
$f_{A^*}(p)$	$= 0,764$		

Riassumendo abbiamo

Popol.	Media	$f_{A^*}$	$f_{AA^*}$
P0	2,8	0,20	0,32
P1	4,2	0,55	0,49
P2	4,8	0,69	0,43
	5,0	0,77	0,36

P3

Quando la frequenza dell'allele  $A^*$  è bassa, la selezione fa crescere molto l'altezza media della popolazione, quando la frequenza di  $A^*$  cresce, la selezione ha un effetto limitato sull'altezza delle piante. Con l'avanzare della selezione la frequenza di eterozigoti decresce, dopo aver raggiunto il massimo per  $f_{A^*}=0,5$

# Miglioramento genetico di specie prevalentemente allogame

## Selezione massale (4)

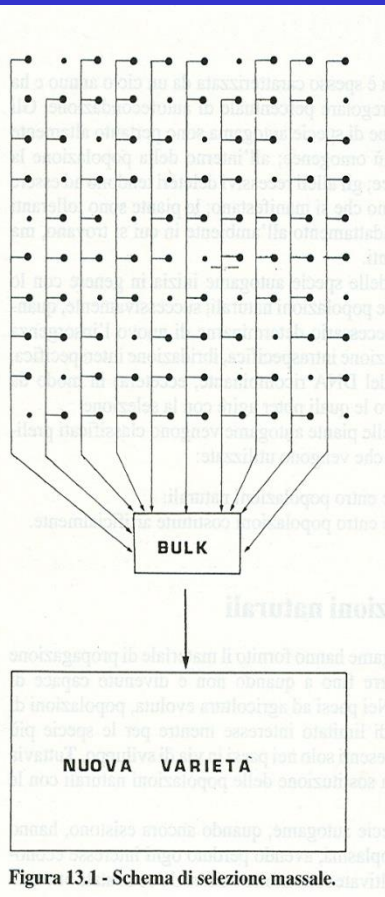


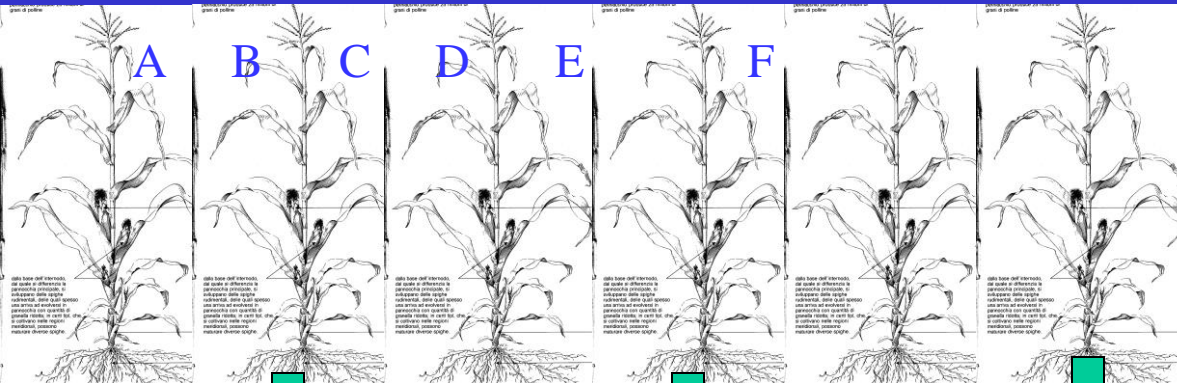
Figura 13.1 - Schema di selezione massale.

In caso di eterosi per l'altezza, per cui l'omozigote  $A^*A^*$  è alto 4, l'eterozigote  $AA^*$  è alto 6 e l'omozigote  $AA$  è alto 2, l'eliminazione delle piante più basse di 4 porterebbe agli stessi risultati salvo che per l'altezza media cioè

Popolazione	Media	$f_{A^*}$	$f_{AA^*}$
P0	3,36	0,20	0,32
P1	4,59	0,55	0,49
P2	4,67	0,69	0,43
P3	4,60	0,77	0,36

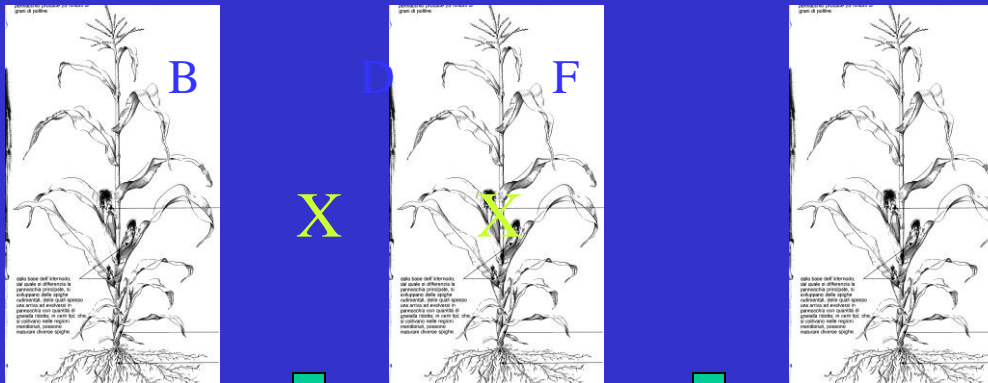
In P2 l'altezza media raggiunge un massimo per poi calare in P3 a causa della diminuzione della frequenza di eterozigoti. Ciò dimostra che in presenza di eterosi, la selezione massale ripetuta porta alla riduzione della frequenza degli eterozigoti, con possibili effetti negativi sul carattere selezionato per depressione da incrocio tra parenti.

# Miglioramento genetico di specie prevalentemente allogame. Selezione fenotipica



Nella popolazione da migliorare si scelgono le piante migliori (B, D F ecc ) e queste vengono autofecondate.

Scelta delle piante e semina dei semi da autofecondazione



Nuova popolazione migliorata

Le piante che si ottengono dall'autofecondazione di ciascuna pianta selezionata vengono incrociate con le progenie delle altre piante selezionate. In alternativa le progenie sono lasciate all'impollinazione libera.

Il seme prodotto da questi incroci costituisce la nuova popolazione migliorata.

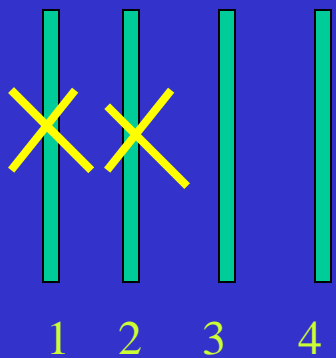
# Miglioramento genetico di specie prevalentemente allogame.

## Selezione per linee

Diversamente dalla selezione massale e dalla selezione fenotipica, nella selezione per linee le piante vengono sottoposte a un test di progenie prima di entrare a far parte della nuova popolazione migliorata.



In una popolazione a impollinazione libera si raccoglie il seme dalle piante migliori e parte di esso viene seminato in file-pianta.



Le file-pianta vengono confrontate tra loro e vengono individuate le migliori. Il seme residuo delle piante che hanno dato i migliori risultati nel test di progenie (nel nostro esempio le piante che hanno dato i semi per le file-pianta 3 e 4), viene mescolato per dare origine alla nuova popolazione migliorata. In alternativa si può usare il seme raccolto sulle file-pianta migliori (3 e 4).

# Miglioramento genetico di specie prevalentemente allogame.

## Varietà sintetica

Sono varietà ottenute per incrocio di un certo numero (4 o più) di cloni o linee inbred (ottenute da autofecondazioni o incroci ripetuti tra parenti stretti) selezionate in base a “test di progenie” (vedi dopo). Sono diffuse tra le piante foraggere sia graminacee che leguminose.

I genitori di una varietà sintetica, detti Syn-0, sono allevati insieme e lasciati interincrociare. Il seme prodotto costituisce la sintetica Syn-1. Dal libero incrocio della Syn-1 si ottiene il seme per la Syn-2. Per la legge H-W, le frequenze alleliche e zigotiche della Syn-2 in assenza di fattori di disturbo rimarranno inalterate nelle generazioni successive Syn-3, Syn-4 ecc. Generalmente il seme commerciale appartiene a Syn-2 o Syn-3. Non si va oltre perché le pressioni selettive naturali possono influire sull'equilibrio delle popolazioni nell'ambiente di moltiplicazione. Per produrre buone varietà sintetiche occorre valutare la Attitudine Combinatoria Generale (ACG) delle linee parentali.

Sewall Wright nel 1922 ha sviluppato una formula che stima la resa della Syn-2

$\hat{Syn-2} = \underline{F1} - [(\underline{F1} - \underline{P}) / n]$  dove  $\hat{Syn-2}$  è la resa della Syn-2,  $\underline{F1}$  è la resa media delle F1 ottenibili dalle  $n$  linee inbred e  $\underline{P}$  è la resa media delle  $n$  linee inbred. Se la media delle 6 F1 che si ottengono da 4 linee inbred è 9,05 t/ha e la resa media delle 4 linee inbred è 4 t/ha, la resa attesa della Syn-2 è  $9,05 - [(9,05 - 4) / 4] = 7,787$  t/ha. Per avere alte rese in Syn-2, bisogna usare molte linee inbred produttive che diano alte produzioni in F1. Per la legge di H-W, le rese nelle generazioni successive alla Syn-2 non cambiano.

# Miglioramento genetico di specie prevalentemente allogame.

## Varietà sintetica da due linee inbred

Nel caso di due sole linee inbred la formula di Sewall Wright diventa

$\underline{F2} = \underline{F1} - [(\underline{F1} - \underline{P}) / 2]$  dove  $\underline{F2}$  è la resa della F2,  $\underline{F1}$  è la resa della F1,  $\underline{P}$  è la resa media delle 2 linee inbred parentali.

La resa in F2 è uguale alla resa in F1 diminuita della metà del guadagno produttivo acquisito passando dalla generazione parentale alla generazione F1.

Infatti se poniamo:

– d = produzione della linea parentale 1 ( $P_1$ )

d = la produzione della linea parentale 2 ( $P_2$ )

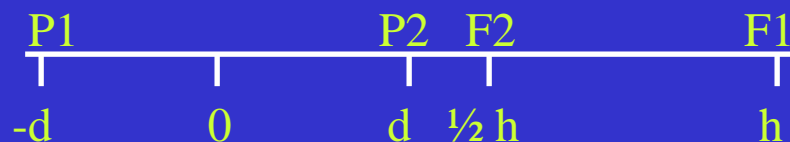
h = produzione della F1 ( $P_{F1}$ )

della generazione F2 sarà uguale a  $P_{F2} = \frac{1}{2} h$

la produzione attesa

### ESEMPI

P1	P2	F1	F2
20	30	50	37,5
20	30	40	32,5
20	30	35	30
20	30	33	29
20	30	30	25



# Miglioramento genetico di specie prevalentemente allogame.

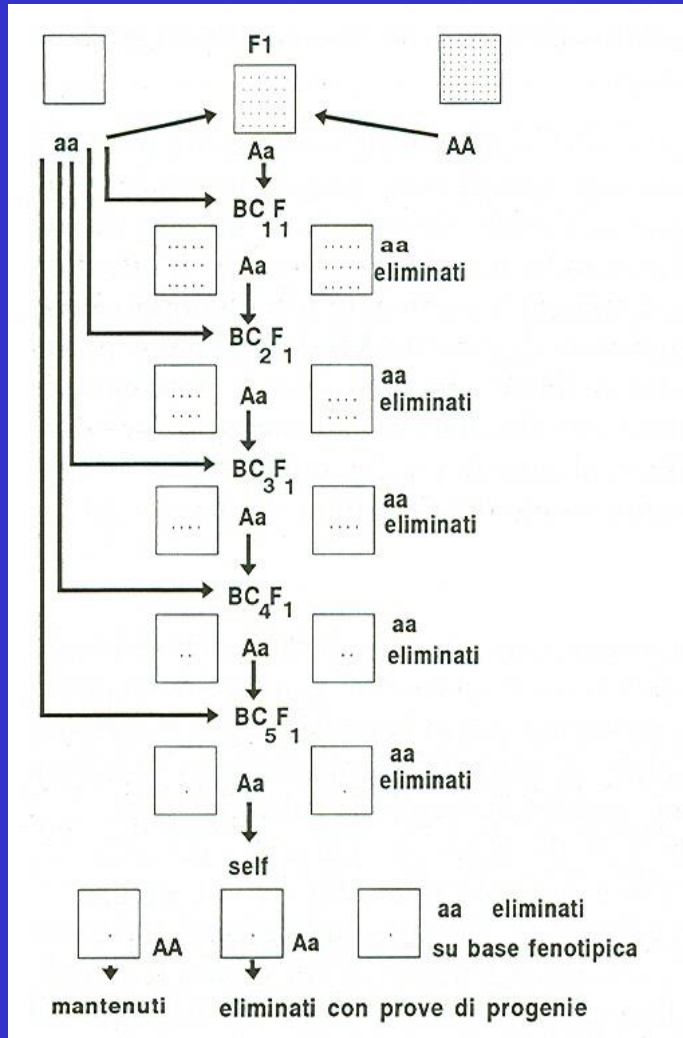
## Varietà sintetica

N. Linee inbred	N. popol. saggiate F1	Produzione t/ha		Differenza F1 - P	Produzione Syn-2		Perdita produzione*		
		P			Oss.	Att.	Oss.	Att.	
					2	10	4,24	1,60	2,64
2,98	2,92	47,6	50,0	3	4	4,33	1,60	2,73	3,33
3,42	36,8	33,3	4	10	4,33	1,69	2,64		3,65
3,67	25,8	25,0							

$$*[(\text{Syn-2} - \text{F1}) / (\text{F1} - \text{P})] \times 100$$

Neal ha studiato 24 varietà sintetiche di mais costituite da 2, 3 o 4 linee inbred ottenendo i risultati riportati nella tabella, dimostrando la validità della formula di **Sewall Wright**. Neal osservò anche che le rese delle Syn-3 non differivano significativamente da quelle delle rispettive Syn-2.

# Miglioramento genetico di specie prevalentemente allogame. Reincrocio



Il metodo non differisce da quello illustrato per le specie autogame. Tuttavia, nel reincrocio la varietà allogama ricorrente deve essere costituita da più piante (circa 60) affinché siano rappresentati tutti i gameti presenti nella varietà ricorrente stessa. Se il reincrocio riguarda una linea inbred questa può essere costituita da poche piante (3-4).



# Miglioramento genetico di specie prevalentemente allogame.

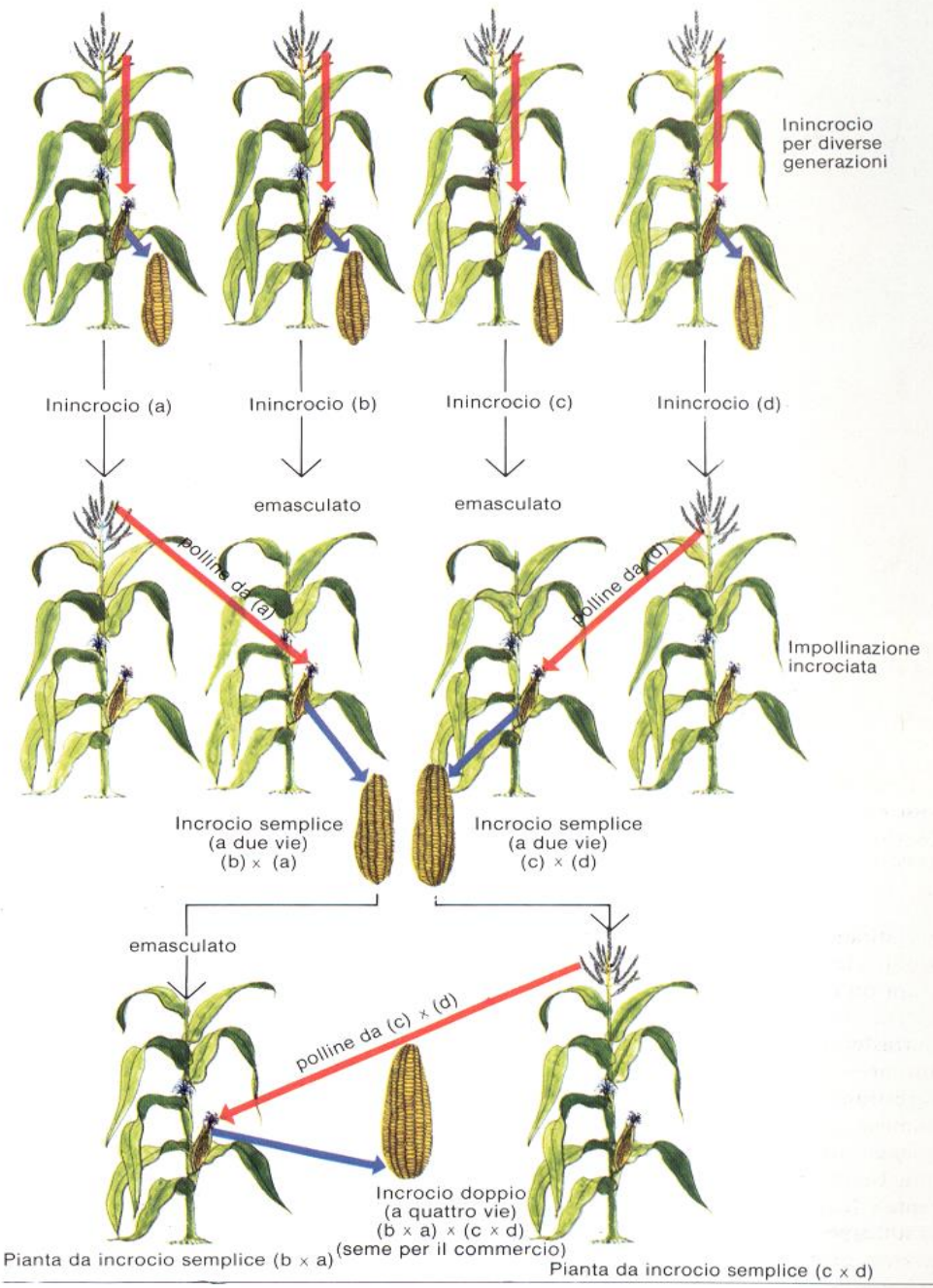
## Varietà ibride F1

Shull nel 1909 fu il primo a suggerire per il mais un metodo basato sulla produzione di linee inbred mediante ripetute autofecondazioni e sul loro incrocio due a due per produrre semente F1. Questi ibridi semplici o a due vie ( $A \times B$ , dove A e B sono due linee inbred) erano tuttavia molto costosi perché le linee inbred producono poco polline e poco seme.

Nel 1918 Jones suggerì di costituire ibridi doppi o a 4 vie, ottenuti incrociando due ibridi semplici cioè  $(A \times B) \times (C \times D)$ . Nell'ibrido doppio il seme commerciale viene prodotto su un genitore portaseme ibrido F1 ( $A \times B$ ) impollinato da un altro genitore ibrido F1 ( $C \times D$ ), entrambi molto vigorosi, fatto che consente di produrre semente a basso prezzo. Il rapporto tra portaseme e impollinante è 3:1 o 4:1.

E' stato anche utilizzato l'ibrido a tre vie  $(A \times B) \times C$  detto anche "special cross", in cui il genitore femminile era un ibrido F1 mentre l'impollinante era una linea inbred.

Attualmente si usano quasi esclusivamente ibridi a due vie, avendo superato con la selezione di linee inbred superiori il problema della scarsa produttività.



Lo schema illustra la produzione di linee inbred e il loro uso per produrre ibridi a due o a 4 vie. Le linee inbred si ottengono selezionando le piante migliori di una popolazione (varietà commerciale, popolazioni F<sub>2</sub>, popolazioni costituite mediante selezione ricorrente) e autofecondandole per 5-6 generazioni, all'interno delle quali si selezionano le piante migliori delle progenie migliori, operando una severa selezione per i caratteri agronomici. Le piante che costituiscono ciascuna linea inbred uniforme (in genere sono progenie F<sub>6</sub>) sono lasciate interincrociare liberamente in isolamento. Le linee vengono poi provate in test di progenie, in particolare top cross o incroci diallelici, per saggiare la ACG e la ACS. Per saggiare 10 linee inbred si fanno  $(10 \times 9) / 2 = 45$  incroci diallelici. La ACG di ciascuna linea inbred è stimata dalla produzione media dei 9 incroci in cui la linea è coinvolta, mentre la ACS è data dalla produzione di ciascuno dei 9 ibridi F<sub>1</sub> che hanno come genitore la linea stessa.

Per trovare il miglior ibrido a 4 vie ottenibile con  $n$  linee inbred occorre saggiare un numero di ibridi  $N$  uguale a

$N = 3(n!) / [(4!)(n-4)!]$ . Per 10 linee inbred bisogna saggiare 630 ibridi doppi.

Tuttavia la resa di un ibrido a 4 vie può essere stimata calcolando la media delle produzioni dei 4 ibridi semplici non parentali cioè:

$$(A \times B) \times (C \times D) = [(A \times C) + (A \times D) + (B \times C) + (B \times D)] / 4$$

$$(A \times C) \times (B \times D) = [(A \times B) + (A \times D) + (B \times C) + (C \times D)] / 4$$

$$(A \times D) \times (B \times C) = [(A \times B) + (A \times C) + (B \times D) + (C \times D)] / 4$$

In generale il vigore dell'ibrido semplice o doppio aumenta con l'aumentare della distanza genetica delle linee inbred. Se la linea A è vicina geneticamente alla linea B, mentre la linea C è vicina geneticamente alla linea D gli incroci semplici migliori sono  $A \times C$ ,  $B \times C$ ,  $B \times D$  e  $A \times D$  mentre l'incrocio doppio migliore è  $(A \times B) \times (C \times D)$ .

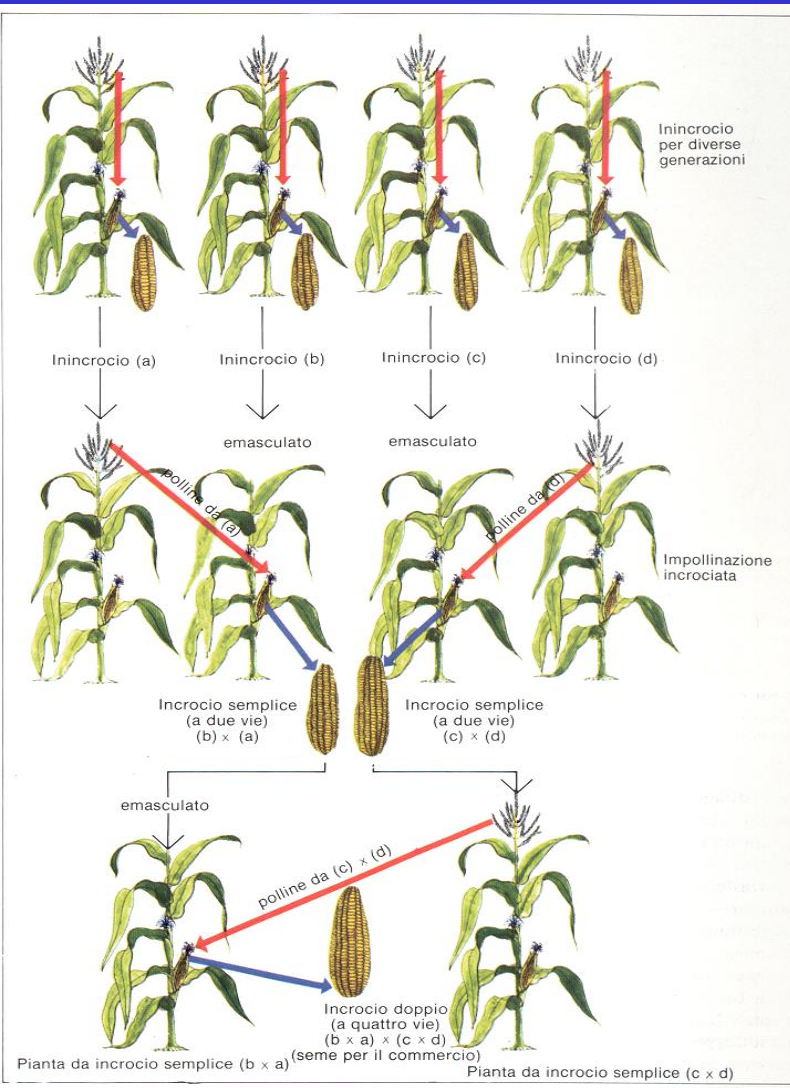


Tabella 22-2. - Produzioni reali e produzioni attese di quindici ibridi doppi ottenuti dai dieci ibridi semplici della tabella 22-1. (Da Anderson, 1938)

Ibrido	Produzione reale	Produzione attesa
Linee combinate: 23, 24, 26, 27		
(23 x 24) (26 x 27)	68,8	67,8
(23 x 26) (24 x 27)	62,4	60,6
(23 x 27) (24 x 26)	62,0	60,2
Linee combinate: 23, 24, 26, 28		
(23 x 24) (26 x 28)	65,0	65,5
(23 x 26) (24 x 28)	59,8	58,0
(23 x 28) (24 x 26)	56,0	58,5
Linee combinate: 23, 24, 27, 28		
(23 x 24) (27 x 28)	71,1	69,2
(23 x 27) (24 x 28)	58,1	59,4
(23 x 28) (24 x 27)	58,0	60,4
Linee combinate: 23, 26, 27, 28		
(23 x 26) (27 x 28)	68,2	65,0
(23 x 27) (26 x 28)	65,0	62,7
(23 x 28) (26 x 27)	65,7	63,4
Linee combinate: 24, 26, 27, 28		
(24 x 26) (27 x 28)	70,2	66,5
(24 x 27) (26 x 28)	62,0	64,7
(24 x 28) (26 x 27)	62,7	64,4

Differenza richiesta per la significatività: reale = 5,26; attesa = 3,41

## IBRIDI A QUATTRO VIE

Produzioni reali e attese di ibridi di mais a quattro vie ottenuti da 10 linee inbred.  
Per il calcolo delle produzioni attese si è utilizzata la formula

$$(A \times B) \times (C \times D) = [(A \times C) + (A \times D) + (B \times C) + (B \times D)] / 4$$

# Miglioramento genetico di specie prevalentemente allogame

Nelle specie allogame è particolarmente importante valutare il comportamento dei genotipi nelle loro combinazioni ibride, cioè la loro attitudine combinatoria generale (ACG, ovvero capacità di dare ottime discendenze da incrocio con qualunque partner) e la loro attitudine combinatoria specifica (ACS, ovvero la capacità di dare con specifici partner progenie superiori a quanto atteso in base alla ACG).

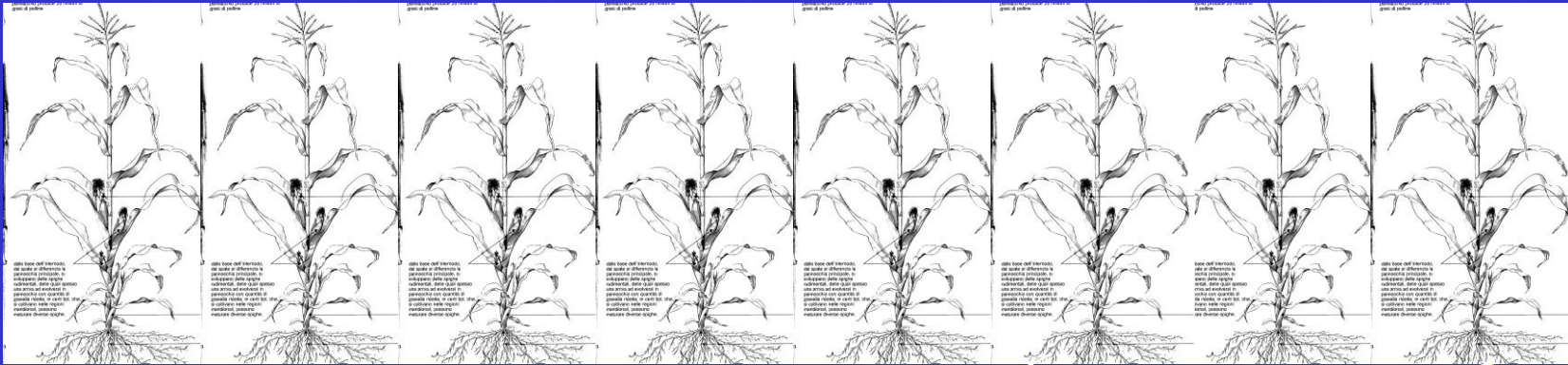
Per valutare queste attitudini si utilizzano i progeny test, cioè si valuta un individuo sulla base della sua discendenza. In genere si valuta la pianta madre portaseme sulla base della sua progenie allevata l'anno successivo. Pertanto è necessario conservare il materiale materno almeno per un anno, cosa fattibile per le piante polienne (es. trifoglio, erba medica) o propagabili vegetativamente (asparago). Nel caso di piante annuali non propagabili vegetativamente si procede alla autofecondazione che mantiene gli alleli presenti nella pianta madre.

# Miglioramento genetico di specie prevalentemente allogame

## I test di progenie (1)

### 1. Progenie autofecondate

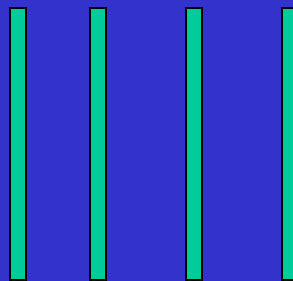
Popolazione



Il metodo consiste nella individuazione delle piante migliori all'interno di una popolazione e nella valutazione della loro progenie da autofecondazione.

La autofecondazione conserva la composizione allelica della pianta madre.

Autofecondazione e semina in file



Parte del seme da autofecondazione delle piante selezionate è seminato in file-pianta. Le piante selezionate che danno le file migliori sono usate nei programmi di miglioramento genetico, facendo ricorso al seme da autofecondazione rimasto.

# Miglioramento genetico di specie prevalentemente allogame

## I test di progenie (2)

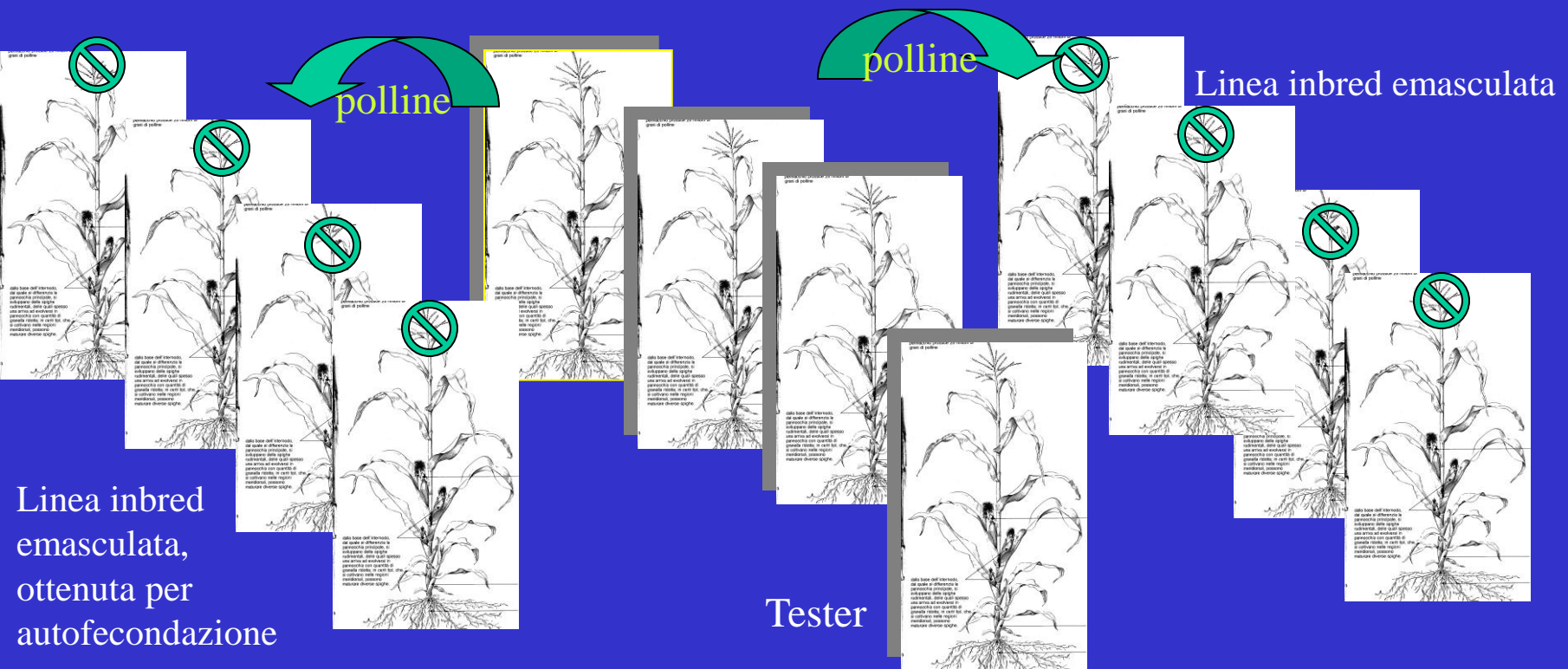
### 2. Progenie da impollinazione libera in specie poliannuali



# Miglioramento genetico di specie prevalentemente allogame

## I test di progenie (3)

### 3. Incrocio con varietà commerciale o linea inbred (top cross)



Linee inbred emasculate sono impollinate da un tester costituito da una varietà commerciale a larga base genetica o da una linea inbred. Le piante ottenute dal seme raccolto su ciascuna linea emasculata sono confrontate con quelle ottenute dal seme raccolto sulle altre linee emasculate. Se il tester impollinante è una varietà commerciale, con questo metodo si stima la ACG delle linee inbred emasculate; se il tester è una linea inbred si stima la ACS.



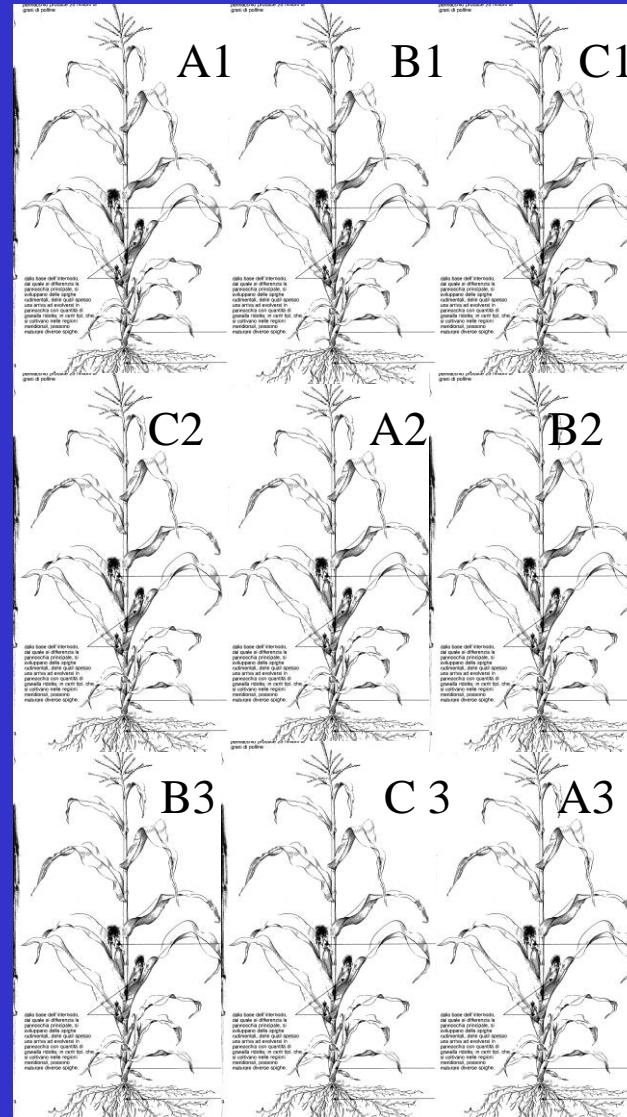
# Miglioramento genetico di specie prevalentemente allogame

## I test di progenie (4)

impollinazione libera

### 4. Polincroci (Poly-cross)

Piante (A,B,C) selezionate all'interno di una popolazione sono state autofecondate e il loro seme (A1, A2, A3, B1...) è stato seminato a caso in modo da ricevere polline da tutti i genotipi presenti nel campo da polincrocio. Il seme raccolto su tutte le piante della linea A (A1, A2, A3) viene poi utilizzato per la prova di progenie su file, in confronto con le progenie delle linee B e C ottenute dal seme raccolto su tutte le piante rappresentative delle linee stesse (B1, B2, B3..., C1, C2, C3...) In genere si confrontano alcune decine di linee alla volta, ciascuna rappresentato da una cinquantina di piante.



A1+A2+A3

B1+B2+B3

C1+C2+C3

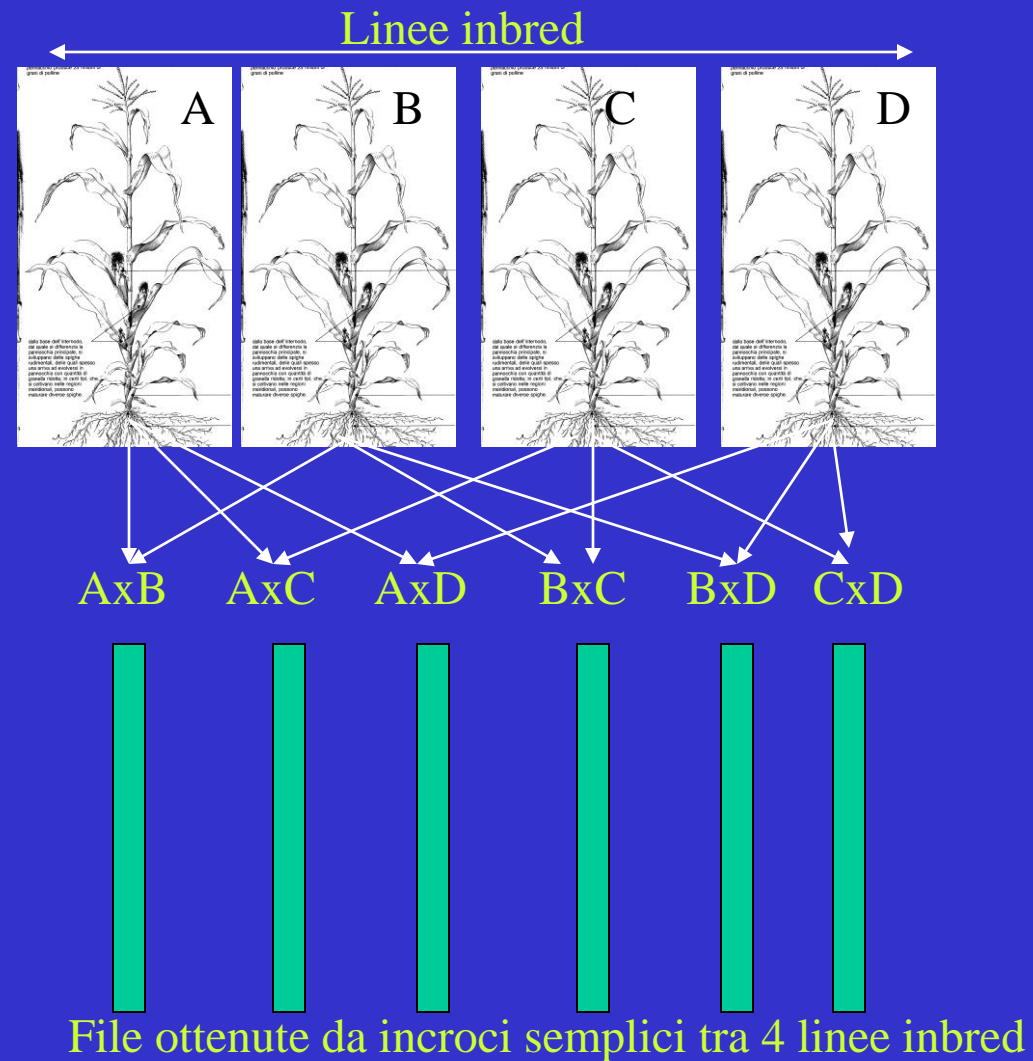
File di piante  
ottenute dal  
seme riunito di  
ciascun clone

# Miglioramento genetico di specie prevalentemente allogame

## I test di progenie (5)

### 5. Incrocio semplice (Single-cross)

Linee inbred (A,B,C,D) sono incrociate tra loro e il seme ottenuto è usato per prove di progenie. Il valore delle progenie dei singoli incroci stima la ACS mentre il valore medio delle progenie di tutti gli incroci di un genotipo ne stima la ACG. Ad esempio la ACG della linea A è data dalle progenie AxB, AxC e AxD. Questo test viene utilizzato quando i genotipi da valutare sono in numero ridotto perché comporta l'esecuzione di  $n(n-1)/2$  incroci dove  $n$  è il numero di genotipi (es. 2450 incroci per valutare 50 genotipi). Incrocio semplice, top-cross e polincroci sono equivalenti nel misurare la ACG. L'incrocio semplice e il top-cross con un tester costituito da una linea inbred stimano anche la ACS.



# Miglioramento genetico di specie prevalentemente allogame

## Le popolazioni come serbatoio di geni e la selezione ricorrente

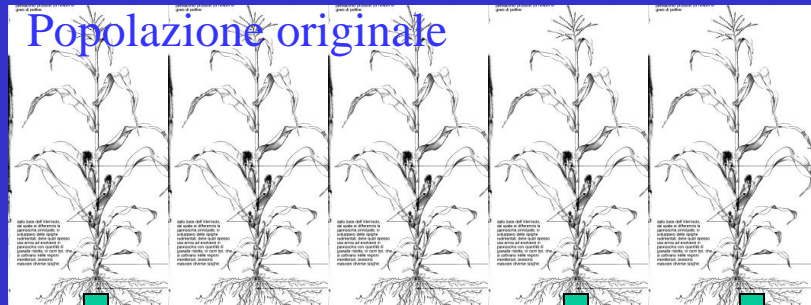
Le popolazioni locali o ecotipi risultanti dall'azione svolta dalla selezione naturale sono la principale fonte di variabilità da cui attingere per migliorare geneticamente le specie allogame. Queste popolazioni di base possono essere manipolate attraverso la selezione ricorrente in modo da concentrare geni favorevoli in un'unica popolazione all'interno della quale selezionare nuovi genotipi superiori.

La selezione ricorrente (SR) è un procedimento ciclico di selezione che aumenta la frequenza di geni favorevoli all'interno di una popolazione. La popolazione iniziale (ecotipo, varietà, generazioni F2 ecc.) sottoposta a SR deve avere un'ampia variabilità genetica per i caratteri che si intende selezionare. Si distinguono 4 tipi di SR: semplice, per ACG, per ACS e reciproca.

# Miglioramento genetico di specie prevalentemente allogame

## Selezione ricorrente semplice

Nella SR semplice le piante sono selezionate in base al loro fenotipo, senza prove di progenie



1° anno: Scelta delle piante migliori all'interno della popolazione originale e autofecondazione.

2° anno: Allevamento di file-pianta ottenute con seme da autofecondazione e loro incrocio in tutte le combinazioni (o impollinazione libera).



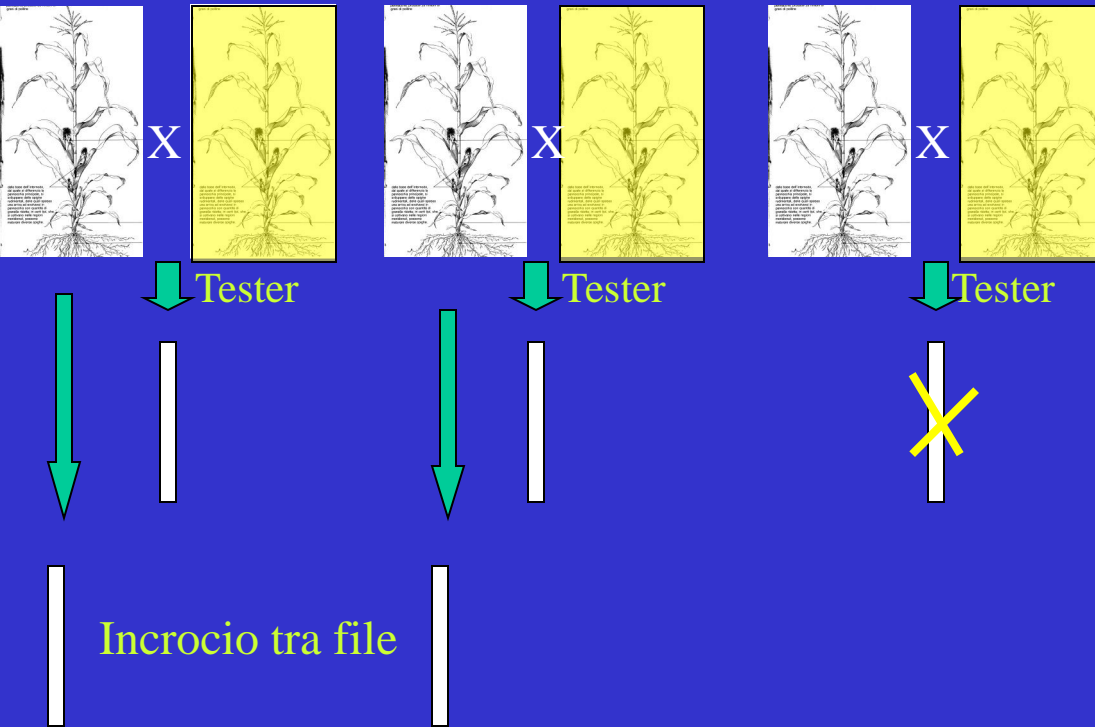
3° anno: Costituzione di una nuova popolazione con il seme prodotto nel 2° anno. Il ciclo riparte da questa popolazione con la scelta delle piante migliori e la loro autofecondazione.

4° anno: Come nel 2° anno.

# Miglioramento genetico di specie prevalentemente allogame

## Selezione ricorrente per ACG e ACS

Le piante sono selezionate dopo una prova condotta sulla progenie ottenuta per incrocio con una popolazione ad ampia variabilità genetica (SR per ACG) o una linea inbred (SR per ACS).

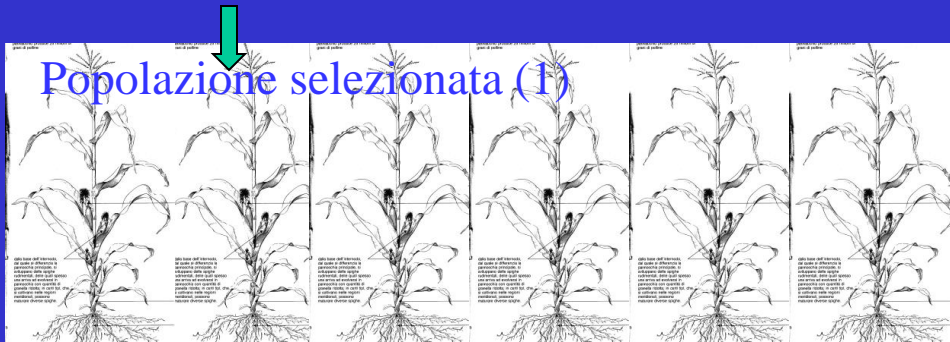


1° anno: Autofecondazione di circa 200 piante superiori (Ps). Ciascuna Ps è anche usata come maschio in incroci con 6-7 piante tester di una popolazione a larga base genetica o una linea inbred.

2° anno: Allevamento in fila-pianta del seme mescolato raccolto sulle piante tester impollinate da ciascuna Ps.

3° anno: Semina in file-pianta del seme da autofecondazione (1° anno) delle Ps la cui progenie ha dato buoni risultati. Si incrociano tra loro le file (o impollinazione libera)

4° anno:  
Costituzione di una nuova popolazione con il seme ottenuto dagli incroci del terzo anno.



# Miglioramento genetico di specie prevalentemente allogame

## Selezione ricorrente reciproca

Sono necessarie due popolazioni di 1200 piante ciascuna.

1° anno . Le migliori 200 piante delle popolazioni A e B sono autofecondate. Inoltre ciascuna delle 200 piante A è usata come maschio nell'incrocio con 5 piante scelte a caso nella popolazione B (piante tester). Reciprocamente ciascuna delle 200 piante B è usata come maschio nell'incrocio con 5 piante scelte a caso nella popolazione A.

2° anno. Le progenie da incrocio delle 200 piante A e delle 200 piante B sono allevate in file (  $200 + 200 = 400$  file, contenenti ciascuna un campione dei semi raccolti sulle 5 piante tester) e valutate.

3° anno: I semi da autofecondazione delle piante A (primo anno) che hanno dato la miglior risposta al test di progenie del 2° anno sono seminati assieme in un campo isolato ed incrociati tra loro o lasciati alla libera impollinazione. In un altro campo isolato, i semi da autofecondazione delle migliori piante B sono allevati ed incrociati tra loro o lasciati alla libera impollinazione.

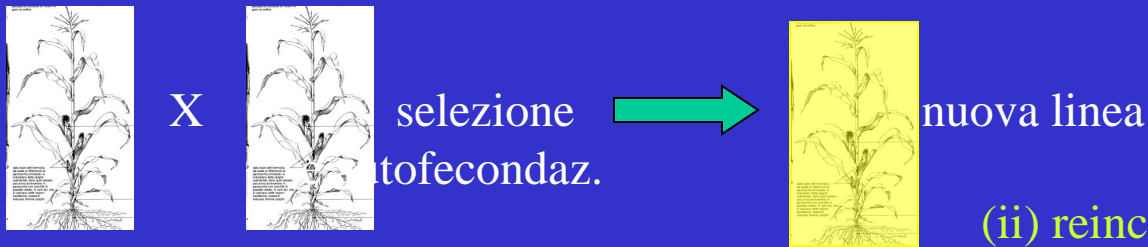
4° anno. Le migliori 200 piante della nuova popolazione A (di solito indicata A<sup>1</sup>) costituita con i semi ottenuti per incrocio o libera impollinazione l'anno precedente sono autofecondate e incrociate ciascuna con 5 piante scelte a caso nella nuova popolazione B<sup>1</sup> ottenuta allo stesso modo. La SR continua allo stesso modo negli anni seguenti.

# Miglioramento genetico di specie prevalentemente allogame.

## Miglioramento delle linee inbred

Attualmente si preferisce migliorare le linee inbred disponibili piuttosto che produrre nuove linee selezionando all'interno di una popolazione a larga base genetica. Il miglioramento di linee inbred si basa su:

(i) incrocio tra linee inbred e selezione di ricombinanti superiori nella progenie



(ii) reincrocio (3-4 BC) della F1 con ciascuna delle due linee parentali per introdurre in entrambe geni utili presi dall'altra linea. Il metodo è chiamato miglioramento convergente

(iii) impollinazione di una linea inbred con polline di una popolazione a larga base genetica. Le singole piante ottenute da questo incrocio vengono incrociate con un tester per individuare le migliori. Queste ultime vengono autofecondate ripetutamente per produrre linee inbred superiori. Il metodo, proposto da Stadler nel 1944, è noto come selezione gametica e ha la sua base teorica nella legge di H-W. Infatti all'interno di una popolazione in equilibrio (nel nostro esempio, la popolazione a larga base genetica) è più probabile scoprire un gamete superiore A (frequenza  $p$ ) che un omozigote superiore AA (frequenza  $p^2$ ).

# Miglioramento genetico di specie prevalentemente allogame.

## Maschiosterilità



Per produrre seme F1 si ricorre spesso alla maschiosterilità nucleo-citoplasmatica (NC) soprattutto nelle specie in cui la castrazione manuale dei fiori è difficile. Ciò vale per il pomodoro, il sorgo, il girasole, la Brassicaceae, il radicchio, la carota e la cipolla. In genere si usa la sterilità NC perché la linea inbred maschiosterile può essere mantenuta per incrocio con la sua versione fertile priva di geni ristoratori. Le piante ottenute dall'incrocio sono tutte maschiosterili perché hanno il citoplasma sterile del genitore femminile e non hanno ricevuto geni ristoratori per via maschile.

In alcune specie (es. girasole) non è disponibile la maschiosterilità NC e pertanto si usa quella genetica. Tuttavia questa è recessiva cioè si manifesta solo in omozigosi. Ciò comporta che per mantenere una linea maschiosterile  $ms\ ms$  è necessario incrociarla con la sua versione fertile eterozigote  $Ms\ ms$ , ottenendo dall'incrocio 50% di piante maschiosterili  $ms\ ms$  e 50% di piante fertili  $Ms\ ms$ . Queste ultime devono essere eliminate dal campo di produzione di seme ibrido commerciale. In girasole l'allele dominante  $T$  determina una colorazione rossa del margine delle foglie cotiledonari e dell'ipocotile mentre l'omozigote  $tt$  è verde. L'allele  $t$  dista 1 cM dall'allele  $ms$ , mentre l'allele  $T$  è in concatenazione con l'allele  $Ms$ .

L'incrocio ♀  $ms\ t / ms\ t$  x ♂  $Ms\ T / ms\ t$  produce, salvo rari ricombinanti, 50% di piante sterili  $ms\ t / ms\ t$  e 50% di piante fertili  $Ms\ T / ms\ t$ . Queste ultime possono essere riconosciute ed eliminate a livello di plantula per il colore rosso dei cotiledoni.



# Miglioramento genetico di specie a propagazione vegetativa

Si tratta di specie generalmente poliannuali, eterotiche, con forte depressione da inincrocio, spesso sterili o poco fertili. Appartengono a questo gruppo:

PIANTE ARBOREE, PATATA, CANNA DA ZUCCHERO, AGLIO, FRAGOLA, CARCIOFO, ASPARAGO, BANANO, ANANAS , AGRUMI

Sono costituite da cloni cioè piante derivate da un unico capostipite, moltiplicato vegetativamente che ,salvo mutazione, presentano solo variabilità ambientale. Ovviamente la singola pianta contiene un elevato polimorfismo genetico che si manifesta quando si ricorre alla riproduzione sessuale.

In generale il miglioramento genetico si basa su (i) selezione delle piante migliori all'interno di una popolazione iniziale (ecotipo, popolazione F2) e (ii) loro mantenimento per propagazione vegetativa. Per accrescere la variabilità si ricorre a mutagenesi, poliploidizzazione, incrocio intra o interspecifico, colture in vitro, fusione cellulare, transgenesi.

La valutazione delle nuove varianti genetiche può richiedere molti anni. Ad esempio nel caso del pero, lo stadio giovanile può durare 12 anni.

