

CAPITOLO 6

Associazione e mappa cromosomica

LA RICOMBINAZIONE FRA GENI ASSOCIATI

1. L'associazione (o concatenazione).

Quando due o più geni risiedono sullo stesso cromosoma si definiscono *associati* (concatenati). Possono esserlo su uno degli autosomi oppure sul cromosoma sessuale (cap. 5). I geni che si trovano su cromosomi diversi sono distribuiti nei gameti indipendentemente l'uno dall'altro (legge di Mendel dell'assortimento indipendente). I geni che si trovano sullo stesso cromosoma, invece, tendono a stare insieme durante la formazione di gameti. Così i risultati ottenuti sottoponendo individui diibridi a un testcross o incrocio di prova saranno diversi secondo che i geni siano associati oppure si trovino su cromosomi diversi.

Esempio 6.1. I geni su cromosomi diversi hanno un assortimento indipendente e danno nell'incrocio di prova un rapporto di 1 : 1 : 1 : 1.

Genitori:	$AaBb$	×	$aabb$
Gameti:	AB Ab aB ab		ab
F ₁ :	$\frac{1}{4} AaBb : \frac{1}{4} Aabb : \frac{1}{4} aaBb : \frac{1}{4} aabb$		

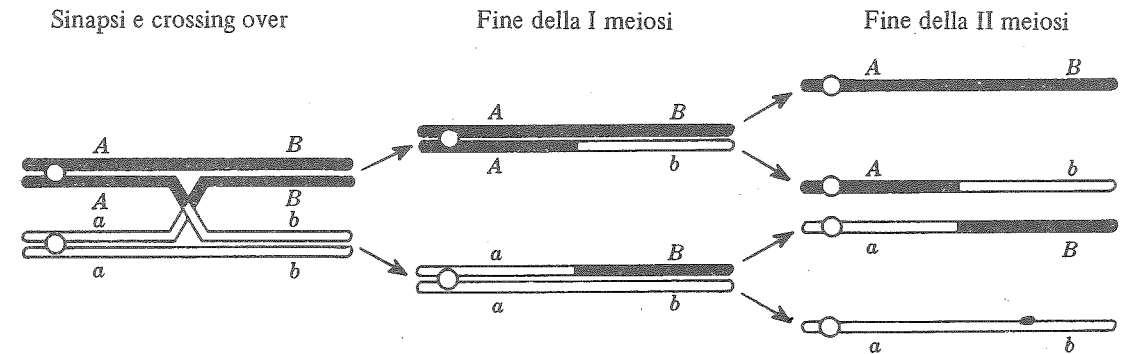
Esempio 6.2. I geni associati non hanno un assortimento indipendente, ma tendono a stare insieme, nelle stesse combinazioni in cui si trovano nei genitori. I geni alla sinistra della sbarra (/) stanno su un cromosoma, quelli alla destra sul cromosoma omologo.

Genitori:	AB/ab	×	ab/ab
Gameti:	AB ab		ab
F ₁ :	$\frac{1}{2} AB/ab : \frac{1}{2} ab/ab$		

Importanti deviazioni dal rapporto 1 : 1 : 1 : 1, che si osserva nella progenie di un diibrido sottoposto a incrocio di prova, potrebbero essere usate come prova dell'associazione. I geni associati però non stanno sempre insieme, perché i cromatidi omologhi non fratelli, durante la profase meiotica, possono scambiarsi l'uno con l'altro segmenti di lunghezza varia. Si ricordi dal cap. 1 che i cromosomi omologhi si appaiano l'uno con l'altro in un processo chiamato "sinapsi" e che i punti di scambio genetico, chiamati "chiasmi", danno luogo a gameti ricombinanti attraverso il crossing over.

2. Il crossing over.

Durante la meiosi, ciascun cromosoma si duplica formando due cromatidi fratelli identici. I cromosomi omologhi si appaiano (sinapsi) e il crossing over avviene fra cromatidi non fratelli. Quest'ultimo processo comporta la rottura e il ricongiungimento di solo due dei quattro filamenti per ogni punto dato sui cromosomi. Nello schema qui sotto si riporta un crossing over avvenuto nella regione che si trova fra i loci A e B.



Si noti che due dei prodotti meiotici (AB e ab) hanno i geni associati nello stesso modo in cui si trovano nei cromosomi parentali. Essi sono prodotti dai cromatidi non coinvolti nel crossing over e vengono indicati come *tipi parentali* o che non hanno subito il crossing over. Gli altri due prodotti meiotici (Ab e aB), ottenuti dal crossing over, hanno ricombinato, invece, i rapporti originali di associazione del genitore in due forme nuove, chiamate *tipi ricombinanti* o che hanno subito il crossing over.

Gli alleli degli eterozigoti doppi (diibridi) in due loci associati possono apparire nell'una o nell'altra di due posizioni in reciproco rapporto. Se i due alleli dominanti (o di tipo selvatico) si trovano su un cromosoma e i due recessivi (o mutanti) sull'altro (AB/ab), il rapporto di associazione è chiamato *fase di accoppiamento*. Quando l'allele dominante di un locus e l'allele recessivo dell'altro occupano lo stesso cromosoma (Ab/aB) il rapporto è definito *fase di repulsione*. I gameti parentali e ricombinanti apparterranno a tipi diversi, a seconda di come i geni sopra menzionati sono associati nel genitore.

Esempio 6.3. Genitore con alleli in fase di accoppiamento: AB/ab

parentali:	AB ab
Gameti:	
ricombinanti:	Ab aB

Esempio 6.4. Genitore con alleli in fase di repulsione: Ab/aB

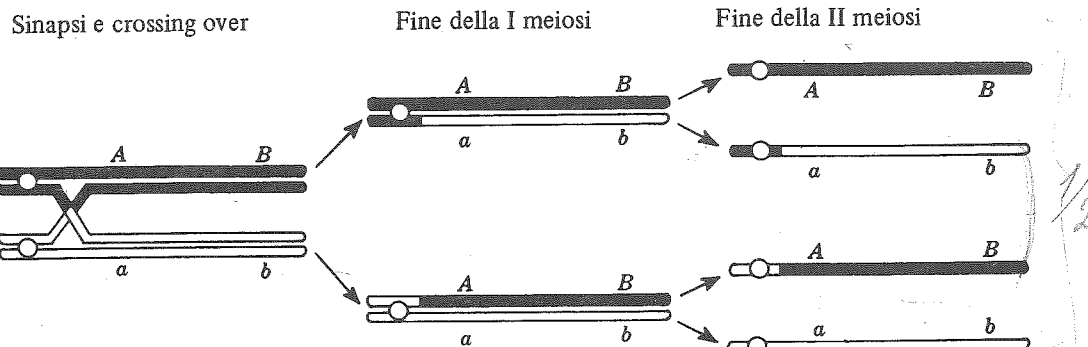
che non hanno subito il crossing over:	Ab aB
Gameti:	
che hanno subito il crossing over:	AB ab

3. La frequenza dei chiasmi.

Un paio di cromosomi in sinapsi (bivalente) è composto di quattro cromatidi che costituiscono una *tetrade*. Ogni tetrade ha normalmente almeno un chiasma in qualche punto della sua lunghezza. In generale, quanto più lungo è il cromosoma tanto più grande è il numero dei chiasmi. Ciascun tipo di cromosoma, all'interno di una specie, ha un numero caratteristico (o medio) di chiasmi e la frequenza con cui un chiasma si realizza fra due loci genici qualunque ha essa pure una probabilità caratteristica o media: quanto più lontano l'uno dall'altro, su un cromosoma, sono collocati due geni, tanto più grande è l'opportunità che, fra di loro, si produca un chiasma; quanto più vicino l'uno all'altro sono situati due geni, tanto più ridotta è la probabilità che fra di loro si formi un chiasma. Queste probabilità servono a predire i rapporti tra gameti parentali e ricombinanti che si attendono da un dato genotipo. La percentuale dei gameti che hanno avuto il crossing over (ricombinanti) e che sono formati da un dato genotipo è un riflesso diretto della frequenza con cui si forma un chiasma fra i geni in questione. Solo quando si forma un crossing over fra i loci genici in esame si può scoprire la ricombinazione.

V. meiosis eqa 10:0
Tetrad
1/2 ricomb

Esempio 6.5. Il crossing over al di fuori della regione A-B non ricombina questi marcatori.



Quando fra due loci genici si forma un chiasma, solo la metà dei prodotti meiotici sarà del tipo che ha subito il crossing over. Quindi la frequenza dei chiasmi è doppia di quella dei prodotti che hanno subito il crossing over.

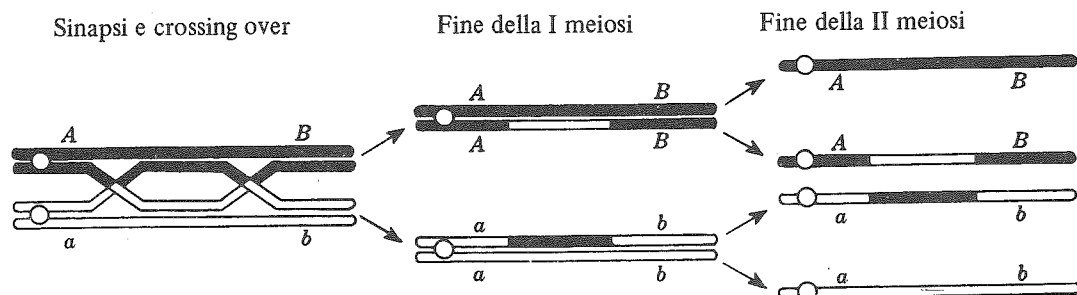
% di chiasmi = 2 (% di crossing over) o % di crossing over = 1/2 (% di chiasmi)

Esempio 6.6. Se, nel 30% delle tetradi di un individuo di genotipo AB/ab, si forma un chiasma fra i loci dei geni A e B, allora il 15% dei gameti sarà di tipo ricombinante (Ab o aB) e l'85% sarà di tipo parentale (AB o ab).

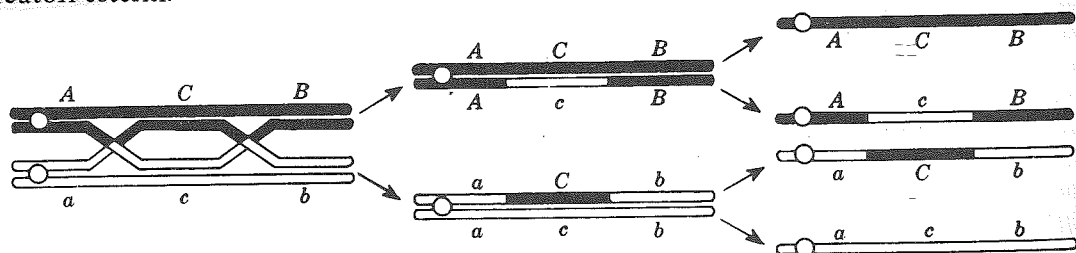
Esempio 6.7. Si supponga che la progenie del reincrocio con il doppio recessivo Ab/aB x ab/ab venga trovata nelle seguenti proporzioni: 40% Ab/ab, 40% aB/ab, 10% AB/ab e 10% ab/ab. I genotipi AB/ab e ab/ab sono stati prodotti da gameti che hanno subito crossing over. Così il 20% di tutti i gameti formati dal genitore diibrido erano del tipo che ha subito il crossing over. Ciò significa che fra questi due loci, nel 40% di tutte le tetradi, si produce un chiasma.

4. Crossing over multipli.

Quando crossing over doppi tra due filamenti si verificano nello spazio fra due marcatori genetici, i prodotti, come vengono identificati attraverso i fenotipi della progenie, sono solo di tipo parentale.



Per reperire questi crossing over doppi, bisogna ricorrere a un terzo locus genico (C) fra i marcatori esterni.



Se c'è una certa probabilità che un crossing over si formi fra i loci A e C e un'altra probabilità indipendente che un altro crossing over si formi fra i loci C e B, allora la probabilità di un crossing over doppio è il prodotto delle due probabilità indipendenti.

Esempio 6.8. Se in un individuo di genotipo ACB/acb, nel 20% delle tetradi avviene un crossing over fra i loci A e C, e, nel 10% delle tetradi, un crossing over fra i loci C e B, allora ci si aspetta che il 2% (0,2 x 0,1) dei gameti sia dei tipi AcB e aCb derivati da crossing over doppio.

Numeri dispari (1, 3, 5 ecc.), di crossing over tra due filamenti realizzati nello spazio fra due loci genici, producono ricombinazioni individuabili fra i marcatori esterni, mentre numeri pari (2, 4, 6 ecc.) di crossing over, sempre tra due filamenti, no.

5. I limiti della ricombinazione.

Se due loci genici sono così lontani fra loro sul cromosoma che la probabilità che si formi un chiasma fra loro è del 100%, allora il 50% dei gameti sarà di tipo parentale (cioè non avrà subito crossing over) e il 50% di tipo ricombinante (che avrà subito crossing over). Quando questi individui diibridi vengono reincrociati col doppio recessivo, ci si aspetta che producano una progenie nel rapporto di 1 : 1 : 1 : 1 come ci si aspetterebbe da geni su cromosomi diversi. La ricombinazione fra due geni associati non può superare il 50% anche quando fra di loro si producono crossing over multipli.

LA COSTRUZIONE DI MAPPE GENETICHE

1. La distanza di mappa.

Le sedi in cui si trovano i geni sul cromosoma (loci) sono collegate in ordine lineare, analogamente alle perle di una collana. Ci sono due aspetti principali nella costruzione di una mappa genetica: (I) la determinazione dell'ordine lineare nel quale le unità genetiche sono disposte l'una rispetto all'altra (ordine genico); e (II) la determinazione delle distanze relative fra le unità genetiche (distanza genica). L'unità di distanza, che è della più grande utilità nel predire il risultato di certi tipi di incroci, è un'espressione della probabilità che il crossing over si verifichi fra i due geni presi in considerazione. Una unità di distanza sulla mappa (centimorgan) è quindi equivalente all'1% di crossing over.

Esempio 6.9. Se il genotipo Ab/aB produce l'8% di ciascuno dei gameti AB e ab che hanno subito crossing over, la distanza fra A e B è calcolata uguale a 16 unità di mappa.

Esempio 6.10. Se la distanza di mappa fra i loci B e C è di 12 unità, allora il 12% dei gameti derivati dal genotipo BC/bc dovrebbe essere del tipo che ha subito crossing over, cioè per il 6% Bc e per il 6% bC.

Ciascun chiasma produce il 50% di prodotti che hanno subito il crossing over e il 50% di crossing over è equivalente a 50 unità di mappa. Se per una coppia cromosomica è noto il numero medio di chiasmi, si può predire, per quel gruppo di associazione, la lunghezza totale della mappa.

Lunghezza totale = numero medio di chiasmi x 50

2. L'incrocio di prova (test cross) per un diibrido.

Il modo più facile per individuare i gameti che hanno subito il crossing over in un diibrido è farlo attraverso la progenie del reincrocio col doppio recessivo (test cross o incrocio di prova). Si supponga di sottoporre a questo incrocio di prova individui diibridi in fase di accoppiamento (AC/ac) e di trovare nei fenotipi della progenie il 37% di dominanti per entrambi i loci, il 37% di recessivi per entrambi i loci, e il 13% di dominanti per il secondo locus e di recessivi per il primo. Ovviamente gli ultimi due gruppi (genotipicamente Ac/ac e aC/ac) sono stati prodotti da gameti di un genitore diibrido che avevano subito il crossing over. Così il 26% di tutti i gameti (13 + 13) erano del tipo che avevano subito il crossing over e la distanza fra i loci A e C si è potuta valutare in 26 unità di mappa.

n° ricombinanti = 1/2 tetrad x chiasmi

3. L'incrocio di prova per un triibrido.

I crossing over doppi normalmente non avvengono fra geni situati a una distanza inferiore a 5 unità di mappa. Per geni più lontani è consigliabile usare un terzo marcatore situato fra gli altri due, al fine di riuscire a identificare qualunque crossing over doppio. Si supponga che, sottoponendo a un incrocio di prova (reincrocio col doppio recessivo) degli individui triibridi con genotipo ABC/abc , si trovino nella progenie i seguenti dati:

36% ABC/abc	9% Abc/abc	4% ABc/abc	1% AbC/abc
36% abc/abc	9% aBC/abc	4% abC/abc	1% aBc/abc
72% di tipo parentale : 18% crossing over singoli : 8% crossing over singoli : 2% crossing over doppi			
fra A e B (regione I)		fra B e C (regione II)	

Per trovare la distanza $A-B$ si devono contare tutti i crossing over (tanto singoli quanto doppi) che si sono verificati nella regione I = 18% + 2% = 20% o 20 unità di mappa fra i loci A e B . Per trovare la distanza $B-C$ si devono di nuovo contare tutti i crossing over (tanto singoli quanto doppi) che si sono verificati nella regione II = 8% + 2% = 10% o 10 unità di mappa fra i loci B e C . La distanza $A-C$ è quindi di 30 unità di mappa quando i crossing over doppi vengono riconosciuti in esperimenti di associazione in tre punti e di 26 unità di mappa quando i crossing over doppi sono riconosciuti nell'esperimento di associazione in due punti di cui si è parlato prima.

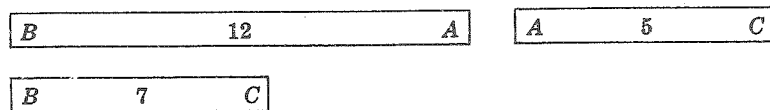
Senza il marcatore di mezzo (B) i crossing over doppi appariranno come tipi parentali e quindi verrebbe sottovalutata la vera distanza di mappa (percentuale di crossing over). In questo caso il 2% di crossing over doppi apparirebbe con il 72% di tipi parentali, per un totale quindi del 74% di tipi parentali e del 26% di tipi ricombinanti. Quindi, in ogni caso in cui vi sono tre geni associati le cui distanze sono conosciute, la quantità totale di crossing over riconoscibili (ricombinanti) fra i due marcatori esterni A e C quando manca il marcatore B è: percentuale di crossing over tra A e B + percentuale di crossing over tra B e C - (percentuale di crossing over doppi $\times 2$).

Esempio 6.11. Date le distanze $A-B = 20$, $B-C = 10$, $A-C = 30$ unità di mappa, la percentuale di crossing over riconoscibili, risultanti dal reincrocio di un diibrido con il doppio recessivo ($AC/ac \times ac/ac$) è uguale a $0,20 + 0,10 - 2(0,20)(0,10) = 0,30 - 2(0,02) = 0,30 - 0,04 = 0,26$ o 26% (13% Ac/ac e 13% aC/ac).

4. L'ordine genico.

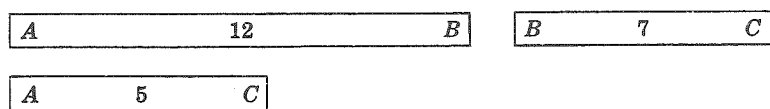
L'additività delle distanze di mappa consente di sistemare i geni in un ordine lineare appropriato. Tre geni associati possono trovarsi in uno qualunque di tre ordini diversi, a seconda di quale gene sta nel mezzo. Per il momento non si terrà conto delle alternative alle estremità destra e sinistra. Se non si verificano doppi crossing over, le distanze di mappa possono essere considerate come unità completamente additive. Quando vengono date le distanze $A-B = 12$, $B-C = 7$, $A-C = 5$, si dovrebbe essere in grado di determinare l'ordine corretto.

Caso 1. Si supponga che A stia nel mezzo.



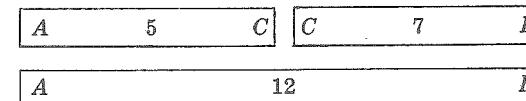
Le distanze tra A e B e tra A e C non sono eguali. Quindi A non può essere nel mezzo.

Caso 2. Supponiamo che B stia nel mezzo.



Le distanze tra A e B e tra B e C non sono eguali. Quindi B non può essere nel mezzo.

Caso 3. Si supponga che C stia nel mezzo.



Le distanze tra A e C e tra C e B sono eguali. Quindi C deve essere nel mezzo. La maggior parte degli studenti dovrebbe essere in grado di percepire intuitivamente i giusti rapporti.

(a) Rapporti di associazione che risultano da un incrocio di prova per un diibrido.

Le combinazioni parentali tenderanno a restare insieme nella maggioranza della progenie e i tipi che subiscono il crossing over saranno sempre le classi meno frequenti. Partendo da questa informazione si può determinare la modalità di associazione (accoppiamento o repulsione) per il genitore diibrido.

Esempio 6.12.

P:	Genitore diibrido Aa, Bb	\times	Genitore doppio recessivo usato per l'incrocio di prova ab/ab
	(rapporti di associazione sconosciuti)		
F ₁ :	42% $AaBb$	} Tipi parentali	8% $Aabb$
	42% $aabb$		8% $aaBb$
			} Tipi ricombinanti

Il genitore doppio recessivo usato per l'incrocio di prova dà ab come contributo ad ognuno dei componenti la progenie. I geni restanti provengono dal genitore diibrido. Così A e B devono essere stati su un cromosoma del genitore diibrido e a e b sull'altro cromosoma, cioè devono essere in fase di accoppiamento (AB/ab), perché queste sono le combinazioni apparse con maggior frequenza nella progenie.

Esempio 6.13.

P:	Genitore diibrido Aa, Bb	\times	Genitore doppio recessivo usato per l'incrocio di prova ab/ab
	(rapporti di associazione sconosciuti)		
F ₁ :	42% $Aabb$	} Tipi parentali	8% $AaBb$
	42% $aaBb$		8% $aabb$
			} Tipi ricombinanti

Seguendo lo stesso tipo di ragionamento usato per l'esempio 6.12, A e b devono essere stati su un cromosoma del genitore diibrido e a e B sull'altro, cioè dovevano essere in fase di repulsione (Ab/aB).

(b) Rapporti di associazione che risultano da un incrocio di prova per un triibrido.

In un incrocio di prova (test cross) che coinvolge tre geni associati, ci si attende che i tipi parentali siano i più frequenti e che i crossing over doppi siano i meno frequenti. L'ordine genico viene determinato manipolando le combinazioni parentali nell'ordine appropriato per la produzione di tipi di crossing over doppi.

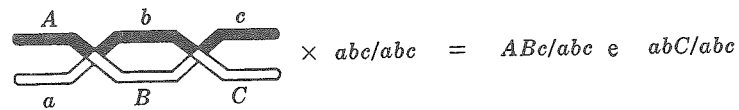
Esempio 6.14.

P:	Genitori triibridi Aa, Bb, Cc	\times	Genitore doppio recessivo usato per l'incrocio di prova abc/abc
	(rapporti di associazione sconosciuti)		
F ₁ :	36% $Aabbcc$	9% $aabbCc$	4% $AabbCc$
	36% $aaBbcc$	9% $AaBbcc$	4% $aaBbcc$
	72%	18%	8%
			2%

$B a C$
 $b A c$

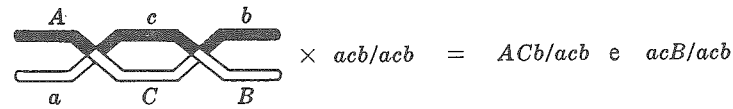
Il gruppo del 72% è composto di tipi parentali perché i gameti che non hanno subito crossing over sono sempre prodotti con la frequenza più elevata. Naturalmente l'unico contributo che il genitore doppio recessivo usato per l'incrocio di prova dà a tutta la progenie non può essere che abc , per cui il genitore triibrido deve aver avuto A, b e c su un cromosoma e a, B e C sull'altro. Ma quale locus sta nel mezzo? Di nuovo si possono considerare tre casi.

Caso 1. Si possono produrre i tipi meno frequenti di crossing over doppi (2% della F₁) se il locus B sta nel mezzo?



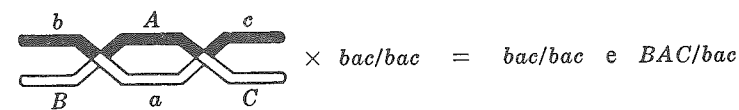
Non si tratta di tipi di crossing over doppio e quindi il locus *B* non sta nel mezzo.

Caso 2. Si possono produrre i tipi di crossing over doppio se il locus *C* sta nel mezzo? Si ricordi di tenere *A*, *b* e *c* su un cromosoma e *a*, *B* e *C* sull'altro, quando si inseriscono loci diversi nella posizione di mezzo.



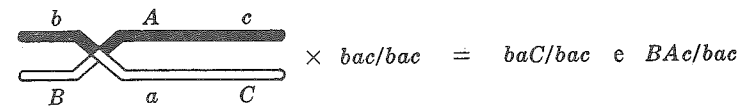
Non si tratta di tipi di crossing over doppio e quindi il locus *C* non sta nel mezzo.

Caso 3. Si possono produrre i tipi di crossing over doppio se il locus *A* sta nel mezzo?

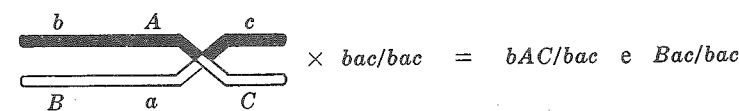


Sono questi finalmente i tipi di crossing over doppio. Si può concludere che il locus *A* sta nel mezzo.

Ora che si conosce l'ordine genico e i rapporti di associazione parentale, si possono dedurre da essi i singoli crossing over. Si definisca la distanza *B-A* come regione I e la distanza *A-C* come regione II. Crossing over singoli nella regione I:



Crossing over singoli nella regione II:



5. Percentuale di ricombinazione e distanza di mappa.

In un esperimento di associazione in due punti, più grande è la distanza non marcata (cioè senza loci che segregano) fra due geni, più grande è la probabilità di crossing over doppi (e di altri numeri pari di crossing over) che avvengono senza che siano riconosciuti. Quindi le stime più attendibili del numero totale di crossing over si ricaveranno con geni strettamente associati. I crossing over doppi non si verificano all'interno di una distanza che varia, nella *Drosophila*, dalle 10 alle 12 unità di mappa. La distanza minima per i crossing over doppi varierà fra specie diverse. All'interno di questa distanza minima la percentuale di ricombinazione è equivalente alla distanza di mappa. Oltre questa distanza minima, il rapporto tra percentuale di ricombinazione e distanza di mappa diventa non lineare, come illustrato nella fig. 6-1. La vera distanza di mappa sarà così valutata per difetto, conoscendo la percentuale di ricombinazione; con grandi distanze le due variabili diventeranno virtualmente indipendenti l'una dall'altra.

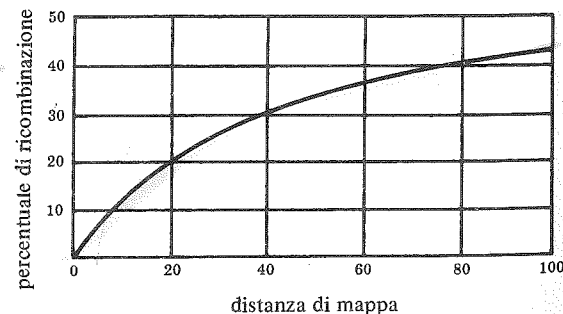


Fig. 6-1. Relazione fra distanza di mappa e percentuale di ricombinazione.

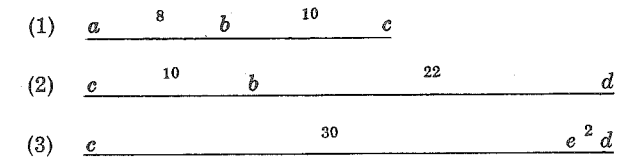
6. Mappe genetiche e mappe fisiche.

La frequenza di crossing over varia normalmente nei diversi segmenti del cromosoma, ma è un evento che si può facilmente prevedere fra due qualunque loci genici. Quindi le effettive distanze fisiche fra geni associati non hanno un rapporto diretto con le distanze di mappa, calcolate sulla base delle percentuali di crossing over. L'ordine lineare, tuttavia, è identico in entrambi i casi.

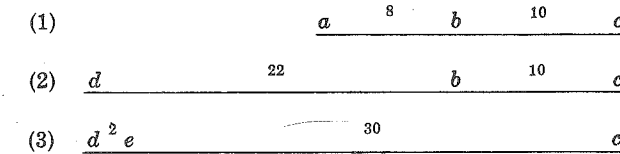
7. La ricombinazione di segmenti di mappa.

Segmenti di mappa, determinati da esperimenti di associazione in tre punti, possono venire ricombinati ogni volta che due su tre geni sono posseduti in comune.

Esempio 6.15. Si considerino tre segmenti di mappa



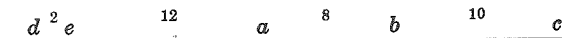
Si sovrapponga ciascuno di questi segmenti, allineando i geni che essi possiedono in comune.



Quindi si combinino i tre segmenti in un'unica mappa.

La distanza da *a* a *d* = (*d* a *b*) - (*a* a *b*) = 22 - 8 = 14.

La distanza da *a* a *e* = (*a* a *d*) - (*d* a *e*) = 14 - 2 = 12.



Altri segmenti di mappa aggiunti in questo modo possono produrre una mappa di associazione complessiva, lunga più di 100 unità di mappa. Tuttavia, come si è già spiegato prima, la massima ricombinazione fra due geni associati qualunque è del 50%. Cioè i geni molto distanti tra loro, sullo stesso cromosoma, possono comportarsi come se fossero su cromosomi diversi (cioè hanno un assortimento indipendente).

Tutti gli altri fattori essendo uguali, tanto più grande è il numero di individui in un esperimento di associazione tanto più accurate dovrebbero risultare le stime. Dunque, nel fare la media delle distanze ottenute da due o più esperimenti in duplicato, le stime possono essere soppesate secondo la misura del campione. Per ciascun esperimento, si moltiplichino le misure del campione per le stime relative all'associazione. Si sommino i risultati e si dividano per il numero totale di individui che compaiono in tutti gli esperimenti.

Esempio 6.16. Si indichi con *n* il numero degli individui, con *d* la distanza di mappa.

Esperimento	<i>n</i>	<i>d</i>	<i>nd</i>
1	239	12,3	2 940
2	652	11,1	7 237
3	966	12,9	12 461
	1857		22 638

$22638/1857 = 12,2$ unità di mappa (media ponderata)

8. Interferenza e coincidenza.

Nella maggior parte degli organismi superiori, la formazione di un chiasma riduce la probabilità che un altro chiasma si formi in una regione immediatamente adiacente del cromosoma. Si può pensare che questa riduzione nella formazione di chiasmi sia dovuta a un'incapacità fisica dei cromatidi di ripiegarsi su se stessi entro certe distanze minime. Come risultato netto di quest'interferenza, si osservano meno tipi di crossing over doppi di quanti si potevano attendere in base alle distanze di mappa. La forza dell'interferenza varia nei diversi segmenti del cromosoma ed è solitamente espressa in termini di un *coefficiente di coincidenza*, ossia del rapporto fra i crossing over doppi attesi e quelli osservati.

$$\text{Coefficiente di coincidenza} = \frac{\% \text{ crossing over doppi osservati}}{\% \text{ crossing over doppi attesi}}$$

La coincidenza è complementare dell'interferenza.

$$\text{Coincidenza} + \text{interferenza} = 1,0.$$

Quando l'interferenza è completa (1,0), non si osserverà nessun crossing over doppio e la coincidenza diventerà zero. Quando si osserveranno tutti i crossing over doppi attesi, la coincidenza sarà 1,0 e l'interferenza diventerà zero. Quando l'interferenza è del 30%, la coincidenza diventerà il 70% e così via.

Esempio 6.17. Date le distanze di mappa $A-B = 10$ e $B-C = 20$, se non c'è interferenza si attende $0,1 \times 0,2 = 0,02$ o il 2% di crossing over doppi. Si supponga di osservare l'1,6% di crossing over doppi in un esperimento di reinrocio col doppio recessivo.

$$\text{Coincidenza} = 1,6/2,0 = 0,8$$

Ciò significa semplicemente che si è osservato solo l'80% dei crossing over doppi attesi sulla base della combinazione di probabilità indipendenti (distanze di mappa).

$$\text{Interferenza} = 1,0 - 0,8 = 0,2$$

Così il 20% dei crossing over doppi attesi non si è formato a causa dell'interferenza.

La percentuale di crossing over doppi che saranno probabilmente osservati può essere predetta moltiplicando il numero di crossing over doppi attesi per il coefficiente di coincidenza.

Esempio 6.18. Dato un segmento di mappa, $a \xrightarrow{10} b \xrightarrow{20} c$, con il 40% d'interferenza, ci si attende $0,1 \times 0,2 = 0,02$ ovvero il 2% di crossing over doppi sulla base della combinazione di probabilità indipendenti. Tuttavia, si osserverà solo il 60% di questi crossing over attesi a causa dell'interferenza. Quindi si dovrebbe osservare $0,02 \times 0,6 = 0,012$ o l'1,2% di tipi di crossing over doppi.

LE STIME DI ASSOCIAZIONE DA DATI DELLA F_2

1. I caratteri legati al sesso.

Negli organismi in cui il maschio è XY o XO, il maschio riceve solo il cromosoma Y dal genitore paterno (o nessun cromosoma omologo con la X nel caso di determinazione del sesso XO). La Y non contiene, sul segmento differenziale, alcun allele omologo a quelli presenti sul cromosoma X e ricevuti dalla madre. Così, per i caratteri completamente legati al sesso, i gameti di tipo parentale e ricombinanti, formati dalla femmina, possono essere osservati direttamente nei maschi della F_2 , senza tenere conto del genotipo dei maschi della F_1 .

Esempio 6.19. Si considerino, nella *Drosophila*, il mutante recessivo per le setole, legato al sesso, che dà setole ridotte sullo scutello (*scute*, *sc*) e, sullo stesso cromosoma, il gene per il colore vermiglio degli occhi (*vermillion*, *v*).

$$P: \frac{++}{++} \text{ ♀♀} \times \frac{sc\ v}{\rightarrow} \text{ ♂♂} \quad (\rightarrow = \text{cromosoma Y})$$

femmine di tipo selvatico maschi con setole ridotte sullo scutello e occhi vermigli

$$F_1: \frac{++}{sc\ v} \text{ ♀♀} \quad e \quad \frac{++}{\rightarrow} \text{ ♂♂}$$

femmine di tipo selvatico maschi di tipo selvatico

$F_2:$		δ	++	Y
	♀			
Gameti parentali	++		++/++ tipo selvatico	++/Y tipo selvatico
	sc v		++/sc v tipo selvatico	sc v/Y setole ridotte sullo scutello, occhi vermigli
Gameti che hanno subito il crossing over	+ v		++/+ v tipo selvatico	+ v/Y occhi vermigli
	sc +		++/sc + tipo selvatico	sc +/Y setole ridotte sullo scutello
			Femmine	Maschi

Esempio 6.20. Si considerino gli stessi geni legati al sesso dell'esempio 6.19, usando però come genitori maschi con setole ridotte sullo scutello e femmine con occhi vermigli.

$$P: \frac{+v}{+v} \text{ ♀♀} \times \frac{sc+}{\rightarrow} \text{ ♂♂}$$

femmine con occhi vermigli maschi con setole ridotte sullo scutello

$$F_1: \frac{+v}{sc+} \text{ ♀♀} \times \frac{+v}{\rightarrow} \text{ ♂♂}$$

femmine di tipo selvatico maschi con occhi vermigli

$F_2:$		δ	+ v	Y
	♀			
Gameti parentali	+ v		+ v/+ v occhi vermigli	+ v/Y occhi vermigli
	sc +		+ v/sc + tipo selvatico	sc +/Y setole ridotte sullo scutello
Gameti che hanno subito il crossing over	++		+ v/+ + tipo selvatico	++/Y tipo selvatico
	sc v		+ v/sc v occhi vermigli	sc v/Y setole ridotte sullo scutello, occhi vermigli
			Femmine	Maschi

Se le femmine della generazione parentale originaria sono dei doppi recessivi (genitore usato per l'incrocio di prova) allora tanto i maschi quanto le femmine della generazione F_2 possono essere usati per valutare la percentuale di crossing over.

$$P: \frac{sc\ v}{sc\ v} \text{ ♀♀} \times \frac{++}{\rightarrow} \text{ ♂♂}$$

femmine con setole ridotte sullo scutello e occhi vermigli maschi di tipo selvatico

$$F_1: \frac{sc\ v}{++} \text{ ♀♀} \times \frac{sc\ v}{\rightarrow} \text{ ♂♂}$$

femmine di tipo selvatico maschi con setole ridotte sullo scutello e occhi vermigli

F₂:

	♂	sc v	Y
Gameti parentali	♀	sc v	sc v/Y setole ridotte sullo scutello, occhi vermigli
	++	+ +/sc v tipo selvatico	+ +/Y tipo selvatico
Gameti che hanno subito il crossing over	sc +	sc +/sc v setole ridotte sullo scutello	sc +/Y setole ridotte sullo scutello
	+ v	+ v/sc v occhi vermigli	+ v/Y occhi vermigli
		Femmine	Maschi

Negli organismi in cui la femmina è il sesso eterogametico (metodi di determinazione del sesso ZW o ZO), le femmine della F₂ possono essere utilizzate per scoprire crossing over fra geni che sono legati al sesso. Se il maschio è usato come genitore in un incrocio di prova (reincrocio con il doppio recessivo), tanto i maschi quanto le femmine della F₂ potranno essere utilizzate per misurare la forza dell'associazione.

2. I caratteri autosomici.

Un'alternativa poco interessante al metodo del reincrocio con il doppio recessivo per determinare l'associazione e per valutare le distanze è quella di permettere che la progenie F₁ diibrida produca una F₂ o per accoppiamento casuale dei suoi membri o, nel caso delle piante, per autoimpollinazione di tali componenti. Questa F₂ che, ovviamente, non si conforma al rapporto 9 : 3 : 3 : 1 attesa per i geni ad assortimento indipendente può essere considerata una prova dell'associazione. Vengono presentati qui sotto due metodi per valutare il grado di associazione partendo dai dati della F₂.

(a) Metodo della radice quadrata.

La frequenza dei fenotipi doppi recessivi nella F₂ può essere utilizzata come elemento di valutazione della frequenza dei gameti che non hanno subito crossing over, quando la F₁ è in fase di accoppiamento, e della frequenza dei gameti che hanno subito crossing over quando la F₁ è nella fase di repulsione.

Esempio 6.22. F₁ in fase di accoppiamento: AB/ab

F₂: La frequenza dei gameti ab è pari alla metà della frequenza di tutti i gameti che non hanno subito il crossing over. Se la percentuale di crossing over è del 20%, si attende un 80% di gameti che non hanno subito il crossing over (40% AB e 40% ab). La probabilità che due gameti ab si uniscano a formare il doppio recessivo ab/ab è uguale a (0,4)², cioè a 0,16 o al 16%. Ora, se non si conosce la percentuale di crossing over, ma i dati della F₂ dicono che il 16% è costituito da doppi recessivi, allora la percentuale dei gameti che non hanno subito crossing over è uguale a due volte la radice quadrata della frequenza dei doppi recessivi, cioè è uguale a $a = 2\sqrt{0,16} = 2(0,4) = 0,8$ o 80%. Se l'80% è costituito da gameti che non hanno subito il crossing over, il restante 20% deve essere costituito da gameti che hanno subito il crossing over. Quindi la distanza di mappa fra A e B è calcolata di 20 unità.

Esempio 6.23. F₁ in fase di repulsione: Ab/aB

F₂: Il ragionamento è dello stesso tipo di quello dell'esempio 6.22. Con il 20% di crossing over ci si attende che il 10% dei gameti sia ab. La probabilità che due gameti di questo tipo si uniscano a formare il doppio recessivo (ab/ab) è pari a (0,1)² cioè a 0,01 o all'1%. Ora se non si conosce la percentuale di crossing over, ma i dati della F₂ dicono che l'1% è costituito da doppi recessivi, allora la percentuale dei gameti che hanno subito crossing over è pari a due volte la radice quadrata della frequenza dei doppi recessivi, cioè è uguale a $2\sqrt{0,01} = 2(0,1) = 0,2$ cioè è uguale al 20%.

(b) Metodo del rapporto tra i prodotti.

Una valutazione della frequenza di ricombinazione a partire da genitori F₁ eterozigoti doppi (diibridi) può essere fatta basandosi sui fenotipi della F₂ R-S-, R-ss, rrS- e rrss, che compaiono nelle frequenze a, b, c e d, rispettivamente. Il rapporto tra tipi che hanno subito crossing over e tipi parentali, chiamato rapporto tra i prodotti, è funzione della ricombinazione.

Per i dati in fase di accoppiamento: $x = bc/ad$

Per i dati in fase di repulsione: $x = ad/bc$

La frazione di ricombinazione, rappresentata dal valore x, può essere letta direttamente nella tabella qui sotto (tab. 6.1), relativa ai rapporti tra i prodotti. Il metodo utilizza tutti i dati della F₂ disponibili e non solo la classe dei doppi recessivi come nel metodo della radice quadrata. Esso dovrebbe quindi fornire stime di ricombinazione più accurate che non l'altro metodo.

Tabella 6.1. Frazione di ricombinazione stimata con il metodo del rapporto tra i prodotti

Frazione di ricombinazione	Rapporto tra i prodotti		Frazione di ricombinazione	Rapporto tra i prodotti	
	ad/bc in repulsione	bc/ad in accoppiamento		ad/bc in repulsione	bc/ad in accoppiamento
0,00	0,000000	0,000000	0,26	0,1608	0,1467
0,01	0,000200	0,000136	0,27	0,1758	0,1616
0,02	0,000801	0,000552	0,28	0,1919	0,1777
0,03	0,001804	0,001262	0,29	0,2089	0,1948
0,04	0,003213	0,002283	0,30	0,2271	0,2132
0,05	0,005031	0,003629			
0,06	0,007265	0,005318	0,31	0,2465	0,2328
0,07	0,009921	0,007366	0,32	0,2672	0,2538
0,08	0,01301	0,009793	0,33	0,2892	0,2763
0,09	0,01653	0,01262	0,34	0,3127	0,3003
0,10	0,02051	0,01586	0,35	0,3377	0,3259
0,11	0,02495	0,01954	0,36	0,3643	0,3532
0,12	0,02986	0,02369	0,37	0,3927	0,3823
0,13	0,03527	0,02832	0,38	0,4230	0,4135
0,14	0,04118	0,03347	0,39	0,4553	0,4467
0,15	0,04763	0,03915	0,40	0,4898	0,4821
0,16	0,05462	0,04540	0,41	0,5266	0,5199
0,17	0,06218	0,05225	0,42	0,5660	0,5603
0,18	0,07033	0,05973	0,43	0,6081	0,6034
0,19	0,07911	0,06787	0,44	0,6531	0,6494
0,20	0,08854	0,07671	0,45	0,7013	0,6985
0,21	0,09865	0,08628	0,46	0,7529	0,7510
0,22	0,1095	0,09663	0,47	0,8082	0,8071
0,23	0,1211	0,1078	0,48	0,8676	0,8671
0,24	0,1334	0,1198	0,49	0,9314	0,9313
0,25	0,1467	0,1328	0,50	1,0000	1,0000

Fonte: F.R. Immer e M.T. Henderson, "Linkage studies in barley", in *Genetics*, XXVIII, 419-440 (1943).

Esempio 6.24. Dati in fase di accoppiamento

P: RS/RS × rs/rs

F₁: RS/rs (in fase di accoppiamento)

F₂: Fenotipi Numeri

(a) R-S- 1221

(b) R-ss 219

(c) rrS- 246

(d) rrss 243

$$x \text{ (per i dati in fase di accoppiamento)} = \frac{bc}{ad} = \frac{(219)(246)}{(1221)(243)} = \frac{53\ 874}{296\ 703} = 0,1816$$

Situando il valore x nella colonna dei dati in fase di accoppiamento (tab. 6.1.) si trova che 0,1816 sta fra i valori 0,1777 e 0,1948, che corrispondono alle frazioni di ricombinazione 0,28 e 0,29, rispettivamente. Quindi, senza interpolazione, la ricombinazione è all'incirca del 28%.

Esempio 6.25. Dati in fase di repulsione.

P: $Ve/Ve \times vE/vE$

F₁: Ve/vE (in fase di repulsione)

	Fenotipi	Numeri
(a)	V-E-	36
(b)	V-ee	12
(c)	vvE-	16
(d)	vvee	2

$$x \text{ (per i dati in fase di repulsione)} = \frac{ad}{bc} = \frac{(36)(2)}{(12)(16)} = \frac{72}{192} = 0,3750$$

Situando il valore x nella colonna dei dati in fase di repulsione, si scopre che 0,3750 sta fra i valori 0,3643 e 0,3927, che corrispondono alle frazioni di ricombinazione 0,36 e 0,37, rispettivamente. Quindi la ricombinazione è approssimativamente del 36%.

L'USO DELLE MAPPE GENETICHE

1. La previsione dei risultati di un incrocio fra diibridi.

Se la distanza di mappa fra due geni associati è nota, le previsioni per qualunque tipo d'incrocio possono essere fatte ricorrendo a una scacchiera gametica.

Esempio 6.26. Dati i geni A e B , distanti fra loro 10 unità di mappa, e i genitori $AB/AB \delta \delta \times ab/ab \varphi \varphi$, la F₁ sarà tutta eterozigote in fase di accoppiamento (AB/ab). Il 10% dei gameti della F₁ si prevede che siano del tipo che ha subito il crossing over (5% di Ab e 5% di aB). Il 90% dei gameti della F₁ si prevede che siano di tipo parentale (45% di AB e 45% di ab). La F₂ può essere desunta con l'uso della scacchiera gametica, combinando per moltiplicazione probabilità indipendenti.

		Tipi parentali		Tipi che hanno subito il crossing over	
		0,45 AB	0,45 ab	0,05 Ab	0,05 aB
Tipi parentali	0,45 AB	0,2025 AB/AB	0,2025 AB/ab	0,0225 AB/Ab	0,0225 AB/aB
	0,45 ab	0,2025 ab/AB	0,2025 ab/ab	0,0225 ab/Ab	0,0225 ab/aB
Tipi che hanno subito il crossing over	0,05 Ab	0,0225 Ab/AB	0,0225 Ab/ab	0,0025 Ab/Ab	0,0025 Ab/aB
	0,05 aB	0,0225 aB/AB	0,0225 aB/ab	0,0025 aB/Ab	0,0025 aB/aB

Fenotipi in sintesi: 0,7025 o 70¼% A-B-
 0,0475 o 4¾% A-bb
 0,0475 o 4¾% aaB-
 0,2025 o 20¼% aabb

2. La previsione dei risultati di un incrocio fra triibridi.

Le distanze di mappa o le percentuali di crossing over possono essere trattate come qualunque altra stima di probabilità. Dati un particolare tipo d'incrocio, le distanze di mappa in questione e tanto la coincidenza quanto l'interferenza per quella regione di cromosoma, si dovrebbe essere in grado di predire i risultati nella generazione filiale.

Esempio 6.27. Genitori: $AbC/aBc \times abc/abc$

Mappa: $\frac{a \quad 10 \quad b \quad 20 \quad c}{\text{-----}}$

Interferenza: 40%

Data l'informazione di cui sopra, i generi e le frequenze attese dei genotipi e dei fenotipi della progenie si possono determinare nel modo seguente.

I fase. Per i gameti prodotti dal genitore triibrido, si determinino i tipi parentali, i crossing over singoli in ciascuna delle due regioni, e i tipi di crossing over doppi.

F ₁ :	I fase	II-V fase	
Tipi parentali	AbC	35,6%	71,2%
	aBc	35,6%	
Crossing over singoli nella I regione	ABc	4,4%	8,8%
	abC	4,4%	
Crossing over singoli nella II regione	Abc	9,4%	18,8%
	aBc	9,4%	
Crossing over doppi	ABC	0,6%	1,2%
	abc	0,6%	
		100,0%	

II fase. La frequenza di crossing over doppi che ci si aspetta di osservare viene calcolata moltiplicando i due equivalenti decimali delle distanze di mappa per il coefficiente di coincidenza

$$0,1 \times 0,2 \times 0,6 = 0,012 \text{ o } 1,2\%$$

Ci si aspetta che questa percentuale sia equamente suddivisa (0,6% ciascuno) fra i due tipi di crossing over doppi.

III fase. Si calcolino i crossing over singoli nella II regione (fra b e c) e li si correggano per i crossing over doppi che pure si sono prodotti in questa regione:

$$20\% - 1,2\% = 18,8\%$$

percentuale equamente suddivisa fra due classi = 9,4% per classe.

IV fase. I crossing over singoli nella I regione (fra a e b) sono calcolati nello stesso modo come nella III fase:

$$10\% - 1,2\% = 8,8\%$$

percentuale da suddividere equamente in due classi = 4,4% per classe.

V fase. Si sommino tutti i crossing over singoli e tutti i crossing over doppi e si detragga il totale dal 100% per ottenere la percentuale di tipi parentali:

$$100 - (8,8 + 18,8 + 1,2) = 71,2\%$$

percentuale da suddividere equamente fra le due classi parentali = 35,6% per classe.

Per comodità non è necessario scrivere l'intero genotipo o fenotipo della progenie perché, per esempio, quando il gamete AbC proveniente da un genitore triibrido si unisce con il gamete prodotto dal genitore doppio recessivo (abc), che viene utilizzato nell'incrocio di prova, il genotipo è ovviamente AbC/abc . Fenotipicamente esso presenterà il carattere dominante nel locus A , il carattere recessivo nel locus B e il carattere dominante nel locus C . Tutto questo si potrebbe prevedere direttamente dal gamete AbC .

Un metodo in alternativa per prevedere i tipi della progenie F₁ è quello che consiste nel riunire le probabilità in combinazioni appropriate di crossing over e/o di non crossing over. Questo metodo può venire usato solo quando non vi è interferenza.

Esempio 6.28. Genitori: $ABC/abc \times abc/abc$

Coincidenza: 1,0

Mappa: $\overset{I}{10} \quad \overset{II}{20} \quad c$

Entità della progenie: 2000

I fase. Si determinino i tipi parentali, di crossing over singoli e di crossing over doppi attesi nella progenie.

F ₁ :	I fase	II-V fase
Tipi parentali	ABC abc	720 720
Crossing over singoli nella I regione	Abc aBC	80 80
Crossing over singoli nella II regione	ABc abC	180 180
Crossing over doppi	AbC aBc	20 20
		2000

II fase. Il numero di crossing over doppi che ci si aspetta che compaiano nella progenie è $0,1 \times 0,2 \times 2000 = 40$, equamente suddiviso tra i due tipi di crossing over doppi (20 ciascuno).

III fase. La probabilità che un crossing over singolo si verifichi nella I regione è del 10%. La probabilità combinata che un crossing over non avvenga nella I regione e avvenga nella II regione è $(0,9)(0,2) = 0,18$ e il numero di figli con crossing over singoli nella II regione è $0,18(2000) = 360$, equamente suddiviso fra le due classi (180 ciascuna).

IV fase. Similmente la probabilità che un crossing over avvenga nella I regione e non nella II regione è $0,1(0,8) = 0,08$ e il numero di crossing over singoli nella I regione attesi nella progenie è $0,08(2000) = 160$, equamente suddiviso fra le due classi (80 ciascuna).

V fase. La probabilità che un crossing over non avvenga né nella I regione né nella II regione è $0,9(0,8) = 0,72$ e il numero di figli di tipo parentale attesi è $0,72(2000) = 1440$, equamente suddiviso tra i due tipi parentali (720 ciascuno).

LA SOPPRESSIONE DEL CROSSING OVER

Si sa che molti fattori intrinseci ed estrinseci contribuiscono al numero di crossing over. Fra di essi sono gli effetti del sesso, dell'età, della temperatura, della vicinanza al centromero o alle regioni eterocromatiche (regioni intensamente colorate che si suppone trasportino poca informazione genetica), aberrazioni cromosomiche come le inversioni e molte altre. In questo paragrafo vengono presentati due casi specifici di soppressione di crossing over: (1) assenza completa di crossing over nel maschio di *Drosophila* e (2) mantenimento di sistemi letali bilanciati come gli eterozigoti trans permanenti, ottenuti impedendo il crossing over.

1. L'assenza di crossing over nel maschio di *Drosophila*.

Una delle caratteristiche insolite della *Drosophila* è la chiara assenza di crossing over nei maschi. Questo fatto è messo in luce in maniera evidente dai risultati non equivalenti che si ottengono negli incroci reciproci.

Esempio 6.29. Reincrocio di femmine eterozigoti con il doppio recessivo.

Si considerino due geni sul terzo cromosoma di *Drosophila*, il gene hairy (*h*, corpo peloso), e il gene scarlet (*st*, occhi scarlatti) lontani l'uno dall'altro, approssimativamente 10 unità di mappa.

P: $h +/+ st \text{♀♀}$ × $h st/h st \text{♂♂}$
femmine di tipo selvatico maschi con corpo peloso e occhi scarlatti

F₁:

	♀	♂	$h st$
80% di tipi parentali	40% $h +$		$h +/h st = 40\%$ con corpo peloso
	40% $+ st$		$+ st/h st = 40\%$ con occhi scarlatti
20% di tipi ricombinanti	10% $h st$		$h st/h st = 10\%$ con corpo peloso e occhi scarlatti
	10% $++$		$++/h st = 10\%$ di tipo selvatico

Esempio 6.30. Reincrocio di maschi eterozigoti con il doppio recessivo (incrocio reciproco dell'esempio 6.29).

P: $h st/h st \text{♀♀}$ × $h +/+ st \text{♂♂}$
femmine con corpo peloso e occhi scarlatti maschi di tipo selvatico

F₁:

	♀	♂	$h st$
solo tipi parentali		$h +$	$h +/h st = 50\%$ con corpo peloso
		$+ st$	$+ st/h st = 50\%$ con occhi scarlatti

Quando maschi diibridi vengono incrociati con femmine diibride (entrambi in fase di repulsione), la progenie si presenterà sempre nel rapporto 2:1:1, indipendentemente dal grado di associazione fra i geni. La classe dei doppi recessivi non compare mai.

Esempio 6.31. P: $h +/+ st \text{♀♀}$ × $h +/+ st \text{♂♂}$
femmine di tipo selvatico maschi di tipo selvatico

F₁:

		50% $h +$	50% $+ st$
80% di tipi parentali	40% $h +$	$h +/h +$ 20% con corpo peloso	$h +/+ st$ 20% di tipo selvatico
	40% $+ st$	$+ st/h +$ 20% di tipo selvatico	$+ st/+ st$ 20% con occhi scarlatti
20% di tipi ricombinanti	10% $h st$	$h st/h +$ 5% con corpo peloso	$h st/+ st$ 5% con occhi scarlatti
	10% $++$	$++/h +$ 5% di tipo selvatico	$++/+ st$ 5% di tipo selvatico

In sintesi: $\left. \begin{matrix} 50\% \text{ di tipo selvatico} \\ 25\% \text{ con corpo peloso} \\ 25\% \text{ con occhi scarlatti} \end{matrix} \right\} 2:1:1$

La *Drosophila* non è la sola in questo senso. Per esempio, il crossing over viene completamente soppresso anche nelle femmine del baco da seta. Altri esempi di soppressione, completa o parziale, del crossing over sono comuni nella letteratura genetica.

2. I sistemi letali bilanciati.

Un gene che è letale quando è omozigote e legato a un altro gene letale con la stessa modalità di azione può essere mantenuto in una condizione diibrida permanente in fase di repulsione quando è associato con una condizione genetica che impedisce il crossing over (si vedano le "in-

versioni" nel cap. 9). I letali bilanciati sono puri e il loro comportamento rispecchia quello di un genotipo omozigote. Essi sono comunemente usati per mantenere in laboratorio le culture di mutanti letali, semiletali o sterili.

Esempio 6.32. Due condizioni genetiche dominanti nella *Drosophila*, "curly wings" (*Cy*, ali arricciate), e "plum eye" (*Pm*, occhi color prugna), sono legate al II cromosoma e associate con una inversione cromosomica che impedisce il crossing over. I geni *Cy* e *Pm* sono letali quando sono allo stato omozigote. Metà progenie risultante da eterozigoti in fase di repulsione muore mentre la metà vitale è composta da eterozigoti in fase di repulsione proprio come i genitori.

P: $Cy Pm^+ / Cy^+ Pm$ ♀♀ × $Cy Pm^+ / Cy^+ Pm$ ♂♂
 femmine con ali arricciate e occhi color prugna maschi con ali arricciate e occhi color prugna

F₁:

	$Cy Pm^+$	$Cy^+ Pm$
$Cy Pm^+$	$Cy Pm^+ / Cy Pm^+$ letale	$Cy Pm^+ / Cy^+ Pm$ ali arricciate, occhi color prugna
$Cy^+ Pm$	$Cy^+ Pm / Cy Pm^+$ ali arricciate, occhi color prugna	$Cy^+ Pm / Cy^+ Pm$ letale

I letali bilanciati possono servire per determinare su quale cromosoma risiede un'unità genetica sconosciuta (si veda il problema 6.12). I geni legati al sesso si fanno conoscere attraverso la non equivalenza della progenie risultante dagli incroci reciproci (si veda il cap. 5). In assenza di un sistema di letali bilanciati, l'assegnazione di un gene autosomico a un particolare gruppo di associazione può farsi attraverso l'osservazione dei rapporti genetici particolari ottenuti da individui anomali che possiedono un cromosoma in più (trisomia), portatore del gene in esame (cap. 9).

L'ANALISI DELLE TETRADI NEGLI ASCOMICETI

I funghi che producono spore sessuali (*ascospore*) contenute in un sacco comune (*asco*) sono chiamati *ascomiceti*. Uno degli ascomiceti più semplici è il lievito da panificazione, l'organismo unicellulare *Saccharomyces cerevisiae* (fig. 6.2). La riproduzione asessuale avviene per gemmazione, un processo mitotico che d'abitudine ha una citocinesi disuguale. Il ciclo sessuale comporta l'unione di cellule complete appartenenti a tipi di accoppiamento opposti, con formazione di uno zigote diploide. Una cellula diploide può dunque riprodurre asessualmente, per gemmazione, una progenie diploide oppure, per meiosi, una progenie aploide. I quattro nuclei aploidi formano le ascospore racchiuse nell'asco. La rottura dell'asco le libera ed esse germinano allora in nuove cellule di lievito.

Un altro ascomicete interessante per gli studi di genetica è la muffa del pane *Neurospora crassa* (fig. 6-3). L'intreccio o *micelio* fungino è composto da filamenti che si intersecano, chiamati *ife*. Le punte delle ife possono staccarsi sotto forma di spore asessuali, chiamate *conidi*, che germinano dando origine ad altre ife. Le ife vegetative si dividono in segmenti, con diversi nuclei aploidi in ogni segmento. Le ife provenienti da un micelio possono anastomizzarsi con quelle di un altro micelio per formare una mescolanza di nuclei in un citoplasma comune; questo complesso viene chiamato *eterocarionte*. Un paio di alleli, *A* e *a*, controlla i due tipi di accoppiamento. La riproduzione sessuale avviene solo quando le cellule di tipo di accoppiamento opposto si uniscono. Regioni specializzate del micelio producono corpi fruttiferi femminili immaturi (i *protoperiteci*) dai quali fuoriescono filamenti ricettivi, i *tricogini*. Un conidio o alcune ife del tipo di accoppiamento opposto si fonde con il tricogino, va incontro a varie cariocinesi e feconda molti nuclei femminili. Ciascuno degli zigoti diploidi che ne risultano si trova all'interno di un sacco allungato chiamato *asco*. Lo zigote si divide per meiosi e forma quattro nuclei, a cui segue una divisione mitotica che produce quattro paia di nuclei che maturano in otto *asco-*

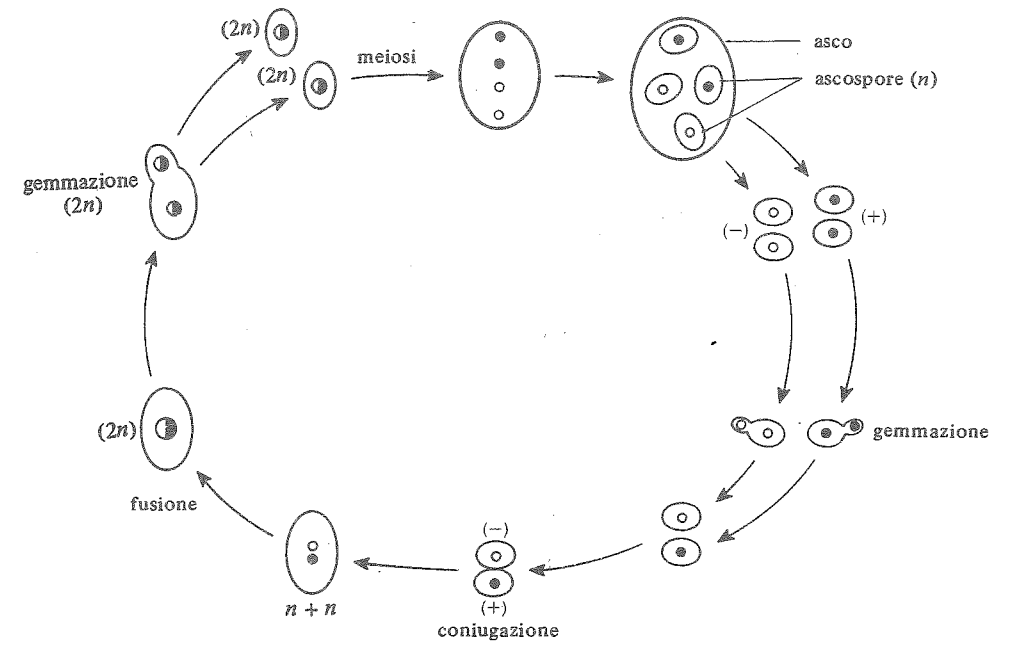


Fig. 6-2. Ciclo vitale di *Saccharomyces cerevisiae*.

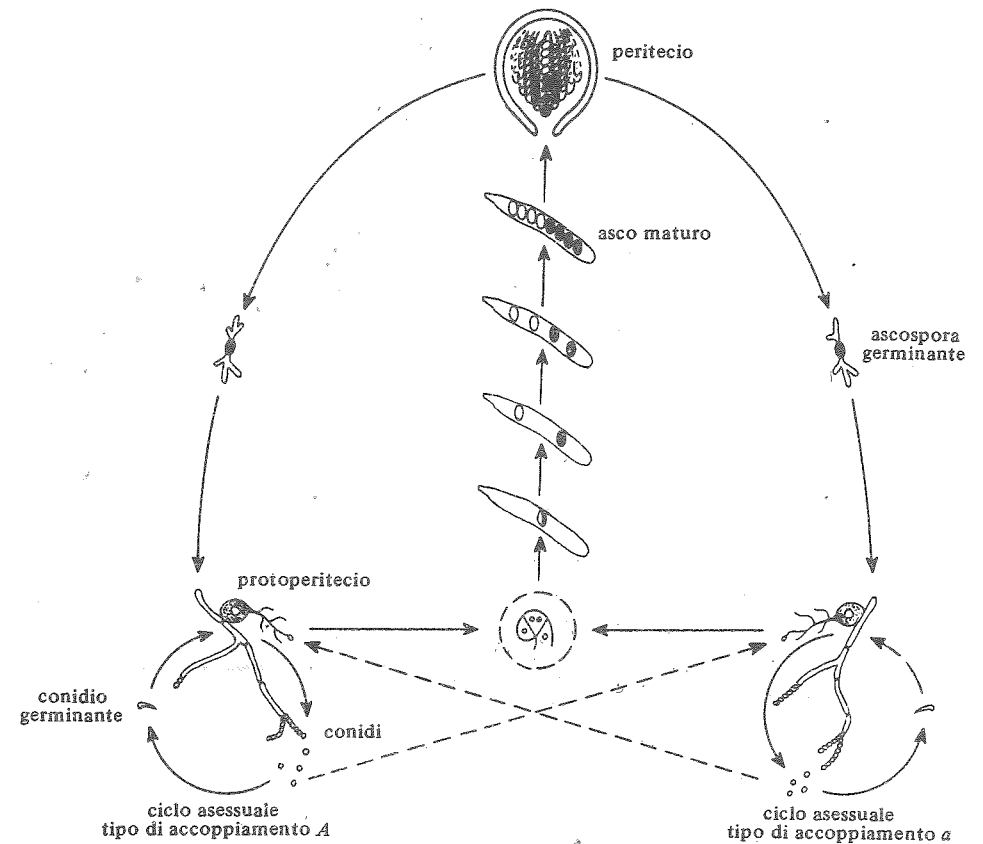


Fig. 6-3. Ciclo vitale di *Neurospora crassa*.

spore. Un corpo fruttifero maturo (*peritecio*) può contenere oltre 100 aschi, ciascuno dei quali contiene otto ascospore. I confini dell'asco obbligano l'organizzazione polare della divisione ad orientarsi all'interno nel senso della lunghezza e impedisce, inoltre, ai prodotti meiotici o mitotici di slittare scavalcandosi. A questo punto, ciascuno dei quattro cromatidi della prima profase meiotica è rappresentato da un paio di ascospore disposte a tandem all'interno dell'asco.

Nel caso del lievito, le ascospore che rappresentano i quattro cromatidi della meiosi non si trovano in alcun ordine speciale, mentre nella muffa del pane *Neurospora* le ascospore sono allineate nell'asco nella stessa sequenza in cui si trovavano i cromatidi sulla piastra metafasica della meiosi. Il ricupero e lo studio di tutti i prodotti di un singolo evento meiotico costituiscono l'*analisi della tetrate*.

Ciascun asco di *Neurospora*, quando viene analizzato per una coppia di alleli che segregano, rivela uno dei due rapporti lineari che seguono: (1) rapporto 4 : 4, attribuito alla *segregazione in prima divisione*, e (2) rapporto 2 : 2 : 2 : 2, risultante dalla *segregazione in seconda divisione*.

1. La segregazione in prima divisione.

Un incrocio fra una coltura con una forma espansa di crescita del micelio, di tipo selvatico (c^+), e una coltura con forma ristretta di crescita del micelio, detta coloniale (c), viene schematizzato nella fig. 6-4(a) qui a fianco. Se le ascospore vengono rimosse una a una dall'asco in ordine lineare e ciascuna viene fatta crescere in coltura separata, un rapporto lineare di 4 colture coloniali : 4 di tipo selvatico indica che è avvenuta una segregazione in prima divisione. Cioè, durante la prima anafase meiotica, entrambi i cromatidi c^+ si sono mossi verso un polo ed entrambi i cromatidi c verso l'altro polo. Il rapporto 4 : 4 indica che non è avvenuto nessun crossing over fra il gene e il suo centromero. Quanto più lontano si trova il locus genico dal centromero, tanto più grande è la possibilità che un crossing over avvenga in questa regione. Quindi, se i prodotti meiotici di un certo numero di aschi vengono analizzati e si scopre che la maggior parte di essi presenta un tipo di rapporto 4 : 4, allora il locus di c deve essere vicino al centromero.

2. La segregazione in seconda divisione.

Ed ora si indaghi sui risultati di un crossing over fra il centromero e il locus c (fig. 6-4(b)). Si noti che il crossing over nella profase meiotica dà come risultato che un cromatide c^+ e un cromatide c restino attaccati allo stesso centromero. Per cui c^+ e c non si separano l'uno dall'altro durante la prima anafase. Durante la seconda anafase, i cromatidi fratelli si muovono verso poli opposti, determinando così la segregazione di c^+ da c . Il tipo lineare di rapporto 2 : 2 : 2 : 2 indica un asco con segregazione in seconda divisione, prodotto da un crossing over che si realizza fra il gene e il suo centromero.

MAPPE DI RICOMBINAZIONE CON TETRADI

1. Tetradi ordinate. *Neurospora*

La frequenza di crossing over fra il centromero e il gene in esame è un riflesso della distanza di mappa di quest'ultimo dal centromero. Così la percentuale di aschi che presentano segregazione in seconda divisione è una misura dell'intensità dell'associazione. Bisogna ricordare, tuttavia, che un evento di crossing over dà un asco in seconda divisione, ma che solo la metà delle ascospore in quest'asco sono di tipo ricombinante. Quindi, per trasformare la frequenza degli aschi in seconda divisione in frequenza di crossing over, bisogna dividere per due la prima.

2. Tetradi non ordinate.

I prodotti meiotici della maggior parte degli ascomiceti non si trovano normalmente in ordine lineare, come nell'asco di *Neurospora*. Si analizzino le tetradi non ordinate che comportano due geni associati, risultanti dall'incrocio $++ \times ab$. Il nucleo di fusione è diploide ($++/ab$) e

$RC.O = \frac{1}{2} \times \text{aschi in 2da div.}$

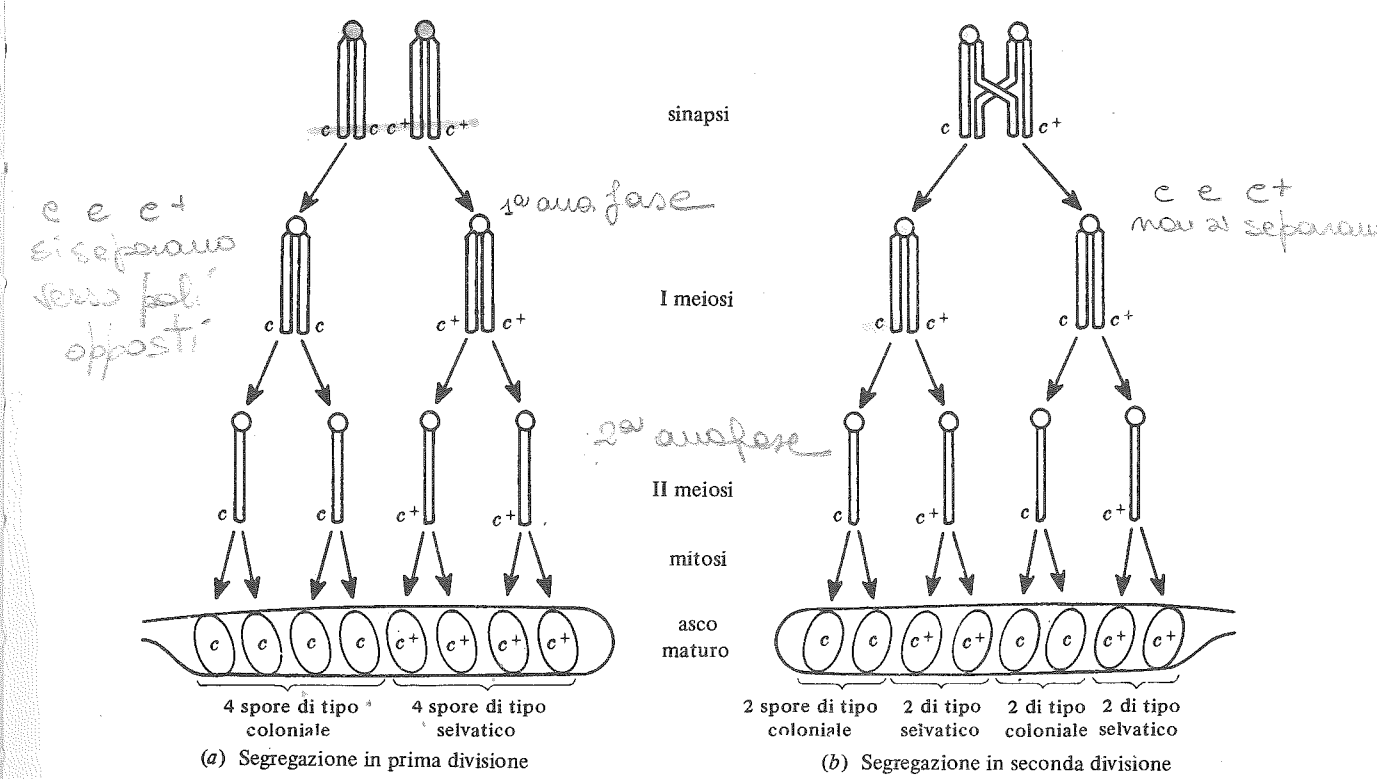
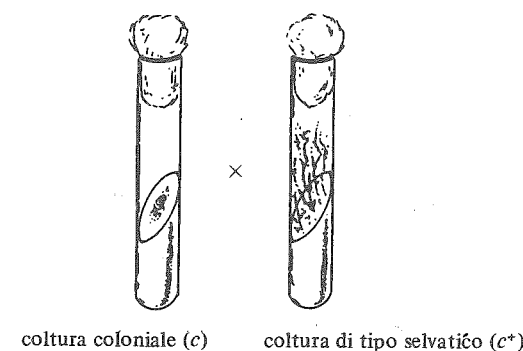
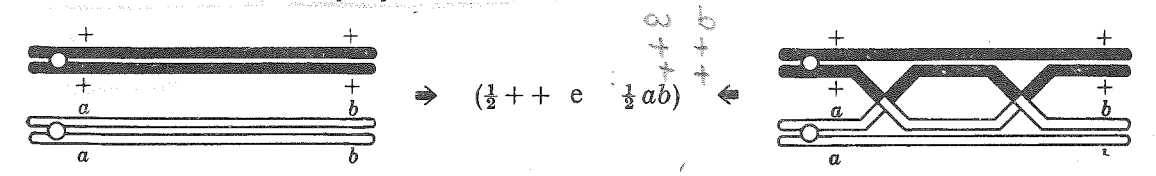


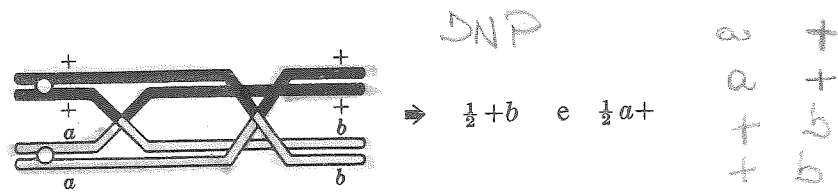
Fig. 6-4. Tipi di spore in *Neurospora*

subisce immediatamente la meiosi. Se non avviene un crossing over fra questi due loci o se fra di essi avviene un crossing over doppio che coinvolge due filamenti, i prodotti meiotici risultanti saranno di due tipi, ugualmente frequenti, che assomigliano alle combinazioni parentali. Una simile tetrate viene definita *ditipo parentale* (PD).

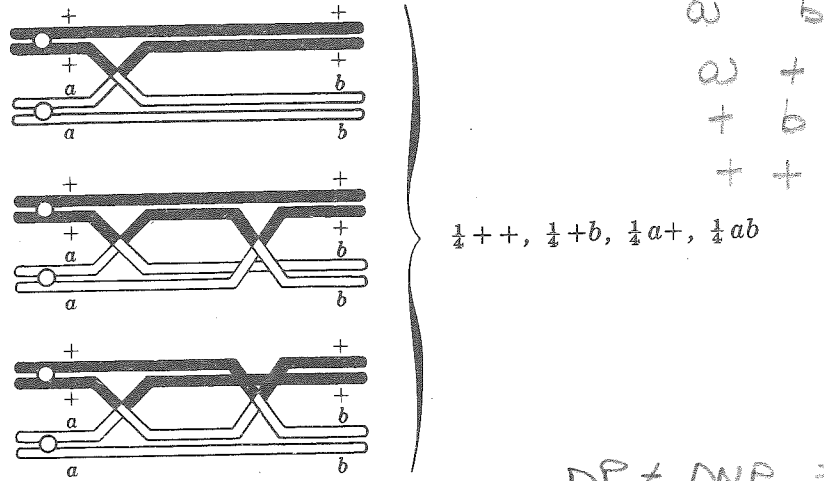


Un crossing over doppio che coinvolge quattro filamenti fra i due geni dà come risultato due tipi di prodotti, nessuno dei quali è una combinazione parentale. Questa tetrate è chiamata *ditipo non parentale* (NPD) ed è il più raro dei crossing over doppi che si verificano in una tetrate.

tutti ricombinanti



Un tetraplo (TT) è prodotto sia da un crossing over singolo sia da un crossing over doppio (di due tipi) che coinvolge tre filamenti fra i due geni.



$\frac{1}{2} ++, \frac{1}{2} + b, \frac{1}{2} a +, \frac{1}{2} ab$

DP ≠ DNP ⇒ associazione

Ogni volta che il numero dei ditipi parentali e dei ditipi non parentali è statisticamente non equivalente, ciò si può considerare prova dell'associazione fra i due geni. Per valutare l'entità della ricombinazione fra i due marcatori, si usa la seguente formula:

$$\text{Frequenza di ricombinazione} = \frac{\text{NPD} + \frac{1}{3}\text{TT}}{\text{numero totale di tetradi}}$$

La derivazione della formula sopracitata diventa chiara quando si analizzano i suddetti schemi e si vede che tutti i prodotti risultanti da una tetrade NPD sono ricombinanti, mentre solo la metà dei prodotti che risultano da una tetrade TT lo sono. La frequenza di ricombinazione non è sempre equivalente alla frequenza di crossing over (distanza di mappa). Se un terzo marcatore genetico fosse presente a mezza strada fra i loci di *a* e di *b*, i crossing over doppi che coinvolgono tre filamenti potrebbero distinguersi dai crossing over singoli e la frequenza di crossing over potrebbe così essere determinata. L'analisi della frequenza di ricombinazione di due geni molto distanti l'uno dall'altro può quindi stabilire solo distanze minime di mappa fra i due geni.

LA MAPPA DEL GENOMA UMANO

Sino a un passato recente il solo metodo per mappare i geni umani era costituito dall'analisi familiare. I geni legati al sesso sono quelli più facilmente distinguibili per il loro peculiare modo di trasmissione ereditaria. L'assegnazione di geni autosomici ai loro specifici cromosomi era talvolta possibile se era interessata un'aberrazione cromosomica (per es. una traslocazione reciproca o una delezione di un segmento). Geni strettamente associati potevano essere scoperti occasionalmente in grandi famiglie, ma geni poco associati spesso mimano un assortimento indipendente. Oggi tuttavia si sta ottenendo un rapido progresso nella mappa del genoma umano grazie ad una varietà di tecniche (la maggior parte delle quali esulano dallo scopo di questo li-

bro), tra cui l'ibridazione cellulare somatica, la segregazione genica indotta da radiazioni, il trasferimento di geni mediato dai cromosomi o dal DNA, la determinazione della sequenza degli amminoacidi e il "linkage disequilibrium". Per un eccellente riesame di queste procedure si veda "The anatomy of the human genome", di V.A. McKusick, *Journal of Heredity* 71(6): 370-391, Nov. Dic. 1980.

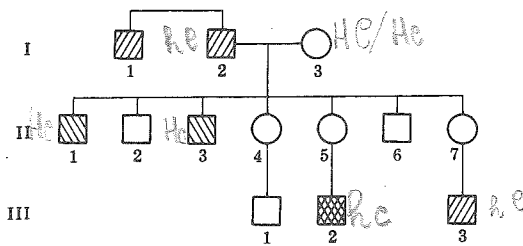
Le tecniche di ibridazione cellulare somatica (SCH) possono essere usate per fondere fibroblasti umani in coltura tissutale con cellule di un'altra specie (per es. di topo). La fusione cellulare è promossa dall'aggiunta del virus di Sendai inattivato ("ucciso") e irradiato. Queste cellule ibride tendono a perdere progressivamente e casualmente i cromosomi umani. Se un cromosoma umano contiene un gene essenziale che manca nel genoma di topo, soltanto le cellule ibride che contengono questo cromosoma umano essenziale sopravvivono. Si dimostra che due geni umani sono sullo stesso cromosoma (*sintetici*) quando le cellule ibride conservano insieme questi loci mentre perdono diversi cromosomi umani. I cromosomi di topo sono facilmente distinguibili dai cromosomi umani, e speciali tecniche di colorazione rivelano bande caratteristiche che permettono di identificare i cromosomi umani selezionati.

Le tecniche di ibridazione cellulare somatica sono state anche usate per produrre in grandi quantità anticorpi monoclonali. Un mieloma è un tumore composto di cellule derivate da tessuti emopoietici del midollo osseo. Le plasmacellule sono i linfociti maturi che producono gli anticorpi. Ciascuna plasmacellula produce un solo tipo di anticorpo, ma queste cellule non possono essere mantenute in coltura allo stesso modo dei mielomi. Le cellule di mieloma di topo possono essere fuse con cellule di milza ottenute da un topo specificamente immunizzato per formare un mieloma ibrido o "ibridoma". Per promuovere la fusione cellulare viene usato il glicole di polietilene (PEG), ma ciononostante si formano pochissimi ibridomi. L'ibridoma, potenzialmente immortale, produce un solo tipo di anticorpo (immunoglobulina) chiamato anticorpo monoclonale. Questi anticorpi "puri" sono molto richiesti perché reagiscono con un solo tipo di antigene (cioè sono monospecifici) e possono essere prodotti economicamente in quantità massicce per diversi scopi diagnostici, medici, industriali e di ricerca. I mielomi possono essere provocati in certi ceppi di topi. Sono state isolate varianti di mieloma (mutanti) deficienti per l'enzima ipoxantina fosforibosil trasferasi (HPRT⁻). Queste cellule non possono crescere in terreno HAT (contenente ipoxantina, amminopterina e timidina) perché l'amminopterina blocca la sintesi endogena sia delle purine sia delle pirimidine; tuttavia esse sopravvivono se fuse con cellule di milza normali (HPRT⁺). Queste ultime possono sopravvivere utilizzando ipoxantina e timidina esogene, ma crescono così poco in terreno HAT che o muoiono o sono rapidamente soprafatte dagli ibridi. I cloni che sopravvivono in terreno HAT sono quindi saggiati per la produzione di anticorpi specifici per l'antigene immunizzante. Una volta trovato il clone desiderato, lo si può congelare e conservare per un uso successivo, oppure propagare indefinitamente in coltura tissutale o iniettare in topi singenici (geneticamente identici alla fonte di cellule) per indurre tumori secernenti anticorpo. Fino ad oggi, nessuna linea di mieloma umano è stata fusa con linfociti umani per produrre un ibridoma intraspecifico. Poiché gli ibridi uomo × topo perdono rapidamente i cromosomi umani, la possibilità di produrre un ibridoma interspecifico utile è scarsa.

PROBLEMI CON LA SOLUZIONE

LA RICOMBINAZIONE FRA GENI ASSOCIATI

6.1. Nel pedigree umano, a destra, in cui il genitore di sesso maschile non compare, si suppone che esso sia fenotipicamente normale. Tanto l'emofilia (*h*) quanto il daltonismo (*c*) sono caratteri recessivi, legati al sesso. Per quanto possibile, si determinino i genotipi di ciascun individuo del pedigree.



Legenda:
 □ ○ non emofiliaci, visione normale
 ■ ○ maschio daltonico
 ■ ○ maschio emofiliaco
 ■ ○ maschio daltonico ed emofiliaco

Soluzione:
 Si incominci per prima cosa dai membri di sesso maschile perché, essendo essi emizigoti per i geni legati al sesso, i rapporti di associazione sul loro unico cromosoma X risultano ovvi dal fenotipo. Così II1, II2 e III3 sono tutti emofiliaci con normale visione dei colori e, quindi, devono essere *hC/Y*. I maschi non emofiliaci daltonici III1 e III3 devono essere *Hc/Y*. I maschi normali II2, II6 e III1 devono possedere entrambi gli alleli dominanti *HC/Y*. III2 è tanto emofiliaco quanto daltonico e, quindi, deve possedere entrambi i recessivi *hc/Y*. Si determinino ora i genotipi femminili. I3 è normale ma dà origine a figli maschi per metà normali e per metà daltonici. Il cromosoma X trasmesso da I3 ai figli maschi daltonici III1 e III3 deve essere stato *Hc*; il cromosoma X trasmesso sempre da I3 ai figli maschi normali II2 e II6 deve essere stato *HC*. Quindi il genotipo di I3 è *Hc/Hc*.

Le femmine normali II4, II5 e II7 ricevono ciascuna *hC* dal padre (I2), mentre avrebbero potuto ricevere tanto *Hc* quanto *HC* sul cromosoma X dalla madre (I3). II4 ha un figlio maschio normale (III1), al quale trasmette *HC*; quindi II4 è probabilmente *hC/Hc*, anche se è possibile che II4 sia *hC/Hc* e produca un gamete *HC* per crossing over. II5 non potrebbe, invece, essere *hC/Hc* e produrre un figlio maschio con emofilia e daltonismo insieme (III2); quindi deve essere *hC/Hc*, in modo da poter trasmettere al figlio maschio l'*hc* di un gamete che ha subito il crossing over.

LA COSTRUZIONE DI MAPPE GENETICHE

6.2. Nella cavia due geni mutanti dominanti nel primo gruppo di associazione determinano i caratteri "pollex" (*Px*, che è il ritorno al I dito atavico delle zampe anteriore e posteriore) e "rough fur" (*R*, pelo ispido). Quando delle cavie diibride "pollex" e "rough fur" (con rapporti di associazione identici) vengono incrociate con cavie normali, la loro progenie si divide in quattro fenotipi: 79 con pelo ispido, 103 normali, 95 con pelo ispido e I dito atavico ricomparso e 75 con I dito atavico ricomparso. (a) Si determinino i genotipi dei genitori; (b) si calcoli il totale della ricombinazione fra *Px* e *R*.

Soluzione:

(a) I gameti di tipo parentale compaiono sempre con la frequenza più elevata, in questo caso 103 normali e 95 con pelo ispido e I dito atavico ricomparso. Ciò significa che i due geni normali erano su un solo cromosoma del genitore diibrido e le due mutazioni dominanti sull'altro (cioè associazione in fase di accoppiamento).

P: $Px R / px r$ × $px r / px r$
 I dito atavico ricomparso, pelo ispido normale

(b) I 79 tipi con pelo ispido e i 75 tipi con I dito atavico ricomparso sono ricombinanti, rappresentando così in totale 154 individui su complessivi 352 individui pari a 0,4375 ovvero, approssimativamente, al 43,8% di ricombinazione.

6.3. Nella *Drosophila*, l'occhio a forma di fagiolo è prodotto da un gene recessivo *k* (*kidney-bean*) sul terzo cromosoma. Il color arancio degli occhi chiamato "cardinal" è prodotto dal gene recessivo *cd* sullo stesso cromosoma. Fra questi due loci ce ne sta un terzo, con un allele recessivo *e*, che produce il colore ebano (*ebony*) del corpo. Femmine omozigoti con occhi a forma di fagiolo e color arancio vengono incrociate con maschi omozigoti dal corpo color ebano. Femmine triibride della *F1* vengono quindi reincrociate con il doppio recessivo per produrre la *F2*. In una progenie *F2*, costituita da 4000 individui, si trovano:

$k^+ e^+ cd$	1761	sogetti con occhi a fagiolo color arancio	97	sogetti con occhi a fagiolo $k^+ e^+ cd^+$
$k^+ e cd$	1773	sogetti con corpo color ebano	89	sogetti con corpo color ebano e occhi color arancio $k^+ e cd (e \leftrightarrow cd)$
$k e e cd$	128	sogetti con occhi a fagiolo e corpo color ebano	6	sogetti con occhi a fagiolo e corpo color ebano $k e cd$
$k^+ e^+ cd$	138	sogetti con occhi color arancio	8	sogetti di tipo selvatico $k^+ e^+ cd^+$

- (a) Si determinino i rapporti di associazione nei genitori e nei triibridi della *F1*.
 (b) Si valutino le distanze di mappa.

Soluzione:

(a) I genitori sono omozigoti:

$k^+ e^+ cd / k^+ e^+ cd \text{ ♀}$ × $k^+ e cd^+ / k^+ e cd^+ \text{ ♂}$
 occhi a fagiolo color arancio corpo color ebano
 La *F1* è quindi triibrida

$k^+ e^+ cd / k^+ e cd^+$
 tipo selvatico

I rapporti di associazione nella *F1* triibrida possono anche essere determinati direttamente dalla *F2*. I fenotipi di gran lunga più frequenti nella *F2* sono quello con occhio a fagiolo color arancio (1761) e quello con corpo color ebano (1773), che indicano che i geni *k* ("kidney") e *cd* ("cardinal") erano su un unico cromosoma nella *F1*, mentre il gene *e* ("ebony") era sull'altro.

(b) Il crossing over fra i loci *k* ed *e* produce prole con occhi a fagiolo e corpo color ebano (128 individui) e prole con occhi arancio (138 individui). Crossing over doppi danno mutanti tripli (6) e di tipo selvatico (8). In totale vi sono 128 + 138 + 6 + 8 = 280 crossing over fra *k* ed *e*:

$280/4000 = 0,07$ ovvero 7% di crossing over pari a 7 unità di mappa.

I crossing over fra *e* e *cd* hanno prodotto i tipi di crossing over singolo con occhi a fagiolo (97) e con corpo color ebano e occhi arancio (89). I crossing over doppi vanno contati anche in questa regione.

$97 + 89 + 6 + 8 = 200$ crossing over fra *e* e *cd*
 $200/4000 = 0,05$ ossia 5% di crossing over = 5 unità di mappa

6.4. Nella tabella qui a fianco sono indicate le distanze di mappa per sei geni appartenenti al secondo gruppo di associazione del baco da seta *Bombyx mori*. Si costruisca una mappa genetica che includa tutti questi geni.

	<i>Gr</i>	<i>Rc</i>	<i>S</i>	<i>Y</i>	<i>P</i>	<i>oa</i>
<i>Gr</i>	—	25	1	19	7	20
<i>Rc</i>	25	—	26	6	32	5
<i>S</i>	1	26	—	20	6	21
<i>Y</i>	19	6	20	—	26	1
<i>P</i>	7	32	6	26	—	27
<i>oa</i>	20	5	21	1	27	—

Soluzione:

I fase. Non fa molta differenza da che parte si incominci a risolvere questo tipo di problema, per cui si incomincerà dall'alto. La distanza *Gr-Rc* è di 25 unità di mappa e la distanza *Gr-S* di 1 unità di mappa. Quindi il rapporto tra questi tre geni può essere tanto

$$(a) \frac{S^1 Gr}{25} \quad \frac{Rc}{25}$$

quanto

$$(b) \frac{Gr^1 S}{24} \quad \frac{Rc}{24}$$

La tabella, tuttavia, dice che la distanza *S-Rc* è di 26 unità. Quindi l'alternativa (a) deve essere esatta, e cioè *Gr* sta fra *S* e *Rc*:

II fase. La distanza *Gr-Y* è di 19 unità e, di nuovo, sono possibili due alternative:

$$(c) \frac{S^1 Gr}{19} \quad \frac{Y}{6} \quad \frac{Rc}{6}$$

oppure

$$(d) \frac{Y}{18} \quad \frac{S^1 Gr}{25} \quad \frac{Rc}{25}$$

Nella tabella si trova che la distanza *Y-Rc* = 6. Quindi la probabilità (c) deve essere esatta, e cioè *Y* sta fra i loci di *Gr* e *Rc*.

III fase. La distanza *Gr-P* è di 7 unità di mappa. Due alternative per questi loci sono:

$$(e) \frac{S^1 Gr}{7} \quad \frac{P}{12} \quad \frac{Y}{6} \quad \frac{Rc}{6}$$

oppure

$$(f) \frac{P}{6} \quad \frac{S^1 Gr}{19} \quad \frac{Y}{6} \quad \frac{Rc}{6}$$

La distanza *P-S* si legge sulla tabella e così l'alternativa (f) deve essere esatta.

IV fase. Vi sono 20 unità fra *Gr* e *oa*. Questi due geni possono essere in uno dei due possibili rapporti indicati di seguito:

$$(g) \frac{P}{6} \quad \frac{S^1 Gr}{19} \quad \frac{Y^1 oa}{5} \quad \frac{Rc}{5}$$

oppure

$$(h) \frac{oa}{13} \quad \frac{P}{6} \quad \frac{S^1 Gr}{19} \quad \frac{Y}{6} \quad \frac{Rc}{6}$$

La tabella indica che *Y* e *oa* distano l'uno dall'altro di 1 unità di mappa. Quindi (g) è la mappa completa.

6.5. Tre geni recessivi nel V gruppo di associazione del pomodoro sono *a*, che produce assenza del pigmento antocianina, *hl*, che produce piante senza peli, e *j*, che produce piccioli dei frutti senza giunture (pedicelli). In una progenie di 3000 individui, risultante da un re-
incrocio di triibridi con il doppio recessivo si sono osservati i seguenti fenotipi:

259 piante di pomodori senza peli → *a-hl*

40 senza peli e con piccioli senza giunture

931 con piccioli senza giunture

260 normali → *hl-j*

268 senza peli e senza antocianina e con piccioli senza giunture → *hl-j*

941 senza peli e senza antocianina

32 senza antocianina

269 senza antocianina e con piccioli senza giunture → *a-hl*

(a) Come erano originariamente associati i tre geni nel genitore triibrido? (b) Si calcoli la distanza fra loro.

Soluzione:

(a) I fenotipi più frequenti osservati nella prole sono quelli con piccioli senza giunture (931), e senza peli e senza antocianina (941). Per cui *j* doveva trovarsi su un cromosoma del genitore triibrido, *a* e *hl* sull'altro. I tipi di crossing over doppio (DCO) sono i meno frequenti come fenotipi: 40 senza peli e con piccioli senza giunture e 32 senza antocianina.

I Caso. Se il gene per i piccioli senza giunture *j* si trovasse nel mezzo, non si potrebbero ottenere i tipi di crossing over doppio come indicato:

$$P: \frac{A j Hl}{a J hl}$$

$$F_1: \text{DCO} \begin{cases} A J Hl = \text{normale} \\ a j hl = \text{mutante triplo} \end{cases}$$

II Caso. Se *h* stesse nel mezzo, si potrebbero formare i vari tipi di crossing over doppio. Quindi il genotipo parentale è come viene indicato qui sotto:

$$P: \frac{J hl a}{j Hl A}$$

$$F_1: \text{DCO} \begin{cases} J Hl a = \text{piante senza antocianina} \\ j hl A = \text{piante senza peli con piccioli senza giunture} \end{cases}$$

(b) Ora che si conosce il genotipo del genitore triibrido si possono prevedere i tipi di crossing over singolo.

$$P: \frac{J hl a}{j Hl A}$$

*F*₁: I crossing over singoli (SCO) fra *j* e *hl* (I regione) danno:

$$\text{SCO(I)} \begin{cases} J Hl A = \text{piante normali (260)} \\ j hl a = \text{piante senza peli, senza antocianina, con piccioli dei frutti senza giunture (268)} \end{cases}$$

a-hl: $\frac{259 + 268 + 40 + 32}{3000} = \frac{600}{3000} = 0,2 = 20\%$

hl-j: $\frac{268 + 260 + 40 + 32}{3000} = \frac{600}{3000} = 0,2 = 20\%$

Quindi la percentuale di tutti i crossing over (singoli e doppi) avvenuti fra *j* e *hl* è $260 + 268 + 32 + 40 = 600/3000 = 0,2 = 20\%$ pari a 20 unità di mappa.

Allo stesso modo si possono ottenere i crossing over singoli fra *hl* e *a* (II regione)

$$P: \frac{J hl a}{j Hl A}$$

$$F_1: \text{SCO(II)} \begin{cases} J hl A = \text{piante senza peli (259)} \\ j Hl a = \text{piante senza antocianina, con piccioli dei frutti senza giunture (269)} \end{cases}$$

$259 + 269 + 32 + 40 = 600/3000 = 0,2 = 20\%$ ovvero 20 unità di mappa.

Si noti la somiglianza numerica fra il mutante SCO (II) senza antocianina e con piccioli dei frutti senza giunture (269) e il mutante triplo SCO (I) (268). I tentativi per ottenere le distanze di mappa mettendo insieme coppie con numeri simili potrebbe portare, come dimostra questo caso, a valutazioni sbagliate. I tipi di crossing over singolo, in ciascuna regione, devono prima di tutto essere determinati in modo da evitare simili errori.

6.6. La mutazione recessiva, chiamata "lemon" (*le*), produce nella vespa parassita *Bracon hebetor* un colore del corpo giallo pallido. Il locus presenta il 12% di ricombinazione con una mutazione recessiva dell'occhio, chiamata "cantaloupe" (*c*). Questa presenta a sua

volta il 14% di ricombinazione con una mutazione recessiva chiamata "long" (*l*), che causa l'allungamento dei segmenti delle antenne e delle zampe. "Canteloupe" è il locus di mezzo. Una femmina omozigote color limone viene incrociata con un maschio emizigote dalle antenne e zampe allungate (i maschi sono tutti aploidi). Le femmine della F_1 vengono quindi reincrociate con il doppio recessivo per produrre la F_2 . (a) Si rappresentino gli incroci e i genotipi e fenotipi attesi fra le femmine della F_1 e della F_2 ; (b) si calcoli la quantità di tipi selvatici attesi tra le femmine della F_2 .

Soluzione:

(a) P: $le\ l^+ / le\ l^+ \text{♀}$ × $le^+ l \text{♂}$
 corpo color limone antenne e zampe allungate

F_1 : $le\ l^+ / le^+ l \text{♀}$ × $le\ l \text{♂}$
 tipo selvatico corpo color limone, antenne e zampe allungate

F_2 :

	♀ \ δ	$le\ l$
Tipi parentali	$le\ l^+$	$le\ l^+ / le\ l$ corpo color limone,
	$le^+ l$	$le^+ l / le\ l$ antenne e zampe allungate
Tipi ricombinanti	$le\ l$	$le\ l / le\ l$ corpo limone, antenne e zampe allungate
	$le^+ l^+$	$le^+ l^+ / le\ l$ tipo selvatico

(b) Dal momento che il locus "canteloupe" non segrega in questo incrocio, i crossing over doppi appariranno come tipi parentali. La percentuale di ricombinazione che ci si aspetta di osservare è $0,12 + 0,14 - 2(0,12)(0,14) = 0,2264 = 22,64\%$. Ci si attende che metà dei ricombinanti siano di tipo selvatico: $22,64\% / 2 = 11,32\%$

6.7. Diversi incroci di prova (reincroci col doppio recessivo) per tre punti sono stati realizzati nel granturco utilizzando i seguenti geni: "booster" (*B*), un gene dominante, che intensifica il colore delle piante, "liguleless leaf" (*lg₁*), che dà foglie senza ligula, "virescent seedling" (v_4), che dà pianticelle color verde giallastro, "silkless" (*sk*), che dà pistilli abortivi, "glossy seedling" (gl_2), che dà pianticelle con foglie lucenti e "tassel seed" (ts_1), che dà infiorescenza terminale fatta di soli pistilli. Con le informazioni ricavate dai seguenti incroci si costruisca la mappa di questa regione del cromosoma.

I incrocio di prova. Il genitore triibrido è eterozigote per i geni "booster", "liguleless leaf" e "tassel seed".

Progenie

- 71 piante di colore più intenso, con foglie senza ligula, con infiorescenza terminale fatta di soli pistilli
- 111 piante di tipo selvatico
- 48 piante con foglie senza ligula
- 35 piante di colore più intenso, con infiorescenza terminale fatta di soli pistilli
- 17 piante con infiorescenza terminale fatta di soli pistilli

- 24 piante di colore più intenso, con foglie senza ligula
- 6 piante di colore più intenso
- 3 piante con foglie senza ligula, con infiorescenza terminale fatta di soli pistilli

II incrocio di prova. Il genitore triibrido è eterozigote per i geni "booster", "liguleless leaf" e "tassel seed".

Progenie

- 57 piante con infiorescenza terminale fatta di soli pistilli
- 57 piante di colore più intenso, con foglie senza ligula
- 20 piante di tipo selvatico
- 31 piante di colore più intenso
- 21 piante con foglie senza ligula e con infiorescenza terminale fatta di soli pistilli
- 21 piante di colore più intenso, con foglie senza ligula e con infiorescenza terminale fatta di soli pistilli
- 8 piante di colore più intenso, con infiorescenza terminale fatta di soli pistilli
- 7 piante con foglie senza ligula

III incrocio di prova. Il genitore triibrido è eterozigote per i geni "booster", "liguleless leaf" e "silkless".

Progenie

- 52 piante con pistilli abortivi
- 8 piante di colore più intenso, con pistilli abortivi
- 2 piante di colore più intenso, con foglie senza ligula e con pistilli abortivi
- 148 piante di colore più intenso
- 56 piante di colore più intenso, con foglie senza ligula
- 13 piante con foglie senza ligula
- 131 piante con foglie senza ligula e con pistilli abortivi

IV incrocio di prova. Il genitore triibrido è eterozigote per i geni "liguleless leaf", "booster" e "silkless".

Progenie

- 6 piante di colore più intenso
- 137 piante di colore più intenso, con pistilli abortivi
- 291 piante di colore più intenso, con foglie senza ligula e con pistilli abortivi
- 142 piante con foglie senza ligula
- 3 piante con foglie senza ligula e con pistilli abortivi
- 30 piante con pistilli abortivi
- 34 piante di colore più intenso, con foglie senza ligula
- 339 piante di tipo selvatico

V incrocio di prova. Il genitore triibrido è eterozigote per i geni "liguleless leaf", "virescent seedling" e "glossy seedling".

Progenie

- 431 piante di tipo selvatico
- 399 piante con foglie senza ligula, di colore verde giallastro e con foglie lucenti allo stadio giovanile
- 256 piante di color verde giallastro allo stadio giovanile
- 310 piante con foglie senza ligula, con foglie lucenti allo stadio giovanile
- 128 piante di color verde giallastro, con foglie lucenti allo stadio giovanile
- 153 piante con foglie senza ligula
- 44 piante con foglie lucenti allo stadio giovanile
- 51 piante con foglie senza ligula, di color verde giallastro allo stadio giovanile

VI incrocio di prova. Il genitore triibrido è eterozigote per i geni "booster", "liguleless leaf" e "virescent seedling".

Progenie

- 60 piante di tipo selvatico
- 37 piante con foglie senza ligula, di colore più intenso e verde giallastro allo stadio giovanile
- 32 piante di colore verde giallastro allo stadio giovanile, di color verde allo stadio adulto
- 34 piante con foglie senza ligula
- 18 piante di color verde giallastro allo stadio giovanile
- 23 piante di color verde intenso con foglie senza ligula
- 11 piante di colore verde intenso
- 12 piante di colore verde giallastro allo stadio giovanile, con foglie senza ligula

VII incrocio di prova. Il genitore triibrido è eterozigote per i geni "virescent seedling", "liguleless leaf" e "booster".

Progenie

- 25 piante di colore più intenso
- 11 piante di colore più intenso con foglie senza ligula
- 8 piante di colore più intenso, di colore verde giallastro allo stadio giovanile
- 2 piante di colore più intenso, di colore verde giallastro allo stadio giovanile e con foglie senza ligula

Soluzione:

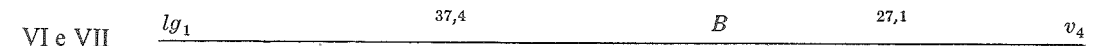
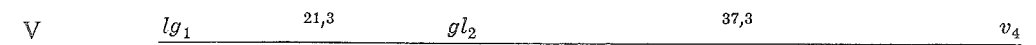
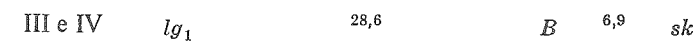
Seguendo i procedimenti stabiliti in questo capitolo, si determini da ciascuno degli incroci di prova sopra riportati l'ordine genetico (cioè quale gene sta nel mezzo) e la percentuale di crossing over in ogni regione. Si noti che i risultati degli incroci di prova I e II possono venire combinati, tenendo presente che i rapporti di associazione sono diversi nei genitori triibridi. Allo stesso modo, i risultati degli incroci di prova III e IV possono venire combinati come quelli di VI e VII. L'analisi di questi sette incroci viene riassunta qui sotto in forma di tabella.

Incrocio di prova	Genitore triibrido	Progenie di tipo parentale	Progenie ricombinante			Totale
			Regione I	Regione II	DCO	
I	$\frac{+++}{lg_1 B ts_1}$	111 71	35 48	17 24	6 3	315
II	$\frac{++ ts_1}{lg_1 B +}$	57 57 296	31 21 135	20 21 82	8 7 24	222 537
			25,1%	15,3%	4,5%	
III	$\frac{+ B +}{lg_1 + sk}$	148 131	52 56	8 13	0 2	410
IV	$\frac{+++}{lg_1 B sk}$	339 291 909	137 142 387	30 34 85	6 3 11	982 1392
			27,8%	6,1%	0,8%	
V	$\frac{+++}{lg_1 gl_2 v_4}$	431 399 830	128 153 281	256 310 566	44 51 95	1772
			15,9%	31,9%	5,4%	
VI	$\frac{+++}{lg_1 B v_4}$	60 37	32 34	18 23	11 12	227
VII	$\frac{+ B +}{lg_1 + v_4}$	25 0 122	0 11 77	8 0 49	0 2 25	46 273
			28,2%	17,9%	9,2%	

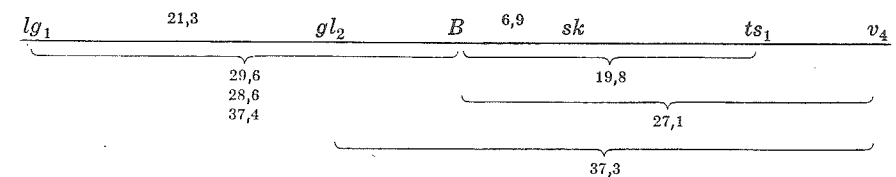
Per trovare le distanze di mappa fra lg_1 e B nei primi due incroci di prova, si aggiungono i crossing over doppi (4,5%) ai crossing over singoli della I regione (25,1%) e si ottiene un 29,6% pari a 29,6 unità di mappa. Allo stesso modo, per trovare la distanza di mappa fra B e ts_1 , si aggiunge 4,5% ai crossing over singoli della II regione (15,3%) e si ottiene un 19,8% pari a 19,8 unità di mappa. Così questo segmento di mappa diventa:



Tre altri segmenti di mappa sono derivati in modo simile da dati che emergono dagli incroci di prova:



E ora si combinino tutte e quattro le mappe in una sola:



La distanza media ponderata lg_1-B viene in seguito determinata:

Esperimenti	Entità della progenie negli esperimenti x	Distanza y	xy
I, II	537	29,6	15 895,2
III, IV	1392	28,6	39 811,2
VI, VII	273	37,4	10 210,2
	2202		65 916,6

$$65\,916,6/2202 = 29,9 \text{ unità di mappa (media ponderata)}$$

La distanza $sk-ts_1$ è uguale a $(B-ts_1) - (B-sk) = 19,8 - 6,9 = 12,9$ unità di mappa.

La distanza gl_2-B ha due stime:

$$(1) (lg_1-B) - (lg_1-gl_2) = 29,9 - 21,3 = 8,6$$

$$(2) (gl_2-v_4) - (B-v_4) = 37,3 - 27,1 = 10,2$$

Tutti gli altri fattori essendo uguali, è probabile che la seconda stima sia meno accurata a causa delle maggiori distanze interessate. Non esiste alcun modo facile per fare una media accurata di questi due valori. Verrà usata arbitrariamente la stima di 8,6 unità di mappa finché non si otterranno risultati sperimentali più definiti.

Anche la distanza ts_1-v_4 ha due stime

$$(1) (B-v_4) - (B-ts_1) = 27,1 - 19,8 = 7,3$$

$$(2) (gl_2-v_4) - [(gl_2-B) + (B-ts_1)] = 37,3 - (8,6 + 19,8) = 8,9$$

E di nuovo, la seconda è probabilmente meno accurata a causa delle distanze che vengono interessate. Come stima della distanza ts_1-v_4 verrà usata pertanto quella di 7,3 unità di mappa. La mappa unificata appare ora come segue:

lg_1	21,3	gl_2	8,6	B	6,9	sk	12,9	ts_1	7,3	v_4
--------	------	--------	-----	-----	-----	------	------	--------	-----	-------

Altri dati sperimentali potranno modificare considerevolmente certe porzioni di questa mappa genetica. Bisognerebbe sempre ricordare che queste mappe sono solo delle stime e, come tali, sono continuamente soggette a perfezionamenti.

LE STIME DI ASSOCIAZIONE DA DATI DELLA F₂

6.8. Nel topo (*Mus musculus*) si conoscono due caratteri dominanti legati al sesso: "bent" (*Bn*), che si manifesta in una coda corta e contorta, e "tabby" (*Ta*), che si presenta con un pelo a strisce trasversali scure. Femmine omozigoti con coda corta e contorta e con pelo a strisce trasversali scure vengono incrociate con maschi normali (di tipo selvatico). Tutti i figli della F₁ vengono incrociati tra loro e danno origine a una F₂; inavvertitamente di essa non sono stati registrati i dati maschio-femmina; fra 200 componenti ne sono stati trovati 141 con pelo a strisce trasversali scure e con coda corta e contorta, 47 di tipo selvatico, 7 con pelo a strisce trasversali scure e 5 con coda corta e contorta.

(a) Si valuti l'entità della ricombinazione fra "bent" e "tabby" supponendo che il rapporto maschio-femmina sia 1 : 1.

(b) Si valuti l'entità della ricombinazione quando il rapporto maschio : femmina è variabile e poco attendibile in questa colonia.

Soluzione:

(a) P: $Bn\ Ta/Bn\ Ta\ \text{♀♀}$ × $bn\ ta/Y\ \text{♂♂}$ F₁: $Bn\ Ta/bn\ ta\ \text{♀♀}$ × $Bn\ Ta/Y\ \text{♂♂}$
 femmine con coda corta e contorta e con pelo a strisce trasversali scure maschi normali femmine con coda corta e contorta e con pelo a strisce trasversali scure maschi con coda corta e contorta e con pelo a strisce trasversali scure

F₂:

	♀ \ ♂	<i>Bn Ta</i>	Y
Tipi parentali	<i>Bn Ta</i>	<i>Bn Ta/Bn Ta</i> coda corta e contorta, pelo con strisce trasversali scure	<i>Bn Ta/Y</i> coda corta e contorta, pelo con strisce trasversali scure
	<i>bn ta</i>	<i>bn ta/Bn Ta</i> coda corta e contorta, pelo con strisce trasversali scure	<i>bn ta/Y</i> tipo selvatico (47)
Tipi ricombinanti	<i>Bn ta</i>	<i>Bn ta/Bn Ta</i> coda corta e contorta, pelo con strisce trasversali scure	<i>Bn ta/Y</i> coda corta e contorta (5)
	<i>bn Ta</i>	<i>bn Ta/Bn Ta</i> coda corta e contorta, pelo con strisce trasversali scure	<i>bn Ta/Y</i> pelo con strisce trasversali scure (7)
		Femmine	Maschi

Se si ammette che il rapporto maschio : femmina sia di 1 : 1, allora su 200 figli, metà - ovvero 100 - dovrebbero essere maschi. La differenza $100 - (47 + 5 + 7) = 41$ è la stima del numero probabile di maschi con coda corta e contorta e con pelo a strisce trasversali scure. La stima per la ricombinazione a partire dai dati sui maschi è $(5 + 7)/100 = 0,12$ ovvero il 12%.

(b) Se il rapporto maschio : femmina non è attendibile, allora sarà meglio usare i 47 maschi di tipo selvatico come stima del numero di maschi con code corte e contorte e con pelo a strisce trasversali scure. Il numero totale di maschi stimato è $47 + 47 + 5 + 7 = 106$. Il totale di ricombinazione è $(5 + 7)/106 = 0,113$ ovvero l'11,3%.

6.9. Nella *Drosophila* gli occhi bianchi (*white*; femmine *w/w*; maschi *w/Y*) possono essere prodotti dall'azione di un gene recessivo, legato al sesso. Essi però possono anche essere prodotti dall'interazione tra due altri geni; il gene recessivo legato al sesso *v*, per il colore vermiglio (*vermillion*) degli occhi e il gene recessivo autosomico *bw*, per il colore marrone (*brown*) degli occhi (si veda il problema 5.5). Si consideri l'incrocio parentale *bw/w⁺*, *w⁺v⁺*/wv ♀♀ (femmine con occhi marrone) × *bw/bw*, *wv/Y* ♂♂ (maschi con occhi bianchi), in cui la progenie F₁ consiste di 70 individui con occhi marrone e 130 individui con occhi bianchi. Si valuti la distanza fra i geni legati al sesso *w* e *v*.

Soluzione:

F₁:

	♀ \ ♂	<i>bw/w⁺</i>	<i>bw/Y</i>
Tipi parentali	<i>bw/w⁺</i>	<i>bw/bw</i> , <i>w⁺v⁺</i> /wv occhi marroni	<i>bw/bw</i> , <i>w⁺v⁺</i> /Y occhi marroni
	<i>bw/w</i>	<i>bw/bw</i> , <i>wv/wv</i> occhi bianchi	<i>bw/bw</i> , <i>wv/Y</i> occhi bianchi
Tipi ricombinanti	<i>bw/w⁺</i>	<i>bw/bw</i> , <i>w⁺v</i> /wv occhi bianchi	<i>bw/bw</i> , <i>w⁺v</i> /Y occhi bianchi
	<i>bw/w</i>	<i>bw/bw</i> , <i>wv⁺</i> /wv occhi bianchi	<i>bw/bw</i> , <i>wv⁺</i> /Y occhi bianchi

Solo i genotipi dei figli con occhi marroni si conoscono in modo sicuro. I 70 figli con occhi marroni costituiscono solo la metà della prole prodotta da gameti materni che non hanno subito crossing over. Quindi si calcola che anche 70 individui con gli occhi bianchi siano stati prodotti da gameti materni che non hanno subito crossing over. Quindi si stima che 140 delle 200 mosche F₂, pari al 70%, siano di tipo parentale. L'altro 30% deve essere del tipo che ha subito il crossing over. La stima migliore dell'associazione fra loci "vermillion" e "white" sarebbe 30 unità di mappa.

6.10. Il frutto allungato del pomodoro è prodotto da piante omozigoti per un gene recessivo *o*, mentre il frutto a forma rotonda è prodotto dall'allele dominante *O* in questo locus. Una infiorescenza composta è il risultato di un altro gene recessivo *s*, mentre l'infiorescenza semplice è prodotta dall'allele dominante *S* in questo locus. La varietà Yellow Pear (con frutti allungati e infiorescenza semplice) viene incrociata con la varietà Grape Cluster (con frutti rotondi e infiorescenza composta). Le piante della F₁ vengono incrociate a caso tra loro e producono la F₂. Fra 259 individui F₂ si trovano 126 piante con frutti rotondi e infiorescenze semplici, 63 piante con frutti rotondi e infiorescenze composte, 66 piante con frutti lunghi e infiorescenze semplici, 4 piante con frutti lunghi e infiorescenze composte. Si stimi l'entità di ricombinazione con il metodo della radice quadrata.

Soluzione: P: $\frac{oS/oS}{\text{Varietà Yellow Pear (con frutti lunghi e infiorescenze semplici)}} \times \frac{Os/Os}{\text{Varietà Grape Cluster (con frutti rotondi e infiorescenze composte)}}$

F₁: $\frac{oS/Os}{\text{(con frutti rotondi e infiorescenze semplici)}}$

F ₂ :	Gameti di tipo parentale		Gameti che hanno subito il crossing over		
	<i>oS</i>	<i>Os</i>	<i>os</i>	<i>OS</i>	
Gameti di tipo parentale	<i>oS</i>	$\frac{oS/oS}{\text{frutto lungo, infiorescenza semplice}}$	$\frac{oS/Os}{\text{frutto rotondo, infiorescenza semplice}}$	$\frac{oS/os}{\text{frutto lungo, infiorescenza semplice}}$	$\frac{oS/OS}{\text{frutto rotondo, infiorescenza semplice}}$
	<i>Os</i>	$\frac{Os/oS}{\text{frutto rotondo, infiorescenza semplice}}$	$\frac{Os/Os}{\text{frutto rotondo, infiorescenza composta}}$	$\frac{Os/os}{\text{frutto rotondo, infiorescenza composta}}$	$\frac{Os/OS}{\text{frutto rotondo, infiorescenza semplice}}$
Gameti che hanno subito il crossing over	<i>os</i>	$\frac{os/oS}{\text{frutto lungo, infiorescenza semplice}}$	$\frac{os/Os}{\text{frutto rotondo, infiorescenza composta}}$	$\frac{os/os}{\text{frutto lungo, infiorescenza composta}}$	$\frac{os/OS}{\text{frutto rotondo, infiorescenza semplice}}$
	<i>OS</i>	$\frac{OS/oS}{\text{frutto rotondo, infiorescenza semplice}}$	$\frac{OS/Os}{\text{frutto rotondo, infiorescenza semplice}}$	$\frac{OS/os}{\text{frutto rotondo, infiorescenza semplice}}$	$\frac{OS/OS}{\text{frutto rotondo, infiorescenza semplice}}$

Si noti che il fenotipo doppio recessivo (frutto lungo, infiorescenza composta) occupa solo uno dei 16 riquadri della scacchiera gametica. Questo genotipo è prodotto dall'unione di due gameti doppi recessivi identici (*os*). Se si chiama *x* la frequenza di formazione dei gameti *os*, allora *x*² è la frequenza con cui si realizza il genotipo *os/os* (fenotipo: frutto lungo, infiorescenza composta) e cioè $4/259 = 0,0154$. Così, $x = \sqrt{0,0154} = 0,124$. Ma *x* riguarda solo la metà dei gameti che hanno subito crossing over. Per cui è $2x$, cioè $2(0,124) = 0,248$ ovvero il 24,8% di ricombinazione che tiene conto di tutti i gameti che hanno subito il crossing over.

L'USO DELLE MAPPE GENETICHE

6.11. I geni per due alterazioni nervose nei topi, "waltzer" (*v*), che provoca nei topi movimenti come di danza, e "jittery" (*ji*), che li rende nervosi, sono distanti 18 unità di mappa sul cromosoma X. Un gruppo di topi F₁ fenotipicamente normali e portatori di questi due geni in fase di accoppiamento viene allevato da un'impresa commerciale. Arriva un ordine per due dozzine di topi "waltzer", due di topi "jittery" e due, infine, contemporaneamente "waltzer" e "jittery". Supponendo che il numero medio dei figli per nidata sia sette, e includendo un 10% di margine di sicurezza in più, per garantire il recupero del numero necessario di figli, si calcoli il numero minimo di femmine che devono essere allevate.

Soluzione: F₁: $\frac{vji}{++}$
 F₂: Se il 18% è del tipo che ha subito il crossing over, l'82% sarà del tipo parentale.

		0,41 <i>vji</i>	0,41 ++	0,09 <i>v+</i>	0,09 + <i>ji</i>
82% Tipi parentali	0,41 <i>vji</i>	0,1681 <i>vji/vji</i> topi danzanti e nervosi	0,1681 <i>vji/++</i> topi di tipo selvatico	0,0369 <i>vji/v+</i> topi danzanti	0,0369 <i>vji/+ji</i> topi nervosi
	0,41 ++	0,1681 <i>++/vji</i> topi di tipo selvatico	0,1681 <i>++/++</i> topi di tipo selvatico	0,0369 <i>++/v+</i> topi di tipo selvatico	0,0369 <i>++/+ji</i> topi di tipo selvatico
18% Tipi che hanno subito il crossing over	0,09 <i>v+</i>	0,0369 <i>v+/vji</i> topi danzanti	0,0369 <i>v+/++</i> topi di tipo selvatico	0,0081 <i>v+/v+</i> topi danzanti	0,0081 <i>v+/+ji</i> topi di tipo selvatico
	0,09 + <i>ji</i>	0,0369 <i>+ji/vji</i> topi nervosi	0,0369 <i>+ji/++</i> topi di tipo selvatico	0,0081 <i>+ji/v+</i> topi di tipo selvatico	0,0081 <i>+ji/+ji</i> topi nervosi

In sintesi: topi di tipo selvatico = 0,6681 o 66,81%
 topi danzanti e nervosi = 0,1681 o 16,81%
 topi danzanti = 0,0819 o 8,19%
 topi nervosi = 0,0819 o 8,19%

I fenotipi "waltzer" e "jittery" sono i meno frequenti e sono pertanto i fattori limitanti. Se si attende che l'8,19% di tutta la progenie sia costituita da topi "waltzer", quanti topi dovranno essere allevati per poterne produrre ventiquattro di questo tipo? $0,0819x = 24$, $x = 24/0,0819 = 293,04$, ovvero approssimativamente una progenie di 293 individui. Aggiungendo un margine di sicurezza del 10%, $293 + 29,3$ diventa 322,3 ovvero approssimativamente una progenie di 322 individui.

Se ogni femmina ha 7 figli per nidata, quante femmine bisogna allevare? $322/7 = 46$ femmine.

LA SOPPRESSIONE DEL CROSSING OVER

6.12. Si supponga un ceppo di *Drosophila* che presenti un carattere genetico anomalo sconosciuto (mutazione). Si accoppiano le femmine mutanti con maschi che provengono da un ceppo con geni letali bilanciati (*Cy Pm⁺/Cy⁺ Pm*, *D Sb⁺/D⁺ Sb*) in cui i geni *Cy* (*curly wings*, ali arricciate) e *Pm* (*plum eye*, occhi color prugna) sono sul II cromosoma, mentre il gene *D* (*dichaete wings*, che determina ali inserite ad angolo retto nel corpo, bilanciari assenti, setole dorsomediane ridotte di numero) e il gene *Sb* (*stubble bristles*, setole corte e ispide) sono sul III cromosoma. L'omozigosi è letale nel caso di tutti e quattro i geni. Il carattere non compare nella F₁. I maschi della F₁ con ali arricciate e setole corte e ispide vengono poi reincrociati con le femmine originali mutanti. Nella progenie la mutazione appare in associazione uguale con il carattere "ali arricciate" e "setole corte e ispide". La *Drosophila melanogaster* ha un numero aploide pari a 4; esso include un cromosoma X e i cromosomi II, III e IV. (a) Si determini se la mutazione è dominante o recessiva; (b) A quale gruppo di associazione (cioè a quale cromosoma) appartiene la mutazione?

Soluzione:

- (a) Se la mutazione è dominante (la si designi con *M*), allora ogni membro del ceppo (linea pura) sarebbe di genotipo *MM*. Dal momento che il carattere non appare nello stock di geni letali bilanciati, quei membri devono essere omozigoti recessivi (*M⁺M⁺*). Ci si attenderebbe che gli incroci fra questi due ceppi producano solo genotipi eterozigoti (*M⁺M*) e che, fenotipicamente, siano del tipo mutante. Ma, dal momento che il tipo mutante non appare nella F₁, la mutazione deve essere recessiva (ora appropriatamente ridefinita *m*). L'allele del tipo selvatico dominante può ora venire designato come *m⁺*.
- (b) Si supponga che si tratti di una mutazione recessiva legata al sesso. I maschi F₁ ricevono il loro unico cromosoma X dalla femmina mutante (*mm*). Quindi tutti dovrebbero presentare il carattere mutante dato che i maschi in genere sarebbero emizigoti per tutti i geni legati al sesso (*mY*). Dal momento che il tipo mutante non è apparso nella F₁, la mutazione recessiva in questione non sarebbe legata al sesso.

Supponiamo che la mutazione recessiva in esame stia sul II cromosoma. I maschi F₁ con ali arricciate e con setole corte e ispide sono portatori del recessivo in condizione eterozigote, (Cy m⁺/Cy⁺ m, Sb/Sb⁺). Si noti che si omette la designazione dei loci che non riguardano qui. Quando questi maschi portatori vengono reincrociati con le femmine mutanti originali (Cy⁺ m/Cy⁺ m, Sb⁺/Sb⁺), le attese per la F₂ sono le seguenti:

Cy m⁺/Cy⁺ m, Sb/Sb⁺ ali arricciate, setole corte e ispide
 Cy m⁺/Cy⁺ m, Sb⁺/Sb⁺ ali arricciate
 Cy⁺ m/Cy⁺ m, Sb/Sb⁺ mutante, setole corte e ispide
 Cy⁺ m/Cy⁺ m, Sb⁺/Sb⁺ mutante

Si noti che la condizione mutante non può apparire con le ali arricciate. Quindi la mutazione recessiva in questione non è sul II cromosoma.

Adesso si supponga che il gene mutante sia sul III cromosoma. Quando i maschi portatori F₁ (Cy/Cy⁺, Sb m⁺/Sb⁺ m) vengono reincrociati con le femmine mutanti originali (Cy⁺/Cy⁺, Sb⁺ m/Sb⁺ m), le attese per la F₂ sono le seguenti:

Cy/Cy⁺, Sb m⁺/Sb⁺ m ali arricciate, setole corte e ispide
 Cy/Cy⁺, Sb⁺ m/Sb⁺ m ali arricciate, mutante
 Cy⁺/Cy⁺, Sb m⁺/Sb⁺ m setole corte e ispide
 Cy⁺/Cy⁺, Sb⁺ m/Sb⁺ m mutante

Si noti che la condizione mutante non può apparire con le setole corte. Per cui la mutazione recessiva in esame non è sul III cromosoma.

Se il mutante non è legato al sesso e non è né sul II né sul III cromosoma, allora ovviamente esso deve trovarsi sul quarto cromosoma. Lo si provi. Quando i maschi portatori della F₁ (Cy/Cy⁺, Sb/Sb⁺, m⁺/m) vengono reincrociati con le femmine mutanti originali (Cy⁺/Cy⁺, Sb⁺/Sb⁺, m/m), le attese per la F₂ sono le seguenti:

Cy/Cy⁺ $\begin{cases} Sb/Sb^+ \begin{cases} m^+/m & \text{ali arricciate, setole corte e ispide} \\ m/m & \text{ali arricciate, setole corte e ispide, mutante} \end{cases} \\ Sb^+/Sb^+ \begin{cases} m^+/m & \text{ali arricciate} \\ m/m & \text{ali arricciate, mutante} \end{cases} \end{cases}$

Cy⁺/Cy⁺ $\begin{cases} Sb/Sb^+ \begin{cases} m^+/m & \text{setole corte e ispide} \\ m/m & \text{setole corte e ispide, mutante} \end{cases} \\ Sb^+/Sb^+ \begin{cases} m^+/m & \text{tipo selvatico} \\ m/m & \text{mutante} \end{cases} \end{cases}$

Si noti che il mutante recessivo si mostra in associazione uguale con le ali arricciate e con le setole corte e ispide, il che soddisfa le condizioni poste dal problema. Si conclude che questa mutazione si trova sul IV cromosoma.

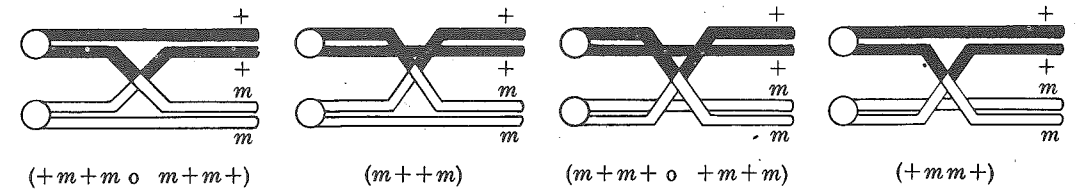
MAPPE DI RICOMBINAZIONE CON TETRADI

6.13. Un ceppo di *Neurospora* che necessita di metionina (m) è stato incrociato con un ceppo di tipo selvatico (m⁺) con i risultati mostrati qui sotto. Quanto dista questo gene dal centromero?

Numero degli aschi	Spore			
	1 + 2	3 + 4	5 + 6	7 + 8
6	+	m	+	m
5	m	+	+	m
6	m	+	m	+
7	+	m	m	+
40	m	m	+	+
36	+	+	m	m

Soluzione:

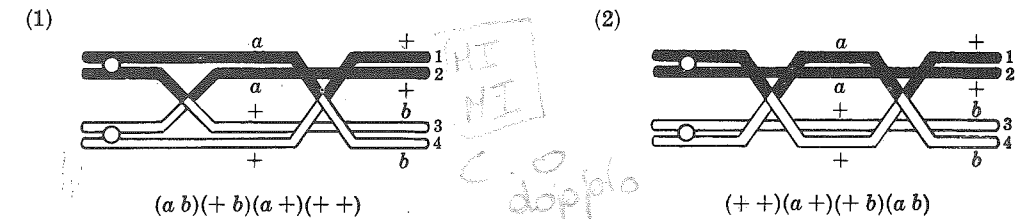
Sono aschi che non hanno subito crossing over quelli che compaiono con la maggior frequenza: 40 + 36 = 76, su un totale di 100 aschi. Gli altri 24/100 di questi aschi sono del tipo che ha subito crossing over, cioè il 24%, mentre solo la metà delle spore in questi aschi sono ricombinanti. Quindi la distanza dal gene al centromero è di 12 unità di mappa. L'origine di ciascuno degli aschi del tipo che ha subito crossing over è la seguente:



6.14. Due geni associati sono interessati in un incrocio di *Neurospora*: (a+) × (+b), in cui a è il gene più vicino al centromero. Si dia la spiegazione più semplice della comparsa dei seguenti tipi di spore: (a) (a b)(+ b)(a +)(+ +), (b) (+ b)(a +)(+ b)(a +), (c) (a +)(+ b)(a b)(+ +).

Soluzione:

(a) Due tipi di eventi che portano a crossing over doppi possono spiegare questo tipo di spora.



(1) Questo crossing over doppio che coinvolge quattro filamenti può essere rappresentato con (2, 3)(1, 4), a indicare che il primo crossing over riguarda i filamenti 2 e 3 e il secondo i filamenti 1 e 4.

(2) Questo crossing over doppio che coinvolge due filamenti può essere rappresentato con (1, 4)(2, 3). Si noti che la lettura dei due tipi di spore è rovesciata da sinistra a destra, mentre, invece, essi stanno nello stesso ordine lineare. Entrambi sono possibili sia per l'uno sia per l'altro genere di crossing over secondo l'orientamento che i cromosomi assumono durante la prima metafase meiotica.

(b) Un crossing over singolo (2, 3) dà il tipo da destra a sinistra; un altro crossing over singolo (1, 4) quello da sinistra a destra.



(c) Un crossing over doppio che coinvolge tre filamenti (2, 3)(2, 4) dà il tipo da destra a sinistra; un altro crossing over doppio che coinvolge esso pure tre segmenti (1, 4)(2, 4) dà invece il tipo da sinistra a destra.

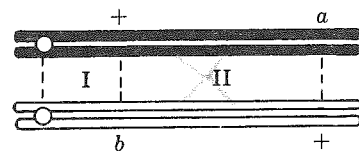


6.15. Due ceppi di *Neurospora*, uno mutante per il gene *a*, l'altro per il gene *b*, vengono incrociati. I risultati sono riportati qui sotto. Si determinino i rapporti di associazione fra i due geni.

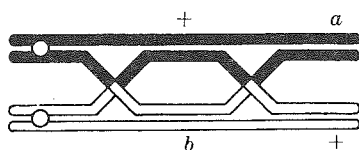
	Percentuale di aschi	Spore			
		1 + 2	3 + 4	5 + 6	7 + 8
(1)	79	<i>a</i> +	<i>a</i> +	+ <i>b</i>	+ <i>b</i>
(2)	14	<i>a</i> +	++	<i>ab</i>	+ <i>b</i>
(3)	6	<i>a</i> +	<i>ab</i>	++	+ <i>b</i>
(4)	1	<i>a</i> +	+ <i>b</i>	<i>a</i> +	+ <i>b</i>

Soluzione:

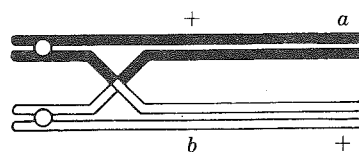
(1) rappresenta i tipi che non hanno subito crossing over e che presentano segregazione in prima divisione (4 : 4) tanto per *a* quanto per *b*. (2) presenta segregazione in seconda divisione (2 : 2 : 2 : 2) per *a*, ma segregazione in prima divisione per *b*. I geni che hanno un'alta frequenza di segregazione in seconda divisione sono abitualmente più lontani dal centromero che non i geni con bassa frequenza di segregazione in seconda divisione. A giudicare dalla frequenza relativamente alta di (2), si tratta probabilmente di crossing over singoli e si sospetta che *a* sia più distante dal suo centromero di quanto non sia *b*.



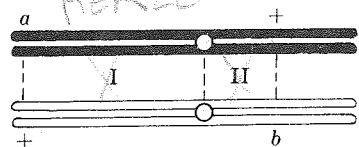
(3), che indica segregazione in prima divisione per *a* e segregazione in seconda divisione per *b*, non può originarsi da un singolo crossing over se *a* e *b* sono associati come viene mostrato sopra, ma richiede un crossing over doppio.



Inoltre, (4) potrebbe essere prodotto - in base ai rapporti di associazione che sono stati supposti prima - da un crossing over singolo nella II regione.



Ci si aspetta che i crossing over doppi siano molto meno frequenti che non quelli singoli. Stando alle supposizioni sopra menzionate, il tipo di crossing over doppio (3) è più frequente di uno dei tipi di crossing over singoli (4). Ciò non ha senso, e quindi la supposizione è sbagliata. Il locus di *a* deve stare più lontano dal centromero di *b*, ma non è necessario che stia sullo stesso lato del centromero con *b*. Così si colloca *a* dall'altra parte del centromero.



Ora, un crossing over singolo nella I regione produce (2), un crossing over singolo nella II regione produce (3) e un crossing over doppio, che coinvolge due filamenti (I, II), produce (4). Con questo presupposto, la percentuale di aschi è numericamente accettabile.

La distanza tra *a* e il centromero = $\frac{1}{2}(\text{SCO I} + \text{DCO}) = \frac{1}{2}(14 + 1) = 7,5$ unità di mappa

La distanza tra il centromero e *b* = $\frac{1}{2}(\text{SCO II} + \text{DCO}) = \frac{1}{2}(6 + 1) = 3,5$ unità di mappa

6.16. L'incrocio (*abc*) × (+++) viene realizzato in un ascomicete con tetradi non ordinate. Dall'analisi di 100 aschi si determinino - nel modo più completo che i dati consentono - i rapporti di associazione tra questi tre loci.

- (1) 40 (*abc*)(*abc*)(+++)(+++)
- (2) 42 (*ab*)(*ab*)(+++)(+++)
- (3) 10 (*a* + *c*)(+ + *c*)(*ab* +)(+ *b* +)
- (4) 8 (*a* + +)(+ + +)(*abc*)(+ *bc*)

Soluzione:

(1) è il ditipo parentale (PD) per *ab*, *ac* e *bc*. (2) è il PD per *ab*, e il ditipo non parentale (NPD) per *ac* e *bc*. (3) è il tetratipo (TT) per *ab* e *ac*, e il NPD per *bc*. (4) è il TT per *ab* e *ac*, il PD per *bc*. Per ciascuna coppia di marcatori, le frequenze relative di ciascun tipo di tetrade sono come segue:

	PD	NPD	TT
<i>ab</i>	40 42 82/100 = 0,82	0	10 8 18/100 = 0,18
<i>ac</i>	40/100 = 0,40	42/100 = 0,42	10 8 18/100 = 0,18
<i>bc</i>	40 8 48/100 = 0,48	42 10 52/100 = 0,52	0

Per la coppia *ab*, quelle del PD non sono equivalenti a quelle del NPD, per cui *a* e *b* devono essere associati. Per le coppie *ac* e *bc*, le frequenze del PD sono grosso modo equivalenti a quelle del NPD, per cui *c* deve avere un assortimento indipendente su un altro cromosoma. La frequenza di ricombinazione fra *a* e *b* è:

$$\frac{\text{NPD} + \frac{1}{2}\text{TT}}{\text{numero totale di tetradi}} = \frac{0 + \frac{1}{2}(18)}{100} = 9\% \text{ ossia } 9 \text{ unità di mappa.}$$

I crossing over singoli o fra *b* e il centromero o fra *c* e il centromero, o in entrambi i casi, produrrebbero le frequenze del TT per *bc*. Dal momento che nessuna di queste frequenze è stata osservata, si può dedurre che il locus di *b* e quello di *c* sono entrambi assai vicini ai rispettivi centromeri.

PROBLEMI SUPPLEMENTARI

LA RICOMBINAZIONE FRA GENI ASSOCIATI

- 6.17. Nel ratto c'è un 21% di crossing over fra il locus di *p* e quello di *c*. Si supponga di sottoporre ad esame per i chiasmi all'interno di questa regione del cromosoma 150 oociti primari. Quanti di questi oociti ci si aspetta che abbiano un chiasma fra i geni suddetti?
- 6.18. Il cromosoma più lungo nel pisello ha una lunghezza di mappa minima non corretta (calcolata sulla base di marcatori genetici noti) di 118 unità. Osservazioni citologiche a carico di questo cromosoma, nelle cellule meiotiche, hanno messo in rilievo una frequenza media di chiasmi di 2,96 per ogni tetrade. Si calcoli il numero massimo di unità di crossing over che restano in questo cromosoma, per stabilire la mappa di nuovi geni che siano fuori dall'ambito già conosciuto.

LA COSTRUZIONE DI MAPPE GENETICHE

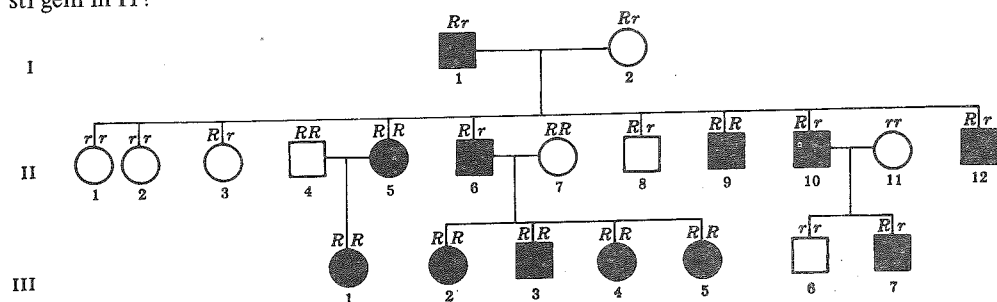
6.19. Le distanze fra 8 loci nel II cromosoma di *Drosophila* sono riportate nella seguente tabella. Si costruisca una mappa genetica che includa questi otto loci. La tabella è simmetrica sopra e sotto la diagonale.

	<i>d</i>	<i>dp</i>	<i>net</i>	<i>J</i>	<i>ed</i>	<i>ft</i>	<i>cl</i>	<i>ho</i>
<i>d</i>	—	18	31	10	20	19	14,5	27
<i>dp</i>		—	13	28	2	1	3,5	9
<i>net</i>			—	41	11	12	16,5	4
<i>J</i>				—	30	29	24,5	37
<i>ed</i>					—	1	5,5	7
<i>ft</i>						—	4,5	8
<i>cl</i>							—	12,5
<i>ho</i>								—

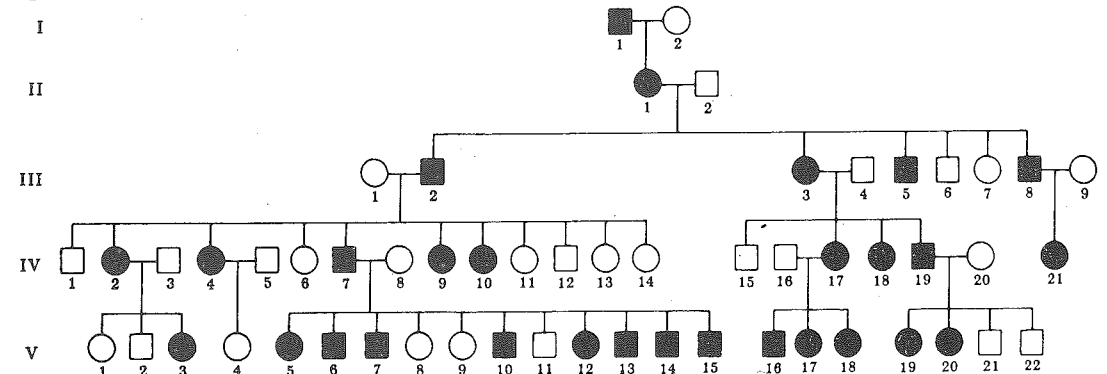
6.20. Il gene recessivo *sh* ("shrunk") produce nel seme del granturco un endosperma raggrinzito; il suo allele dominante *sh*⁺ produce, invece, semi pieni e rigonfi. Il gene recessivo *c* produce endosperma incolore; il suo allele dominante *c*⁺ produce endosperma colorato. Due piante omozigoti vengono incrociate e producono una F₁ che è tutta fenotipicamente costituita da semi pieni e con endosperma colorato. Le piante F₁ vengono reincrociate con il doppio recessivo e producono a loro volta: 149 piante con semi dall'endosperma raggrinzito e colorato, 4035 piante con semi dall'endosperma raggrinzito e incolore, 152 piante con semi pieni e dall'endosperma incolore, 4032 piante con semi pieni e dall'endosperma colorato. (a) Quali erano i fenotipi e i genotipi dei genitori originari? (b) Come sono associati i geni nella F₁? (c) Si calcoli la distanza di mappa fra *sh* e *c*.

6.21. La presenza di uno degli antigeni Rh sulla superficie dei globuli rossi del sangue (Rh-positivi) nell'uomo è prodotta da un gene dominante *R*, mentre i globuli rossi Rh-negativi sono prodotti dal genotipo recessivo *rr*. Gli eritrociti di forma ovale (ellissocitosi o ovalocitosi) sono determinati da un gene dominante *E*, mentre l'allele *e* recessivo produce globuli rossi normali. Entrambi questi geni sono associati su uno degli autosomi approssimativamente a 20 unità di mappa l'uno dall'altro. Un uomo con ellissocitosi, la cui madre ha eritrociti di forma normale e un genotipo omozigote Rh-positivo e il cui padre è Rh-negativo e eterozigote per ellissocitosi, si sposa con una donna normale Rh-negativa. (a) Quali sono le probabilità che il loro primo figlio sia Rh-negativo ed affetto da ellissocitosi? (b) Se, esso è, invece, Rh-positivo, quali sono le probabilità che sia anche affetto da ellissocitosi?

6.22. I genotipi Rh, come si è discusso nel problema precedente, sono riportati per ciascun individuo nel pedigree qui sotto. I simboli in nero rappresentano gli individui affetti da ellissocitosi (v. ancora il problema 6.21). (a) Si elenchino i genotipi del locus *E* per ciascun individuo di questo pedigree. (b) Si elenchi il contributo gametico (per entrambi i loci) degli individui affetti da ellissocitosi (ed aventi genotipo *Rr*) accanto a ciascuno dei figli nei quali possa essere reperito. (c) Quanto spesso, in (b), *R* segrega con *E* e *r* con *e*? (d) Sulla base di un assortimento casuale, in quanti componenti della progenie di cui in (b) ci si aspetterebbe di trovare *R* che segrega con *e* oppure *r* con *E*? (e) Se questi geni hanno un assortimento indipendente, si calcoli la probabilità che *R* segreghi con *E* e *r* con *e* in tutti e 10 i casi. (f) La soluzione per (c) suggerisce un'associazione fra questi due loci? (g) Si calcoli per (e) come se i fratelli III 1 e III 2 fossero gemelli identici (cioè sviluppatasi da un unico uovo). (h) Come sono probabilmente associati questi geni in II?



6.23. Una malattia ereditaria, chiamata "retinite pigmentosa" nell'uomo, causa una eccessiva pigmentazione della retina con conseguente parziale o completa cecità. Essa è determinata da un gene *R* dominante, legato al sesso in modo incompleto. Gli individui che ne sono affetti sono indicati nel pedigree da simboli in nero.



(a) Si determinino, per quanto è possibile, i genotipi di tutti gli individui del pedigree, designando il cromosoma (X o Y), nel quale probabilmente risiede il gene mutante, negli individui affetti dalla malattia. Si contrassegni ogni individuo prodotto da un gamete che ha subito un crossing over ("CO"). (b) Solo nei gameti dei maschi affetti dalla malattia esiste la possibilità che il gene mutante passi per crossing over dal cromosoma X al cromosoma Y. A partire dai maschi malati, nei quali la posizione del gene mutante è conosciuta in modo sicuro, si determini il numero delle possibilità (cioè di individui della progenie) per scoprire tali crossing over. (c) Quanti crossing over sono stati effettivamente osservati? (d) Quale percentuale ciò rappresenta?

6.24. Nella *Drosophila* due geni recessivi "black" (*b*) e "vestigial" (*vg*) producono rispettivamente corpo nero e ali vestigiali. Quando mosche di tipo selvatico vengono reincrociate con il doppio recessivo, la F₁ è tutta diibrida in fase di accoppiamento. Il reincrocio delle femmine della F₁ con il doppio recessivo ha prodotto 1930 moscerini di tipo selvatico, 1888 moscerini neri con ali vestigiali, 412 moscerini neri e 370 con ali vestigiali. (a) Si calcoli la distanza fra *b* e *vg*. (b) Un altro gene recessivo *cn* ("cinnabar", cinabro) si trova fra i loci di *b* e di *vg*, e produce occhi color cinabro. Quando mosche di tipo selvatico sono reincrociate con il doppio recessivo, la F₁ è tutta costituita da tribridi. Il reincrocio delle femmine della F₁ con il doppio recessivo produce 664 moscerini di tipo selvatico, 652 moscerini neri con ali vestigiali, 72 moscerini neri con occhi color cinabro, 68 moscerini con ali vestigiali, 70 moscerini neri, 61 moscerini con occhi color cinabro e ali vestigiali, 4 moscerini neri con ali vestigiali, 8 moscerini con occhi color cinabro. Si calcolino le distanze di mappa. (c) Le distanze *b-vg* calcolate in (a) e in (b) coincidono? Se ne dia una spiegazione. (d) Qual è il coefficiente di coincidenza?

6.25. Nel granturco, un gene dominante *C* produce aleurone colorato, il suo allele recessivo *c* aleurone incolore. Un altro gene dominante *Sh* produce semi pieni e rigonfi, il suo allele recessivo *sh* semi raggrinziti a causa dell'afflosciarsi dell'endosperma. Un terzo gene dominante *Wx* produce endosperma normale amilaceo, il suo allele recessivo *wx* amido di aspetto ceroso. Una pianta omozigote, risultante da un seme con endosperma ceroso, incolore e rigonfio, viene incrociata con una pianta omozigote, risultante da un seme con endosperma amilaceo, colorato e raggrinzito. La F₁ viene reincrociata con il doppio recessivo con una varietà dall'endosperma ceroso, incolore e raggrinzito. La semente che costituisce la progenie presenta i seguenti fenotipi: 113 semi con endosperma incolore, amilaceo e raggrinzito, 4 semi con endosperma colorato, amilaceo e rigonfio, 2708 semi con endosperma incolore, ceroso e rigonfio, 626 semi con endosperma incolore, amilaceo e rigonfio, 2 semi con endosperma incolore, ceroso e raggrinzito, 116 semi con endosperma colorato, ceroso e rigonfio, 2538 semi con endosperma colorato, amilaceo e raggrinzito, 601 semi con endosperma colorato, ceroso e raggrinzito. (a) Si costruisca una mappa genetica per la regione del cromosoma. Si arrotondino tutti i calcoli alla più vicina decina di una percentuale. (b) Si calcoli l'interferenza in questa regione.

6.26. Un gene chiamato "forked" (*f*) produce nella *Drosophila* setole raccorciate, ricurve e sfioccate. Un altro gene chiamato "outstretched" (*od*) dà come risultato ali che si inseriscono sul corpo ad angolo retto. Un terzo gene chiamato "garner" (*g*) produce occhi di colore rosato nei giovani. Femmine di tipo selvatico, eterozigoti per tutti e tre i loci, sono state incrociate con maschi di tipo selvatico. I dati della F₁ sono riportati nella pagina seguente.

F₁: Femmine: tutte di tipo selvatico

Maschi:

57 con occhi di colore rosato e ali ad angolo retto	f	o	d	g
419 con occhi di colore rosato e setole raccorciate, ricurve e sfioccate	f	o	d	g
60 con setole raccorciate, ricurve e sfioccate	f	o	d	g
1 con ali ad angolo retto e setole raccorciate, ricurve e sfioccate	f	o	d	g
2 con occhi di colore rosato	f	o	d	g
439 con ali ad angolo retto	f	o	d	g
13 di tipo selvatico	f	o	d	g
9 con ali ad angolo retto, occhi di colore rosato, setole raccorciate, ricurve e sfioccate	f	o	d	g
1 000				

(a) Quale gene sta nel mezzo? (b) Qual è il rapporto di associazione fra alleli nei loci "forked" (f) e "outstretched" (ou) della madre? (c) Qual è il rapporto di associazione fra alleli nei loci "forked" (f) e "garnet" (g) della madre? (d) Su quale cromosoma risiedono i tre loci? (e) Si calcoli la distanza di mappa. (f) In che misura l'interferenza è in atto?

6.27.

Piante di granturco, omozigoti per il gene recessivo "variable sterile" (va), presentano un'irregolare distribuzione di cromosomi durante la meiosi. Le pianticelle verdi-giallastre sono il risultato di un altro gene recessivo chiamato "virescent" (v). Un terzo gene recessivo chiamato "glossy" (gl) produce foglie lucenti. Tutti e tre questi geni sono associati. Due piante omozigoti sono incrociate e producono una F₁ tutta normale. Quando la F₁ viene reincrociata con il doppio recessivo i fenotipi della progenie risultano come segue:

60 piante di color verde-giallastro allo stadio giovanile	4 piante con sterilità variabile, di colore verde-giallastro allo stadio giovanile
48 piante con foglie lucenti, di colore verde-giallastro allo stadio giovanile	40 piante con sterilità variabile
7 piante con foglie lucenti	62 piante con sterilità variabile e con foglie lucenti
270 piante con sterilità variabile, con foglie lucenti, di colore verde-giallastro allo stadio giovanile.	235 piante di tipo selvatico

(a) Quali sono i fenotipi e i genotipi dei genitori originari? (b) Si rappresentino schematicamente i rapporti di associazione nella F₁. (c) Si determini l'ordine genetico. (d) Si calcoli il totale di ricombinazione osservato. (e) In che misura l'interferenza è in atto?

6.28.

Cinque geni recessivi legati al sesso (ec, sc, v, cv e ct) producono nella *Drosophila* caratteri chiamati rispettivamente "echinus", "scute", "vermilion", "crossveinless" e "cut". "Echinus" è un mutante che produce occhi irregolari con ampie sfaccettature. "Scute" si manifesta con l'assenza o la riduzione del numero delle setole su certe parti del corpo (scutello). "Vermilion" determina un colore brillante dell'occhio. "Crossveinless" impedisce lo sviluppo delle strutture portanti delle ali. "Cut" produce ali a festoni e appuntite con effetti multipli (pleiotropici) in altre parti del corpo. Al principio degli esperimenti non si conosce l'ordine genetico. Con i risultati dei seguenti tre esperimenti, si costruisce una mappa genetica per questa regione del cromosoma X. Ogni volta che è possibile si usino le medie ponderate.

Esperimento 1. Femmine con occhi irregolari ad ampie sfaccettature, incrociate con maschi dalle ali senza strutture portanti e con setole assenti o ridotte sullo scutello, hanno prodotto nella F₁ femmine tutte di tipo selvatico e maschi con occhi irregolari ad ampie sfaccettature. Quando le femmine F₁ sono state reincrociate con il doppio recessivo, i risultati (comprendenti tanto la progenie maschile quanto quella femminile) sono stati i seguenti:

810 moscerini con occhi irregolari ad ampie sfaccettature ("echinus")	89 moscerini con setole assenti o ridotte sullo scutello ("scute")
828 moscerini con setole assenti o ridotte sullo scutello, con ali senza strutture portanti ("scute", "crossveinless")	62 moscerini con occhi irregolari ad ampie sfaccettature e setole ridotte o assenti sullo scutello ("echinus", "scute")
88 moscerini con ali senza strutture portanti ("crossveinless")	103 moscerini con occhi irregolari ad ampie sfaccettature, con ali senza strutture portanti ("echinus", "crossveinless")

Esperimento 2. Femmine con ali senza strutture portanti, incrociate con maschi dagli occhi irregolari a grandi sfaccettature, con ali a festoni e appuntite, hanno prodotto nella F₁ femmine tutte di tipo selvatico e maschi tutti con ali senza strutture portanti. Quando le femmine F₁ vengono reincrociate con il doppio recessivo, i risultati (comprendenti tanto la progenie maschile quanto quella femminile) sono i seguenti:

2207 moscerini con ali senza strutture portanti ("crossveinless")	223 moscerini con ali senza strutture portanti, a festoni e appuntite ("crossveinless", "cut")
2125 moscerini con occhi irregolari ad ampie sfaccettature, ali a festoni e appuntite ("echinus", "cut")	217 moscerini con occhi irregolari ad ampie sfaccettature ("echinus")
273 moscerini con occhi irregolari ad ampie sfaccettature e ali senza strutture portanti ("echinus", "crossveinless")	5 moscerini di tipo selvatico
265 moscerini con ali a festoni e appuntite ("cut")	3 moscerini con occhi irregolari ad ampie sfaccettature, con ali senza strutture portanti, a festoni e appuntite ("echinus", "crossveinless", "cut").

Esperimento 3. Femmine con ali a festoni e appuntite, incrociate con maschi con occhi color arancio-rosso brillante e con ali senza strutture portanti, hanno prodotto nella F₁ tutte femmine di tipo selvatico e maschi con ali a festoni e appuntite. Quando le femmine F₁ vengono reincrociate con il doppio recessivo, i risultati (comprendenti tanto la progenie maschile quanto quella femminile) sono i seguenti:

766 moscerini con occhi color arancio-rosso brillante, con ali senza strutture portanti ("vermilion", "crossveinless")	73 moscerini con occhi color arancio-rosso brillante ("vermilion")
759 moscerini con ali a festoni e appuntite ("cut")	85 moscerini con ali senza strutture portanti, a festoni e appuntite ("crossveinless", "cut")
140 moscerini con occhi color arancio-rosso brillante, ali a festoni e appuntite ("vermilion", "cut")	2 moscerini di tipo selvatico
158 moscerini con ali senza strutture portanti ("crossveinless")	2 moscerini con occhi rosso-arancio brillante, con ali senza strutture portanti, a festoni e appuntite ("vermilion", "crossveinless", "cut").

LE STIME DI ASSOCIAZIONE DA DATI DELLA F₂

6.29. Nei polli si conoscono due geni recessivi legati al sesso (metodo ZW di determinazione sessuale): per il piumaggio a rapida crescita (sl) e per il piumaggio dorato (s). Gli alleli dominanti producono rispettivamente piumaggio a crescita lenta (Sl) e piumaggio argenteo (S). Femmine della razza Silver Penciled Rock, con piumaggio a crescita lenta e di color argenteo, vengono incrociate con maschi della razza Brown Leghorn che hanno piumaggio a crescita rapida e di colore dorato. I dati relativi alla progenie F₂ appaiono qui sotto:

	Crescita lenta, color argenteo	Crescita rapida, color argenteo	Crescita lenta, color dorato	Crescita rapida, color dorato
Maschi	94	40	7	127
Femmine	117	28	7	156

(a) Si determinino i genotipi e i fenotipi della F₁. (b) In quale fase di associazione stanno i maschi della F₁? (c) Si calcoli l'entità della ricombinazione che si prevede avvenga fra questi due loci nei maschi.

6.30. Si supponga che il genotipo AB/AB venga reincrociato con il doppio recessivo e produca una F₂ che consiste di 37 A-B-, 11 A-bb-, 12 aaB- e 1 aabb. Si calcoli la percentuale di ricombinazione fra A e B con il metodo della radice quadrata.

6.31. Due geni recessivi, nel terzo gruppo di associazione del granturco, producono rispettivamente foglie pieghettate e piante nane. Una pianta pura dalle foglie pieghettate viene incrociata con una pianta pura nana. La progenie F₂ consiste di 104 piante normali, 43 piante nane, 51 piante con foglie pieghettate, 2 piante nane con foglie pieghettate. Usando il metodo della radice quadrata, si calcoli l'entità di ricombinazione fra questi due loci.

- 6.32. Nel granturco l'endosperma colorato del seme è dominante su quello incolore; l'endosperma rigonfio è dominante su quello raggrinzito. Una varietà pura con endosperma del seme colorato e rigonfio viene incrociata con una varietà dall'endosperma incolore e raggrinzito. Nella F_2 compaiono il 73% di piante con endosperma colorato e rigonfio, il 2% con endosperma colorato e raggrinzito, il 2% con endosperma incolore e rigonfio, il 23% con endosperma colorato e raggrinzito. Con il metodo della radice quadrata si calcoli la percentuale di crossing over fra questi due geni.
- 6.33. Nei polli si conoscono parecchi geni legati al sesso, fra i quali il locus S che determina il colore del piumaggio, il locus K che controlla la velocità di sviluppo delle penne, e il locus Id che determina se il pigmento melanina può svilupparsi o no nel derma. I dati relativi alla F_2 sono riportati qui sotto: X e Y rappresentano i fenotipi dominanti e x e y quelli recessivi.

	Fase in accoppiamento				Fase in repulsione			
	XY	Xy	xY	xy	XY	Xy	xY	xy
S e Id	157	171	145	177	83	108	91	75
K e S	603	94	159	648	12	24	26	9

Usando il metodo del rapporto tra prodotti, si stimi l'entità di ricombinazione fra S e Id e fra K e S servendosi di una media ponderata delle stime che si ricavano dai dati in fase di accoppiamento e in fase di repulsione.

- 6.34. I risultati dell'autofecondazione di piselli diibridi sono stati riferiti da diversi ricercatori. Si considerino cinque loci sul "cromosoma D". *

- D_1, d_1 = viticci contro foglie tipo acacia
 D_2, d_2 = colore brillante del fiore contro colore spento
 D_3, d_3 = presenza del modificatore della screziatura contro assenza
 D_4, d_4 = superficie pelosa contro superficie glabra
 D_5, d_5 = fiore di colore pieno contro fiore di colore screziato

Sulla generazione F_2 sono stati effettuati dieci esperimenti con i seguenti risultati (X e Y rappresentano i fenotipi dominanti e x e y rappresentano i fenotipi recessivi):

		Serie in fase di accoppiamento				Serie in fase di repulsione			
		XY	Xy	xY	xy	XY	Xy	xY	xy
(1)	D_1D_2	634	192	163	101	2263	809	882	124
(2)	D_1D_3	286	11	19	79	—	—	—	—
(3)	D_1D_4	3217	790	784	544	692	278	300	58
(4)	D_1D_5	—	—	—	—	3112	1126	1114	277
(5)	D_2D_3	992	273	265	124	296	97	88	20
(6)	D_2D_4	1580	482	421	148	1844	592	603	171
(7)	D_2D_5	1438	443	424	162	1337	465	415	128
(8)	D_3D_4	200	52	44	35	—	—	—	—
(9)	D_3D_5	373	112	103	42	—	—	—	—
(10)	D_4D_5	1076	298	283	188	2537	1003	993	131

(a) Usando il metodo del rapporto tra prodotti (Tabella 6.1) si determinino i valori di crossing over per ciascun esperimento con una accuratezza di due decimali. (b) Nei casi in cui le stime siano disponibili sia per la fase in accoppiamento sia per quella in repulsione, si calcoli una media ponderata delle due e si esprimano tutti i dieci valori di crossing over, fino a due cifre decimali sulla stessa mappa. (c) La distanza calcolata dagli esperimenti (D_1D_2) e (D_1D_3) non è la stessa che risulta dall'esperimento (D_2D_3). Perché? (d) Qual è la distanza di mappa totale rappresentata dalla mappa di (b)? (e) A quale frequenza media di chiasmi corrisponde la risposta (d)?

- 6.35. I geni recessivi doppi (r_1 e r_2) producono un pelo corto, simile al velluto e chiamato "rex". Due conigli "rex", con genotipi omozigoti diversi, sono stati incrociati e hanno prodotto una F_1 che è stata poi reincrociata con il doppio recessivo e ha prodotto una progenie di 64 conigli "rex" e 6 normali. (a) Supponendo un assortimento indipendente, quanti fenotipi normali e quanti "rex" si aspetterebbero in una progenie di 70 conigli? (b) Questi dati indicano associazione? (c) Quali sono il genotipo e il fenotipo della F_1 ? (d) Quali sono il genotipo e il fenotipo degli individui derivati dal reincrocio con il doppio recessivo? (e) Si calcoli la distanza di mappa.
- 6.36. Un gene C dominante è necessario perché una qualunque pigmentazione si sviluppi nei conigli. Il suo allele recessivo c produce la condizione albina. Il pigmento nero è prodotto da un altro gene dominante B e il pigmento marrone dal suo allele recessivo b . Il locus C presenta epistasi recessiva sul locus B . Conigli omozigoti marroni, incrociati con albi di genotipo $ccBB$, producono una F_1 che viene quindi reincrociata con il doppio recessivo e produce la F_2 . In questa si sono trovati 17 conigli neri, 33 marroni e 50 albi. (a) Supponendo un assortimento indipendente, quale rapporto è atteso per la F_2 ? (b) I risultati della F_2 si avvicinano alle attese di (a)? (c) Quali sono i genotipi e i fenotipi della F_1 ? (d) Quali sono i genotipi e i fenotipi degli individui prodotti dal reincrocio con il doppio recessivo? (e) Si calcoli la distanza di mappa fra i due geni.

L'USO DELLE MAPPE GENETICHE

- 6.37. È noto che, nel IV gruppo di associazione del topo, si trovano due loci: "kinky" (k), che dà peli attorcigliati, e "stubby" (st), che dà coda ispida. Peli attorcigliati e vibrisse sono prodotti in risposta al genotipo kk , mentre una coda corda e ispida è prodotta dal genotipo recessivo st/st . Gli alleli dominanti in questi loci producono rispettivamente peli normali e code normali. Date 30 unità di mappa fra i loci di k e di st , si determinino i rapporti fenotipici attesi nella F_1 risultante da genitori eterozigoti che sono (a) entrambi in fase di accoppiamento, (b) entrambi in fase di repulsione, (c) uno in fase di accoppiamento e l'altro in fase di repulsione.
- 6.38. Nel topo, i geni "frizzy" (fr), che dà pelo crespo, e "albino" (c) sono associati sul I cromosoma a una distanza di 20 unità di mappa. Femmine diibride di tipo selvatico in fase di repulsione vengono incrociate con maschi diibridi di tipo selvatico in fase di accoppiamento. Si prevedano i fenotipi attesi nella prole.
- 6.39. Un'emolinfa di color giallo intenso nella larva del baco da seta è il risultato di un gene dominante Y nel locus 25,6 (cioè 25,6 unità di crossing over dall'estremità del cromosoma). Un'altra mutazione dominante Rc , a 6,2 unità di mappa dal locus Y , produce un bozzolo color marrone giallastro (ruggine). Fra questi due loci c'è un mutante recessivo oa , che determina una translucidità a chiazze nella cute della larva e che ha la sua posizione nel locus a 26,7 unità di mappa. Rc e oa sono separati da 5,1 unità di crossing over. Un individuo che è omozigote per l'emolinfa gialla, per la cute larvale translucida a chiazze e per un colore del bozzolo di tipo selvatico, viene incrociato con un individuo di genotipo $Y^+ oa^+ Rc/Y^+ oa^+ Rc$, che produce un bozzolo color ruggine. I maschi della F_1 sono quindi reincrociati con il doppio recessivo e producono una progenie F_2 di 3000 individui. Si suppone che la coincidenza sia del 10%. (a) Si prevedano per ciascuna classe fenotipica i numeri che appariranno nella F_2 (arrotondati ai numeri interi più vicini); (b) Sulla base delle probabilità, quanti più individui della F_2 sono necessari al fine di recuperare ciascuno dei fenotipi che hanno subito un doppio crossing over?
- 6.40. Gli occhi di certe drosofile mutanti hanno una superficie irregolare, dovuta ad una anomala struttura delle sfaccettature. Tre mutanti che producono approssimativamente lo stesso fenotipo (mutanti mimici) sono recessivi legati al sesso: "roughest" (rst), "rugose" (rg) e "roughex" (rux). I loci di questi geni hanno rispettivamente queste distanze dall'estremità del cromosoma X = 2, 11 e 15 unità di mappa. (a) Si preveda il numero di moscerini di tipo selvatico e di moscerini con occhi irregolari atteso in una progenie di 20000 individui risultante dal reincrocio con il doppio recessivo di femmine di tipo selvatico con genotipo $\frac{rst + rux}{+ rg +}$. Si supponga che non ci sia interferenza. (b) Quanti moscerini con gli occhi irregolari sono attesi approssimativamente nella progenie per ogni individuo di tipo selvatico? (c) Se le femmine di cui si parla in (a) fossero di genotipo $\frac{rst rg rux}{+ + +}$, quale sarebbe il rapporto approssimato tra la progenie di tipo selvatico e quella con occhi irregolari?
- 6.41. Nel cotone asiatico, un paio di fattori (R e r) controlla la presenza o l'assenza rispettivamente del pigmento antocianina. Un altro gene, a circa 10 unità di mappa dal locus R , controlla la produzione di clorofilla. Il genotipo omozigote recessivo per questo locus (yy) produce una pianta gialla (mancante

di clorofilla), che muore presto, ancora nella fase di pianticella. L'eterozigote Yy è fenotipicamente verde e non distinguibile dall'omozigote dominante YY . Ovviamente, i reincroci con l'omozigote recessivo non sono possibili per il locus Y . Vengono incrociati insieme dei diibridi. Si calcolino i rapporti fenotipici attesi fra le pianticelle e fra le piante mature della F_1 , quando i genitori sono (a) entrambi in fase di accoppiamento; (b) entrambi in fase di repulsione; (c) uno in fase di accoppiamento e uno in fase di repulsione. (d) Quale metodo (in (a), (b) o (c)) ci si aspetta che produca la massima mortalità?

- 6.42. Il modello di pelo "aguti", che si trova comunemente in molti animali selvatici, è caratterizzato da una piccola banda di pigmento chiaro vicino alla punta del pelo. Nel coniglio il locus "aguti" ha un allele dominante A , che fa comparire la stretta banda di pigmento chiaro sul pelo (tipo aguti). Il suo allele recessivo a dà pelo non aguti (pelo nero). Approssimativamente a 28 unità di mappa dal locus "aguti" è situato un gene che regola le dimensioni della banda aguti: una banda aguti larga è prodotta dall'allele recessivo "wide" (w) e una banda aguti normale (stretta) dall'allele dominante W . A metà strada fra questi due loci, ne sta un terzo, che controlla le dimensioni corporee. L'allele dominante in questo locus (Dw) produce una crescita normale, mentre l'allele recessivo dw produce un individuo nano ("dwarf") che muore poco dopo la nascita. Si supponga che il genotipo di un gruppo di femmine tribride abbia i loci A e Dw in fase di accoppiamento e i loci A e W in fase di repulsione. Queste femmine vengono incrociate con un gruppo di maschi aguti a banda larga, di genotipo $A dw w/a Dw w$. (a) Si prevedano le percentuali fenotipiche (arrotondate al decimale più vicino), attese alla nascita nella F_1 . (b) Quale perdita per morte genetica è prevista? (c) Si valutino le percentuali fenotipiche attese nei componenti della F_1 , giunti a maturità.

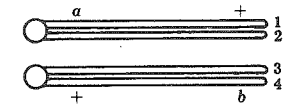
LA SOPPRESSIONE DEL CROSSING OVER

- 6.43. Una *Drosophila* dal corpo nero è prodotta da un gene recessivo b ("black") e le ali vestigiali da un altro gene recessivo vg ("vestigial") presente sullo stesso cromosoma. Questi due loci sono approssimativamente distanti 20 unità di mappa. Si indichino i fenotipi attesi nella progenie che risulta da: (a) un incrocio di femmine in fase di repulsione con maschi in fase di accoppiamento; (b) un incrocio reciproco rispetto a quello di (a); (c) un incrocio in cui entrambi i genitori sono in fase di repulsione.
- 6.44. Uno scarso sviluppo delle ghiandole mucose nella femmina del baco da seta *Bombyx mori* fa sì che le uova possano essere facilmente separate dai fogli su cui sono state deposte. E' questa una condizione genetica dominante; l'allele recessivo di tipo selvatico Ng^+ produce uova normalmente "collose". Un altro gene dominante C , separato da Ng da 14 unità di mappa, produce un colore giallo-dorato sulla superficie esterna del bozzolo e un colore quasi bianco all'interno. Il suo allele recessivo di tipo selvatico C^+ produce una pigmentazione del bozzolo normale o di tipo selvatico. Un ceppo puro con uova "non collose" viene incrociato con una razza pura dal bozzolo giallo dorato. Le femmine della F_1 sono quindi incrociate con i loro fratelli e producono la F_2 . Si preveda il numero di individui di diversi fenotipi che ci si aspetta di osservare su un totale di 500 individui della F_2 . Suggestione. Non si osserva crossing over nelle femmine del baco da seta.
- 6.45. Due geni autosomici recessivi, "dumpy" (dp), che provoca una riduzione nelle dimensioni delle ali, e "net" (net), che determina la presenza di nervature supplementari nelle ali, sono associati sul II cromosoma della *Drosophila*. Femmine omozigoti di tipo selvatico sono incrociate con maschi dalle ali ridotte e con nervature supplementari. Fra gli 800 individui della progenie F_2 si trovano: 574 moscerini di tipo selvatico, 174 con ali ridotte e nervature supplementari, 25 con ali ridotte, 27 con nervature supplementari nelle ali. Si calcoli la distanza di mappa.
- 6.46. Si supponga che un carattere genetico anomalo (mutazione) sia comparso improvvisamente in una femmina di razza pura di *Drosophila melanogaster*. Si incroci la femmina mutante con un maschio di un ceppo che possieda geni letali bilanciati ($Cy/Pm, D/Sb$ in cui il gene "curly" (Cy), che determina un'incurvatura delle ali verso l'alto, e "plum" (Pm), che dà occhi color prugna, si trovano sul II cromosoma, mentre il gene "Dichaete" (D), che dà ali inserite ad angolo retto nel corpo, bilanciari assenti e setole dorsomediane ridotte di numero, e il gene "stubble" (Sb), che dà setole corte e ispide, stanno sul III cromosoma). Circa metà della progenie F_1 (tanto maschi quanto femmine) presenta il fenotipo mutante. I maschi mutanti della F_1 con ali ricurve e setole corte e ispide sono incrociati con femmine vergini di tipo selvatico senza legami di parentela con essi. Nella F_2 il carattere mutante non compare mai con il carattere "setole corte e ispide". Si ricordi che la suddetta specie di *Drosophila* ha i cromosomi X, 2, 3 e 4. La mutazione potrebbe essere (a) autosomica recessiva, (b) recessiva legata al sesso, (c) autosomica dominante, (d) dominante legata al sesso? (e) Su quale cromosoma risiede il gene mutante? (f) Si supponga che il carattere mutante nella F_2 compaia in associazione uguale e con il carattere "ali ricurve"

e con il carattere "setole corte e ispide". Su quale cromosoma risiederebbe il gene mutante? (g) Si supponga che il carattere mutante della F_2 compaia solo nelle femmine. Su quale cromosoma risiederebbe il gene mutante? (h) Si supponga che il carattere mutante della F_2 non compaia mai con il carattere "ali ricurve". Su quale cromosoma risiederebbe il gene mutante?

MAPPE DI RICOMBINAZIONE CON TETRADI

- 6.47. Dato l'orientamento contiguo che si verifica nella metafase meiotica in *Neurospora*, si dia la spiegazione più semplice per i seguenti tipi di spore. Suggestione. Si veda il problema 6.14.



- (a) $(+b)(a+)(a+)(+b)$ (e) $(ab)(++)(a+)(+b)$ (i) $(ab)(a+)(++)(+b)$
 (b) $(a+)(+b)(+b)(a+)$ (f) $(a+)(++)(ab)(+b)$ (j) $(a+)(ab)(++)(+b)$
 (c) $(++)(a+)(ab)(+b)$ (g) $(ab)(+b)(++)(a+)$ (k) $(a+)(ab)(+b)(++)$
 (d) $(++)(ab)(a+)(+b)$ (h) $(a+)(+b)(++)(ab)$ (l) $(ab)(a+)(+b)(++)$

- 6.48. Un certo ceppo di *Neurospora* non può crescere a meno che, nel terreno colturale, non sia presente adenina. La mancanza di adenina è una mutazione recessiva (ad). Un altro ceppo produce conidi gialli (ylo). Qui sotto sono riportati i risultati dell'incrocio di questi due ceppi: si calcoli la distanza di mappa fra questi due geni.

Numero degli aschi	Prodotti meiotici
106	$(ad+)(ad+)(+ylo)(+ylo)$
14	$(ad+)(ad ylo)(++)(+ylo)$

- 6.49. Un ceppo di *Neurospora*, incapace di sintetizzare la vitamina tiamina (t), viene incrociato con un ceppo incapace di sintetizzare l'amminoacido arginina (a).

Numero degli aschi	Ascospore			
	I coppia	II coppia	III coppia	IV coppia
37	++	++	at	at
33	$+t$	$+t$	$a+$	$a+$
34	at	at	++	++
36	$a+$	$a+$	$+t$	$+t$

Quale informazione si può raccogliere da questi risultati che servono per definire su una mappa questi due loci?

- 6.50. Due ceppi di *Neurospora*, uno mutante per il gene x e l'altro per il gene y , sono stati incrociati e sono stati ottenuti i risultati riportati qui sotto. Si determini l'ordine genico e si calcoli la distanza di mappa per ciascun gene a partire dal suo centromero.

Numero degli aschi	Prodotti meiotici
52	$(+y)(+y)(x+)(x+)$
2	$(++)(xy)(+y)(x+)$
17	$(x+)(+y)(x+)(+y)$
1	$(xy)(x+)(++)(+y)$
6	$(+y)(xy)(++)(x+)$
1	$(+y)(x+)(++)(xy)$
15	$(x+)(+y)(+y)(x+)$
1	$(++)(+y)(xy)(x+)$
5	$(xy)(+y)(++)(x+)$

6.51. Un ceppo di *Neurospora* carente di riboflavina (*r*) viene incrociato con un ceppo incapace di sintetizzare il triptofano (*t*). Si ottengono i seguenti risultati:

Numero degli aschi	Prodotti meiotici
129	(<i>r+</i>)(<i>r+</i>)(<i>t</i>)(<i>t</i>)
1	(<i>t</i>)(<i>r+</i>)(<i>r+</i>)(<i>t</i>)
2	(<i>r+</i>)(<i>t</i>)(<i>r+</i>)(<i>t</i>)
1	(<i>r+</i>)(<i>t</i>)(<i>t</i>)(<i>r+</i>)
15	(<i>rt</i>)(<i>r+</i>)(<i>+</i>)(<i>+</i>)
13	(<i>rt</i>)(<i>r+</i>)(<i>t</i>)(<i>+</i>)
17	(<i>r+</i>)(<i>rt</i>)(<i>+</i>)(<i>+</i>)
17	(<i>r+</i>)(<i>rt</i>)(<i>t</i>)(<i>+</i>)
2	(<i>r+</i>)(<i>+</i>)(<i>rt</i>)(<i>t</i>)
1	(<i>rt</i>)(<i>+</i>)(<i>r+</i>)(<i>t</i>)

Si costruisca una mappa che includa i due geni.

6.52. Due dei tre geni *s*, *t* e *u* sono associati; il terzo ha un assortimento indipendente ed è molto strettamente associato al suo centromero. Si analizzino le tetradi non ordinate prodotte dall'incrocio (*stu*) × (*+++*). Suggestimento. Si veda il problema 6.16.

Numero delle tetradi	Tetradi
59	(<i>stu</i>)(<i>stu</i>)(<i>+++</i>)(<i>+++</i>)
53	(<i>s+u</i>)(<i>s+u</i>)(<i>t+</i>)(<i>t+</i>)
26	(<i>st+</i>)(<i>t+</i>)(<i>s+u</i>)(<i>+</i>)(<i>+</i>)
30	(<i>s+</i>)(<i>+</i>)(<i>+</i>)(<i>+</i>)(<i>stu</i>)(<i>tu</i>)
32	(<i>stu</i>)(<i>t+</i>)(<i>s+u</i>)(<i>+++</i>)

RISPOSTE AI PROBLEMI SUPPLEMENTARI

- 6.17. 63
- 6.18. 30 unità
- 6.19. $\overline{net^4 ho^7 ed^1 ft^1 dp^{3,5} cl^{14,5} d^{10} J}$
- 6.20. (a) *sh c/sh c* (endosperma raggrinzito e incolore) × *sh⁺ c⁺/sh⁺ c⁺* (endosperma rigonfio, colorato);
 (b) *sh⁺ c⁺/sh c* (in fase di accoppiamento); (c) 3,6 unità di mappa.
- 6.21. (a) $\frac{2}{5}$ (b) $\frac{1}{5}$
- 6.22. (a) Tutti i simboli bianchi = *ee*, tutti i simboli neri = *Ee* (b) *re* (III1, II2, III6), *RE* (II5, 9, III2-5, 7) (c) in tutti e dieci i casi; (d) cinque in ciascun caso; (e) 1/1024; (f) sì; (g) 1/512 (h) *RE/re* (in fase di accoppiamento).
- 6.23. (a) Tutti i simboli bianchi = *rr*; tutti gli individui affetti da retinite = *Rr*. La collocazione del gene mutante è sul cromosoma X in III1, III2, 3, 5, 8, IV2, 4, 9, 10, 17, 18, 19, 21, V3, 5, 12, 16, 17, 18, 19, 20; la collocazione del gene mutante è sul cromosoma Y in IV 7, V6, 7, 10, 13, 14, 15; individui che hanno subito il crossing over sono IV6, 7, 11, 13, 14, V5, 11, 12; la collocazione del gene mutante in I 1 è sconosciuta. (b) 27 opportunità che sono IV1, 2, 4, 6, 7, 9-14, 21, V5-15, 19-22 (c) otto; (d) il 29,63%.

6.24. (a) 17 unità di mappa; (b) *b-cn* = 8,9 unità di mappa; *cn-vg* = 9,5 unità di mappa; (c) No. In (a), l'incrocio di prova per due punti non può mettere in evidenza i crossing over doppi, i quali quindi compaiono come tipi parentali, restando così determinata per difetto la vera distanza di mappa. (d) 0,89.

6.25. (a) $\overline{c^{3,5} sh^{18,4} wx}$ (b) 86,1%.

6.26. (a) *f*; (b) una fase di repulsione; (c) una fase di accoppiamento; (d) sul cromosoma X (legato al sesso); (e) *g-f* = 12,0; *f-od* = 2,5; (f) in nessuna.

6.27. (a) *va⁺ gl⁺ v⁺/va⁺ gl⁺ v⁺* (tipo selvatico) × *va gl v/va gl v* (piante verdi giallastre, con sterilità variabile, con foglie lucenti); (b) *va⁺ gl⁺ v⁺/va gl v*; (c) *gl* sta nel mezzo; (d) *va-gl* = 13,6%, *gl-v* = 18,3%; (e) per il 39%.

6.28. I esperimento: $\overline{sc^{7,6} ec^{9,7} cv}$

II esperimento: $\overline{ec^{10,3} cv^{8,4} ct}$

III esperimento: $\overline{cv^{8,2} ct^{15,2} v}$

Mappa combinata: $\overline{sc^{7,6} ec^{10,1} cv^{8,3} ct^{15,2} v}$

6.29. (a) *Sl S/sl s* (maschi con piumaggio a crescita lenta, di colorargenteo) × *sl s/O* (femmine con piumaggio a crescita rapida di colore dorato); (b) in fase di accoppiamento; (c) il 14,2%.

6.30. Il 50%.

6.31. Il 20%.

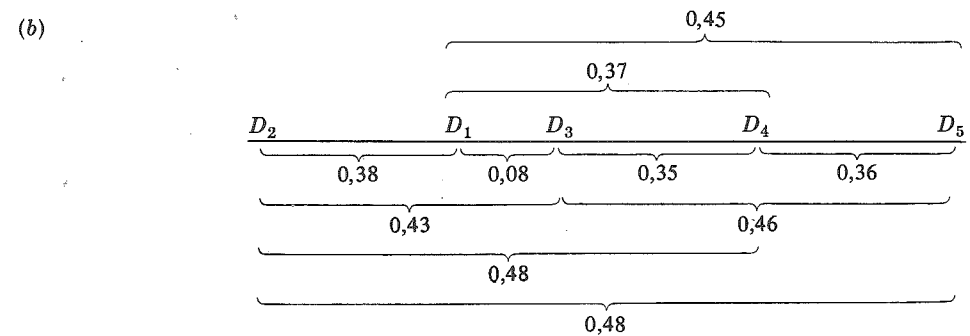
6.32. Il 4%.

6.33.

Geni	In accoppiamento	In repulsione	Media ponderata
<i>S e Id</i>	0,48	0,44	0,47
<i>K e S</i>	0,15	0,27	0,16

6.34. (a)

Geni	<i>D₁D₂</i>	<i>D₁D₃</i>	<i>D₁D₄</i>	<i>D₁D₅</i>	<i>D₂D₃</i>	<i>D₂D₄</i>	<i>D₂D₅</i>	<i>D₃D₄</i>	<i>D₃D₅</i>	<i>D₄D₅</i>
In accoppiamento	0,40	0,08	0,36	—	0,42	0,48	0,47	0,35	0,46	0,38
In repulsione	0,37	—	0,40	0,45	0,45	0,48	0,48	—	—	0,35



(c) (1) I crossing over doppi non individuati fanno sì che nell'esperimento *D₂D₃* si dia una valutazione troppo bassa della vera distanza;
 (2) L'errore di campionatura nei diversi esperimenti porta a stime leggermente diverse dei valori reali;
 (d) 117 unità di mappa; (e) 2,34 chiasmi per tetrade.

6.35. (a) 52,5 conigli "rex": 17,5 conigli normali; (b) sì; (c) *R₁r₂/r₁R₂*, normale; (d) *r₁r₂/r₁r₂* "rex"; (e) 17,14 unità di mappa.

6.36. (a) 2 conigli albi : 1 coniglio nero : 1 marrone; (b) no; (c) *Cb/cB*, conigli con pelo nero; (d) *cb/cb* conigli albi; (e) 34 unità di mappa.

6.37.

Fenotipo	(a)	(b)	(c)
normale	0,6225	0,5225	0,5525
peli attorcigliati	0,1275	0,2275	0,1975
coda corta e ispida	0,1275	0,2275	0,1975
peli attorcigliati e coda corta e ispida	0,1225	0,0225	0,0525

6.38. Per il 54% topi di tipo selvatico, per il 21% topi con pelo crespo, per il 21% topi albini e per il 4% topi albini con pelo crespo.

6.39. (a) 1408 larve di colore giallo, con cute traslucida a chiazze : 1408 larve con bozzolo color ruggine : 16 larve di colore giallo con bozzolo color ruggine : 16 larve con cute traslucida a chiazze : 76 larve di colore giallo con cute traslucida a chiazze e con bozzolo color ruggine : 76 larve di tipo selvatico. Nota: gli errori di arrotondamento possono dare la differenza di un individuo intero in ciascuna di queste classi fenotipiche. (b) 32 651

6.40. (a) 19 964 moscerini con occhi irregolari : 36 moscerini di tipo selvatico; (b) all'incirca 1 : 555; (c) all'incirca 1 : 1289

6.41. (a) (b) (c)

	Pianticelle			Adulti		
	(a)	(b)	(c)	(a)	(b)	(c)
clorofilla normale, antocianina presente	0,7025	0,5025	0,5225	0,9367	0,6700	0,6967
clorofilla normale, antocianina assente	0,0475	0,2475	0,2275	0,0633	0,3300	0,3033
pianta gialla, antocianina presente	0,0475	0,2475	0,2275			
pianta gialla, antocianina assente	0,2025	0,0025	0,0225			

(d) Tutti e tre gli incroci = 25% di mortalità

6.42. (a) Per il 40,9% conigli con pelo aguti a banda larga, per il 22,0% conigli neri, per il 18,9% conigli con pelo aguti a banda stretta e nani, per il 12,1% conigli con pelo aguti a banda stretta, per il 3,1% conigli con pelo aguti a banda larga e nani, per il 3,0% conigli con pelo nero e nani; (b) il 25%; (c) 54,5% di conigli aguti con banda larga; 29,3% di conigli neri; 16,1% di conigli con pelo aguti a banda stretta.

6.43. (a) 55% moscerini di tipo selvatico : 20% moscerini neri : 20% moscerini con ali vestigiali : 5% moscerini neri con ali vestigiali; (b), (c) 50% moscerini di tipo selvatico : 25% moscerini neri : 25% con ali vestigiali

6.44. 250 individui con uova non collose e con bozzolo giallo dorato : 125 individui con uova collose : 125 individui con bozzolo giallo dorato.

6.45. 13 unità di mappa.

6.46. Un carattere dominante può comparire improvvisamente in una popolazione per mutazione di un gene recessivo di tipo selvatico in una forma allelica dominante. Un tale individuo mutante sarebbe eterozigote. (a) no; (b) no; (c) si; (d) no; (e) Sul III cromosoma; (f) sul IV cromosoma; (g) sul cromosoma X (legato al sesso); (h) sul II cromosoma.

6.47. (a) (1, 3) (b) (2, 4) (c) (1, 3)(1, 3) o (1, 3)(2, 4) (d) (1, 3)(2, 3) o (1, 3)(1, 4) (e) (2, 3)(1, 3) o (1, 4)(1, 3) (f) (2, 3)(2, 3) o (1, 4)(2, 3) (g) (2, 4)(1, 3) o (2, 4)(2, 4) (h) (2, 4)(2, 3) o (2, 4)(1, 4) (i) (1, 3) (j) (2, 3) (k) (2, 4) (l) (1, 4)

6.48. 5,83 unità di mappa.

6.49. Il gene *a* segrega indipendentemente da *t* ed entrambi i loci sono strettamente associati ai rispettivi centromeri.

6.50. Dal centromero a *y* = 18,5 unità di mappa; dal centromero a *x* = 26,5 unità di mappa



6.52. I geni *u* e *s* sono associati sullo stesso lato rispetto al centromero ed *u* è più vicino ad esso. Dal centromero a *u* = 16 unità, da *u* a *s* = 14 unità. Il gene *t* è su un altro cromosoma e molto strettamente legato al rispettivo centromero.

Le distribuzioni statistiche

L'ESPANSIONE BINOMIALE

In $(p + q)^n$, *p* e *q* rappresentano le probabilità che si verifichino eventi indipendenti alternativi, mentre la potenza *n*, alla quale il binomio è elevato, rappresenta il numero di prove. La somma dei fattori nel binomio deve dare l'unità, quindi

$$p + q = 1$$

Si ricordi dal cap. 2 che, quando due eventi indipendenti accadono con le probabilità *p* e *q*, allora la probabilità che accadano insieme è *pq*. Cioè la probabilità composta è il prodotto delle probabilità degli eventi indipendenti. Quando esistono possibilità alternative per il verificarsi delle condizioni del problema, le probabilità si sommano.

Esempio 7.1. Lanciando in aria due volte una moneta, con *p* = testa = $\frac{1}{2}$ e *q* = croce = $\frac{1}{2}$, vi sono quattro possibilità.

Prima volta		Seconda volta		Probabilità
testa (<i>p</i>)	(e)	testa (<i>p</i>)	=	p^2
testa (<i>p</i>)	(e)	croce (<i>q</i>)	=	pq
croce (<i>q</i>)	(e)	testa (<i>p</i>)	=	pq
croce (<i>q</i>)	(e)	croce (<i>q</i>)	=	q^2
				1,0

Tutto ciò si può esprimere nel seguente modo:

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1,0$$

(due volte testa) + (una volta testa e una croce) + (due volte croce)

Esempio 7.2. Se si espande il binomio $(p + q)^2$ si ottiene la stessa espressione dell'esempio precedente. Così $(p + q)^2 = p^2 + 2pq + q^2$.

Esempio 7.3. Quando una moneta viene lanciata in aria tre volte, le possibilità di una qualsiasi combinazione tra testa e/o croce si possono ricavare da $(p + q)^3 = p^3 + 3p^2q + 3pq^2 + q^3$. Sia *p* la probabilità che si presenti testa = $\frac{1}{2}$ e *q* la probabilità che si presenti croce = $\frac{1}{2}$.

Numero delle volte in cui compare testa	Numero delle volte in cui compare croce	Termine	Probabilità
3	0	p^3	$(\frac{1}{2})^3 = \frac{1}{8}$
2	1	$3p^2q$	$3(\frac{1}{2})^2(\frac{1}{2}) = \frac{3}{8}$
1	2	$3pq^2$	$3(\frac{1}{2})(\frac{1}{2})^2 = \frac{3}{8}$
0	3	q^3	$(\frac{1}{2})^3 = \frac{1}{8}$

L'espansione di $(p + q)^3$ si trova moltiplicando $(p^2 + 2pq + q^2)$ per $(p + q)$. Questo processo può essere esteso a potenze più alte, ma naturalmente diventa sempre più laborioso. Un metodo rapido di elevare $(p + q)$ a qualunque potenza (*n*) può essere realizzato con queste regole. (1) Il coefficiente del primo termine è uno. La potenza del primo fattore (*p*) è *n*, e quella di (*q*) è ze-