

I CONCETTI DI SPECIE E DI RAZZA

Il concetto di «specie» è uno dei più difficili da definire in Biologia. Apparentemente tutti sanno cosa sia una specie, animale, per esempio. Si sa, per esempio, che la riproduzione avviene solo all'interno di una determinata specie, ossia tra individui conspecifici (i bovini si riproducono soltanto fra di loro, così gli ovini, i caprini, i cavalli ecc.). Ma, se, tanto per fare un esempio, io sono un verro (suino maschio intero, ossia non castrato), quali sono i miei conspecifici, ossia le mie potenziali partner sessuali? Sono esemplari, di sesso femminile, che io riconosco grazie all'olfatto, in base a degli odori, quindi, anche se non ho studiato Zoologia. Allo stesso modo, i piccoli uccelli canori dell'ordine Passeriformi, come i **fringuelli** che Charles Darwin studiò dopo essere approdato alle Isole Galapagos, che si differenziano tra loro soprattutto per la forma e per le dimensioni del becco (Figura 1), caratteristiche funzionali alla cattura di insetti (becco più o meno lungo e sottile, es. lui grosso, Figura 2A) o alla frantumazione di semi (becco grande e robusto, Figura 2B), si riconoscono grazie al canto.

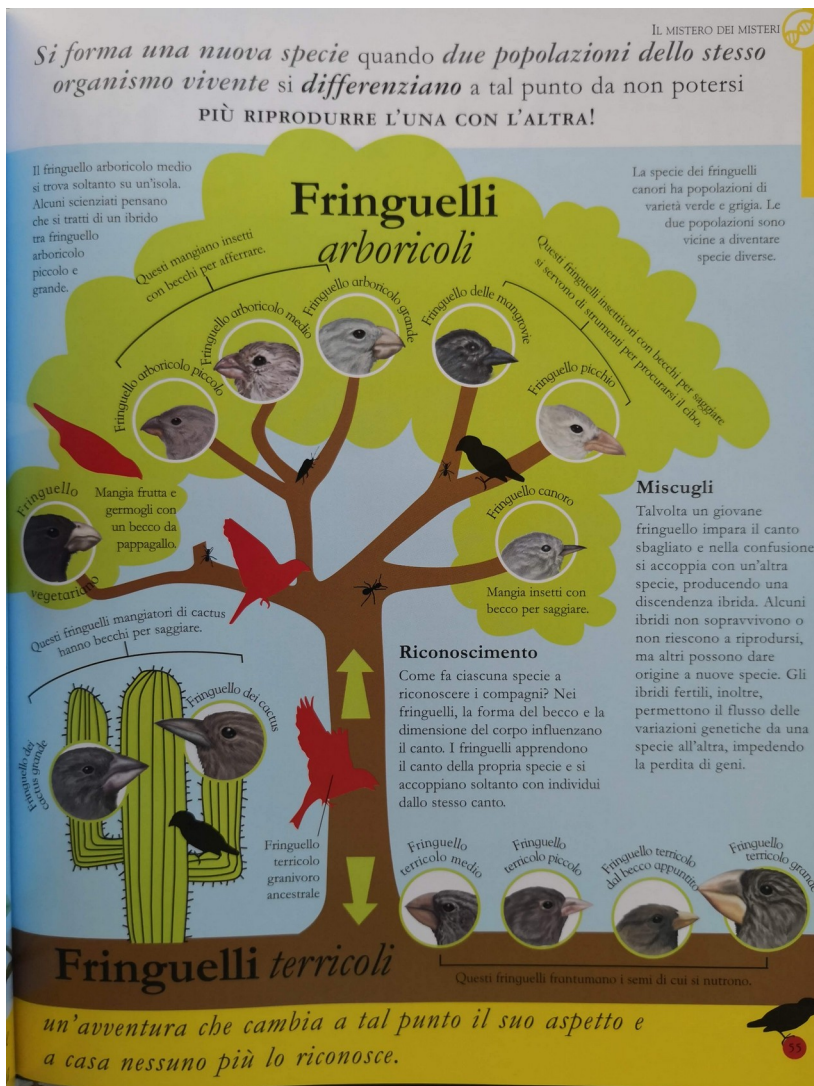


Figura 1. I fringuelli di Darwin.



A

B

Figura 2 A) Il lui grosso, un insettivoro, ha un becco lungo e sottile; B) il becco del frosone, viceversa, è grande e robusto, atto alla frantumazione di grossi semi.

I suddetti meccanismi di riconoscimento, tuttavia, non sono perfetti e ciò fa sì che talvolta un animale, per es. una femmina (nel Regno Animale sono, infatti, le femmine che scelgono) si accoppi con un compagno «sbagliato»: raramente tale tipo di accoppiamento, detto **ibridazione interspecifica**, dà origine ad una nuova specie, dal momento che gli ibridi possiedono caratteristiche intermedie a quelle delle specie parentali, che li rendono disfunzionali, ossia non adatti nè a svolgere il ruolo ecologico (in ecologia si direbbe «ad occupare la nicchia») della specie paterna nè di quella materna. Un accoppiamento fra un maschio dal becco corto e sottile ed una femmina dal becco grande e robusto (o viceversa) esiterebbe, probabilmente, nella nascita di soggetti ibridi che potrebbero avere un becco troppo corto e non abbastanza sottile per catturare piccoli insetti e, nello stesso tempo, troppo piccolo e non sufficientemente robusto per frantumare grossi semi.

Un interessante esempio di ibridazione interspecifica si verifica nel continente nordamericano, in cui convivono diverse specie di **Canidi** (Figura 3).

A continent of canids

Opinions vary on wolf ranges and identities, but most researchers agree that the gray wolf once roamed across much of North America (including into Mexico, not shown) and that the coyote ranged across the west. A new genetic study finds that the red wolf and the eastern wolf (one from Quebec in Canada, bottom) arose later by mixing with coyotes as they expanded eastward.

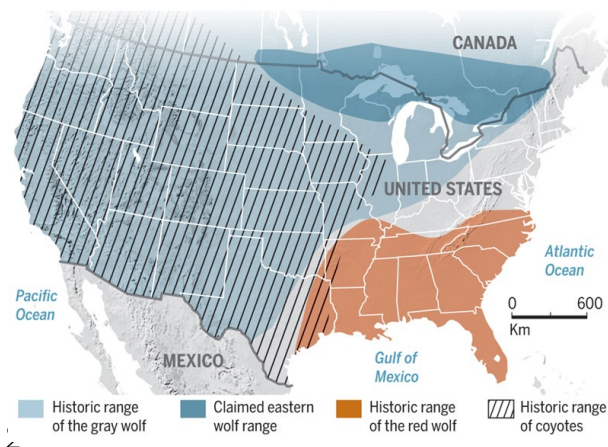


Figura 3. In Nordamerica gli areali di distribuzione del coyote (area tratteggiata) e del lupo orientale (grigio azzurro) sono confinanti: lungo questo «confine», detto **fascia di ibridazione**, lupi orientali e coyote si possono incontrare ed, occasionalmente, accoppiare tra loro.

L'accoppiamento fra lupi orientali e coyote genera esemplari ibridi, detti *coywolves*, a propria volta fertili e, pertanto, in grado di accoppiarsi. Tuttavia, il successo riproduttivo dei *coywolves* è minore di quello dei soggetti, geneticamente puri, appartenenti alle due specie parentali, e dipende dalla cosiddetta *coyote ancestry*, ossia dal tasso di ascendenza di coyote (in pratica, dalla % di geni di coyote che un ibrido possiede, che dipende da quanti antenati coyote ha), soprattutto per la scarsa abilità che gli ibridi dimostrano nella predazione di grossi erbivori selvatici come gli alci (Figura 4).

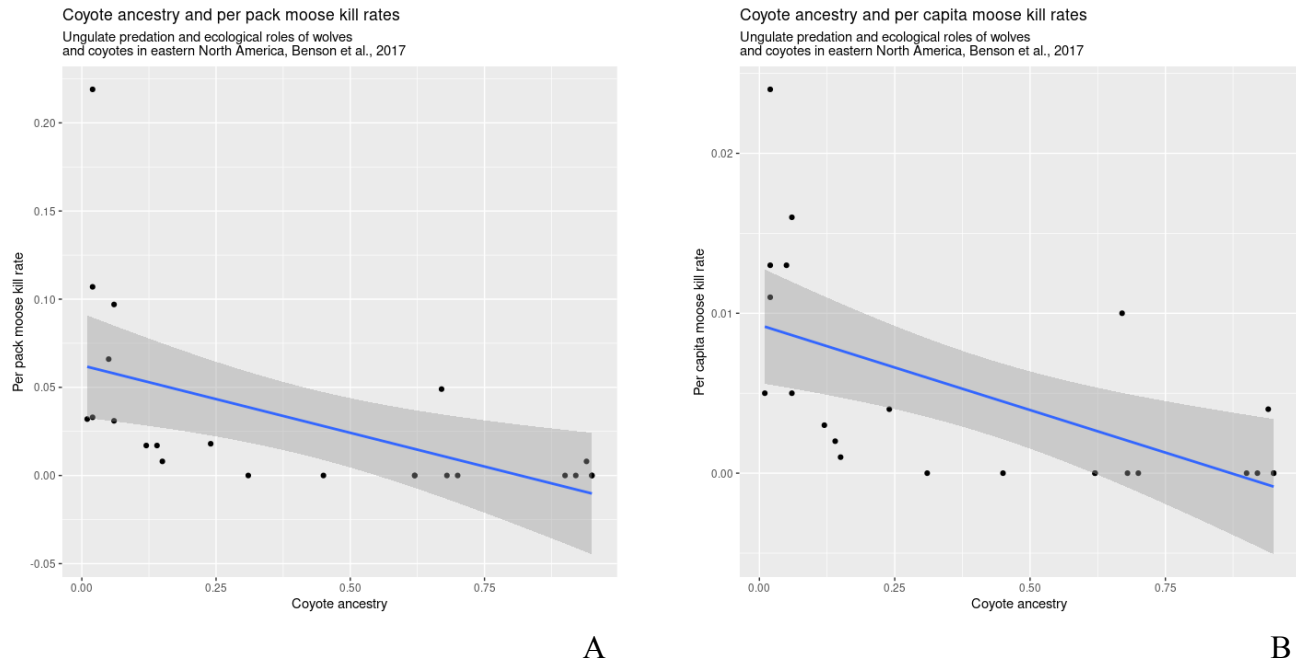


Figura 4. All'aumentare del numero di antenati coyote che gli esemplari ibridi di un branco di *coywolves* possiedono, il tasso di predazione di alce diminuisce, sia per branco sia per singolo canide.

Come sono stati stimati i tassi di predazione?

Gli scienziati furono in grado di monitorare gli spostamenti e l'attività di 23 branchi di lupi ibridi poiché un certo numero di canidi di ogni branco era stato catturato e munito di radiocollare satellitare; seguendo le tracce degli animali sulla neve, ed il segnale emesso dal collare GPS di ogni esemplare radiocollare, gli autori dello studio effettuarono sopralluoghi in tutti i siti in cui una preda (cervo o alce) era stata uccisa da un determinato branco e contarono quanti cervi e quanti alci il branco stesso aveva predato durante tutto l'inverno. Questo numero fu diviso per il numero di giorni durante i quali il branco era stato monitorato (approssimativamente, per la durata dell'inverno), ottenendo il numero medio di alci e, rispettivamente, di cervi uccisi da ogni branco in un singolo giorno: per esempio, se 70 cervi vengono uccisi in 150 giorni, il tasso di predazione di cervo per branco e per giorno sarà:

$70 \text{ cervi} / 150 \text{ giorni} \cong 0,47 \text{ cervi al giorno per branco (tasso di predazione di cervo per branco)}.$

Per ottenere il tasso di predazione di cervo per singolo canide, basterà dividere il tasso di predazione di cervo per branco per il numero di canidi (lupi ibridi) che formano il branco stesso.

Se, per esempio, il branco di coywolves comprendesse 8 canidi, il tasso di predazione di cervo per singolo canide sarebbe:

$0,47 \text{ cervi uccisi al giorno dal branco} / 8 \text{ canidi nel branco} \cong 0,058 \text{ cervi uccisi al giorno per canide.}$

Infine, la quantità di carne di alce e di cervo disponibile per ogni branco fu calcolata attraverso la stima della massa corporea delle carcasse dei cervidi uccisi, effettuata a partire dalle dimensioni delle ossa lunghe degli arti (femore, omero ecc.), recuperate dai resti delle prede stesse, ossia delle parti non consumate delle carcasse dei cervi e degli alci uccisi dai lupi.

Un risultato interessante fu che, sebbene branchi più numerosi di *coywolves* uccidessero qualche cervo in più rispetto a branchi più piccoli, ciò non era sufficiente a compensare il fatto che ogni singola preda doveva essere ripartita fra un numero maggiore di membri del branco, ciascuno dei quali, pertanto, consumava una quantità di carne di cervo minore rispetto a quella consumata, in media, dai coywolves di branchi più piccoli (Figura 5).

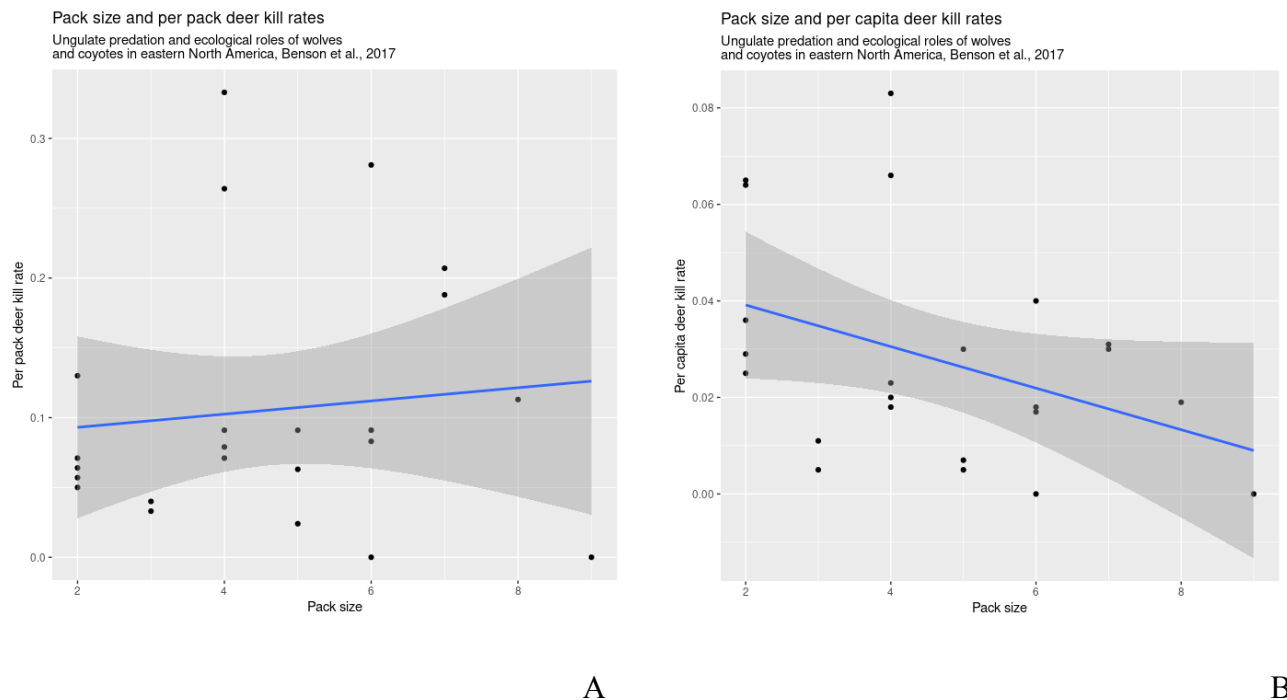


Figura 5. Branchi di *coywolves* più numerosi uccidono qualche cervo in più, ma non abbastanza per compensare il fatto che la carcassa di ogni singolo cervo dovrà essere ripartita fra un maggior numero di lupi ibridi.

Quale lezione si può trarre dai risultati di questo interessante studio? L'**ibridazione interspecifica tra lupi orientali e coyote comporta una riduzione dell'efficienza degli ibridi come predatori** e, pertanto, della loro capacità di sopravvivere e di riprodursi (la cosiddetta *fitness*). Questo fenomeno è stato osservato anche in Piemonte, in cui un branco di esemplari ibridi lupo-cane si è recentemente formato in Valle di Susa (TO) ed è oggetto di studio da parte dei ricercatori dell'Università di Torino.

Anche in questo caso gli ibridi dovrebbero rivelarsi predatori meno efficienti, soprattutto a causa delle minori dimensioni delle loro arcate dentarie, dei singoli denti e, quindi, della forza del morso (Figura 6).

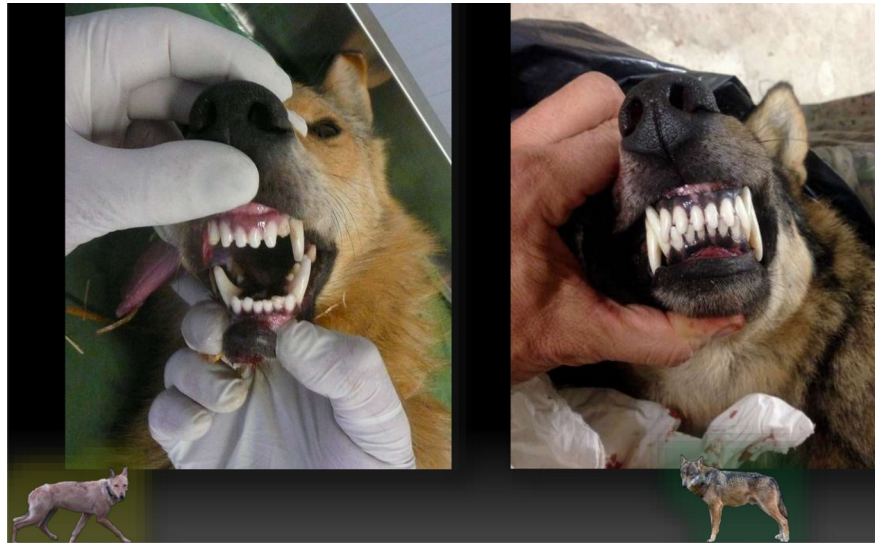


Figura 6. Denti di un ibrido lupo-cane (a *sinistra*) e di un lupo (a *destra*).

La Natura, pertanto, contrasta gli ibridi, agendo da **barriera riproduttiva post zigotica**¹: non impedisce la riproduzione fra esemplari di specie diverse ma riduce la *fitness* degli ibridi. Questi ultimi, pur essendo essi stessi fertili, ossia in grado di riprodursi a loro volta, alla prova dei fatti dimostrano di cavarsela meno bene di ciascuna delle specie parentali: sono più grandi dei coyote e, quindi, avendo un fabbisogno energetico² maggiore di questi ultimi, non possono accontentarsi di prede di piccole dimensioni come i cani della prateria (roditori simili alle marmotte) o i castori; nello stesso tempo, sono predatori di cervi ed alci meno efficienti dei lupi.

1 Lo **zigote** è la prima cellula di un nuovo individuo, e si forma attraverso l'unione del gamete maschile (spermatozoo) e del gamete femminile (ovocita).

2 Il **fabbisogno energetico** di un animale aumenta all'aumentare del peso corporeo.

Un altro esempio interessante è rappresentato dai camosci, taxon rappresentato, in Italia, da due specie differenti (Figura 7).



Figura 7. A) Camoscio alpino (*Rupicapra rupicapra*); B) camoscio appenninico (*Rupicapra pyrenaica ornata*).

In questo caso la barriera riproduttiva, ossia il fattore che impedisce oppure ostacola la riproduzione fra le due specie di camoscio, è la distanza geografica: vivendo su catene montuose differenti, a centinaia di km di distanza, camosci alpini ed appenninici non si possono incontrare.

Ma perchè esistono specie diverse di lupi, camosci ecc.? Non solo, ma per quale motivo i camosci alpini ed appenninici vengono classificati in specie distinte anziché essere considerati due semplici varianti (razze o sottospecie) di un'unica specie?

Per rispondere a questa domanda occorre, innanzitutto, tener conto della natura non esatta delle scienze biologiche, nel senso che non esiste una formula matematica che consenta di classificare gli organismi in modo oggettivo (indipendentemente dall'opinione dei singoli zoologi) ed inequivocabile. La classificazione degli organismi, detti anche *taxa*, allora, dev'essere considerata come un'**ipotesi scientifica** che, basandosi su una serie di evidenze empiriche, ossia di dati sperimentali, osservazioni ecc., è, per sua stessa natura, provvisoria e mai definitiva, e suscettibile di essere modificata qualora nuovi dati e/o nuove osservazioni diventino disponibili.

Quali sono le evidenze empiriche, ossia i dati, su cui si basa la classificazione biologica?

1) **Distanza genetica**: è la % di nucleotidi, o basi azotate, differenti fra due sequenze omologhe (lo stesso tratto di DNA in animali diversi); in generale, **la variabilità genetica all'interno della stessa specie è < 0,02** o 2%. Una distanza genetica > 0,02 indica, allora, che due popolazioni geografiche (sottospecie o razze) si stanno differenziando, a causa dell'isolamento geografico e quindi, genetico, in specie diverse (Figura 8).

```
> myostatin.dist
      baboon bovine chicken ovine
bovine      0.08
chicken     0.29    0.32
ovine      0.09    0.02    0.33
zebra_fish  0.67    0.64    0.70    0.63
```

Figura 8. L'analisi filogenetica più semplice si basa sul calcolo delle distanze fra coppie di sequenze nucleotidiche, le quali diventano gli ingressi di una matrice che, tramite algoritmi di clusterizzazione, viene convertita in un albero filogenetico. La distanza fra due sequenze è definita come numero atteso di sostituzioni nucleotidiche per sito nucleotidico (generalmente < 1) e può essere espressa come semplice proporzione dei siti variabili o distanza **p**.

Tuttavia le cose non sono così semplici, dal momento che la distanza genetica fra coppie di popolazioni della stessa specie dipende anche dal tipo di gene che viene scelto per misurare la distanza stessa (il DNA mitocondriale, per es., si evolve più rapidamente della maggior parte del DNA nucleare), nonchè dal modello matematico del processo di sostituzione nucleotidica su cui la stima della distanza genetica si basa, ossia da come vengono calcolate le probabilità che ciascuno dei 4 nucleotidi del codice genetico, Adenina (A), Timina (T), Citosina (C) e Guanina (G) venga sostituito da uno degli altri tre (Figura 9).

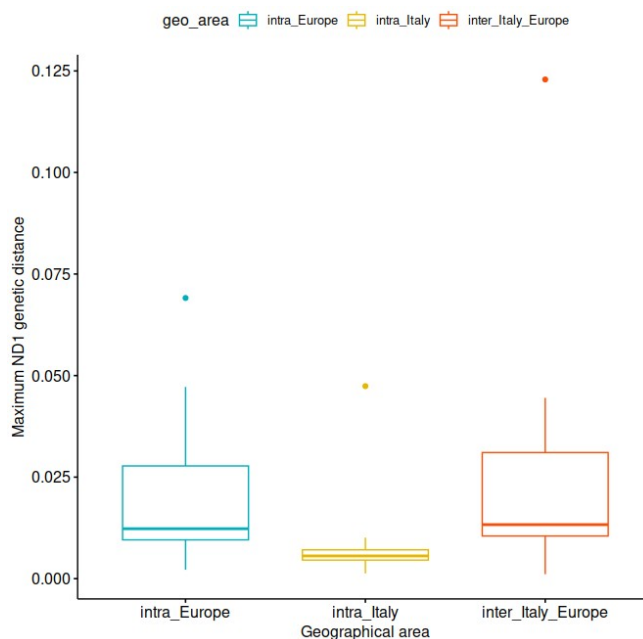


Figura 9. Variabilità intraspecifica in 15 specie di pipistrelli, calcolata dalle distanze genetiche del gene mitocondriale ND1 (NADH deidrogenasi); in azzurro, all'interno dell'Europa continentale; in giallo, all'interno dell'Italia; in rosso, tra l'Italia e l'Europa continentale. Il grafico illustra il fatto che, mentre la variabilità genetica all'interno dell'Europa continentale e tra l'Italia e l'Europa non sono significativamente diverse, all'interno della regione geografica italiana la suddetta variabilità è molto ridotta, ma ciò potrebbe essere dovuto all'insufficiente numero di campioni analizzati. Si può dedurre che le Alpi non costituiscano una barriera insormontabile per questi mammiferi volatori, altrimenti la variabilità genetica fra esemplari della stessa specie catturati rispettivamente a nord ed a sud della catena alpina sarebbe maggiore di quella osservata fra individui che vivono a nord delle Alpi. In caso contrario, ossia se i pipistrelli non riuscissero ad attraversare le Alpi, il rettangolo rosso dovrebbe essere molto più alto di quello azzurro.

Perché esistono differenze genetiche fra individui della stessa specie?

Questo fenomeno, definito **variabilità genetica individuale**, è dovuto alle **mutazioni geniche**, errori che si verificano, per motivi casuali, quando una cellula si prepara a dividersi in due cellule figlie e deve, pertanto, reduplicare il proprio DNA (Figura 10).

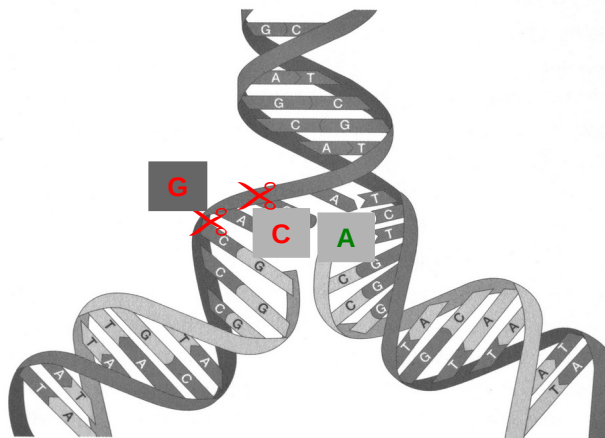


Figura 10. Il meccanismo della sostituzione nucleotidica. In seguito alla rottura dei ponti H (legami chimici tra le basi azotate complementari di ogni coppia), le due catene polinucleotidiche del filamento originario, di colore grigio scuro, si separano e ciascuna di esse fa da stampo, sul quale avviene l'assemblaggio di una nuova catena complementare, di colore grigio chiaro. Se, però, una delle catene del filamento originario si rompe, come indicato dalle forbici, subentra un processo di riparazione del DNA che, in questo caso, dovrebbe ripristinare l'Adenina andata persa. In alcuni, rarissimi casi, tuttavia, il processo di riparazione, invece di aggiustare il DNA correttamente, ripristinando la sequenza nucleotidica originaria, inserisce, nel sito in cui si trovava la A, un nucleotide differente, per es. una Guanina: in questo caso, la A sarà stata sostituita da una G. Di conseguenza, anche la corrispondente base complementare sarà diversa: la T verrà sostituita da una C. Siccome il filamento gemello di DNA non ha subito alcuna mutazione, come risultato della reduplicazione si saranno formati due filamenti figli leggermente diversi.

La sostituzione di un nucleotide in un determinato gene «codificante», ossia destinato ad essere trascritto in RNA messaggero, il quale verrà successivamente tradotto in una catena di amminoacidi, ossia in una proteina, può provocare la sintesi di una forma difettosa, non funzionante della proteina stessa, come nel caso della **miostatina**, una proteina che inibisce lo sviluppo dei muscoli scheletrici prima della nascita evitando, così, che si verifichino problemi durante il parto. In Natura, infatti, le femmine dei mammiferi devono essere in grado di partorire da sole, e ciò dovrebbe valere anche per quelle degli animali domestici. Tuttavia, all'inizio del Novecento, in alcune razze bovine europee, come la Belga, la Piemontese e altre, si sono diffuse almeno due mutazioni del gene nucleare che codifica la miostatina (Figura 11).

Tutto ciò evidenzia un interessante fenomeno: al medesimo carattere fenotipico, in questo caso l'aumentato sviluppo dei muscoli scheletrici (*iperplasia muscolare congenita*), non corrisponde necessariamente, lo stesso genotipo, ossia il possesso della stessa sequenza nucleotidica al *locus* (il tratto di DNA) che controlla quella particolare caratteristica, in questo caso attraverso la sintesi della miostatina. Infatti, quest'ultima proteina può non funzionare perché uno o più amminoacidi della catena poliaminoacidica che la costituisce sono stati sostituiti o eliminati a causa di mutazioni diverse ma, in ogni caso, **l'effetto fenotipico del suo non funzionamento sarà sempre lo stesso**: l'aumento dello sviluppo dei muscoli scheletrici fin dalla nascita. Allora, nella razza Belga e nella Piemontese questa caratteristica è comparsa a causa di mutazioni diverse ed indipendenti e non è pertanto stata ereditata da un antenato comune: questo fenomeno, la similarità fenotipica non accompagnata da identità genetica, è definito **omoplasia**. L'omoplasia provoca l'**evoluzione convergente**, ossia una somiglianza fenotipica, o morfologica, fra *taxa* (gruppi di organismi) che, non essendo strettamente imparentati fra loro, hanno ereditato un determinato carattere fenotipico da antenati diversi (Figura 13).

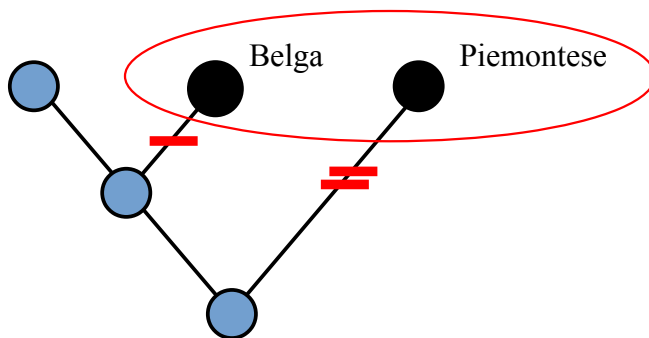


Figura 13. Le razze bovine Belga e Piemontese, se venissero classificate nella stessa categoria in base alla somiglianza fenotipica dovuta all'iperplasia muscolare congenita, formerebbero un **gruppo polifiletico**, ossia artificiale.

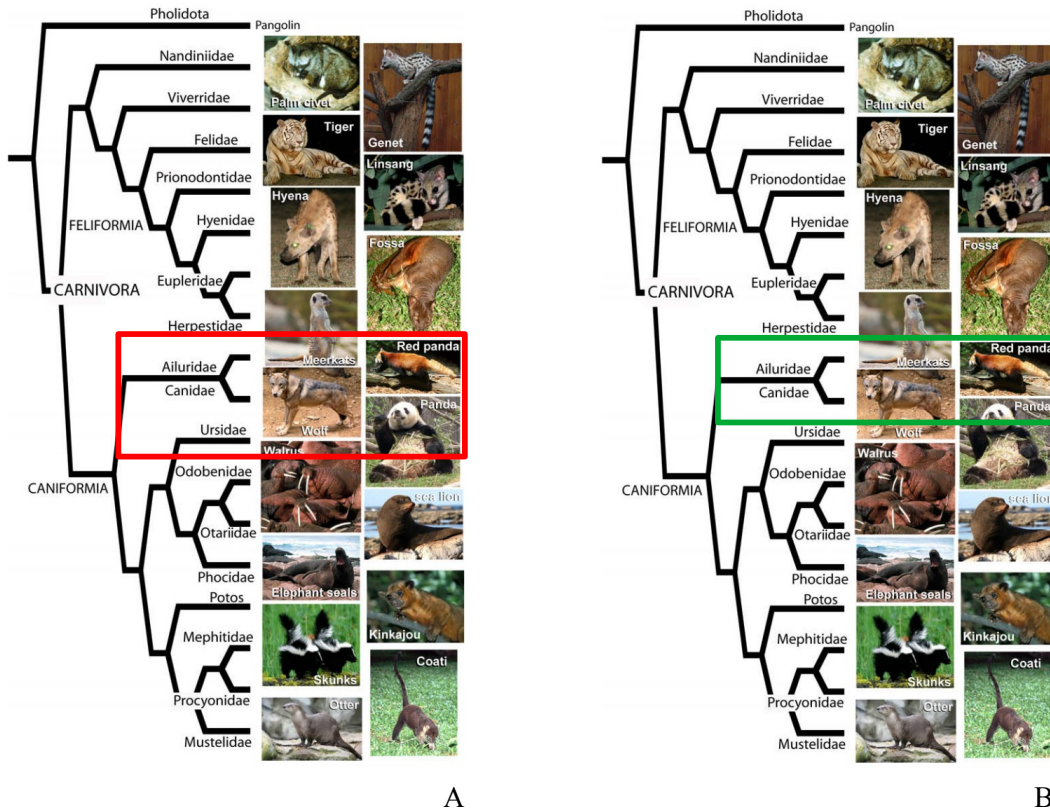


Figura 14. A) Il panda rosso e il panda gigante rappresentano un gruppo polifiletico (non sono strettamente imparentati fra di loro); B) i Canidi e il panda rosso formano un gruppo monofiletico, ossia discendono da un antenato comune.

2) La classificazione degli organismi, quindi, non può basarsi soltanto su **caratteri morfologici**, sebbene questi ultimi continuino ad essere utilizzati. Sempre più spesso, infatti, la classificazione dei vari taxa, effettuata con i metodi dell'**anatomia comparata**, gli unici disponibili fino agli anni '50 del secolo scorso, viene sottoposta a revisione sistematica con metodi molecolari. Tali metodi prevedono il confronto delle informazioni genetiche originali (DNA nucleare e mitocondriale) tra animali differenti, anziché del prodotto della traduzione delle informazioni stesse e, pertanto, sono molto più potenti. Infatti, la traduzione del DNA nelle varie strutture anatomiche che costituiscono i caratteri biometrici, ossia le caratteristiche morfologiche che possono essere sottoposte a misurazione (forma e dimensione dei denti, per esempio) è influenzata da vari fattori ambientali come l'alimentazione, le condizioni di salute ecc., di cui è difficile, se non impossibile, tener conto e che, non essendo ereditabili (non vi è alcuna traccia di tali fattori nel DNA), sono irrilevanti dal punto di vista della ricostruzione della storia evolutiva degli organismi (oggetto dell'**analisi filogenetica**) e della classificazione delle relazioni di parentela che li legano, di tipo antenato-discendente (oggetto dell'**analisi cladistica**). Nonostante ciò, l'esistenza di significative differenze fenotipiche, fra taxa che dovrebbero essere strettamente imparentati, come nel caso dei camosci, non può essere ignorata. All'interno del genere *Rupicapra* si osservano anche **differenze etologiche**, poiché alcuni comportamenti sono stati osservati nel camoscio alpino ma non in quello appenninico, o viceversa, e **differenze biogeografiche**, che dipendono dalla

diversa distribuzione geografica dei due taxa. All'aumentare della distanza geografica che separa gli areali di distribuzione di due popolazioni, infatti, aumenta anche la distanza genetica: non solo all'interno di ciascuna popolazione si verificano mutazioni differenti (esclusive) ma le mutazioni stesse tendono a circolare all'interno di ciascuna popolazione, senza potersi diffondere da una popolazione all'altra, dal momento che la distanza e/o la presenza di vere e proprie barriere geografiche (catene montuose, aree desertiche, oceani ecc.) impedisce o, comunque, rende estremamente improbabile lo scambio di migranti fra una popolazione e l'altra. Le due popolazioni, quindi, inizieranno a divergere dal punto di vista genetico, evolvendosi in modo indipendente.

L'insieme di queste differenze indusse, a metà degli anni '80 del secolo scorso, lo zoologo Sandro Lovari ad elevare il camoscio appenninico, che fino ad allora era sempre stato considerato una semplice sottospecie di quello alpino, al rango di specie separata (*Rupicapra pyrenaica ornata*).

Spesso, invece, le differenze osservate non sono sufficienti a classificare due *taxa* in specie distinte: è, questo, il caso dei bisonti nordamericani (Figura 15).

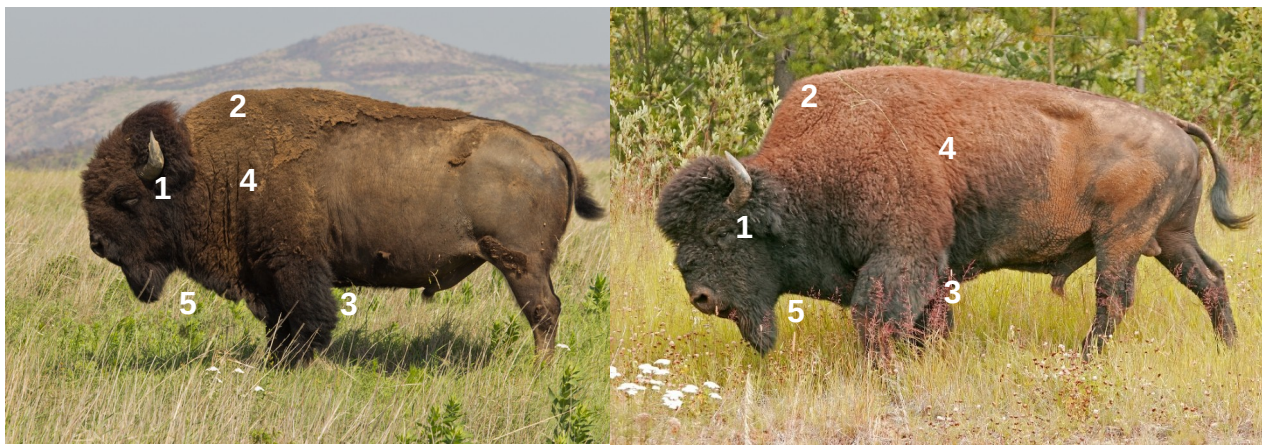
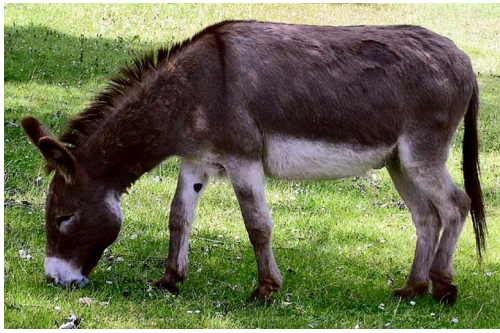


Figura 15.

A sinistra: **bisonte di pianura** (*Bison bison bison*). 1. Corna circondate da un folto strato di pelo lanoso; 2. profilo di garrese e dorso leggermente convesso; 3. braccio rivestito posteriormente da folto pelo; 4. mantello anteriore nettamente distinto; 5. criniera molto sviluppata sul canale delle ganasce e sul collo.

A destra: **bisonte dei boschi** (*Bison bison athabasca*). 1. Lo strato che circonda le corna non è lanoso; 2. grande gobba (coppo), situata cranialmente all'asse dell'arto anteriore; 3. braccio non rivestito da folto pelo; 4. mantello anteriore non distinto; 5. criniera meno sviluppata.

Il bisonte di pianura e il bisonte dei boschi sono, dunque, sottospecie (o razze) diverse della stessa specie; possono anche essere viste come due probabili, future specie distinte, a condizione che la condizione di isolamento geografico in cui vivono (*allopatria*) persista per un periodo di tempo sufficiente, dell'ordine delle centinaia di migliaia di anni, a far sì che si accumulino, nei due *taxa*, un numero così elevato di mutazioni genetiche esclusive da determinare la comparsa di differenze veramente significative, sia genetiche sia fenotipiche. Queste differenze potrebbero essere tali da rendere le due specie **incompatibili dal punto di vista riproduttivo**, come nel ben noto caso del cavallo e dell'asino: tra questi due equidi l'accoppiamento è sì possibile ma genera ibridi sterili. Ad esso si fa, comunque, ricorso da secoli, facendo accoppiare un asino con una cavalla per produrre un ibrido, il **mulo**, che unisce la forza del cavallo alla resistenza dell'asino (Figura 16).



A



B

Figura 16. A) Asino; B) mulo.

Ciò che si è detto per i bisonti americani vale anche per i mammiferi domestici, nel senso che la forma selvatica e quella domestica delle specie allevate (uro e bovino domestico, pecora selvatica e domestica, capra selvatica e domestica, cavallo selvatico e domestico, lupo e cane, gatto selvatico e domestico ecc.) non sono, appunto, specie distinte ma forme diverse della stessa specie. Infatti, la domesticazione, ossia l'evoluzione della forma domestica delle varie specie animali allevate, è un fenomeno molto recente che, nel caso del lupo, risale a ~ 30000 anni fa mentre, nel caso delle altre specie, ad appena $8000 \div 5000$ anni fa: in questo breve (in senso evolutivo) lasso di tempo non si è potuto verificare un numero di mutazioni genetiche sufficiente a rendere possibile la comparsa di nuove specie. Le varie forme domestiche delle specie animali allevate sono, quindi, sottospecie o razze della specie, selvatica, da cui discendono; ma **come si forma una nuova razza?**

L'origine delle razze nelle specie animali domestiche

Da secoli gli allevatori selezionano particolari stati di determinati caratteri poiché considerati vantaggiosi, essendo legati all'attitudine a produrre maggiori quantità di carne, latte o lana rispetto ad altri individui, a fornire beni qualitativamente superiori o a riprodursi con maggiore precocità e prolificità. I criteri che gli allevatori applicano per scegliere i riproduttori (scelta sessuale) sono, però, spesso influenzati da preferenze estetiche per particolari varianti legate al colore ed alla pezzatura del mantello, alla pigmentazione delle mucose apparenti nonché alla forma ed alle dimensioni delle corna e, in alcune specie come il cane e il gatto, anche della testa. Tali stati dei suddetti caratteri compaiono, raramente, in qualche esemplare in seguito a determinate mutazioni geniche cosicché, ogni tanto, nasce un soggetto diverso dagli altri che, suscitando curiosità ed interesse, viene scelto come riproduttore con la speranza che trasmetta le proprie caratteristiche alla prole (Figura 17).



Figura 17. Un esemplare di dromedario dal mantello bianco.

Supponiamo che, un giorno, sia nata una femmina di dromedario dal mantello bianco: poiché inizialmente tale soggetto è unico, volendo utilizzarlo come riproduttore dovrà necessariamente essere montata da un dromedario «normale», dal mantello bruno più o meno scuro, sperando che, prima o poi, uno dei suoi figli erediti lo stato materno del carattere (mantello bianco). Se si è fortunati, il figlio bianco è un maschio: a questo punto, per stabilizzare il fenotipo non si dovrà far altro che far accoppiare madre e figlio fra loro.

Quindi, almeno nelle prime generazioni, **un certo ricorso alla consanguineità è pressoché inevitabile** se si vuole selezionare una popolazione di esemplari che presentino caratteristiche uniformi. Tutti i cavalli di razza Purosangue Inglese, per esempio, discendono da 50 fattrici, le Royal Mares, e da appena quattro stalloni: Byerly Turk, Darley Arabian, Godolphin Barb e Curwen Bay Barb dai quali si stima provenga circa un terzo dei geni della popolazione attuale.

Le mutazioni avvengono, però, per motivi casuali e sono del tutto imprevedibili; allora, in un contesto storico in cui in ogni area geografica una popolazione di animali appartenenti ad una certa specie domestica viene allevata in condizioni di relativo isolamento geografico e, quindi, genetico, si assiste alla comparsa di mutazioni e, quindi, di varianti morfologiche diverse in aree diverse ed alla conseguente differenziazione fra popolazioni geografiche (razze) locali (si pensi, per esempio, al fatto

che quasi ogni vallata alpina ospita, oppure ospitava, una razza ovina e/o caprina diversa e fenotipicamente riconoscibile).



Figura 18. Capra di razza Sempione, una popolazione autoctona del vercellese, attualmente estinta.

Gli allevatori di qualsivoglia specie animale non apprezzano la variabilità fra individui ma perseguono l'omogeneità nei caratteri morfologici: gli stati dei vari caratteri devono uniformarsi ad un preciso «standard di razza», pena l'esclusione del soggetto dal registro che annovera tutti gli individui riconosciuti come appartenenti ad una determinata razza (*Libro Genealogico*, *Registro Anagrafico*, *Studbook*, *Zuchtbuch*) e, quindi, dalla riproduzione. Gli stati dei vari caratteri devono, quindi, essere standardizzati, ossia uniformarsi il più possibile ad un modello ideale di riferimento; ogni scostamento da tale modello è considerato un'anomalia, un difetto.

LA VARIABILITÀ GENETICA

Genetica: branca delle scienze biologiche che studia la trasmissione dei **caratteri ereditari**.

Caratteri ereditari: caratteristiche **morfologiche, funzionali, immunologiche e biochimiche degli esseri viventi che sono trasmissibili da una generazione all'altra**.

Variabilità individuale: in una popolazione (animale o vegetale) non esistono due individui perfettamente identici, ossia che manifestino lo stesso stato in ciascun carattere.

Fenotipo: insieme degli stati di tutti i caratteri di un individuo.

Confrontando il fenotipo di individui diversi si possono stabilire **relazioni fenetiche**, basate sulle somiglianze e sulle differenze osservate fra gli stati di caratteri omologhi negli organismi sottoposti a confronto.

Quando si considerano soggetti legati da rapporti di parentela (genitori-figli, fratelli pieni, mezzi fratelli ecc.) tali somiglianze e differenze si manifestano non in modo casuale, ma secondo modalità costanti e ripetibili o **leggi**.

La variabilità è la chiave del processo evolutivo: poiché tutti gli individui di una popolazione sono diversi gli uni dagli altri (almeno per qualche carattere), non tutti avranno la stessa probabilità di sopravvivere e di riprodursi; in altri termini, non tutti hanno la stessa **efficienza riproduttiva** o "**fitness**". Quindi, se i soggetti più adatti all'ambiente in cui vivono, in quanto portatori dei caratteri "migliori" in quella precisa situazione ambientale, hanno maggiori probabilità di riprodursi, le frequenze di quei caratteri sono destinate ad aumentare nella popolazione nel corso delle generazioni, mentre si assiste alla progressiva rarefazione dei tipi di individui meno adatti in quanto caratterizzati da prestazioni riproduttive inferiori a quelle degli individui migliori.

Selezione naturale: processo basato sulla scelta riproduttiva o **selezione tra varianti che già esistono** in una determinata specie indipendentemente dall'ambiente.

«... la selezione naturale è cieca e non direzionale, essendo solo la conseguenza delle interazioni tra variabilità e ambiente. LA SELEZIONE NATURALE ESISTE SOLO NEL PRESENTE CONTINUO DEL MONDO NATURALE: non ha memoria dei suoi stadi precedenti, né ha progetti per il futuro o un fine portante. Non è una forza di vaglio con un'esistenza indipendente, che possa essere personificata come la Morte con il suo manto nero e con la falce... IL FINE ADATTATIVO, come concetto, È ANTITETICO RISPETTO ALL'ESSENZA DELLA SELEZIONE NATURALE, che è una forza cieca e casuale... In *On the origin of species by means of natural selection, or, the preservation of favoured races in the struggle for life* (1859), “Darwin usò la selezione «artificiale», quella usata dagli allevatori di animali domestici che tentano di promuovere i caratteri desiderabili, come metafora per la selezione «naturale», il processo che ha luogo nel mondo naturale. Ma la selezione artificiale è una metafora imperfetta per la selezione naturale, in quanto gli allevatori, com'è ovvio, hanno effettivamente ragioni esplicite per selezionare alcuni tratti rispetto ad altri. Contrariamente alla selezione naturale, gli allevatori hanno memoria, progetti e scopi. **Selezionano lo stesso carattere, generazione dopo generazione, per produrre una tendenza evidente:** pecore dalla lana sempre più folla, bestiame dalla carne sempre più abbondante e così di seguito. Difficilmente la selezione naturale potrebbe essere più diversa. Contrariamente agli allevatori, che selezionano con efficacia la stessa cosa, giorno dopo giorno, l'ambiente è sempre mutevole. I caratteri favoriti in una generazione possono divenire meno favorevoli – o persino svantaggiosi – in quella successiva. Il grado al quale diversi caratteri sono selezionati, positivamente o negativamente, cambia di istante in istante, in risposta ad una quantità di forze ecologiche tra loro interconnesse... le forze tramite le quali la selezione agisce sui caratteri cambiano continuamente... seguendo le pressioni dell'ambiente, e interagiscono tra di loro in molti modi, impossibili da percepire e quindi da prevedere. È difficile individuare andamenti a lungo termine...” (pag. 94-95).

Si fa spesso confusione fra struttura e processo, tra la forma dell'albero della vita e le forze che lo hanno creato.

“La visione classica della natura è rimasta sostanzialmente invariata dai tempi di Aristotele e Platone... Nel mondo classico gli esempi reali delle specie si discostavano in maggiore o minore grado dal loro archetipo. La variazione era percepita come un effetto collaterale trascurabile dell'imperfezione del mondo contingente confrontato con la perfezione platonica degli archetipi. DARWIN SPOSTÒ LE VARIAZIONI DALLA LORO NICCHIA DI DETTAGLIO TRASCURABILE AL CENTRO STESSO DELLA SUA TEORIA. Era la variazione a fornire la materia prima per la selezione naturale; la variazione non era una questione di imperfezione nei confronti della quale scuotere il capo con rassegnazione, bensì una parte centrale della vita, senza la quale non avrebbe potuto esserci evoluzione. Darwin vedeva l'evoluzione come un processo di lento e costante cambiamento. Per azione della selezione naturale le popolazioni variavano la loro forma e il loro comportamento per tenere il passo dell'ambiente in continua mutazione. Su scale di milioni di anni, una specie si sarebbe lentamente mutata in un'altra... le specie potevano mutare lungo percorsi imprevedibili, seguendo il capriccio dell'interazione della variabilità con l'ecosistema infinitamente complesso e continuamente mutevole» (pag. 119-121).

Caratteri qualitativi: caratteri **controllati da una o da poche coppie di geni il cui effetto singolo a livello fenotipico è così ampio da essere facilmente riconoscibile**, dando origine a classi fenotipiche discrete, cioè ben distinte, per esempio mantello bianco o nero, unito o pezzato, corna presenti o assenti. I caratteri qualitativi presentano una **variabilità discontinua** e **non sono influenzati dall'ambiente**.

Caratteri poligenici o multifattoriali: caratteri **controllati da un numero elevato di coppie di geni ognuno dei quali ha un effetto fenotipico troppo piccolo per essere riconosciuto singolarmente**. I caratteri poligenici manifestano una **variabilità continua** da un valore minimo ad un valore massimo e sono influenzati dall'ambiente. Si possono distinguere tre tipi di caratteri poligenici:

1. **caratteri quantitativi:** stabilito un intervallo di variazione, **gli stati possono assumere tutti i valori compresi tra il limite inferiore ed il limite superiore** (taglia, peso, velocità di accrescimento, quantità di latte prodotto);
2. **caratteri meristici:** **gli stati possono assumere solo i valori interi compresi nell'intervallo di variazione** (età della maturità sessuale, dimensione della figliata, numero di uova deposte);
3. **caratteri soglia:** sono presenti o assenti in un individuo.

Selezione artificiale: selezione operata dall'uomo sugli animali d'allevamento allo scopo di migliorarne le prestazioni produttive. Gli allevatori scelgono gli animali più produttivi e li usano come riproduttori, presupponendo che **almeno una parte del vantaggio mostrato da questi individui sia trasmissibile alla prole**.

Coefficiente di ereditabilità: misura la **quota della variabilità fenotipica totale attribuibile alle differenze genetiche individuali e, quindi, trasmissibile ai discendenti**. Se tale quota è diversa da zero, gli individui con **valore fenotipico** maggiore possono trasmettere alla generazione successiva una parte del loro vantaggio, nella misura in cui esso dipende da geni che hanno un effetto più favorevole. Questa parte di vantaggio è tanto maggiore quanto maggiore è il coefficiente di ereditabilità.

LE CAUSE DELLA VARIABILITÀ

Mutazioni geniche: errori di reduplicazione del DNA conseguenti alla **sostituzione** di un nucleotide con un altro nucleotide, alla **delezione**, all'**inserzione** o all'**inversione** di uno o più nucleotidi.

Le **sostituzioni nucleotidiche** si possono classificare in due categorie:

1. **transizioni:** sostituzione di una purina (adenina o guanina) con un'altra purina o sostituzione di una pirimidina (timina o citosina) con un'altra pirimidina;
2. **transversioni:** sostituzione di una purina con una pirimidina e viceversa (Figura 19).

Generalmente, **le transizioni sono più frequenti delle transversioni** ($\alpha > \beta$).

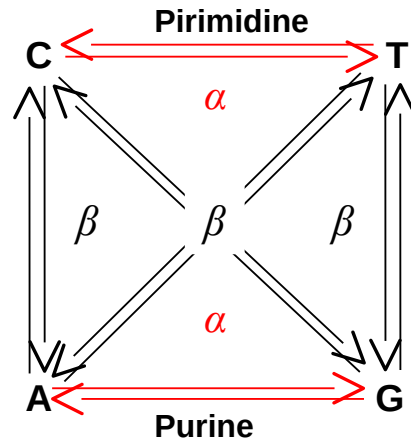


Figura 19. Sostituzioni nucleotidiche transizionali (in rosso) e transversionali (in nero). α e β sono i tassi delle transizioni e delle transversioni, rispettivamente (da Nei e Kumar, 2000, ridis.).

Sostituzioni sinonime o silenti: la **> parte** delle sostituzioni nucleotidiche che avvengono nella **terza posizione di un codone** ed alcune di quelle che avvengono nella prima posizione (per es. TTA → CTA = Leu) esitano nella formazione di codoni sinonimi e, quindi, **non provocano la sostituzione dell'aminoacido** codificato.

Sostituzioni non sinonime o «replacement substitutions»: sostituzioni nucleotidiche che, esitando nella formazione di un codone non sinonimo, provocano il cambiamento dell'aminoacido codificato.

(A) SOSTITUZIONE

Tyr Tyr Leu Leu
ACC TAT TTG CTG

ACC TCT TTG CTG
Tyr Ser Leu Leu

(B) DELEZIONE

Tyr Tyr Leu Leu
ACC TAT TTG CTG

ACC TAT TGC TG-
Tyr Tyr Cys

(C) INSERZIONE

Tyr Tyr Leu Leu
ACC TAT TTG CTG

ACC TAC TTT GCT G--
Tyr Tyr Phe Ala

(D) INVERSIONE

Tyr Tyr Leu Leu
ACC TAT TTG CTG

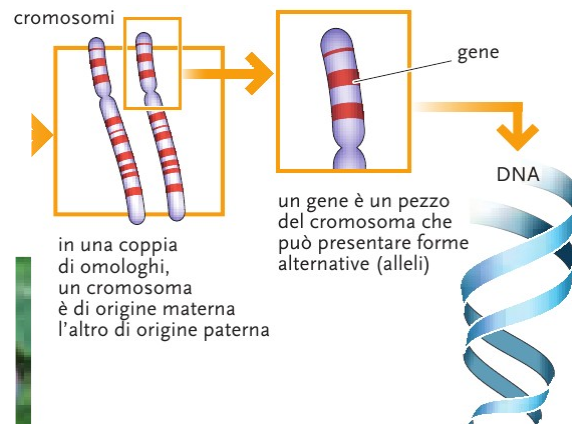
ACC TTT ATG CTG
Tyr Phe Met Leu

Figura 20. Quattro tipi fondamentali di mutazione nucleotidica. Le sequenze nucleotidiche sono rappresentate in unità di codoni o triplette di nucleotidi per evidenziare l'effetto delle mutazioni sugli aminoacidi codificati. **Le inserzioni e le delezioni spostano la lettura della sequenza a partire dalla posizione in cui sono avvenute** (vengono anche dette «frameshift mutations»).

Mutazioni non senso: mutazioni che esitano nella formazione di codoni di stop: nessun aminoacido verrà sintetizzato.

Il risultato di una mutazione è un nuovo gene che differisce di poco da quello ancestrale: si tratta di due forme o varianti dello stesso gene, chiamate **alleli** di quel gene. Nella prima generazione dopo che è avvenuta la mutazione un solo individuo nella popolazione è portatore del nuovo **allele mutante**. Dato che, per ogni tipo di gene, tutte le cellule di ciascun individuo possiedono un gene di origine paterna e uno di origine materna, **alcuni individui possono aver ricevuto dai genitori alleli differenti di un gene polimorfico**. Questi individui sono chiamati **eterozigoti**, mentre gli individui che hanno ricevuto gli stessi alleli da entrambi i genitori sono chiamati **omozigoti**. Assumendo che vi siano solo due alleli – **M** e **m** – di un gene, un individuo può essere **MM**, **mm** (omozigote), o **Mm** (eterozigote): questi sono i tre possibili **genotipi**.

FIGURA 40. I geni a coppie



GLI ALLELI MULTIPLI E L'ELETTROFORESI

Una mutazione di un gene può provocare la sostituzione di un aminoacido nella proteina codificata dal quel gene; allora, se il gene mutante, ossia il nuovo allele, anzichè scomparire viene trasmesso ereditariamente ad un certo numero di individui nelle generazioni successive alla sua comparsa affermandosi nella popolazione, il gene e la proteina da esso codificata diventano polimorfici: del primo esisteranno due alleli, della seconda due varianti che, se la proteina è un enzima, vengono dette «*allozimi*». Con il trascorrere del tempo, una dei due alleli può subire un'altra mutazione che può esitare nella comparsa di una terza variante proteica, ossia di un terzo allozima; nella popolazione saranno, allora, presenti tre alleli al *locus* che codifica quell'enzima ed altrettanti allozimi: si è così instaurato un nuovo polimorfismo genetico il quale si traduce nella coesistenza, all'interno della popolazione, di più alleli ad un *locus* (poliallelia). Generalmente, l'aminoacido originale viene sostituito da un altro aminoacido che, possedendo una carica elettrica differente dal primo, modifica la carica elettrica complessiva dell'enzima; in questo caso, i diversi allozimi possono essere distinti fra loro sottoponendoli ad una migrazione in un campo elettrico generatosi dalla differenza di potenziale applicata a due elettrodi: gli allozimi si muoveranno in direzione dell'elettrodo di carica opposta. Questa tecnica, detta «*elettroforesi*», consente di separare fra loro non solo varianti proteiche ma anche frammenti omologhi (ossia corrispondenti) di DNA, i quali migrano verso il polo \oplus per la presenza nella loro molecola di cariche \ominus dei gruppi fosfato (PO_4^{2-}). I campioni possono essere fatti migrare attraverso vari supporti, tra i quali molto utilizzato è un **gel** che dà origine ad una gelatina che può essere racchiusa tra lastre di vetro, posta in colonne o stratificato su un supporto orizzontale. L'apparecchio che viene utilizzato, detto **cella elettroforetica**, può essere verticale o orizzontale, come quello riportato nella figura seguente.

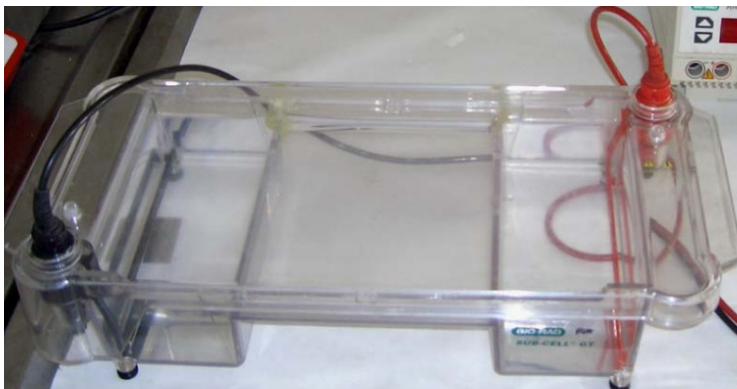
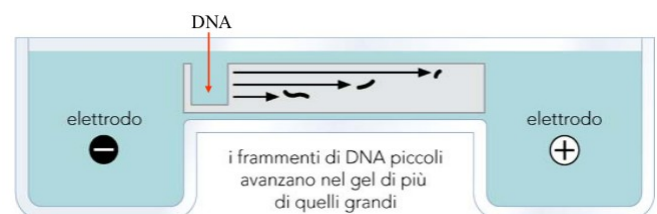


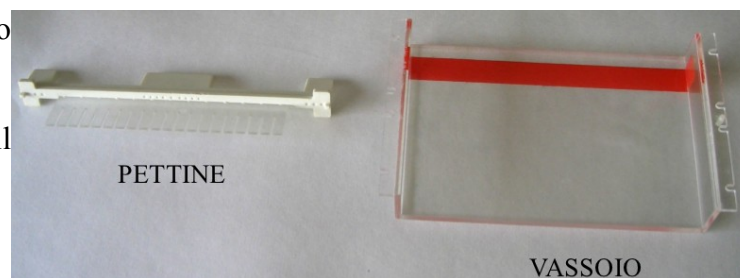
FIGURA 7. Cella elettroforetica.



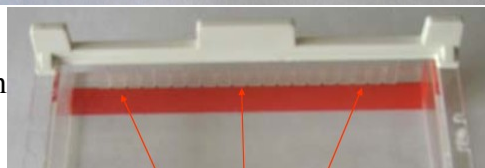
Si possono sottoporre ad elettroforesi anche campioni di DNA; in questo caso, i vari frammenti si separeranno per differenze di peso molecolare.



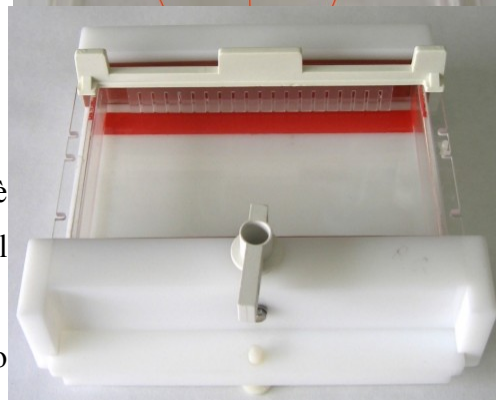
FIGURA 8. Le varie parti del dispositivo utilizzato per l'elettroforesi. Dopo aver installato il pettine nel vassoio...



si incastra il tutto in un supporto...

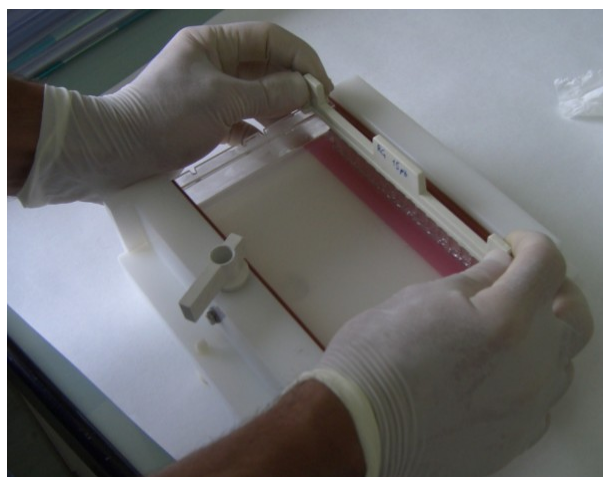
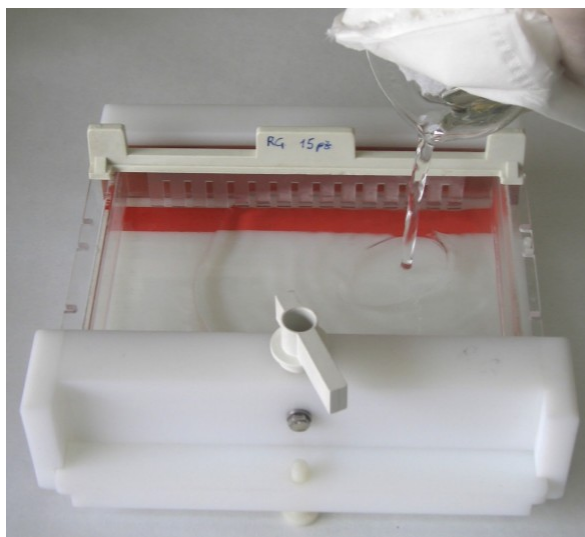


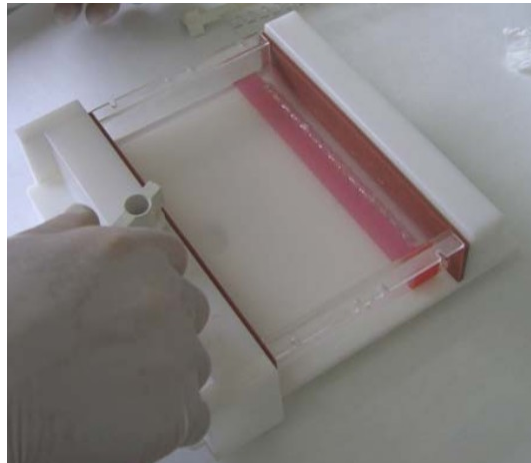
si versa il gel...



quindi, dopo che il gel si è polimerizzato si rimuove il pettine...

i denti del quale avranno permesso la formazione di tanti pozzetti (gli spazi che non si sono riempiti di gel)...





I pozzetti vengono caricati...

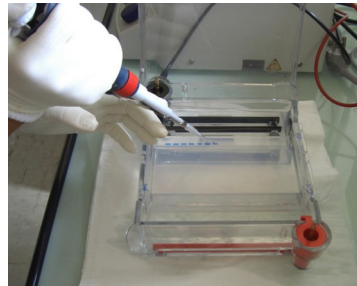
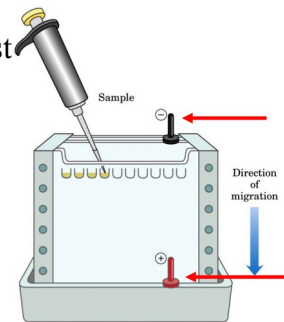
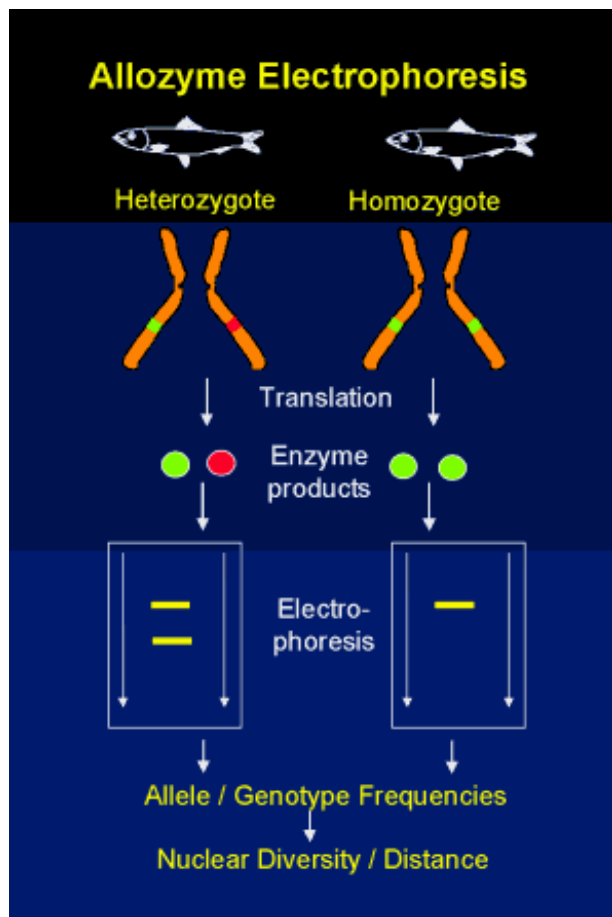


FIGURA 9. Fasi della preparazione di un test di mobilità elettroforetica.



Infine, si chiude il circuito creando il campo elettrico. Al termine della migrazione si introduce nel gel un substrato cromogeno dell'enzima, ossia una sostanza che viene idrolizzata dall'enzima, colorandosi. Ogni campione di enzima (allozima), dopo aver compiuto la propria corsa elettroforetica, si ferma in un certo punto della stessa dove reagisce con il substrato: la reazione enzima-substrato provoca la formazione di una banda colorata che evidenzia la posizione raggiunta dal campione.



Phenotype	Genotype	Hemoglobin electrophoretic pattern		Hemoglobin types present
		origin	+	
Normal	AA			A
Sickle-cell trait	AS			S and A
Sickle-cell anemia	SS			S

FIGURA 10. **A** Rappresentazione schematica del risultato di un test elettroforetico applicato, rispettivamente, ad un individuo eterozigote ad un determinato *locus* (*sinistra*) e ad un omozigote (*destra*). **B** Elettroforesi di una proteina (emoglobina): le due varianti alleliche sono identificabili come bande che nel campo elettrico migrano a velocità diverse. Mentre gli omozigoti (*AA* e *SS*) sono caratterizzati da una sola banda, l'eterozigote (*AS*) le presenta entrambe.

A

B

COME DETERMINARE IL GENOTIPO DI UN INDIVIDUO? LA DIGESTIONE CON ENZIMI DI RESTRIZIONE

Alla fine degli anni '60 si scoprì che alcuni ceppi di batteri producono enzimi in grado di digerire acidi nucleici estranei alla cellula batterica stessa che vi siano in qualche modo penetrati. Poiché tali enzimi giocano un ruolo chiave in un fenomeno noto come restrizione dell'ospite (*host restriction*), che consiste in una riduzione dell'infettività di un virus batteriofago provocata da un determinato ceppo batterico, furono denominati *enzimi di restrizione*. Ad oggi sono state scoperte e sono disponibili commercialmente diverse centinaia di enzimi di restrizione. Ognuna di queste endonucleasi batteriche si lega ad una specifica sequenza nucleotidica chiamata *sequenza di riconoscimento* (*recognition sequence*) e idrolizza i legami fosfodiesterici del DNA in un punto specifico di tale sequenza, detto sito di rottura (*cleavage site*). Quando un particolare enzima di restrizione viene aggiunto ad un campione di DNA, questo viene idrolizzato in corrispondenza di tante posizioni nucleotidiche quanti siti di rottura per quell'enzima sono presenti nella molecola originaria di DNA, la quale **verrà digerita in migliaia di frammenti di lunghezza e peso molecolare differente**, poiché i siti di rottura non sono posizionati ad intervalli regolari lungo il filamento di DNA. Se tale miscela di frammenti è posta in un gel di agaroso e sottoposta a migrazione elettroforetica, **i singoli frammenti migreranno ad una velocità inversamente proporzionale al loro peso**. Dopo digestione con un enzima di restrizione e separazione elettroforetica dei prodotti i singoli frammenti si distribuiranno in modo continuo formando una «strisciata» in cui non sarà possibile distinguere bande diverse.

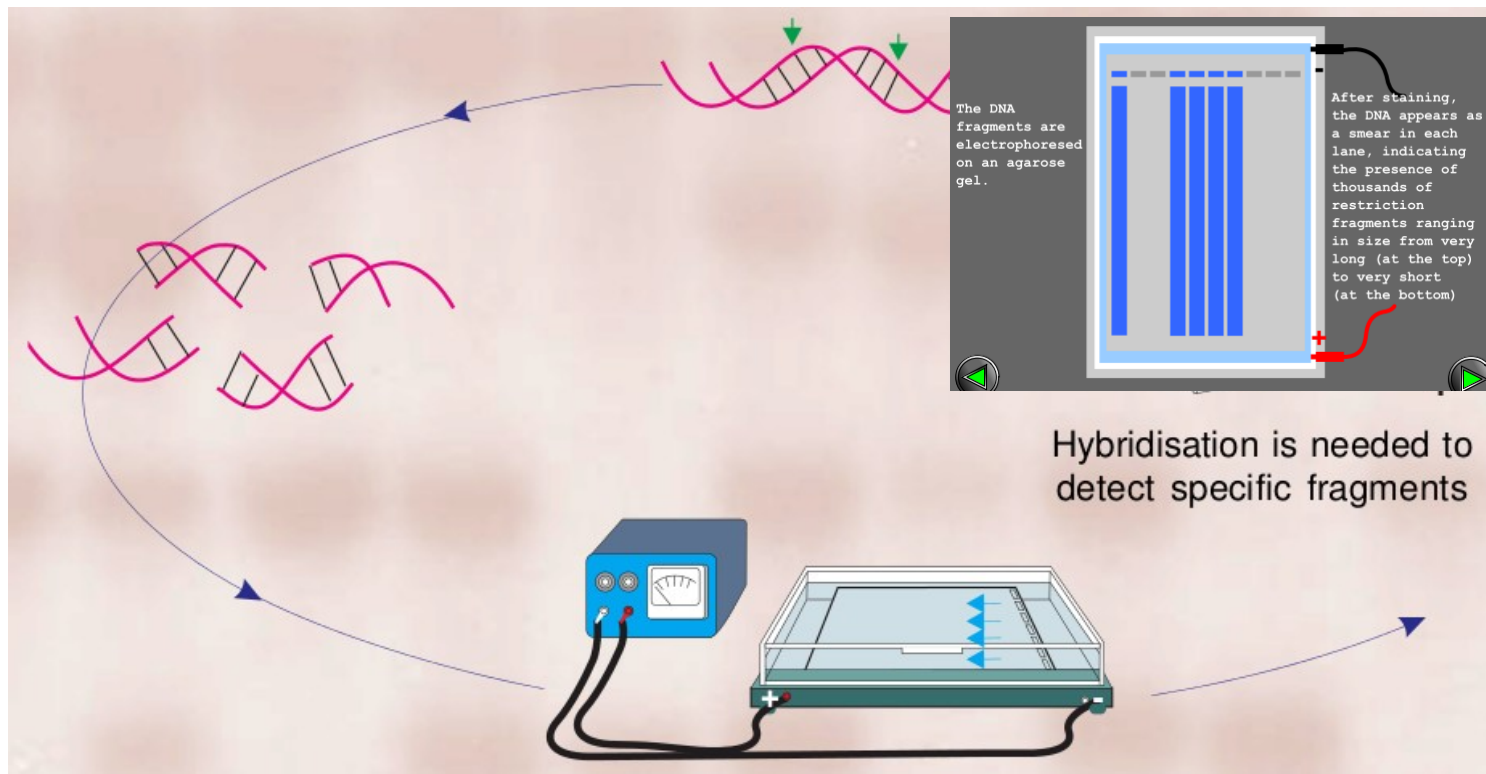
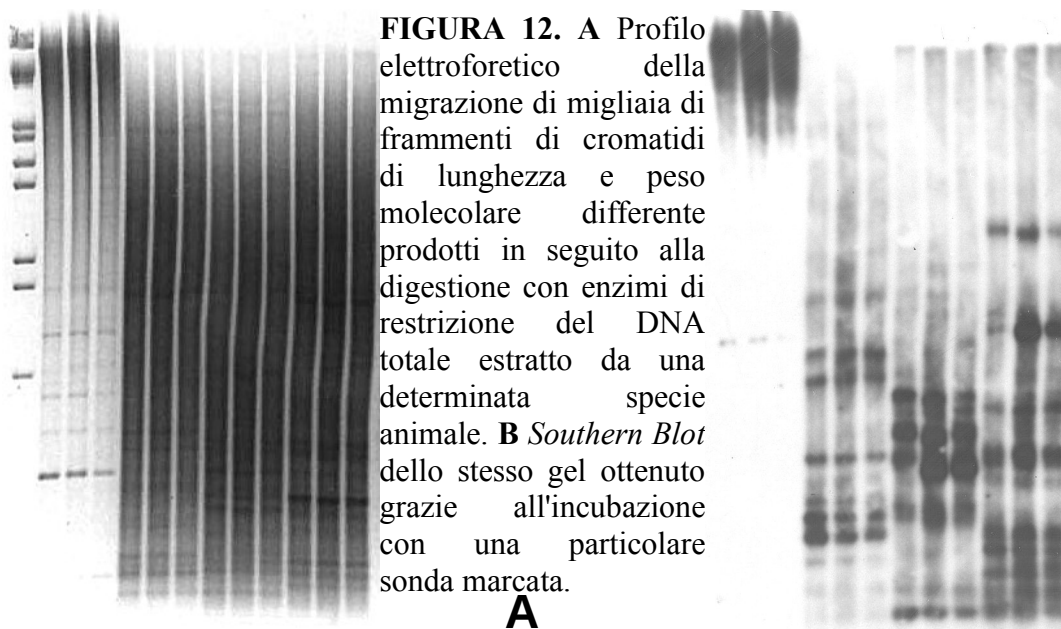
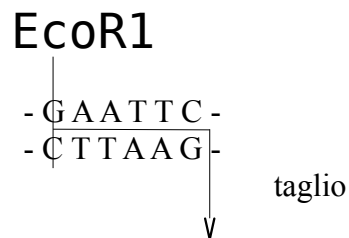


FIGURA 11. Schema della digestione con enzimi di restrizione.



Singoli frammenti possono essere identificati utilizzando una **sonda**, ossia una catena polinucleotidica singola, marcata con un isotopo radioattivo. Per es., supponiamo di utilizzare l'enzima di restrizione EcoR1, che si lega alla sequenza di riconoscimento GAATTC e taglia il filamento di DNA nel modo seguente:



Per isolare la sequenza di 20 nucleotidi

«GCATGCATGCATGCATGCAT»,

si dovrà utilizzare una sonda ad essa complementare, indicata in viola (**FIGURA 13**).

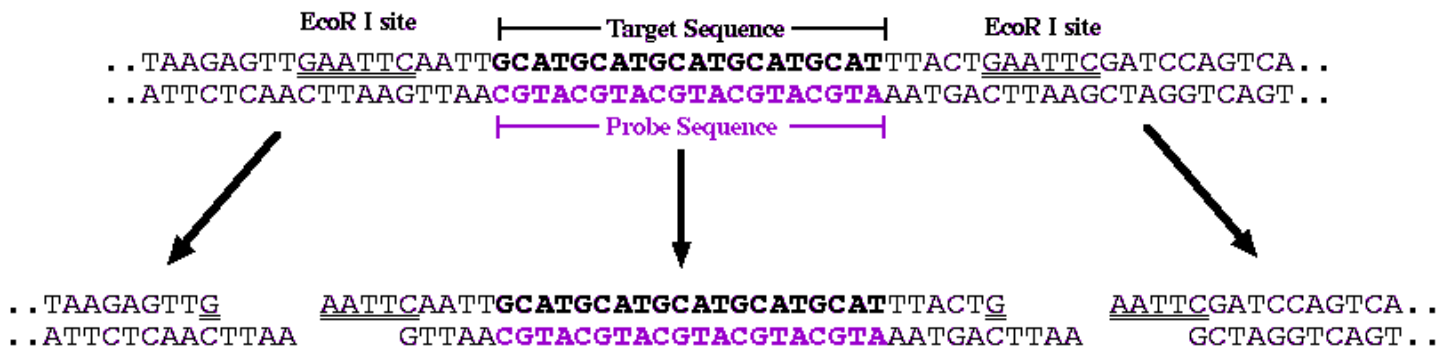


FIGURA 13. Digestione di un filamento di DNA ad opera dell'endonucleasi EcoR1.

L'enzima EcoR1 si lega alla propria sequenza di riconoscimento (GAATTC) e taglia il cromatide nel modo illustrato dalla figura. Anche se si utilizza il medesimo enzima, il risultato della digestione del DNA totale estratto da individui diversi non sarà necessariamente lo stesso; infatti, a causa della variabilità individuale, non in tutti i soggetti saranno presenti gli stessi siti di riconoscimento a determinati «indirizzi» cromatidici. In altri termini, poichè *sequenze omologhe* possono aver subito mutazioni diversi in individui diversi, un determinato sito di riconoscimento potrà essere presente in un soggetto ed assente in un altro; allora, le dimensioni dei frammenti di restrizione saranno diversi nei vari individui: ecco cosa si intende per *Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)* ossia polimorfismo di lunghezza dei frammenti di restrizione. Anche una singola sostituzione nucleotidica può tradursi nella perdita di una sequenza di riconoscimento o nella comparsa di una nuova; inoltre, l'inserzione o la delezione di segmenti di DNA all'interno di un frammento ne possono alterare la taglia e, quindi, la mobilità elettroforetica.

Il metodo noto come «*Southern Blot*» – dal nome del suo inventore (Southern, 1975) – prevede che i frammenti inclusi nel gel di agaroso vengano denaturati per immersione in una soluzione basica e, successivamente, posti in un vassoio. Il gel viene quindi ricoperto con una membrana di nitrocellulosa o con un nylon poroso e sottoposto a pressione, affinché tutti i frammenti di DNA di restrizione si trasferiscano per capillarità, come singole catene polinucleotidiche, alla membrana, conservando la posizione che occupavano nel gel.

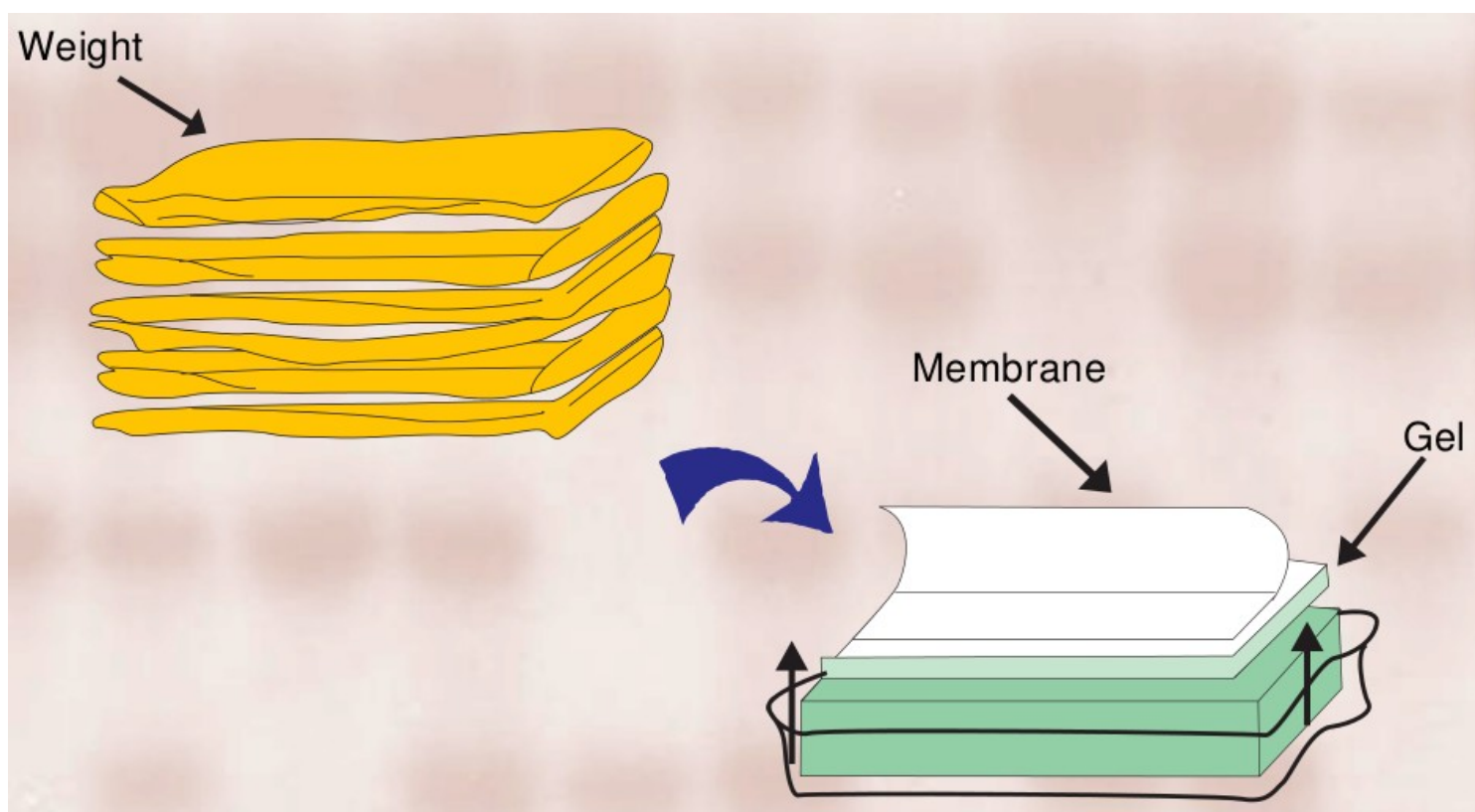


FIGURA 14. Trasferimento dei frammenti di restrizione dal gel alla membrana.

La membrana contenente i frammenti viene incubata insieme alla sonda di DNA marcata, in condizioni tali da favorire l'ibridizzazione della sonda stessa con sequenze ad essa complementari eventualmente presenti in alcuni dei frammenti; si formeranno, così, dei tratti marcati di DNA a doppia catena. La membrana viene quindi esposta ad una pellicola radiografica in modo tale da ottenere una «radiografia» dei frammenti marcati, che formeranno delle bande scure (**FIGURA 15**).

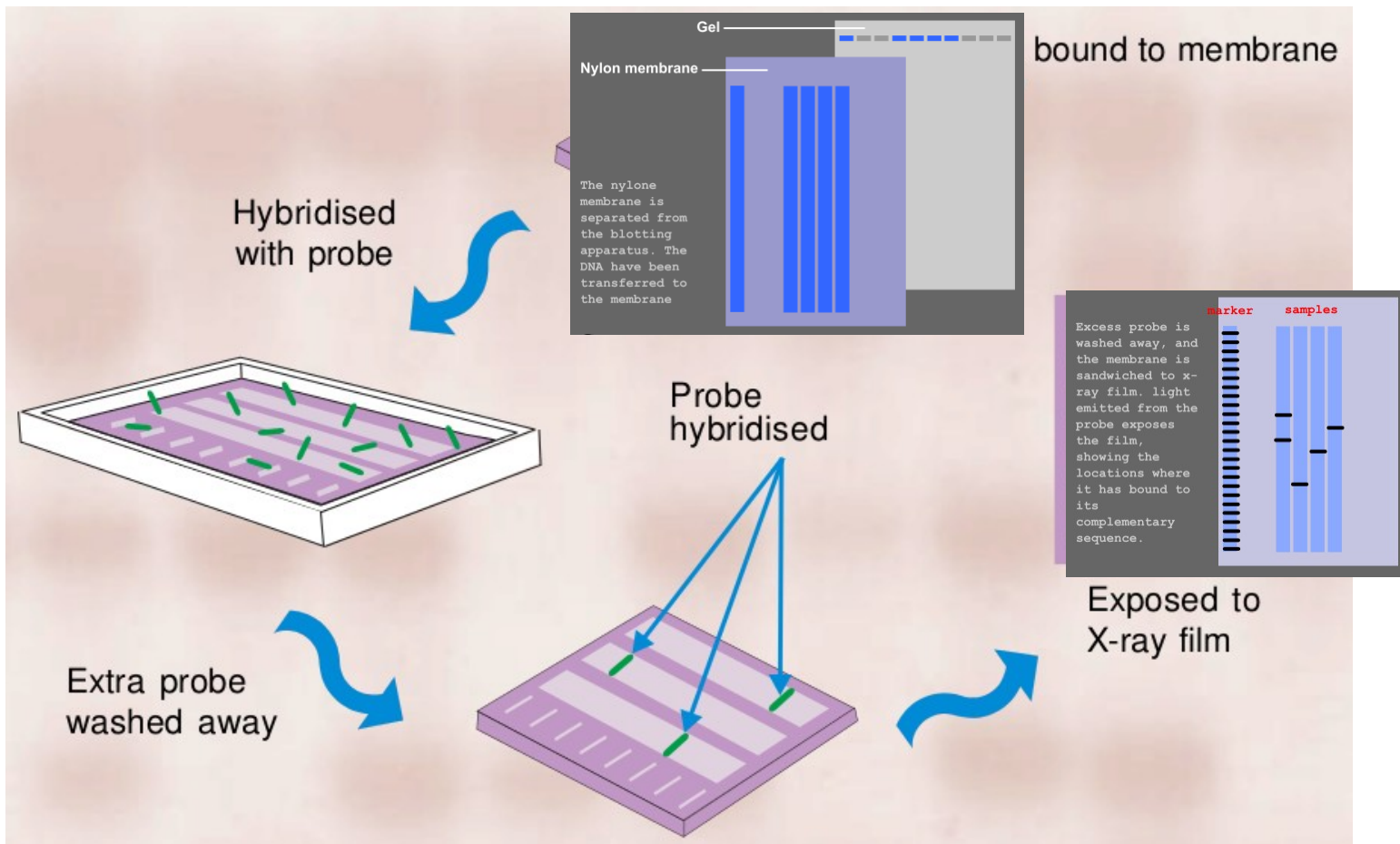


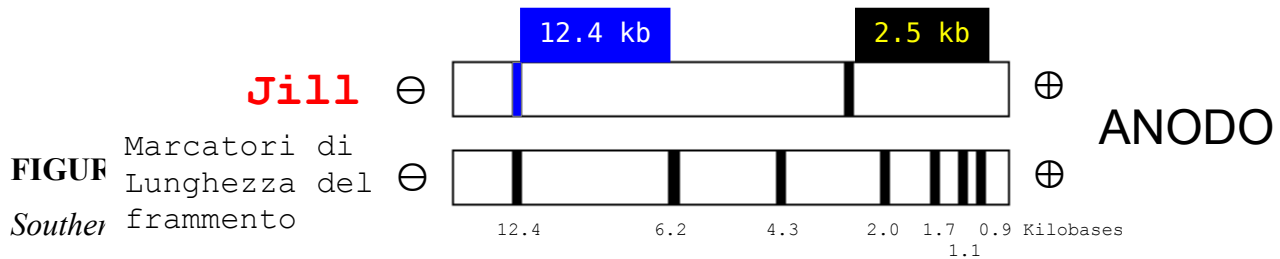
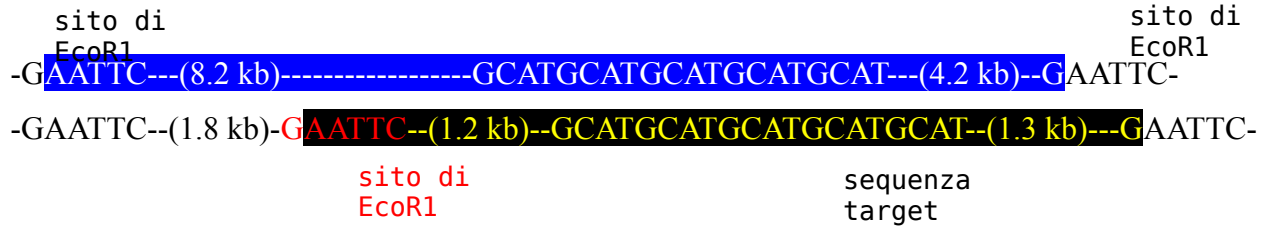
FIGURA 15. Il *Southern Blot*.

Si possono, così, evidenziare **tante bande sulla radiografia quante diverse taglie dei frammenti nella miscela originale sono state marcate dalla sonda** (poichè contenenti la sequenza target): la posizione relativa di ogni banda indica la taglia dei frammenti e il grado di annerimento la quantità di frammenti che presentano quella particolare lunghezza (**FIGURE 12, 15**).

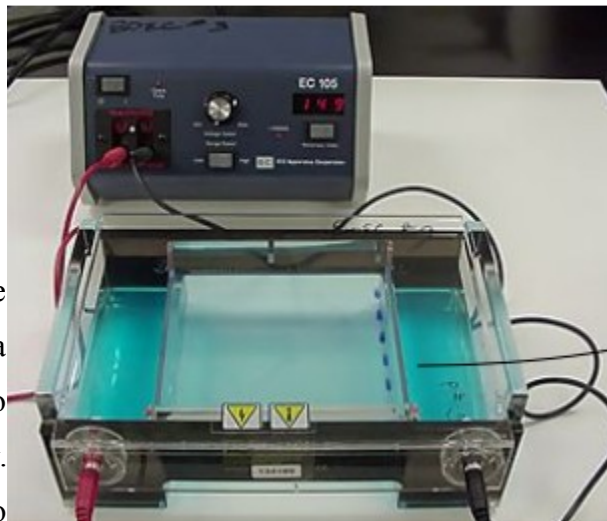
Supponiamo che due individui, *Jack* e *Jill*, siano sospettati di stupro e omicidio. Sulla scena del crimine gli esperti della polizia scientifica rinvencono tracce di sangue e resti di tessuti (pelle, sottocute) sotto

le unghie della vittima. Da questo materiale organico viene estratto un DNA che non può che essere dell'assassino (il corpo della vittima non è graffiato); tale DNA viene sottoposto ad analisi con la tecnica del *Southern Blot* (**FIGURA 16**).

DNA del killer (uno sconosciuto a cui è stato dato il nome **Jill**)



presunto assassino.



Ad un controllo del telefono cellulare della vittima, risulta che ella, la sera stessa della propria morte, ha ricevuto una chiamata dal fidanzato, *Jack*. Quest'ultimo viene, perciò, sottoposto ad un prelievo di sangue da cui il DNA

CATODO -  + ANODO

DNA del fidanzato della vittima (Jack)

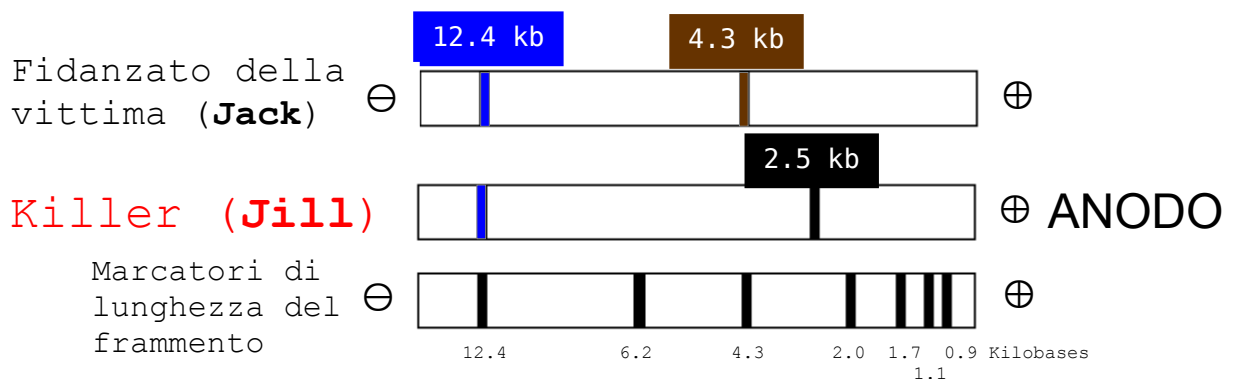


FIGURA 18. *Southern Blot* del fidanzato della vittima (Jack) confrontato con quello del presunto assassino (Jill).

Jack viene, così, scagionato.

I *RFLPs*, che vengono ereditati come geni mendeliani codominanti (**FIGURA 19**), sono sequenze casuali funzionalmente non correlate fra loro che possono essere localizzate anche a notevole distanza fisica su di uno stesso cromatide o su cromatidi diversi.

FIGURA 19. *Inheritance of RFLP markers*
Trasmissione ereditaria di *RFLPs*.

