

## CUPRINS

<b>CUPRINS</b>	<b>i</b>
<b>INTRODUCERE</b>	<b>1</b>
Scurt istoric	2
Prezentare generală a noțiunilor cu care operează Genetica populațiilor	3
Principiile generale ale Geneticii populațiilor	5
<b>1. VARIAȚIA GENETICĂ</b>	<b>8</b>
1.1 Variația caracterelor discrete	8
1.2 Variația caracterelor cantitative	9
1.3 Diversitate fenotipică și variație genetică	10
1.3.1 Polimorfisme enzimatice	10
1.3.2 Polimorfismele ADN	13
1.3.2.1 Secvențierea ADN	13
1.3.2.2 Metode indirecte care deduc variațiile la nivelul secvenței ADN	17
Exerciții și probleme	22
<b>2. FRECVENȚE ALELICE ȘI FRECVENȚE GENOTIPICE</b>	<b>23</b>
2.1 Calcularea frecvenței alelice pe baza frecvenței genotipice	23
2.2 Măsurarea variabilității alelice	25
2.3 Sisteme de împerechere	27
2.3.1 Împerecherea întâmplătoare	27
2.3.2 Împerecherea asortativă	28
2.3.3 Consangvinizarea	29
Exerciții și probleme	31
<b>3. LEGEA HARDY-WEINBERG</b>	<b>33</b>
3.1 Echilibrul împerecherii întâmplătoare: legea Hardy-Weinberg	33
3.2 Condițiile în care se aplică echilibrul Hardy-Weinberg	35
3.3 Consecințele legii Hardy-Weinberg	35
3.4 Extinderea echilibrului Hardy-Weinberg	38
3.4.1 Alele multiple	38
3.4.2 Gene X-linkate	40
3.4.3 Loci multipli	41
3.5 Verificarea condiției împerecherii întâmplătoare. Testul $\chi^2$	42

Exerciții și probleme	45
<b>4. ABATERI DE LA LEGEA HARDY-WEINBERG. ÎMPERECHEREA NEÎNTÂMPLĂTOARE</b>	<b>48</b>
4.1 Consangvinizarea	48
4.2 Măsurarea consangvinizării	49
4.2.1 Calcularea coeficientului de consangvinizare din pedigree	50
4.2.2 Calcularea coeficientului de consangvinizare pentru o populație naturală	53
4.3 Efectele consangvinizării	54
Exerciții și probleme	56
<b>5. FORȚELE EVOLUTIVE CARE ACȚIONEAZĂ ÎN POPULAȚIILE NATURALE</b>	<b>58</b>
5.1 Driftul genetic întâmplător	58
5.1.1 Consecințele driftului genetic	59
5.1.2 Efectul gâtului de sticlă și efectul fondatorului	61
5.1.3 Rolul driftului genetic în procesul evolutiv	63
5.2 Migrația	63
5.2.1 Efectele migrației	64
5.3 Mutațiile	67
5.3.1 Stabilitatea echilibrului mutațional	70
5.4 Selecția naturală	71
5.4.1 Fitnessul și măsurarea lui	72
5.4.2 Tipuri de selecție	73
5.4.3 Selecția completă	76
5.4.4 Selecția parțială	79
5.4.5 Dovezi în sprijinul teoriei selecției naturale	81
5.4.6 Echilibrul mutație-selecție	83
5.4.7 Selecția care favorizează heterozigoții	85
5.4.8 Selecția dependentă de frecvență	86
5.5 Acțiunea comună a forțelor evolutive	87
Exerciții și probleme	88
<b>6. NOȚIUNI DE EVOLUȚIONISM MOLECULAR</b>	<b>92</b>
6.1 Selecționism versus neutralism	93
6.1.1 Teoria selecției naturale	93
6.1.2 Teoria neutralistă	95

6.2 Micro și macroevoluție	96
6.3 Speciația	97
6.3.1 Mecanisme de izolare reproductivă	97
6.3.2 Anageneză și cladogeneză	99
6.3.3 Mecanismele speciației	100
6.3.4 Gradualismul filetic și echilibrul întrerupt	103
6.4 Evoluție moleculară	104
6.4.1 Substituții nucleotidice	104
6.4.2 Ceasuri moleculare	106
6.4.2.1 Ratele evolutive la diferite lineage	107
6.4.2.2 Cauzele variației ratelor evolutive	107
6.4.3 Ratele substituțiilor nucleotidice în ADN organitelor	108
6.5 Elemente de filogenie moleculară	109
6.5.1 Avantajele utilizării datelor moleculare în studiile filogenetic	110
6.5.2 Arbori filogenetici	111
6.5.3 Arborele filogenetic universal	113
<b>7. NOȚIUNI DE GENETICĂ CANTITATIVĂ</b>	117
7.1 Istoricul cercetărilor de genetică cantitativă	118
7.2 Caractere continue, meristice și prag	120
7.3 Distribuția caracterelor cantitative	122
7.4 Modelul predispoziție-prag pentru maladii ereditare complexe	123
7.5 Cauzele variației caracterelor cantitative	125
7.5.1 Varianța genotipică	126
7.5.2 Varianța mediului	127
7.5.3 Interacțiunea și asocierea dintre genotip și mediu	127
7.5.4 Analiza caracterelor cantitative	128
7.6 Heritabilitatea	130
7.7 Selecția artificială	132
7.7.1 Selecția artificială pe termen lung	133
7.7.2 Depresia consangvinizării și heterozisul	134
7.8 Metode de studiu utilizate în genetica cantitativă	135
7.9 Identificarea genelor implicate în determinarea caracterelor cantitative și în apariția maladiilor multifactoriale	136
<b>BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ</b>	139

## INTRODUCERE

Cursul “Genetica populațiilor” introduce nivelul populațional în studiul geneticii, aplicând principiile acestui domeniu la întreaga populație. Din această cauză, pentru înțelegerea acestei discipline sunt necesare atât cunoștințe de genetică clasică, cât și cunoștințe de genetica moleculară, cu alte cuvinte sunt indispensabile informațiile cu privire la gene și modul lor de funcționare.

În literatură se întâlnesc numeroase exprimări care încearcă să definească obiectul acestui domeniu al geneticii, de la cele mai simple care afirmă că genetica populațiilor studiază bazele genetice ale evoluției, până la cele mai complexe, care se referă la studiul repartiției fluxului genetic sub influența diferiților factori care îl afectează.

Cu alte cuvinte, *genetica populațiilor studiază factorii care determină compoziția genetică a unei populații și modul în care aceștia acționează*. Acest domeniu este cel mai precis instrument de explicare a evoluției, oferind descrierea matematică a transformărilor genetice ale populațiilor naturale, a modului în care frecvența alelică se modifică în timp, în populațiile naturale.

Genetica populației încearcă să răspundă la următoarele întrebări:

1. ce procese determină modificarea în timp a populațiilor naturale și cum acționează aceste procese;
2. ce procese determină divergența populațiilor și cum apar noi specii;
3. câtă variație genetică se găsește în populațiile naturale;
4. ce procese conservă și ce procese reduc această variație?

Genetica populațiilor este cel mai adesea considerată o disciplină teoretică și nu una experimentală, însă acest lucru nu este în totalitate adevărat deoarece, genetica moleculară și statistica matematică oferă posibilitatea testării și aplicării teoriilor sale la lumea reală (Halliburton 2004). Astfel, genetica populațiilor poate oferi soluții pentru numeroase probleme vitale pentru om, cum ar fi: reducerea răspândirii unor boli infecțioase, identificarea susceptibilității la anumite maladii, salvarea speciilor aflate în pericol de dispariție, stabilirea vinovăției sau nevinovăției unor persoane suspectate că au comis infracțiuni, etc. Genetica populațiilor devine, astfel, vitală pentru numeroase domenii precum creșterea animalelor și cultivarea plantelor,

pentru medicină, inclusiv pentru medicina legală, pentru consilierea genetică și, nu în ultimul rând, pentru explicarea originii și evoluției omului.

Nu trebuie omis, însă, faptul că, alături de Ecologia populațiilor, Genetica populațiilor este parte componentă a Biologiei populațiilor. Cele două discipline sunt artificial separate deoarece, în analiza populațiilor, se focalizează pe aspecte diferite. Ecologia populațiilor se ocupă de factorii care determină mărimea populațiilor (rata natalității, rata mortalității, competiția, prădătorismul, parazitismul, etc.), iar genetica populațiilor studiază factorii care determină evoluția (selecția naturală, driftul genetic, mutațiile, migrația). Ambele discipline sunt în realitate strâns conectate întrucât, compoziția genetică a indivizilor determină rata de creștere a populațiilor, iar efectul selecției naturale depinde uneori de mărimea populațiilor.

Înainte de a trece la analiza propriu-zisă a forțelor implicate în procesul evolutiv este necesară prezentarea pe scurt a modului în care s-a dezvoltat genetica populațiilor, precum și definirea câtorva dintre noțiunile esențiale, utilizate în domeniu.

### **Scurt istoric**

Deși preocupările specifice datează încă din secolul XIX, Genetica populațiilor a cunoscut o dezvoltare rapidă între anii 1920-1930 datorită a trei cercetători, S. Wright (agronom), R.A. Fisher (statistician) și J.B.S. Haldane (genetician), care au dezvoltat baza matematică a acestui domeniu. Între ei au existat o serie de divergențe în ceea ce privește importanța uneia sau alteia dintre forțele evolutive, dar nu și în legătură cu procesul evolutiv în esență, cu modul în care acesta se desfășoară.



**Sewall Wright (1889-1988)**

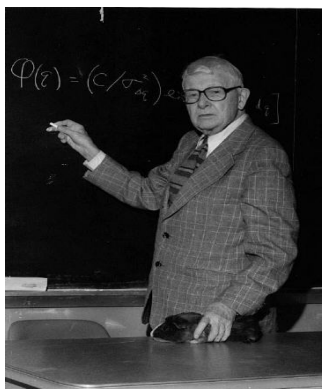


**R.A. Fisher (1890-1962)**

Din anii '60, Genetica populațiilor a evoluat pe mai multe direcții. În primul rând, tehnicile electroforetice au permis acumularea unei mari cantități de date empirice,

necesare inclusiv pentru verificarea unor presupuneri făcute prin modelare matematică. Aceste date au generat la rândul lor o serie de controverse cu privire la rolul mutațiilor neutre din populațiile naturale.

Apoi, dezvoltarea tehnologiei informaționale a facilitat obținerea unei importante cantități de date matematice, precum și simulări complexe ale populațiilor reale.



**J.B.S. Haldane (1892-1964)**

Nu în ultimul rând, tehnicile moleculare au adus clarificări și informații importante cu privire la relațiile dintre specii și ratele proceselor evolutive.

În prezent, specialiștii în Genetica populațiilor se orientează fie pe studiul structurii genetice a populațiilor, fie pe analiza forțelor evolutive sistematice sau stochastice, care acționează în populațiile naturale. În mod real, numai prin unirea eforturilor ambelor categorii de cercetători se poate obține imaginea corectă privind evoluția și se pot rezolva numeroasele probleme de ordin medical, ale protecției mediului etc., cu care se confruntă omenirea.

### **Prezentare generală a noțiunilor cu care operează Genetica populațiilor**

**Evoluția** reprezintă procesul complex de modificare a compoziției genetice a populațiilor naturale sub acțiunea forțelor evolutive.

În prezent, evoluția este înțeleasă prin prisma **Teoriei Sintetice a Evoluției** (TSE), care reprezintă o îmbinare a concepției lui Darwin legată de selecția naturală cu teoria mendeliană a eredității și cu conceptele secolului XX, bazate pe dezvoltarea geneticii și biologiei moleculare. Cu privire la teoriile care se opun în prezent TSE, sau care o completează, utilizând în principal informațiile dobândite ca urmare a dezvoltării tehnicilor moleculare, vom discuta în capitolul referitor la forțele evolutive. Pe scurt, Teoria Sintetică a Evoluției afirmă că:

- 
- unitatea ereditară este **gena**, nu caracterul;
  - **selecția naturală** este cel mai important mecanism al evoluției. Individul în totalitate este selecționat după caracterele aparente, iar contribuția sa reproductivă asigură dispersia caracterelor ereditare.
  - cea care evoluează este **populația** și nu individul;
  - modificările majore de la nivelul populațiilor naturale sunt rezultatul acumulării de modificări minore, pe perioade lungi de timp. Distingem, astfel, două fațete ale aceluiași proces major, evoluția: microevoluția și macroevoluția. **Microevoluția** reprezintă modificarea frecvențelor alelice în populațiile naturale datorită mutațiilor, migrației, selecției naturale, driftului genetic. **Macroevoluția** este rezultatul acumulării îndelungate de modificări minore, care, în final, conduce la apariția de noi specii.

Întrucât Genetica populațiilor studiază mecanismele genetice care operează în populațiile naturale, este necesară definirea noțiunilor de specie și de populație.

**Specia** reprezintă un ansamblu de populații naturale ale căror indivizi se pot reproduce între ei (panmixie), dar care sunt izolați reproductiv de indivizii altor populații.

Cu alte cuvinte, conform acestei definiții, specia este cel mai larg ansamblu de populații care permite desfășurarea unui **flux de gene**, dar care este izolat genetic de alte asemenea populații.

Compatibilitatea reproductivă între membri unei specii este absolut necesară, chiar dacă împerecherile nu sunt posibile din cauza distanțelor foarte mari dintre populații. De exemplu, chiar în cazul speciei umane, este destul de puțin probabilă împerecherea unei femei de afaceri din România cu un crescător de reni din Mongolia, deși descendenții lor ar fi absolut sănătoși și viabili. Toți oamenii aparțin aceleiași specii biologice.

Speciile ocupă un anumit teritoriu, denumit **arealul** speciei. Existența speciilor este finită în timp, fiind cuprinsă între momentul *speciației* și momentul *extincției*. În cadrul unei specii se pot întâlni **subspecii** și în acest caz vorbim despre specii *politipice*. Există, însă, numeroase specii *monotipice*, care nu au subspecii.

**Populația** reprezintă un grup de indivizi aparținând unei specii și care ocupă un anumit habitat din arealul speciei.

Populațiile sunt alcătuite, la rândul lor din *populații locale* sau *subpopulații*, iar din punct de vedere reproductiv sunt uneori izolate de alte populații aparținând aceleiași specii, schimbând rar sau deloc material genetic. Așa se întâmplă, spre exemplu, în

cazul unor populații răspândite pe insule, sau care trăiesc în lacuri diferite, sau în zone montane separate de alte zone montane prin terenuri joase, extinse pe largi suprafețe.

Chiar și în cadrul aceleiași populații schimburile genetice sunt mai frecvente între indivizii cei mai apropiați din punct de vedere geografic, astfel încât aceștia sunt mai asemănători între ei din punct de vedere genotipic, comparativ cu cei de la distanțe mai mari.

Cea mai importantă caracteristică a populației este legată de faptul că ea reprezintă **unitatea elementară a evoluției**. La nivelul populațiilor are loc evoluția fondului de gene (*genofondul*) prin modificarea frecvenței relative a alelelor unor gene în cursul succesiunii generațiilor. Asupra acestor aspecte vom reveni în capitolele următoare.

Alți termeni des folosiți și care merită reamintiți se regăsesc în **Caseta 1**.

### CASETA 1

#### Scurt glosar de termeni

**Gena** este o secvență de nucleotide din macromolecula de ADN, care determină producerea unui anumit tip de ARN.

**Locusul** reprezintă localizarea genomică sau cromozomială a unei gene. Un locus poate fi ocupat de oricare dintre alelele unei gene. (Plural: *loci*)

**Alela** este o formă alternativă a unei gene dintr-un anumit locus.

**Genotipul** este compoziția genetică a unui individ. Noțiunea se poate referi la întreaga constituție genetică a unui individ sau numai la alelele dintr-un anumit locus.

**Fenotipul** reprezintă exprimarea observabilă sau detectabilă a genotipului.

**Homozigot** este un individ care are aceeași alelă în locii corespunzători de pe cromozomii omologi.

**Heterozigot** este un individ care are alele diferite într-un anumit locus pe cei doi cromozomi omologi.

**Locusul monomorfic** este acel locus pentru care există o singură variantă alelică în populație.

**Locusul polimorfic** este un locus în care în populație există 2 sau mai multe variante alelice, fiecare cu o frecvență mai mare de 5% (sau 1% după alți autori).

### Principiile generale ale Geneticii populațiilor

Principala caracteristică a geneticii populațiilor este legată de faptul că, toate procesele care determină compoziția genetică a populațiilor sunt corelate între ele. Vom prezenta pe scurt câteva dintre aceste procese care acționează în populațiile naturale și anume: mutațiile, recombinația genetică, selecția naturală, driftul genetic, fluxul de gene, împerecherea neîntâmplătoare.



**Mutațiile** reprezintă principala sursă de variație genetică, care furnizează materialul brut asupra cărora acționează celelalte procese evolutive. Ele pot fi definite ca erori la nivelul materialului genetic, care au loc întâmplător sau indus, și sunt fie în detrimentul, fie în beneficiul organismului. Datorită mutațiilor nu există doi indivizi identici pentru toți locii. (Nici gemenii monoziagoți nu sunt identici, deoarece aceștia tind să difere ca rezultat al mutațiilor somatice care apar în timpul vieții.)

**Recombinarea genetică** este a doua sursă de variație genetică, care crează noi combinații de alele, dar nu noi alele. Prin acest proces se rupe combinația de gene existentă și se induce, în fiecare generație nou formată, apariția de noi genotipuri. Conceptul de **selecție naturală** aparține lui Darwin, care consideră că indivizii cu variații ereditare favorabile supraviețuiesc și se reproduc cu rate mai ridicate, producând mai mulți descendenți cu aceleași variații favorabile. Ca urmare, frecvența acestora crește. Selecția naturală este greu de studiat cantitativ datorită numeroșilor factori implicați.

**Driftul genetic** reprezintă fluctuarea întâmplătoare a frecvenței alelice ca rezultat al combinării întâmplătoare a gameților în procesul de reproducere și a altor procese stochastice. Astfel, anumite variații genetice pot fi eliminate din populație, în timp ce variațiile deleterii tind să devină comune. Pe termen lung, driftul genetic induce creșterea variabilității genetice între populațiile naturale, determinând evoluția lor divergentă.

**Fluxul de gene** datorat deplasării indivizilor dintr-o zonă în alta, dintr-o populație în alta, favorizează introducerea de noi alele și ca urmare induce creșterea asemănării între populații. Cu alte cuvinte, migrația are efect invers driftului genetic.

**Împerecherea neîntâmplătoare** apare în situația în care indivizi înrudiți se împerechează între ei sau când, indivizi mai mult sau mai puțin asemănători se împerechează între ei altfel decât întâmplător. Acest tipuri de împerechere pot duce la apariția de noi specii și este foarte adesea corelată cu selecția naturală.

Cele mai importante valori folosite în Genetica populațiilor sunt **frecvența alelică** și **frecvența genotipică**. Ele se calculează pe baza unor eșantioane prelevate din populație și oferă informații cu privire la cantitatea de variație genetică din populațiile

naturale, precum și la gradul de asemănare dintre acestea. Genetica populațiilor studiază în principal cum se modifică frecvențele alelice și genotipice sub acțiunea combinată a proceselor genetice și ecologice.

Din punct de vedere genetic fiecare membru al unei populații este *unic*, având o combinație de alele care nu se va mai forma niciodată. Datorită variației genetice mari ca rezultat al mutațiilor și recombinării, precum și datorită existenței tranzitorii a genotipurilor, descrierea acestora este dificilă.

În prezent există două subdomenii principale ale Geneticii populațiilor. Genetica populațională **teoretică** folosește modelele matematice pentru a înțelege efectul diferitelor procese evolutive. Genetica **experimentală** testează predicțiile teoretice în condiții controlate în laborator sau pe teren. În afara de aceste arii de studiu, există și un alt subdomeniu care studiază variația genetică folosind descoperirile teoretice și experimentale ca punct de pornire al investigațiilor. Între aceste subdomenii există un puternic feed-back, iar cel mai complet studiu le integrează pe toate.

Cursul de față se dorește a fi o introducere în domeniul vast și cu evidentă aplicabilitate a Geneticii populațiilor. Din acest motiv el va cuprinde pe lângă prezentarea forțelor evolutive care sunt implicate în modificarea frecvențelor alelice din populațiile naturale și unele aspecte de genetică cantitativă, precum și câteva noțiuni de genetică moleculară a populațiilor și de filogenie moleculară.

## 1. VARIAȚIA GENETICĂ

Sursa esențială a mării diversități a lumii vii este reprezentată de **varietatea informației genetice** deținută de organisme la nivelul genomului și transmisă generațiilor următoare.

Genetica populațiilor studiază **originea** variației genetice, **transmiterea** diferitelor variante de la părinți la descendenți și **modificările temporale** care au loc în populațiile naturale sub acțiunea forțelor evolutive (sistematice sau randomice) (Simmonds 2003). Variabilitatea genetică este creată continuu prin *mutații* și *recombinarea genetică* din timpul procesului reproductiv și este erodată de *selecție naturală* și *drift genetic*.

Abilitatea speciilor de a răspunde la selecția naturală depinde de prezența variației genetice moștenite. Când în interiorul unei populații există suficientă variație genetică, aceasta va permite unor indivizi să supraviețuiască și să se reproducă, chiar în condițiile alterării presiunii selective sub influența modificării factorilor de mediu. Absența variației genetice conduce la incapacitatea speciei de a răspunde la perturbațiile mediului și, în final, la *extincția* (dispariția) ei.

Este evident că variația genetică, prezentă în populațiile naturale ale tuturor organismelor, stă la baza procesului evolutiv.

Fiecare organism are propria sa compoziție genetică, astfel încât, din punct de vedere genetic, fiecare membru al unei populații naturale este *unic*. El este purtătorul unei combinații de gene care nu se va mai forma niciodată. Constituția genetică a unui individ (**genotipul**) prin interacțiune cu mediul dă naștere **fenotipului**. Fenotipul reprezintă totalitatea caracterelor observabile sau detectabile ale unui individ.

Variabilitatea genetică poate fi asociată cu *caractere simple (discrete)*, precum culoarea boabelor la mazăre, sau cu *caractere complexe (cantitative)*, cum sunt, de exemplu, culoarea pielii la om și lungimea femurului la mamifere.

### 1.1 Variația caracterelor discrete

Primele cercetări asupra variației genetice din populațiile naturale s-au ocupat de o serie de variante morfologice la diferite de specii de *Drosophila*, variații care erau similare cu mutantele în ceea ce privea culoarea ochilor, forma aripilor etc. analizate

în laborator (Dubinin 1937, Spencer 1947, 1957). Aceste caractere fenotipice se datorează unei singure gene și de aceea se numesc caractere simple (discrete). Rezultatele au arătat că, aproximativ 1-2% dintre musculițe prezintă variații morfologice pentru acest tip de caractere (Lewontin 1974).

Studiul variantelor morfologice este însă foarte laborios, depinde mult de abilitatea cercetătorului și, nu în ultimul rând, nu poate detecta alelele recesive care se găsesc în stare heterozigotă. Acest lucru este posibil numai prin studiul generației  $F_2$ , după încrucișări controlate în laborator.

Experimentele efectuate pe *Drosophila* au arătat că, variațiile unei singure gene care afectează un caracter identificabil morfologic sunt rare în populații naturale. De exemplu, s-a constatat că numai 25% dintre genele de pe cromozomul X pot genera variante vizibile (Powell 1997).

Studii asemănătoare, efectuate pe alte specii de plante și animale au relevat, de asemenea, existența variației genetice, precum și faptul că, polimorfismele vizibile pot constitui câmpul de acțiune al selecției naturale. De exemplu, cercetări efectuate de Lamotte în 1959 pe două specii de șerpi (*Cepea nemoralis* și *C. hortensis*) au arătat că modelul de pe corpul acestora diferă în funcție de toleranța la temperatură și umiditate.

Trebuie însă subliniat că aceste variații morfologice nu sunt cele mai comune, dar, întrucât sunt vizibile, pot fi mai ușor studiate genetic și ecologic.

## 1.2 Variația caracterelor cantitative

Marea majoritate a caracterelor morfologice vizibile nu sunt rezultatul variației unei singure gene. Caractere precum înălțimea, greutatea, culoarea pielii la om, numărul de perișori abdominali la *Drosophila melanogaster*, sunt caractere cantitative, care sunt determinate de efectul cumulat al mai multor gene, precum și al mediului de viață.

Numeroase experimente de laborator au demonstrat existența unei variații genetice larg răspândite în ceea ce privește caracterele cantitative, chiar dacă baza genetică a acestor caractere nu se cunoaște cu precizie (Halliburton 2004). De asemenea, o enormă cantitate de variație a caracterelor cantitative s-a observat și în populațiile naturale, variație care, la fel ca și în cazul caracterelor discrete, este supusă presiunii selecției naturale.

Cu alte cuvinte, spre deosebire de raritatea variației morfologice a caracterelor discrete, variația caracterelor cantitative, complexe este comună.

Despre caracterele cantitative, variația, tipurile și factorii care le determină, precum și despre transmiterea acestor caractere vom discuta pe larg în capitolul de Genetică cantitativă.

### 1.3 Diversitate fenotipică și variație genetică

Așa cum am arătat în Caseta 1, caracterele pentru care se întâlnesc în mod obișnuit două sau mai multe fenotipuri se numesc **caractere polimorfice**. Numeroase gene din populațiile naturale prezintă **polimorfism**, adică au două sau mai multe variante alelice.

Studiul polimorfismelor a arătat că nivelul variației genetice în interiorul populațiilor naturale este foarte ridicat. Această variație, în majoritate invizibilă, se manifestă cu precădere la nivel molecular și poate fi detectată prin tehnici moleculare.

Polimorfismele nu sunt restrânse numai la nivelul genelor; ele se regăsesc și la nivelul altor secvențe din macromoleculele de ADN, care nu codifică proteine.

Primele polimorfisme studiate au fost cele enzimaticе. Ulterior, pe măsură ce tehnicile de lucru au avansat, s-a trecut la studiul polimorfismelor de la nivelul macromoleculei de ADN.

#### 1.3.1 Polimorfisme enzimaticе

Înainte de anii '60, variația genetică în populațiile naturale era studiată, în principal, prin intermediul caracterelor letale, inducându-se prin tehnici de încrucișare, homozigotarea alelelor recesive.

Abia din anul 1966 a devenit posibilă detectarea modificărilor la nivelul secvenței de aminoacizi, indiferent dacă aceste modificări erau observabile sau nu. Tehnica care a permis studiul variației proteinelor codificate de alele alternative a fost **electroforeza în gel (Caseta 2)**. Această tehnică permite separarea diferitelor variante ale proteinelor când sunt supuse migrației în gel de agaroză sub acțiunea curentului electric. Condiția este ca aceste variante proteice să fie suficient de diferite în ceea ce privește încărcătura electrică. Având în vedere faptul că proteinele reprezintă produșii structurali ai genelor, variațiile în ceea ce privește mobilitatea electroforetică a proteinelor au bază genetică.

*Formele alternative ale enzimelor codificate de alele ale aceleiași gene se numesc aloenzime (alozime).*

Alelele pentru alozime sunt *codominante*, ceea ce înseamnă că heterozigoții exprimă alozimele corespunzătoare fiecărei alele (**Figura 1.1**).

În populațiile naturale numeroase gene care codifică enzime sunt polimorfice, adică au două sau mai multe variante alelice. În general, se consideră că o genă este polimorfică atunci când frecvențele celor mai comune alele sunt mai mari de 0,01 după unii autori sau 0,05 după alții.

## CASETA 2

### Electroforeza proteinelor

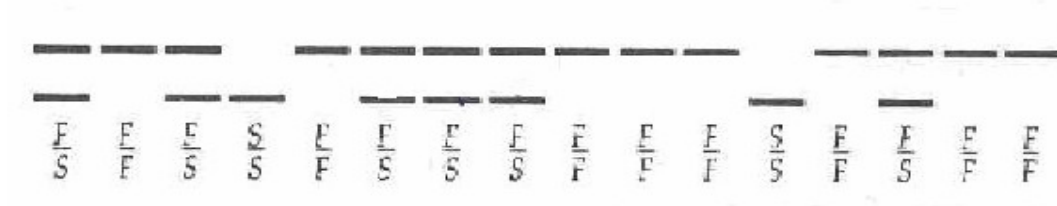
Electroforeza proteinelor se bazează pe faptul că, în câmp electric, proteinele cu sarcini electrice diferite migrează cu rate diferite, ceea ce permite separarea lor. Metoda implică două etape: 1) separarea proteinelor în gel de agaroză sau poliacrilamidă și 2) vizualizarea lor.

În prima etapă, probele sunt încărcate în gel, iar gelul este supus unui curent electric. Proteinele vor migra în gel cu rate care depind în primul rând de sarcina lor electrică globală. După un anumit interval de timp (de obicei câteva ore) gelul este imersat într-un colorant care este specific pentru proteina care este analizată. Astfel, în gel, în locația corespunzătoare proteinei, va apărea o bandă întunecată.

Proteinele cu încărcături electrice diferite vor prezenta benzi diferite în gel.

Fiecare proteină reprezintă produsul unei anumite gene, așa încât, benzile diferite pentru aceeași proteină vor reprezenta alelele diferite ale genei care produce acea proteină. Astfel, dacă pentru un individ apar două benzi în gel, acel individ este heterozigot pentru gena care codifică proteina respectivă. Acest lucru este valabil pentru proteinele dimerice; în cazul proteinelor multimerice rezultatele sunt mai greu de interpretat, dar rezultatul este același.

Existența mai multor variante pentru aceeași proteină se datorează substituțiilor de aminoacizi, care modifică sarcina electrică globală a moleculei, modificând mobilitatea electroforetică (proteina se mișcă în câmp electric cu rate diferite). Două proteine cu aceeași greutate moleculară și cu aceeași formă vor migra cu o rată diferită, determinată de raportul dintre aminoacizii încărcăți pozitiv (în special lizină, arginină, histidină) și cei încărcăți negativ (acid aspartic și acid glutamic). Din acest motiv, electroforeza proteinelor poate fi utilizată pentru detectarea mutațiilor care determină diferențe în ceea ce privește mobilitatea electroforetică.



**Figura 1.1** Imaginea unui gel de electroforeză ipotetic. 8 indivizi din totalul de 16 sunt homozigoți pentru alela F (F/F), care codifică o enzimă ce migrează rapid; 2 indivizi sunt homozigoți pentru alela S, care codifică o enzimă ce are viteză redusă de migrare în gel (S/S); 6 indivizi sunt heterozigoți (F/S), prezentând benzile corespunzătoare ambelor alele.

Există o corelație pozitivă între gradul de polimorfism și gradul de heterozigoție. Cu cât într-o populație sunt mai multe gene polimorfice, cu atât mai mulți indivizi vor fi heterozigoți.

Cea mai mică variație genetică în cadrul populațiilor naturale măsurată prin intermediul variației alozimelor se întâlnește la vertebrate, care prezintă cel mai mic număr de loci polimorfici. Plantele au valori intermediare, în timp ce la nevertebratele se întâlnește un procent ridicat de polimorfism (**Tabel 1.1**). La procariote valorile le depășesc pe cele de la eucariote. De exemplu, la *Escherichia coli* polimorfismul genetic este de 2-3 ori mai ridicat decât media întâlnită la eucariote.

**Tabel 1.1** Rezumatul studiilor asupra alozimelor care au estimat polimorfismul și heterozigoția la diferite grupuri taxonomice. N reprezintă numărul de specii studiate, P și H reprezintă polimorfismul mediu și heterozigoția medie pentru toate speciile din fiecare grup taxonomic. (după Halliburton, 2004)

Taxonul	Polimorfism		Heterozigoție	
	N	P	N	H
Nevertebrate (fără insecte)	200	0,407	203	0,112
Insecte (fără <i>Drosophila</i> )	130	0,351	122	0,089
<i>Drosophila</i>	39	0,480	34	0,123
Pești	200	0,209	183	0,051
Amfibieni	73	0,254	61	0,067
Reptile	84	0,256	75	0,083
Păsări	56	0,302	46	0,051
Mamifere	181	0,191	184	0,041
Om	1	0,231	1	0,063
Monocotiledonate	12	0,378	7	0,116
Dicotiledonate	56	0,235	40	0,052
Gimnosperme	5	0,734	7	0,146
Total				
Nevertebrate	371	0,375	361	0,100
Vertebrate	596	0,226	551	0,054
Plante	75	0,295	56	0,075
<b>Medie generală</b>	1042	0,284	968	0,073

Cu toate acestea, deși este larg răspândit, polimorfismul alozimelor nu este universal. Un studiu efectuat pe două subspecii de cimpanzei *Acinonyx jubatus raineyi* și *A. jubatus jubatus*, la care s-au analizat 49 de enzime din punct de vedere al mobilității lor electroforetice a arătat că, practic, cele două subspecii sunt monomorfice. Această uniformitate poate fi explicată prin faptul că de-a lungul timpului efectivul acestor cimpanzei a scăzut drastic de cel puțin două ori, astfel încât s-a pierdut variabilitatea genetică (O'Brien 1987).

Electroforeza alozimelor, deși a adus numeroase clarificări în ceea ce privește variația genetică, nu poate furniza informații exacte cu privire la substituțiile de aminoacizi din lanțurile polipeptidice, deoarece doar o treime dintre substituții modifică sarcina electrică globală a proteinelor. În plus, cele mai studiate enzime sunt cele ce se găsesc din abundență în organism, de aceea, rezultatele obținute nu pot fi extrapolate la întregul genom, întrucât s-ar putea ca enzimele respective să nu fie reprezentative. De asemenea, datorită redundanței codului genetic, unele modificări nucleotidice nu modifică succesiunea aminoacizilor în lanțul polipeptidic.

În concluzie, majoritatea variațiilor de la nivelul macromoleculei de ADN este neexprimată și, ca urmare, nedetectabilă prin intermediul proteinelor corespunzătoare. Totuși, electroforeza proteinelor permite studiul genelor fără o corelație cu fenotipul în sens tradițional.

### 1.3.2 Polimorfismele ADN

Noile tehnici moleculare permit examinarea variației genetice direct la nivelul moleculei de ADN. Comparativ cu electroforeza proteinelor, determinarea variabilității în secvențele de nucleotide nu este restrânsă la genele structurale. Astfel, identificarea succesiunii de nucleotide dintr-o probă de ADN luată la întâmplare reprezintă o măsură imparțială a variației genetice, indiferent de funcția (dacă ea există) a regiunii studiate. De asemenea, toate aceste tehnici moderne fac posibilă compararea unor fragmente omoloage de ADN, provenite de la doi indivizi diferiți și estimarea diferențelor nucleotidice dintre ei.

Tehnicile moleculare utilizate pentru studiul variației genetice se împart în două categorii: 1) **metode directe**, care utilizează tehnologia de secvențiere a ADN și 2) **metode indirecte** care furnizează informații pe baza cărora se deduce variația de la nivelul moleculei de ADN.

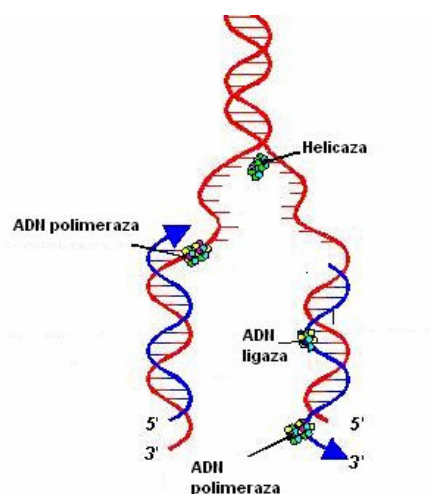
#### 1.3.2.1 Secvențierea ADN

Cea mai comună tehnică de secvențiere a ADN este **metoda lui Sanger**, denumită așa în cinstea lui Fred Sanger, cel care a utilizat-o pentru prima dată și care a fost recompensat în 1979 cu Premiul Nobel pentru acest lucru.

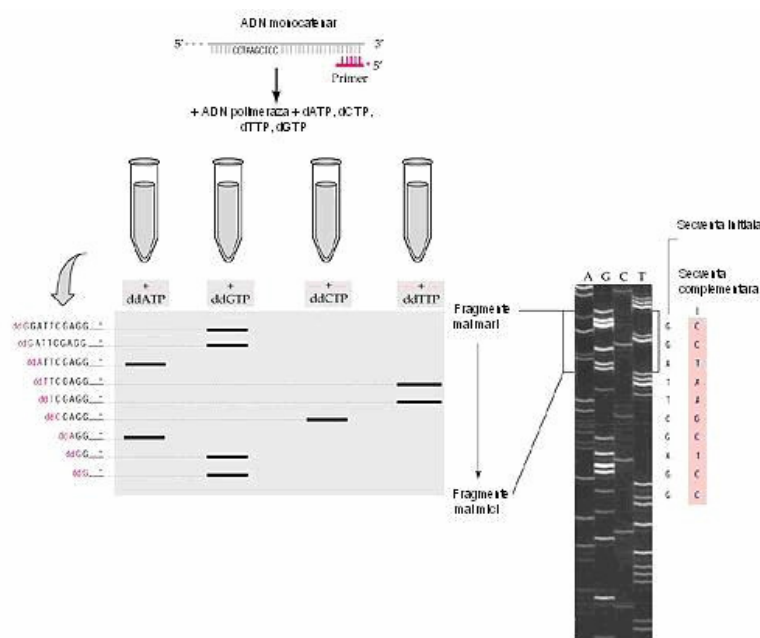
Tehnica originală se baza pe o procedură radioactivă, care ulterior a fost eliminată, iar toate îmbunătățirile care i s-au adus i-au sporit eficiența. În continuare prezentăm tehnica inițială, care este destul de laborioasă și costisitoare.



La baza metodei stă replicarea ADN (**Figura 1.2**). Pentru secvențiere, ADN dublucatenar este denaturat, obținându-se ADN monocatenar, care ulterior este amestecat cu o ADN-polimerază, primeri, **deoxiribonucleotide trifosfat** (dNTP-uri) corespunzătoare celor 4 baze azotate (dGTP, dTTP, dATP, dCTP). Una dintre dNTP-uri va conține un atom marcat radioactiv (**Figura 1.3**).

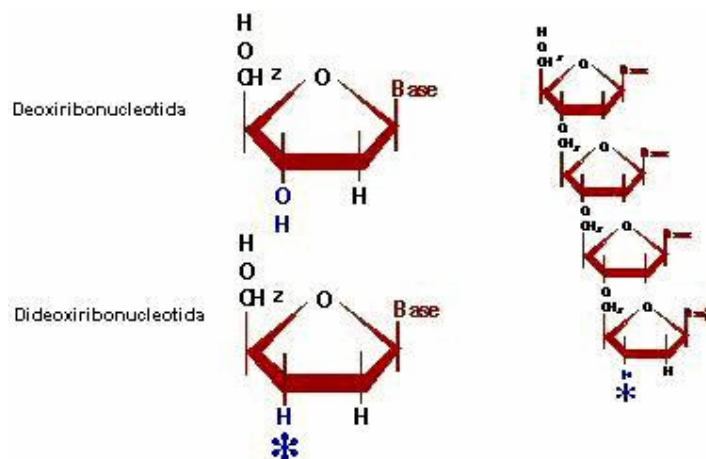


**Figura 1.2** Replicarea ADN.



**Figura 1.3** Tehnica Sanger de secvențiere a ADN

Acest amestec (uzual denumit mix) este introdus în 4 eprubete, iar în fiecare eprubetă este adăugată o mică cantitate din una dintre cele 4 **dideoxiribonucleotide trifosfat** (ddNTP-uri = ddGTP, ddTTP, ddATP, ddCTP). Unei ddNTP îi lipsește la capătul 3' gruparea –OH, care se găsește în mod normal la o deoxiribonucleotidă (**Figura 1.4.**).



**Figura 1.4** Formula chimică a unei deoxiribonucleotide (dNTP) și a unei dideoxiribonucleotide (ddNTP)

Când are loc polymerizarea ADN, noua dNTP adăugată formează o legătură covalentă cu capătul 3'-OH a ultimei dNTP din lanțul nucleotidic, deci sensul de elongare este de la 5' către 3'. Dacă ultima încorporată a fost o ddNTP, din cauza lipsei grupării –OH, elongarea se sfârșește. Deoarece, în fiecare dintre cele 4 eprubete există un singur tip de ddNTP, toate catenele de ADN dintr-o eprubetă se termină cu aceeași bază (de exemplu, în tubul cu ddATP toate catenele se termină cu adenină). Prin utilizarea unei cantități foarte mici de ddATP, în mod normal, când are loc polymerizarea, la catena în creștere se adaugă de obicei dATP. Astfel, dacă doar 1% dintre nucleotidele care conțin adenină sunt ddNTP-uri, în timpul elongării în 99% dintre situații se va încorpora o dATP normală, iar procesul va continua până în momentul adăugării unei ddATP.

După câteva minute polymerizarea este oprită, iar conținutul fiecărei eprubete este încărcat în gelul de electroforeză în 4 godeuri separate. Moleculele de ADN de dimensiuni diferite vor migra diferit și vor putea fi separate în funcție de lungimea lor. Ulterior, gelul va fi supus autoradiografierii, filmul va fi dezvoltat și citit de jos (capătul 5') în sus (capătul 3'), știut fiind că moleculele de dimensiuni mici vor migra mai rapid (**Figura 1.3**).

Secvențierea radioactivă oferă rezultate bune, dar necesită un volum mare de muncă. O reducere substanțială a timpului de lucru a fost obținută prin înlocuirea marcării radioactive cu diferiți colorați fluorescenți, specifici fiecărei bazei azotate. Astfel, în prezent se folosește un singur tub, care se încarcă într-o singură linie în gel, iar citirea se face cu ajutorul unui spot laser care excită fluorocromii încorporați și a unui computer ce înregistrează automat datele (respectiv intensitatea semnalului luminos) și le convertește în ordinea nucleotidelor din secvența de ADN analizată (Dudbery 2002). De la secvențierea radioactivă, prin îmbunătățirile aduse tehnicii, s-a ajuns în prezent la secvențierea automatizată, care, utilizând în loc de electroforeza clasică, electroforeza capilară, permite secvențierea în timp foarte scurt a unui număr mare de secvențe ADN.

Kreitman (1983) a fost primul cercetător care a utilizat secvențierea ADN în studiile de genetică populațională. El a secvențiat 11 copii ale genei alcool dehidrogenazei (*Adh*) de la *Drosophila melanogaster*, reprezentând în total 2721 de nucleotide, care includ secvența codificatoare, trei introni și porțiuni din regiunile netranscrise de la ambele capete 5' și 3' ale genei. Rezultatele au arătat că dintre cele 2742 de nucleotide, 43 sunt polimorfice (1,6%), respectiv diferite la cele 11 copii. De asemenea, au fost identificate nouă secvențe unice, adică **haplotipuri**. Un haplotip este o secvență unică de markeri genetici linkați, în acest caz de nucleotide. Numai la nivelul secvenței codificatoare, Kreitman a observat că 8 din cele 11 copii erau unice (8 haplotipuri), iar 14 din cele 768 de situsuri erau polimorfice (**Tabel 1.2**).

**Tabel 1.2** Rezultatele studiului lui Kreitman (1983) asupra secvenței ADN din regiunea care conține gena pentru alcool dehidrogenaza (*Adh*) la *Drosophila melanogaster* (preluat din Halliburton 2004)

Regiunea	Număr perechi baze	de de	Număr de situsuri polimorfice	Proporția situsurilor polimorfice
Secvența codificatoare	768		14	0,0182
Intronii	789		18	0,0228
Segment transcris, dar netradus	335		3	0,0090
Regiunea 5' netranscrisă	63		3	0,0476
Regiunea 3' netranscrisă	767		5	0,0065
Întreaga secvență	2722		43	0,0158

Rezultatele obținute au fost neașteptate, mai ales prin comparație cu datele despre alozime. Electroforeza alcool dehidrogenazei, efectuată anterior pe probe prelevate

de la sute de indivizi, evidențiasse doar două alele, notate F (fast=rapid) și S (slow=lent), după viteza de migrare în gelul de agaroză sau de poliacrilamidă. S-a dovedit astfel că, electroforeza alozimelor subestimează variația genetică, nefiind capabilă să detecteze majoritatea polimorfismelor de la nivelul moleculei de ADN.

Dintre cele 14 situsuri polimorfice din secvența codificatoare, 13 sunt sinonime, adică modificările de la nivelul lor nu schimbă succesiunea de aminoacizi din proteină. Celălalt polimorfism este responsabil pentru cele două alelele F și S detectate electroforetic.

Modificările la nivelul unei singure nucleotide, așa cum sunt cele detectate de Kreitman, se numesc polimorfisme ale unei singure nucleotide (**single nucleotide polymorphism** sau **SNP**). Deși aceste polimorfisme pot fi detectate prin secvențierea ADN de la indivizi diferiți, în prezent, anumite tehnici moderne, cum sunt chipurile ADN permit identificarea automatizată și rapidă a SNP-urilor.

Numeroase alte studii ulterioare, efectuate direct la nivelul macromoleculei de ADN, au confirmat nivelul ridicat al variației genetice în populațiile naturale.

### 1.3.2.2 Metode indirecte care deduc variațiile la nivelul secvenței ADN

Spre deosebire de secvențierea directă, metodele indirecte sunt mai puțin sensibile, dar mai rapide și mai ieftine. Diferite tehnici moleculare permit studierea unui număr mare de indivizi, iar variantele genetice descoperite pot fi ulterior secvențiate pentru clarificarea și certificarea rezultatelor.

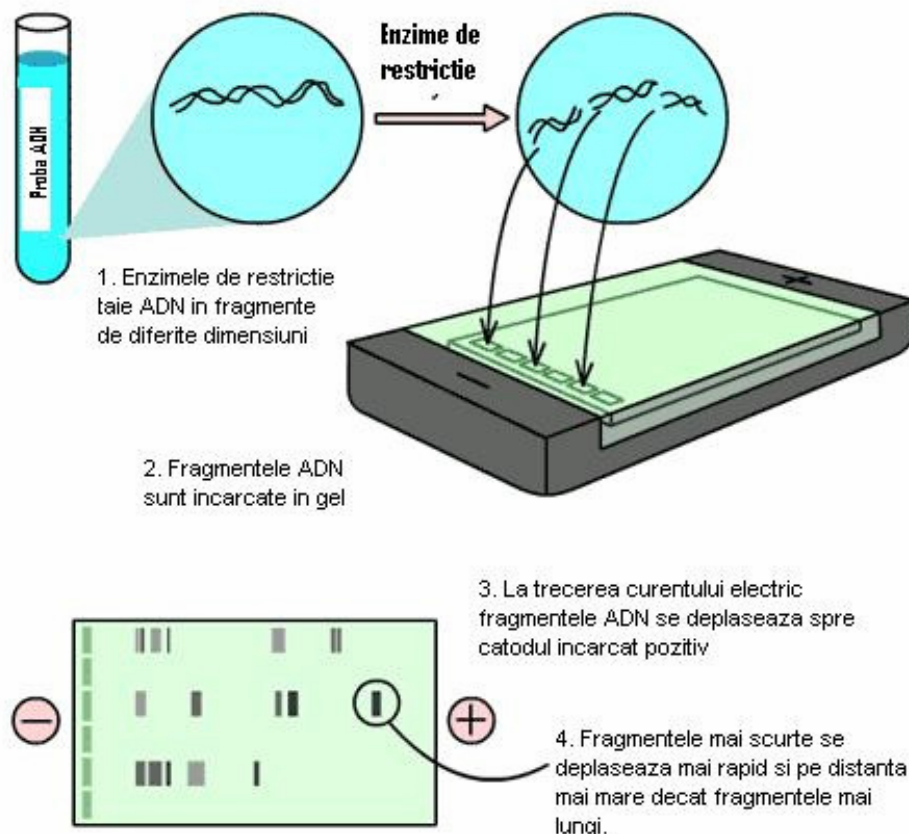
În continuare vom descrie pe scurt câteva dintre tehnicile moleculare ale căror rezultate stau la baza identificării și cuantificării variației genetice în populațiile naturale.

#### Polimorfismele de lungime ale fragmentelor de restricție (RFLP)

Tehnica RFLP (**R**estriction **F**ragment **L**ength **P**olymorphism) este una dintre primele tehnici folosite pentru studiul variației genetice. RFLP folosește restricția enzimatică și electroforeza în gel de agaroză sau poliacrilamidă pentru a analiza variația de la nivelul situsurilor de recunoaștere ale enzimelor de restricție.

Dacă între indivizi există diferențe ce crează sau distrug situsurile de recunoaștere pentru o anumită enzimă de restricție, enzima va tăia în zone diferite, generând fragmente cu lungimi variate. Aceste fragmente pot fi separate prin electroforeză în gel de agaroză sau poliacrilamidă și vizualizate prin alte câteva metode (**Figura 1.5**).

Deoarece prezența sau absența situsurilor de restricție generează fragmente de restricție de mărime diferită, aceste polimorfisme se numesc, așa cum am amintit în titlu, **polimorfisme de lungime ale fragmentelor de restricție**.



**Figura 1.5** Tehnica RFLP

În populațiile naturale, acele fragmente, care provin din poziții corespondente ale cromozomilor omologi, sunt analoage alelelor în ceea ce privește comportamentul. Fragmentele de restricție de mărimi diferite sunt codominante pentru că ambele sunt detectate la heterozigoți. Astfel, RFLP-urile se pretează studiilor de genetică populațională, întrucât genotipul poate fi ușor dedus din fenotip. De exemplu, prin modificarea unei nucleotide se poate elimina un situs de restricție; ca urmare, fragmentul de restricție va fi mai lung și va fi pus ușor în evidență.

RFLP-urile sunt comune la om, dar și la numeroase alte organisme și reprezintă un instrument util pentru identificarea variației genetice, mai ales că sunt răspândite în întreg genomul.

În prezent, această tehnică, care furnizează informații similare cu electroforeza alozimelor, a fost înlocuită în numeroase cercetări cu alte tehnici moleculare mai

sensibile. Cu toate acestea, ea este încă folosită în studiul maladiilor genetice umane, precum și în cartarea genică.

### **Polimorfisme de lungime ale fragmentelor amplificate (AFLP)**

Această tehnică (**A**mplified **F**ragment **L**ength **P**olymorphism=AFLP) utilizează metodologia PCR pentru amplificarea unor regiuni specifice de ADN. Procedura implică:

- tăierea simultană a ADN genomic cu două enzime de restricție (de exemplu *EcoRI* și *BamHI*),
- adăugarea la capetele fragmentelor de restricție a unor adaptor moleculari cu secvență cunoscută,
- amplificarea fragmentelor folosind primeri care recunosc acești adaptor moleculari,
- separarea fragmentelor prin electroforeză în gel de agaroză sau poliacrilamidă și vizualizarea lor.

Interpretarea rezultatelor se bazează pe prezența sau absența unei anumite benzi în gel, care însă nu se asociază cu anumiți loci specifici. Din această cauză, tehnica nu poate fi folosită pentru estimarea heterozigoției sau pentru alte studii care necesită informații clare despre un anumit locus.

AFLP este utilă în identificarea indivizilor și determinarea relațiilor dintre ei, precum și pentru stabilirea fluxului de gene între populații naturale.

### **ADN polimorfic amplificat randomic (RAPD)**

Pentru amplificarea unor secvențe ADN se folosesc simultan câte doi primeri cu secvențe întâmplătoare (sens și antisens). Dacă secvențele țintă sunt suficient de apropiate unele de altele, prin PCR se poate amplifica și ADN dintre ele.

Diferențele în ceea ce privește secvențele țintă sau lungimea ADN dintre secvențele țintă determină apariția unor produși de amplificare cu dimensiuni diferite.

Tehnica RAPD (**R**andom **A**mplified **P**olymorphic **D**N A) este asemănătoare tehnicii AFLP, rezultatele obținute nefiind asociate cu anumiți loci specifici și, de aceea, utilizarea ei este destul de limitată.

### **Variații ale numărului de repetiții**

Cromozomii eucariotelor conțin regiuni cu secvențe scurte de ADN repetat de multe ori. Acest ADN este cunoscut și sub denumirea de *satelit*, deoarece inițial a fost

observat în urma purificării prin centrifugare fracționată, sub forma unei benzi suplimentare.

ADN satelit este localizat la nivelul centromerilor, telomerelor, dar și dispersat mai mult sau mai puțin întâmplător în genom. Fiecare cluster de ADN repetat este considerat un locus, iar numărul de repetiții dintr-un asemenea locus este variabil.

Majoritatea ADN satelit se găsește în regiunile necodificatoare ale cromozomilor eucariotelor, iar variația observată la acest nivel pare să fie neutră în raport cu selecția naturală.

După lungimea secvențelor repetate se întâlnesc două tipuri de loci: minisateliți și microsateliți.

**Minisateliții** sunt loci răspândiți în întreg genomul și care conțin repetiții de aproximativ 15-30 de nucleotide; numărul de repetiții per locus variază între 2 și 20.

Tehnica de evidențiere a minisateliților este cunoscută sub numele de **VNTR** (Variable Number of Tandem Repeats= Număr variabil de repetiții în tandem) și constă în:

- tăierea ADN cu enzime de restricție în afara clusterelor cu repetiții,
- separarea electroforetică a fragmentelor,
- transferarea fragmentelor pe o membrană de nylon (Southern blott),
- hibridizarea cu o sondă ADN ce conține o secvență conservată din interiorul unității repetate, de obicei de 10-15 pb,
- autoradiografierea sau vizualizarea prin alte metode a modelului de bandare obținut.

Indivizii cu număr diferit de repetiții într-un anumit locus minisatelitic vor prezenta un model diferit de benzi. Locii minisatelitici variază foarte mult, astfel încât tehnica VNTR reprezintă baza **amprentării ADN** (DNA fingerprinting). Deoarece locii minisatelitici se moștenesc mendelian (câte jumătate de la fiecare părinte), această tehnică folosește pentru stabilirea paternității, în criminalistică sau pentru studiul modelului de împerechere din populațiile naturale.

**Microsateliții** sunt asemănători minisateliților, dar unitatea repetată are 2-5 nucleotide și în medie apare de 10-20 ori per locus. Există mii de loci microsatelitici răspândiți în tot genomul (de exemplu la om sunt aproximativ 50.000 de loci microsatelitici).

Locii microsatelitici variază foarte mult, unii dintre ei având mai mult de 10 alele. Trebuie subliniat faptul că, în general, indivizii sunt heterozigoți la nivelul acestor loci. Variația la nivelul locilor microsatelitici se evidențiază prin tehnica **STRP** (**S**ingle **T**andem **R**epeat **P**olymorphism) și folosește PCR pentru amplificarea unui anumit locus, utilizând primeri construiți pe baza secvențelor unice care flanchează locusul. Deoarece se amplifică un singur locus se pot determina fără ambiguități genotipurile corespunzătoare. Din această cauză, microsateliții sunt mai utili pentru amprentarea ADN și sunt folosiți pentru cartarea genelor care produc îmbolnăviri și a locilor răspunzători de anumite caractere cantitative.

### Chipuri ADN

Această tehnică (denumită în limba engleză **DNA microarray**) este cea mai nouă metodologie utilizată în studiile de biologie moleculară.

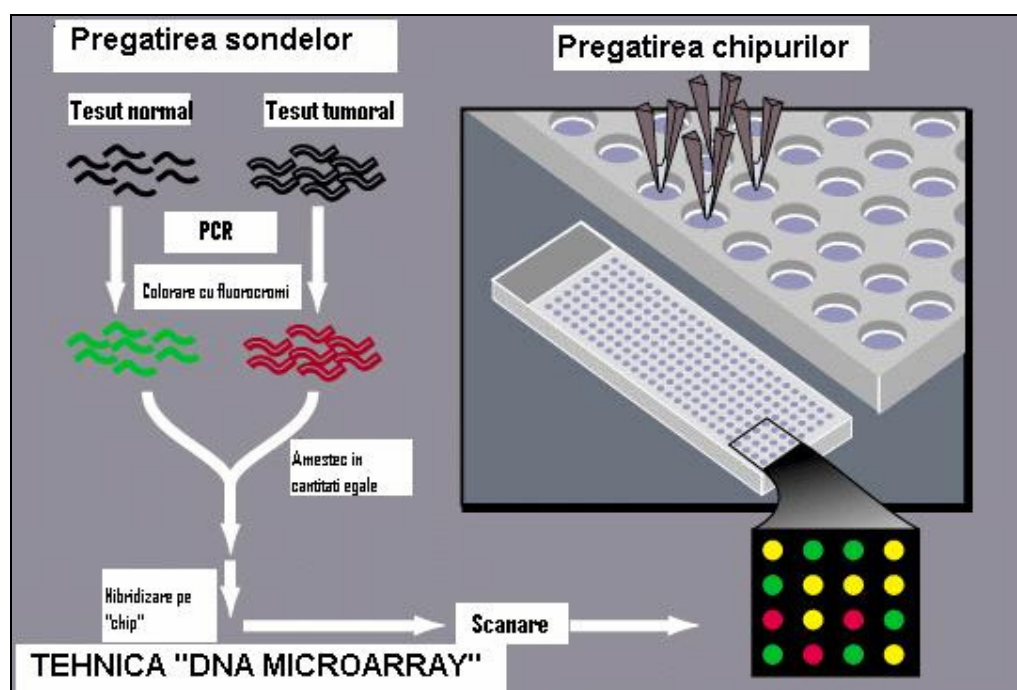


Figura Reprezentarea schematică a tehnologiei „chipurilor ADN” pentru identificarea mutațiilor de la nivelul genelor implicate în malignizare

Chipurile ADN sunt asemănătoare lamelor de microscop, fiind confecționate din sticlă sau silicon. Au un caroiaj ce include până la 1.000.000 de godeuri. De aceste lame se atașează sonde ADNmc, ușor diferite în fiecare godeu. ADN ce trebuie testat este denaturat, colorat fluorescent și adăugat pe chip pentru a permite hibridizarea cu sondele corespunzătoare. Hibridizarea se desfășoară în condiții speciale, care nu



permit decât complementaritățile perfecte. ADN rămas nehibridizat este îndepărtat. Pentru vizualizarea rezultatelor se realizează o scanare laser, care evidențiază fluorescența, iar datele sunt introduse în calculator și prelucrate cu programe adecvate (**Figura 1.6**).

Această tehnică este foarte utilă pentru: a) identificarea mutațiilor de la nivelul genelor asociate cu maladia canceroasă, b) studiul SNP-urilor (Single Nucleotide Polymorphism = Polimorfismul unei singure nucleotide), c) studiul exprimării genelor și, d) recent, în cercetările de genetica populațiilor.

### EXERCIIȚII ȘI PROBLEME

1. Definiți caracterele polimorfice.
2. Argumentați avantajele studiului polimorfismelor ADN față de polimorfismele enzimactice.
3. Încercuiți varianta corectă de răspuns:
  - Variabilitatea genetică:
    - a) este sursa procesului evolutiv
    - b) reprezintă diferențele fenotipice dintre specii
    - c) este asociată cu caracterele discrete
    - d) apare prin recombinare genetică.
  - Polimorfismele ADN:
    - a) sunt forme alternative ale alozimelor
    - b) descriu variabilitatea genetică a populațiilor naturale
    - c) corespund frecvențelor alelice mai mici de 5%
    - d) sunt frecvente la vertebrate.
4. Comparați tehnicile RFLP, RAPD și AFLP și indicați câteva posibile utilizări în cercetările de genetică populațională.
5. Explicați diferențele dintre vertebrate și nevertebrate în ceea ce privește variația genetică.

## 2. FRECVENȚE ALELICE ȘI FRECVENȚE GENOTIPICE

Pentru cuantificarea variabilității genetice se folosește conceptul *variației alelice*. Datorită numărului foarte mare de loci, unii cu multe alele, este foarte greu de realizat o descriere completă a genofondului unei populații, deși genofondul, în sine, reprezintă o simplificare. Totuși, tehnicile actuale permit o estimare a frecvenței alelelor dintr-o populație naturală pe baza frecvenței genotipurilor determinate pentru un anumit eșantion reprezentativ.

Fiecare genă din genom se găsește sub diferite forme alelice și, din acest punct de vedere, un individ diploid este fie homozigot, fie heterozigot. Într-o populație putem calcula frecvența diferitelor genotipuri homozigote sau heterozigote pentru o anumită genă și, pornind de la aceste frecvențe putem estima frecvența fiecăreia dintre alelele corespunzătoare. Aceste calcule reprezintă baza, fundamentul geneticii populațiilor.

### 2.1 Calcularea frecvenței alelice pe baza frecvenței genotipice

Pentru un locus *frecvența unei alele ( $f_A$ ) este numărul de copii al alelei date raportat la numărul total de copii ale tuturor alelelor din locusul respectiv.*

În mod obișnuit, frecvența alelică se exprimă ca **frecvență relativă**. Astfel, frecvența relativă a unei alele reprezintă **proporția alelelor de un anumit tip, raportat la numărul total de alele pentru un anumit locus, existentă la un moment dat în cadrul genotipurilor diploide din populație.**

**Frecvența genotipurilor** se exprimă, de asemenea, ca frecvență relativă și reprezintă **proporția organismelor care au un anumit genotip, din numărul total de indivizi din populație.**

Frecvența alelică poate fi calculată cunoscând frecvența genotipică prin exprimarea contribuției fiecărui genotip diploid la alela în discuție. Astfel, să analizăm un locus autozomal cu două alele **A** și **a** și trei genotipuri **AA**, **Aa** și **aa** cu frecvențele corespunzătoare **D**, **H** și respectiv **R**. Notând cu **p** frecvența alelei **A** și cu **q** frecvența alelei **a**, acestea vor avea următoarele valori:

$$p = D + \frac{1}{2}H$$

$$q = D + \frac{1}{2}H$$

De exemplu, dacă într-o populație genotipurile **AA** au frecvența **D**=0,01, genotipurile **Aa** au frecvența **H**=0,2, iar genotipurile **aa** frecvența **R**=0,7, atunci:

$$p = 0,1 + \frac{1}{2}0,2 = 0,2 \text{ (frecvența alelei A)}$$

$$q = 0,7 + \frac{1}{2}0,2 = 0,8 \text{ (frecvența alelei a)}$$

În exemplul anterior, alela A se găsește în dublu exemplar în genotipurile homozigote **AA**, care au frecvența **D**, iar în genotipurile heterozigote **Aa**, cu frecvența **H**, într-un singur exemplar. Deoarece în acest locus există doar două alele **A** și **a**, cu frecvențele **p** și **q** și trei genotipuri posibile **AA**, **Aa** și **aa**, cu frecvențele **D**, **H** și **R**:

$$p + q = 1, \text{ iar}$$

$$D + H + R = 1$$

Atât frecvența alelică, cât și frecvența genotipică, când sunt exprimate sub formă de frecvențe relative, iau valori cuprinse între 0 și 1. Pentru frecvența alelică valoarea 0 semnifică faptul că, alela respectivă s-a pierdut din populație, iar valoarea 1 că alela s-a fixat în acea populație.

Calcularea frecvenței alelice poate fi extinsă la un locus cu mai multe alele. Pentru a ilustra acest lucru, să presupunem că într-o populație avem N alele  $A_1, A_2, A_3, \dots, A_n$ , care se găsesc în populație cu frecvențele  $f(A_1), f(A_2), f(A_3), \dots, f(A_n)$ . Genotipurile din populație sunt  $A_1A_1, A_1A_2, A_1A_3, \dots, A_nA_n$ . Ținând cont de faptul că fiecare alelă există în duplicat într-un singur genotip homozigot și într-un singur exemplar în genotipurile heterozigote, frecvența alelei **i** poate fi exprimată ca suma contribuției diferitelor genotipuri în care ea se găsește, respectiv:

$$f(A_i) = f(A_iA_i) + \frac{1}{2}f(A_1A_i) + \frac{1}{2}f(A_2A_i) + \dots + \frac{1}{2}f(A_nA_i)$$

Această ecuație arată că *frecvența unei alele este egală cu frecvența alelei în genotipul homozigot pentru acea alelă, plus jumătate din valoarea frecvenței tuturor heterozigoților purtători ai alelei respective.*

Dacă alelele segregă normal în meioză, adică echilibrat în cei doi gameți, iar genotipurile sunt egal viabile și fertile, frecvența alelică la adulți este egală cu frecvența alelică la gameți.

**Exemplu 2.1**

Într-o populație, genotipurile corespunzătoare alelelor  $A_1$ ,  $A_2$  și  $A_3$  se află în următorul raport:  $1A_1A_1: 2A_2A_2: 1A_3A_3: 2A_1A_2: 4A_2A_3: 2A_1A_3$ . Care este frecvența celor trei alele din această populație?

**Rezolvare:** Suma celor șase termeni din raportul genotipurilor este  $1+2+1+2+4+2=12$ . În această situație, frecvențele genotipurilor  $A_1A_1$ ,  $A_2A_2$ ,  $A_3A_3$ ,  $A_1A_2$ ,  $A_2A_3$ ,  $A_1A_3$  sunt  $1/12$ ,  $2/12$ ,  $1/12$ ,  $2/12$ ,  $4/12$  și, respectiv,  $2/12$ . Pornind de la aceste valori putem calcula frecvențele alelice după cum urmează:

$$\begin{aligned} f(A_1) &= f(A_1A_1) + \frac{1}{2}f(A_1A_2) + \frac{1}{2}f(A_1A_3) = \frac{1}{12} + \frac{2}{24} + \frac{2}{24} = \frac{3}{12} \\ f(A_2) &= f(A_2A_2) + \frac{1}{2}f(A_1A_2) + \frac{1}{2}f(A_2A_3) = \frac{2}{12} + \frac{2}{24} + \frac{4}{24} = \frac{5}{12} \\ f(A_3) &= f(A_3A_3) + \frac{1}{2}f(A_1A_3) + \frac{1}{2}f(A_2A_3) = \frac{1}{12} + \frac{2}{24} + \frac{4}{24} = \frac{4}{12} \end{aligned}$$

**Exercițiu individual 2.1**

Să presupunem că, într-o altă populație, cele șase genotipuri din exemplul anterior au toate aceeași frecvență. Care este frecvența celor trei alele existente în această populație?

**2.2 Măsurarea variabilității alelice**

Frecvențele alelice sunt mai utile în studiul variației genetice din populațiile naturale, deoarece genele formează punți între generații și sunt mai stabile. Spre deosebire de acestea, frecvențele genotipice variază permanent datorită segregării și recombinării genetice din ciclul reproductiv. **Frecvența genotipică nu poate fi calculată cunoscând frecvența alelică întrucât, fără a cunoaște sistemul de împerechere, rezultatele ar putea fi incorecte.**

În mod curent, determinarea variabilității alelice din populațiile naturale se realizează prin estimarea numărului și frecvențelor relative a alelelor prezente pe baza identificării diferitelor genotipuri, ceea ce nu este posibil decât pentru caracterele care prezintă **codominanță**, adică fiecare genotip este exprimat ca un fenotip distinct.

Pentru un calcul complet, exemplificăm cu grupele din sistemul sanguin MN. Sistemul sanguin MN nu este corelat cu sistemele grupelor sanguine ABO sau Rh și constă din două antigene foarte slabe, M și N, de pe suprafața hematiilor. Aceste antigene sunt codificate de alelele codominante M și N de pe cromozomul 4. Datorită codominanței distingem 3 fenotipuri MM, MN și NN, corespunzătoare celor 3

genotipuri MM, MN și respectiv NN. Cunoscând apartenența indivizilor dintr-o populație la fiecare dintre cele trei grupe de sânge din sistemul MN se poate calcula frecvența alelică relativă din acea populație. Astfel, dacă la 1000 de locuitori 298 au grupa MM, 489 au grupa MN și 213 NN frecvențele relative se obțin astfel:

Cele 298 persoane MM au 2 x 298 alele M = 596 alele M

Cele 489 persoane MN au 489 alele M și

489 alele N

Cele 213 persoane NN au 2 x 213 alele N = 426 alele N

} 1085 alele M  
 } 915 alele N

Frecvența relativă a alelei **M** ( $f_M$ ) =  $\frac{596 + 489}{2 \times 1000}$  și deci ( $f_M$ ) =  $\frac{1085}{2000} = 0,5425$ , iar

frecvența relativă a alelei **N** ( $f_N$ ) =  $\frac{489 + 426}{2 \times 1000} = 0,4575$ . De remarcat că, la calcularea

numărului de alele se ține cont de faptul că avem de a face cu populații diploide, care au câte o alelă pe fiecare dintre cei doi cromozomi omologi, de aceea am multiplicat cu 2 numărul indivizilor din populație.

Din datele pe care le avem putem calcula, de asemenea, frecvența genotipică relativă. Astfel, frecvența relativă a genotipului **MM** ( $f_{MM}$ ) =  $\frac{298}{1000} = 0,298$ , a

genotipului **MN** ( $f_{MN}$ ) =  $\frac{489}{1000} = 0,489$ , iar a genotipului **NN** ( $f_{NN}$ ) =  $\frac{213}{1000} = 0,213$ .

Variația genetică este mai mare între populații, decât în cadrul populației. La eschimoși frecvența grupei **MM** este de 60% (adică 0,6), în timp ce grupa **NN** se regăsește doar la 3% din populație (adică 0,03). Spre deosebire de aceștia, aborigenii din Australia au în majoritate grupa **NN** (Tabel 2.1).

**Tabel 2.1** Frecvențe alelice și genotipice pentru sistemul sanguin MN la diferite populații umane (după Elseth, 1995)

Populație	Localizare	Frecvențe genotipice			Frecvențe alelice	
		MM	MN	NN	M	N
Aborigeni	Australia de Sud	0,024	0,304	0,672	0,176	0,824
Bengali	India	0,354	0,508	0,138	0,608	0,392
Eschimoși	Insula Baffin	0,662	0,310	0,028	0,817	0,183
Germani	Berlin	0,284	0,499	0,217	0,533	0,467
Japonezi	Tokyo	0,285	0,510	0,205	0,540	0,460
Polinezieni	Hawaii	0,125	0,417	0,458	0,333	0,667

Totuși, cele mai multe dintre alele se află în relație de **dominanță-recesivitate**, heterozigoții având același fenotip ca homozigoții dominanți. În această situație

frecvența alelică nu poate fi calculată direct pe baza frecvenței fenotipice. Sunt necesare alte tehnici, ca de exemplu metode citogenetice, biochimice sau modelare matematică.

În unele situații, **încrucișările** (crossing) controlate au fost utilizate pentru detectarea purtătorilor de alele recesive. Apoi, se putea determina frecvența heterozigoților, ceea ce permitea calcularea frecvenței alelice. **Tehnicile citologice** au permis, de asemenea, detectarea variabilității atunci când o alelă este asociată cu un rearanjament cromozomial identificabil (de exemplu, o inversie). În ultimii ani, se utilizează, așa cum am arătat în capitolul anterior, **metode biochimice și moleculare**, care furnizează fie informații directe cu privire la succesiunea nucleotidelor în macromolecula de ADN, fie informații indirecte din care se poate deduce nivelul variației genetice.

## 2.3 Sisteme de împerechere

În capitolul anterior am subliniat faptul că, în mod obișnuit, frecvențele alelice se calculează pornind de la frecvențele genotipice, în timp ce frecvențele genotipice nu pot fi calculate pe baza frecvențelor alelice decât dacă cunoaștem sistemul de împerechere.

**Sistemul de împerechere** reprezintă modelul prin care fiecare individ își alege perechea.

Prin unirea gameților, fiecare cu propriul set de alele, ia naștere genotipul generației următoare. Din această cauză, frecvența genotipurilor zigoților este determinată de frecvența cu care diferitele tipuri de gameți parentali se unesc. Frecvența acestor uniri este consecința sistemului de împerechere.

În populațiile naturale se întâlnesc 3 sisteme de împerechere:

- împerecheri întâmplătoare;
- împerecheri asortative;
- împerecheri consangvine.

### 2.3.1 Împerecherea întâmplătoare

**Împerecherea întâmplătoare** este cel mai simplu și cel mai răspândit tip de împerechere. Perechile se formează fără a ține cont de genotip, ceea ce înseamnă că genotipurile perechilor sunt statistic necorelate (Elseth 1995). Nu se observă nici o tendință pentru ca indivizii să-și selecteze parteneri asemănători sau diferiți genotipic.

Frecvența împerecherii întâmplătoare între doi indivizi are loc proporțional cu frecvența relativă a genotipurilor lor și poate fi exprimată sub forma produsului dintre frecvențele genotipurilor. De exemplu, dacă un genotip AA are într-o populație frecvența 0,5, oricare individ din populația respectivă are 50% șanse să se împerecheze cu un individ cu genotip AA. În această situație, frecvența împerecherilor AA x AA este  $0,5 \times 0,5 = 0,25$ . Această valoare reprezintă, în același timp și probabilitatea ca doi indivizi AA să se împerecheze între ei.

### Exemplu 2.2

Într-o populație, genotipurile AA, Aa și aa se întâlnesc cu frecvențele 0,6, 0,4 și 0. Care va fi proporția împerecherilor între indivizi cu genotipuri diferite, dacă această populație se împerechează întâmplător?

**Rezolvare:** În această populație pot avea loc trei tipuri de împerecheri: Aa x AA, Aa x Aa și Aa x aa. Dintre acestea, doar împerecherea Aa x Aa implică genotipuri diferite. Deoarece această împerechere include două posibilități: mascul Aa x femelă Aa și femelă Aa x mascul Aa, fiecare cu frecvența  $0,6 \times 0,4 = 0,24$ , frecvența totală a acestei împerecheri în populație este  $2 \times 0,24 = 0,48$ .

### Exercițiu individual 2.2

Într-o altă populație, genotipurile AA, Aa și aa se întâlnesc cu frecvențele 0,1, 0,2 și 0,7. Care va fi proporția împerecherilor între indivizi cu genotipuri identice, dacă această populație se împerechează întâmplător?

Împerecherea întâmplătoare are două caracteristici importante:

- constituția genetică a descendenților depinde de frecvența alelică a părinților și nu de frecvența genotipului parental.
- compoziția genotipică a generației parentale nu poate fi prezisă numai pe baza frecvenței genotipice a descendenților. Astfel, nu poate fi reconstruită istoria genetică a unei populații folosind doar proporțiile genotipice ale populației date.

### 2.3.2 Împerecherea asortativă

**Împerecherea asortativă** este o formă de împerechere bazată pe gradul de asemănare fenotipică. Acest sistem de împerechere este de două tipuri: împerechere asortativă *pozitivă* și împerechere asortativă *negativă*.

În împerecherea asortativă pozitivă perechile au fenotip identic sau fenotip foarte asemănător. De exemplu, în populațiile umane, sunt mai frecvente împerecherile între indivizi cu aceeași culoare a pielii, același scor IQ sau cu greutate asemănătoare, decât cele între indivizi diferiți în ceea ce privește aceste caracteristici.

Împerecherea asortativă negativă este împerecherea între indivizi care au fenotipurile mai diferite decât este de așteptat în mod normal. La unele specii de *Primula*, în populațiile naturale se întâlnesc, în proporții relativ egale, două tipuri de flori: tipul *pin* cu stil lung și stamine scurte și tipul *thrum* cu stil scurt și stamine lungi. La aceste plante polenizarea este entomofilă și se face astfel: insectele care pătrund la baza florii iau polen de la tipul *pin* și îl duc la tipul *thrum*, iar insectele care ajung doar la suprafața florilor iau polen de la tipul *thrum* și îl transportă la florile *pin*. Acest tip de împerechere este promovat pentru că polenul de tip *pin* crește mai bine pe stigmatul *thrum*.

### 2.3.3 Consangvinizarea

Unirea sexuală a indivizilor înrudiți se numește **consangvinizare**. După unii cercetători, acest sistem de împerechere reprezintă o formă particulară de împerechere asortativă pozitivă.

Caracteristica esențială a consangvinizării este legată de existența unui ancestor comun și, ca urmare, gradul de consangvinizare e influențat de gradul de înrudire (de gradul relațiilor genetice) dintre parteneri. Astfel, în acest tip de împerechere sunt implicați indivizi mai înrudiți decât era de așteptat.

Opusul consangvinizării (în engleză inbreeding) este împerecherea între indivizi mai diferiți decât era de așteptat (în engleză outbreeding). Deoarece împerecherile selective au baze genetice, efectele calitative ale consangvinizării și împerecherii asortative pozitive, pe de o parte și ale outbreedingului și împerecherii asortative negative, pe de altă parte sunt asemănătoare.

Consangvinizarea și împerecherea asortativă pozitivă se caracterizează prin tendința de a alege parteneri cu genotipuri asemănătoare ( $AA \times AA$ ,  $aa \times aa$  etc.), ceea ce crește șansa ca descendenții să aibă alele identice. În această situație, în mod evident crește homozigoția. În contrast, outbreedingul și împerecherea asortativă negativă duc la creșterea heterozigoției.

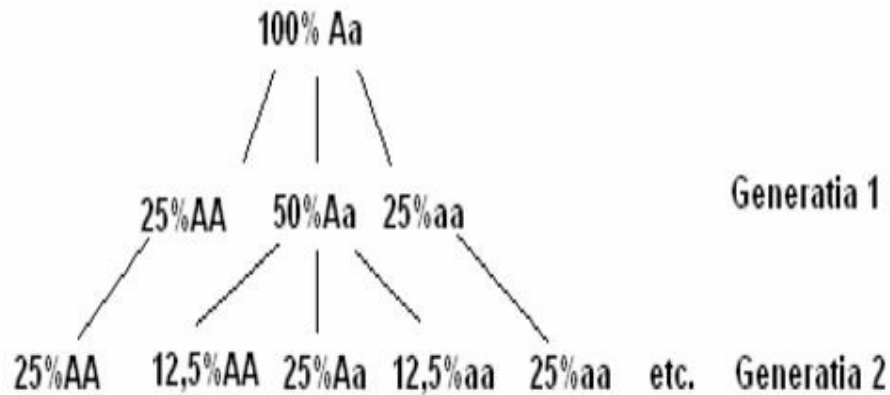
Cazul extrem de împerechere neîntâmplătoare este reprezentat de autopolenizare. Pornind, de exemplu, de la un individ heterozigot, în fiecare generație heterozigoția



se reduce la jumătate (**Figura 2.1**). Dacă autopolenizarea continuă, frecvența heterozigoților după  $t$  generații se modifică conform relației:

$$H_t = \left(\frac{1}{2}\right)^t \cdot H_0,$$

unde,  $H_t$  reprezintă frecvența heterozigoților la momentul  $t$ , iar  $H_0$  este frecvența heterozigoților la momentul inițial. În final, heterozigoția va tinde către 0 și toți indivizii vor fi homozigoți pentru una sau alta dintre alele.



**Figura 2.1** Reducerea heterozigoției în condițiile autopolenizării, pornind de la un individ heterozigot **Aa**

Creșterea homozigoției are loc și în cazuri mai puțin severe de consangvinizare. Pe o scală, autopolenizarea ocupă primul loc și necesită trei generații până la homozigotarea completă, urmează relațiile frate-soră care necesită nouă generații și apoi alte forme de consangvinizare.

În ciuda asemănărilor calitative, împerecherile neîntâmplătoare pe baze fenotipice diferă de cele pe baze genotipice. În timp ce împerecherile asortative (pozitive sau negative) afectează doar genele care determină caracterele implicate în selecția partenerului, consangvinizarea și outbreedingul extind similaritățile la scala întregului genom. Consangvinizarea determină, în final, fixarea tuturor alelelor (frecvența alelică devine 1) și determină apariția liniilor pure. De exemplu, o genă cu două alele **A** și **a** va genera apariția a două linii pure (**AA** și **aa**), două gene cu câte două alele generează patru linii pure (**AABB**, **Aabb**, **aaBB**, **aabb**),  $n$  gene cu  $n$  alele generează  $2^n$  linii pure.

Cu excepția outbreedingului, celelalte forme de împerechere neîntâmplătoare nu modifică compoziția alelică, dar determină modul în care gameții se combină în zigot, afectând genotipul.

Așa cum am anunțat la începutul capitolului, nu putem estima frecvența genotipului fără a cunoaște sistemul de împerechere. În capitolele următoare vom analiza importanța tipului de împerechere pentru evoluția populațiilor naturale.

### EXERCIIII ȘI PROBLEME

1. Calculați pe baza următoarelor date populaționale frecvențele alelice și frecvențele genotipice:

Genotipuri	Număr genotipuri
AA	68
Aa	42
aa	24

2. Într-un grup de 1400 persoane din New York 408 persoane au sânge de tip M, 694 de tip MN și 298 de tip N. Determinați frecvența genotipurilor M, MN și N în acest eșantion și frecvența alelelor  $L^M$  și  $L^N$ .
3. Să presupunem că 25 din 750 de studenți sunt roșcați. Care este frecvența roșcaților? Dacă un student este selectat la întâmplare, care este probabilitatea ca el să fie roșcat?
4. Dacă într-o populație de 700 de vaci, 63 au 2 alele R și 298 au o alelă R, care este frecvența alelelor R și r?
5. 100 de exemplare de *Drosophila melanogaster* au fost testate electroforetic în privința locusului alcool dehidrogenazei (Adh). S-au găsit 2 alele S și F (pentru migrație lentă și respectiv rapidă). Rezultatele înregistrate au fost: SS – 66 exemplare, SF – 20 exemplare și FF – 14 exemplare. Care sunt frecvențele alelice și frecvențele genotipice în populație?
6. Folosind datele din tabelul următor, calculați frecvența alelelor pentru cele 3 fosfataze alcaline găsite într-un eșantion reprezentativ de locuitori din Marea Britanie.

Genotipuri	Număr persoane
SS	141
SF	111
FF	28
SI	32
FI	15
II	5
<b>Total</b>	<b>332</b>

7. Într-o populație genotipurile pentru alelele  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $A_3$  se găsesc în următorul raport:  $1A_1A_1:3A_2A_2:1A_3A_3:1A_1A_2:1A_2A_3:1A_1A_3$ . Care este raportul dintre cele 3 alele din populație?
8. Într-o populație nu există decât alelele A și B din sistemul ABO; nu există indivizi cu grupa O sau cu alele O. Care sunt frecvențele alelice în această populație dacă 200 de indivizi au grupa A, 75 grupa AB și 25 grupa B?
9. Explicați de ce frecvențele alelice sunt mai importante pentru studiile de genetică populațională, comparativ cu frecvențele genotipice.
10. Cum considerați că influențează consangvinizarea structura genetică a populațiilor umane?

### 3. LEGEA HARDY-WEINBERG

Legea (echilibrul Hardy-Weinberg) este un concept de bază al Geneticii Populațiilor și joacă un rol esențial în interpretarea datelor privind variabilitatea genetică în populațiile naturale. Prin analiza deviațiilor de la această lege se pot trage concluzii cu privire la căile prin care apare și se menține variația genetică în populațiile naturale, precum și cu privire la modificările care au loc în populațiile naturale sub acțiunea forțelor evolutive.

Descoperită simultan în anul 1908 de către doi savanți, G.H. Hardy, un matematician englez și W. Weinberg, un medic german, această lege este **o relație matematică simplă între frecvența alelică și frecvența genotipică pentru un locus autozomal, dintr-o populație cu împerechere întâmplătoare, aflată în echilibru.**

#### 3.1 Echilibrul împerecherii întâmplătoare: legea Hardy-Weinberg

În cazul împerecherii întâmplătoare, fiecare organism își alege perechea indiferent de genotip, astfel că, fiecare pereche se formează în funcție de șansa pe care o au partenerii de a se întâlni. Împerecherea întâmplătoare a indivizilor este echivalentă cu împerecherea întâmplătoare a gameților. Imaginați-vă un container care conține toți gameții din populație; pentru a forma genotipul viitorilor zigoți, perechile de gameți sunt extrase la întâmplare.

Să presupunem că, într-o populație, o anumită genă are două alele **A** și **a**, iar frecvența alelei **A** este **p**, iar a alelei **a** este **q**. Dacă membrii populației se împerechează întâmplător, atunci genotipurile diploide ale generației următoare se vor forma prin unirea randomică a gameților haploizi (**Figura 3.1**). Probabilitatea ca un ovul sau un spermatozoid să conțină alela **A** este **p**, iar probabilitatea ca să conțină alela **a** este **q**. Astfel, probabilitatea ca un gamet mascul purtător al alelei **A** să fecundeze un gamet femel purtător tot al alelei **A** este  $p \times p = p^2$ , valoare ce reprezintă frecvența genotipurilor **AA**. Probabilitatea ca un gamet mascul purtător al alelei **A** să fecundeze un gamet femel purtător al alelei **a** este  $p \times q = pq$ , iar probabilitatea ca un gamet mascul purtător al alelei **a** să fecundeze un gamet femel purtător al alelei **A** este  $q \times p = qp$ , așa încât frecvența genotipurilor heterozigote **Aa** este  $pq + qp = 2pq$ . În final, probabilitatea ca un gamet mascul purtător al alelei **a** să

fecundeze un gamet femel purtător tot al alelei **a** este  $q \times q = q^2$ , valoare ce reprezintă frecvența genotipurilor **aa**. Prin urmare, constatăm că frecvențele genotipice ale descendenților sunt:

Genotip	Frecvență
AA	$p^2$
Aa	$2pq$
aa	$q^2$

Aceste frecvențe sunt termeni în dezvoltarea binomului  $(p + q)^2 = p^2 + 2pq + q^2$ , și reprezintă ceea ce specialiștii în genetica populațiilor numesc **frecvențe Hardy-Weinberg**.

♀ Gamete	Gamete ♂	
	A (p)	a (q)
	A (p)	a (q)
A (p)	AA ( $p^2$ )	Aa (pq)
a (q)	Aa (pq)	aa ( $q^2$ )

**Figura 3.1** Pătratul lui Punnett care ilustrează legea Hardy-Weinberg. În paranteze sunt trecute frecvențele alelice și respectiv genotipice corespunzătoare

Legea Hardy-Weinberg se bazează pe presupunerea că împerecherea gameților este întâmplătoare, fără a ține cont de gena luată în discuție, adică adulții din populație formează un stoc de gameți, care se combină randomic, producând zigoții generației următoare. Dacă zigoții au șanse egale de supraviețuire până la stadiul de adult, atunci frecvențele genotipice create vor fi conservate, iar când această generație se va reproduce, aceste frecvențe se vor regăsi la descendenți.

Astfel, în condițiile împerecherii întâmplătoare și fără a exista deosebiri între membrii populației în ceea ce privește supraviețuirea și reproducerea, frecvențele genotipice și, evident, frecvențele alelice vor persista generație după generație. Aceasta este esența **legii Hardy-Weinberg**.

Conform acestei legi: ***frecvențele genotipice tind să se stabilizeze într-o populație cu împerechere întâmplătoare după o singură generație și rămân constante în generațiile următoare dacă frecvența alelelor nu se modifică.***

În aceste condiții este evident că, frecvența genotipică a unei generații depinde de frecvența alelică a generației precedente.

### 3.2 Condițiile în care se aplică echilibrul Hardy-Weinberg

Relația matematică dintre frecvențele alelice și frecvențele genotipice este valabilă pentru populațiile aflate în echilibru, adică populațiile care îndeplinesc anumite cerințe în ceea ce privește tipul de împerechere, mărimea populației, existența (sau inexistența) unor factori care modifică frecvența alelică. Cu alte cuvinte, legea Hardy-Weinberg se bazează pe anumite **presupuneri**:

- **împerecherea este întâmplătoare**; deviațiile de la acest tip de împerechere alterează frecvența alelică. Reamintim că, în împerecherea întâmplătoare, probabilitatea ca două genotipuri să se împerecheze este proporțională cu frecvența relativă a genotipurilor în populația respectivă.
- **nu există diferențe între sexe** în ceea ce privește frecvențele alelice. Frecvența alelică este aceeași la masculi și la femele.
- **nu acționează selecția naturală**. Toate genotipurile au viabilitate și fertilitate egală, așa încât nici un individ nu prezintă un avantaj reproductiv asupra celorlalți.
- **nu apar mutații și nu există migrație**. Frecvențele alelice nu se modifică prin adiție sau pierdere de alele datorate mutațiilor sau migrației.
- **populația este suficient de mare** astfel încât frecvențele alelice să nu se modifice de la o generație la alta din întâmplare. Condiția reală ar fi ca populația să fie infinită, dar acest lucru este imposibil.

Încălcarea unora dintre prezumțiile pe care se bazează echilibrul Hardy-Weinberg nu are consecințe majore, dacă deviația este minoră. Așa se întâmplă în cazul prezumțiilor privind inexistența mutațiilor și cu privire la faptul că populația este infinită. Rata mutațiilor este foarte redusă și de aceea efectele acestora nu sunt vizibile într-o singură generație. În concluzie, deviațiile minore de la cerințele enunțate anterior nu influențează legea (echilibrul) Hardy-Weinberg.

Trebuie subliniat însă că, echilibrul Hardy-Weinberg este valabil în populațiile care nu evoluează și reprezintă instrumentul fundamental de investigare în Genetica populațiilor, modelul la care se raportează toate datele obținute de la nivelul populațiilor naturale.

### 3.3 Consecințele legii Hardy-Weinberg

În populațiile naturale, care îndeplinesc cerințele enunțate anterior, stabilirea echilibrului Hardy-Weinberg are o serie de consecințe:

1. Dacă viabilitatea și fertilitatea sunt egale pentru toate genotipurile, **frecvența alelică rămâne constantă de la o generație la alta**. Dacă avem o genă cu 2 alele: **A** și **a**, cu frecvențele **p** și **q**, după o generație de împerechere întâmplătoare, frecvențele genotipice vor fi, conform legii Hardy-Weinberg **p<sup>2</sup>** pentru genotipurile **AA**, **2pq** pentru genotipurile **Aa** și **q<sup>2</sup>** pentru genotipurile **aa** (**Figura 3.2**). Frecvența alelei **A** în generația a doua (**p'**) poate fi calculată pe baza frecvențelor genotipice, cunoscând faptul că frecvența unei alele este egală cu frecvența alelei în genotipul homozigot pentru acea alelă, plus jumătate din suma tuturor heterozigoților purtători ai alelei respective.

**Figura 3.2** Ilustrarea faptului că, în condițiile împerecherii întâmplătoare, frecvența alelică rămâne constantă de la o generație la alta.

F1			F2	
Genotipuri/frecvențe genotipuri	Gameți/frecvențe alelice în gameți		Genotipuri/frecvențe genotipuri	Alele/frecvențe alelice
<b>AA p<sup>2</sup></b> <b>Aa 2pq</b> <b>aa q<sup>2</sup></b>	<b>A p</b> <b>a q</b>	împerechere întâmplătoare →	<b>AA p<sup>2</sup></b> <b>Aa 2pq</b> <b>aa q<sup>2</sup></b>	<b>A</b> $p' = p^2 + \frac{2pq}{2} \Rightarrow$ $p' = p(p + q),$ <i>dar</i> $p + q = 1 \Rightarrow$ $p' = p$ <b>a</b> $q' = q^2 + \frac{2pq}{2} \Rightarrow$ $q' = q(q + p),$ <i>dar</i> $p + q = 1 \Rightarrow$ $q' = q$

Trebuie precizat că, mecanismele ereditare prin ele însele nu pot modifica frecvența alelică. De asemenea, frecvența unei alele nu crește doar pentru că este dominantă; dominanța se referă doar la abilitatea alelei de a se exprima fenotipic la heterozigoți.

**2. Populațiile care se împerechează întâmplător ating echilibrul într-o singură generație.** De exemplu, într-o populație avem 3 genotipuri **AA**, **Aa** și **aa**, cu frecvențele genotipice 0,1, 0,2 și 0,7. Calculând frecvența alelei **A** (**p**) și a alelei **a** (**q**) obținem următoarele rezultate:

$$p = 0,1 + \frac{0,2}{2} = 0,2$$

$$q = 0,7 + \frac{0,2}{2} = 0,8$$

După o generație de împerechere întâmplătoare, frecvențele genotipice vor fi 0,04 pentru genotipul **AA** ( $p^2$ ), 0,32 pentru **Aa** ( $2pq$ ) și respectiv 0,64 pentru **aa** ( $q^2$ )

Totuși, dacă frecvența alelică diferă la cele două sexe, pentru atingerea echilibrului sunt necesare două generații. De exemplu, o populație formată din masculi **AA** și femele **aa** va produce numai descendenți heterozigoți **Aa** de ambele sexe. Descendenții din prima generație nu se conformează legii Hardy-Weinberg, dar, după altă generație de împerechere întâmplătoare vor rezulta indivizi cu genotipuri **AA**, **Aa** și **aa** cu frecvențe  $\frac{1}{4}$ ,  $\frac{1}{2}$  și  $\frac{1}{4}$ , corespunzătoare legii Hardy-Weinberg. Astfel, sunt necesare două generații de împerechere întâmplătoare pentru a egaliza frecvențele alelice la cele două sexe; următoarea generație și celelalte care urmează, vor fi conforme legii Hardy-Weinberg.

**3. Pentru o alelă rară, recesivă, frecvența heterozigoților depășește frecvența homozigoților.** O alelă rară este imposibil de eliminat, chiar dacă împotriva ei acționează selecția împotriva homozigoților recesivi.

Să presupunem că avem o alelă rară cu frecvența alelică  $q = 0,1$ , iar frecvența alelei dominante  $p = 0,9$ . Notând cu **H** frecvența heterozigoților și cu **R** frecvența homozigoților recesivi, atunci:

$$\frac{H}{R} = \frac{2pq}{q^2} \Rightarrow \frac{H}{R} = \frac{2p}{q} \Rightarrow \frac{H}{R} = 2 \times \frac{0,9}{0,1} \cong 20$$

Dacă  $q = 0,01$  atunci raportul este aproximativ **200**, iar dacă  $q = 0,001$ , raportul devine **2000**. Astfel, cu cât alelele sunt mai rare (au frecvența mai aproape de 0), cu atât există un număr mai mare de heterozigoți, comparativ cu homozigoții recesivi. De altfel, când frecvența alelică se apropie de 0 sau de 1, atunci frecvența heterozigoților tinde către 0 lent, ca o funcție liniară, în timp ce frecvența homozigoților descrește rapid. Frecvența heterozigoților este maximă când frecvența alelelor este egală.

Această implicație are aplicații practice legate de maladiile ereditare umane, deoarece calculul frecvenței heterozigoților este important în estimarea purtătorilor de alele recesive, daunătoare, deci în realizarea unor predicții în legătură cu apariția acestor maladii.



În cazul fenilcetonuriei, boală caracterizată prin lipsa enzimei ce transformă fenilalanina în tirozină, frecvența la nou-născuți este de 1/10000. Această valoare reprezintă frecvența genotipurilor homozigote recesive ( $q^2$ ), iar frecvența alelei recesive este:

$$q = \sqrt{\frac{1}{10000}} = 0,01 \Rightarrow p = 1 - 0,01 = 0,99$$

Pe baza acestor valori putem calcula frecvența genotipurilor heterozigote  $2pq=198/10000$ , valoare care este mult mai mare decât cea caracteristică homozigoților recesivi, dovedind că purtătorii de maladii recesive grave sunt foarte numeroși și imposibil de eliminat din populație.

Același lucru se observă și în cazul altei maladii ereditare recesive, fibroza chistică, care afectează 1/1700 nou-născuți, în timp ce purtătorii heterozigoți se găsesc cu o frecvență de 1/21.

Estimarea frecvenței heterozigoților purtători ai unor alele recesive dăunătoare reprezintă o aplicație utilă a echilibrului Hardy-Weinberg în Genetica medicală.

### 3.4 Extinderea echilibrului Hardy-Weinberg

Limitat inițial la locusuri autozomale cu două alele, echilibrul Hardy-Weinberg poate fi extins la un locus autozomal cu mai mult de două alele, la gene X-linkate, precum și la mai mulți loci simultan.

#### 3.4.1 Alele multiple

Pentru un locus autozomal cu mai multe alele, la calcularea frecvențelor genotipice se utilizează pătratul lui Punnet (**Figura 3.3**).

	$A_1(p)$	$A_2(q)$	$A_3(r)$
$A_1(p)$	$A_1A_1$ $p^2$	$A_1A_2$ $pq$	$A_1A_3$ $pr$
$A_2(q)$	$A_1A_2$ $pq$	$A_2A_2$ $q^2$	$A_2A_3$ $qr$
$A_3(r)$	$A_1A_3$ $pr$	$A_2A_3$ $qr$	$A_3A_3$ $r^2$

**Figura 3.3** Pătratul lui Punnet. Este ilustrat modul de calcul al frecvențelor genotipice pentru un locus autozomal cu mai multe alele.

Se constată că frecvențele genotipurilor homozigote ( $p^2$ ,  $q^2$ ,  $r^2$ ) reprezintă pătratul frecvenței alelei respective, în timp ce frecvențele genotipurilor heterozigote ( $2pq$ ,  $2pr$ ,  $2qr$ ) sunt dublul produsului frecvențelor alelice respective.

Un exemplu interesant îl reprezintă cazurile cu alele multiple, dintre care unele sunt complet dominante, iar altele codominante.

Să luăm în discuție o situație în care trei alele ( $A$ ,  $A'$ ,  $A''$ ) se află în următoarea relație:  $A$  domină asupra lui  $A'$  și  $A''$ , iar  $A'$  domină asupra lui  $A''$ . În acest caz sunt posibile trei fenotipuri: tipul  $A$  (corespunzător genotipurilor  $AA$ ,  $AA'$ ,  $AA''$ ), tipul  $A'$  (corespunzător genotipurilor  $A'A'$ ,  $A'A''$ ) și tipul  $A''$  (genotip  $A''A''$ ).

Presupunând că 51% dintre indivizii din populație au fenotip de tip  $A$ , 40% au fenotip  $A'$  și 9% au fenotip  $A''$ , cum putem calcula frecvențele alelice din această populație? Deoarece împerecherea este întâmplătoare, putem deduce următoarele aspecte:

1. Frecvența genotipului  $A''A''$  este  $r^2 = 0,09$ .
2. Frecvența alelei  $A''$  este  $r = \sqrt{0,09} = 0,3$ .
3. Suma frecvențelor fenotipurilor de tip  $A'$  și de tip  $A''$  este  
 $q^2 + 2qr + r^2 = (q + r)^2 = 0,40 + 0,09 = 0,49$ .
4. Frecvența alelei  $A'$  este  $q = \sqrt{0,49} - r = 0,4$ .
5. Frecvența alelei  $A$  este  $p = 1 - q - r = 0,3$ .

Cunoscând frecvența alelică, putem introduce aceste valori în relația  $(p + q + r)^2$  pentru a estima frecvența diferitelor genotipuri din populație.

Tot în categoria genelor cu alele multiple intră grupele sanguine ABO, care sunt determinate de trei alele  $L^A$ ,  $L^B$  și  $I$  (**Figura 3.4**). Întrucât  $L^A$  domină asupra alelei  $I$ ,  $L^B$  domină asupra alelei  $I$  și  $L^A$  și  $L^B$  sunt codominante, rezultă patru fenotipuri  $A$ ,  $B$ ,  $AB$  și  $O$  (**Figura 3.4**). În condițiile împerecherii întâmplătoare, cele șase genotipuri se întâlnesc cu frecvențe corespunzătoare legii Hardy-Weinberg.

Grupa sanguină (fenotipul)	Genotipul	Frecvența genotipică
<b>A</b>	$L^A L^A$	$p^2$
	$L^A I$	$2pr$
<b>B</b>	$L^B L^B$	$q^2$
	$L^B I$	$2qr$
<b>AB</b>	$L^A L^B$	$2pq$
<b>O</b>	$II$	$r^2$

**Figura 3.4** Frecvențele genotipice pentru grupele sanguine din sistemul ABO, conform legii Hardy-Weinberg

**Exemplu 3.1**

Dacă 36% dintre membrii unei populații care se împerechează întâmplător are grupa sanguină O și 45% grupa A, care este procentul așteptat pentru grupele B și AB?

**Rezolvare:** Să notăm cu  $p$ ,  $q$  și  $r$  cele trei alele  $L^A$ ,  $L^B$  și  $I$ . Deoarece frecvența persoanelor cu grupă de sânge A este  $r^2 = 0,36$ , frecvența alelei  $I$  este  $r = 0,6$ .

Putem de asemenea, nota că:

$$p + r = \sqrt{f(A) + f(O)}.$$

Astfel,  $p = \sqrt{0,45 + 0,36} - 0,6 = \sqrt{0,81} - 0,6 = 0,3$ . Cunoscând valorile lui  $p$  și  $r$ , putem calcula  $q = 1 - p - r = 1 - 0,3 - 0,6 = 0,1$ . Frecvențele grupelor de sânge B și AB devin:

$$f(B) = f(L^B L^B) + f(L^B I) = q^2 + 2qr = 0,1^2 + 2 \cdot 0,1 \cdot 0,6 = 0,13 \text{ și}$$

$$f(AB) = f(L^A L^B) = 2pq = 2 \cdot 0,3 \cdot 0,1 = 0,06.$$

Deci, în populație 13% dintre persoane au grupa B și 6% grupa AB.

**Exercițiu individual 3.1**

Calculați frecvențele grupelor de sânge într-o populație care se împerechează întâmplător și în care cele trei alele au frecvențe egale.

**3.4.2 Gene X-linkate**

Legea Hardy-Weinberg se poate aplica, cu câteva modificări, și în ceea ce privește transmiterea genelor X-linkate.

Pentru sexul homogametic (femel) frecvența alelelor genelor X-linkate urmează modelul valabil pentru genele autozomale, calculul frecvențelor genotipice făcându-se conform echilibrului Hardy-Weinberg.

Diferențele apar în privința sexului heterogametic (mascul). Să presupunem că pe cromozomul X avem o genă cu două alele **H** și **h**, cu frecvențele **p** și respectiv **q**. Dacă gametul ♂ poartă cromozomul X, toți urmașii sunt femele, iar frecvența genotipică va fi  $p^2$ ,  $2pq$ ,  $q^2$ . *Dacă gametul ♂ poartă cromozomul Y, descendenții sunt masculii, au doar câte o copie a genelor X-linkate, moștenită de la mamă, iar frecvențele genotipice sunt **p** și respectiv **q**, egale cu frecvențele alelice.*

Astfel, raportul dintre femelele care au caracterul recesiv X-linkat și masculii cu același caracter este:

$$\frac{q^2}{q} = q$$

Așa se explică incidența mai mare a unor maladii ereditare determinate de alele X-linkate la bărbați, comparativ cu incidența aceleiași maladii la femei. De exemplu, daltonismul se întâlnește cu o frecvență la bărbați de  $1/20$  și  $1/400$  la femei, iar hemofilia cu frecvența de  $1/10000$  la bărbați și  $1/(10000)^2$  la femei.

Există și situația inversă, referitoare la caractere dominante X-linkate. În acest caz, raportul dintre femelele care au caracterul respectiv și masculii cu același fenotip va fi:

$$\frac{p^2 + 2pq}{p} = p + 2q = 1 + q$$

Dacă caracterul dominant este rar,  $q$  se apropie ca valoare de 1, iar  $1+q$  este aproape 2. Cu alte cuvinte, de două ori mai multe femei decât masculii vor prezenta caracterul respectiv.

### 3.4.3 Loci multipli

Echilibrul Hardy-Weinberg poate fi extins la mai mulți loci simultan. Această situație merită menționată deoarece, întreg genomul este implicat în procesul evolutiv, iar, în această situație, aplicarea legii Hardy-Weinberg poate furniza explicații cu privire la desfășurarea evoluției la nivel molecular. Pentru acest lucru trebuie să luăm în considerare modificările alelice simultane în toți locii cu alele, ceea ce este dificil chiar și prin simulare computerizată.

Atunci când doi loci, de pe același cromozom sunt în echilibru unul cu celălalt, combinația în gameți a alelelor de pe cromozom urmează legile probabilității. De exemplu, dacă pe un cromozom avem un locus **A**, cu alele A și a, cu frecvențele  $p_A$  și  $q_A$  și un locus **B**, cu alelele B și b, cu frecvențele  $p_B$  și  $q_B$ , în gameți cromozomii cu alelele A și B se întâlnesc cu frecvența  $p_A p_B$ , cei cu alelele A și b apar cu frecvența  $p_A q_b$  etc.

Această situație în care alelele diferitelor gene se întâlnesc în gameți proporțional cu produsul frecvențelor alelelor se numește **echilibru de linkage**. Când alelele diferitelor gene nu sunt distribuite întâmplător în gameți vorbim despre **dezechilibru de linkage**. În această situație, unele combinații ale alelelor diferitelor gene se vor întâlni mai mult sau mai puțin frecvent în populație, comparativ cu așteptările.

Echilibrul de linkage se atinge cu o rată, care depinde de distanța dintre loci pe harta genetică. Genele aflate la distanță mai mare pe hartă ating gradat echilibrul de linkage.

### 3.5 Verificarea condiției împerecherii întâmplătoare. Testul $\chi^2$

Legea Hardy-Weinberg este folosită pentru verificarea condiției împerecherii întâmplătoare în populațiile naturale. Experimentele de acest tip sunt destul de simple în cazul caracterelor codominante sau cu dominanță incompletă și implică compararea numerelor observate de genotipuri (respectiv fenotipuri) din fiecare categorie cu cele estimate pentru situația împerecherii întâmplătoare. Dacă numerele observate corespund celor calculate cu ajutorul relației Hardy-Weinberg, se consideră că populația este în echilibru genetic, deoarece datele arată că genotipurile sunt rezultate prin împerechere întâmplătoare.

Pentru verificarea rezultatelor obținute cu cele estimate se folosește **testul  $\chi^2$** , care se calculează conform relației:

$$\chi^2 = \sum \frac{(O - E)^2}{E} ,$$

unde  $O$  reprezintă numărul observat de genotipuri, iar  $E$  este numărul estimat de genotipuri. Este o sumă deoarece se adună valorile obținute pentru fiecare clasă (categorie) de genotipuri în parte. Pentru fiecare clasă de genotipuri, diferențele dintre numerele observate și cele estimate sunt ridicate la pătrat și apoi sunt împărțite la numărul estimat.

Testarea ipotezei teoretice se face în mai multe etape. În primul rând, se scrie în detaliu ipoteza genetică, specificând numărul de genotipuri (fenotipuri) observate. Folosind legile probabilităților se fac predicții explicite ale datelor estimate. Toate datele se convertesc în numere. Pentru fiecare clasă de genotipuri se calculează valoarea lui  $\chi^2$  și se însumează ulterior valorile lui  $\chi^2$  pentru toate clasele. Cu cât numărul de genotipuri observate este mai apropiat de numărul estimat,  $\chi^2$  are valoare mai mică. Dacă  $\chi^2$  este 0, atunci numărul observat se potrivește perfect cu previziunile.

Pentru interpretarea rezultatelor se folosesc grafice sau tabele (**Tabel 3.1**), care conțin valorile ce reflectă potrivirea ( $\chi^2$ ) și probabilitatea ca o anumită nepotrivire între valorile observate și cele estimate să se datoreze întâmplării, presupunând ca ipoteza de lucru este corectă. În practică, valorile critice ale probabilităților sunt 0,05 (5%) și 0,01 (1%). Pentru valori mai mari de 0,05 ipoteza este acceptată, diferențele între datele observate și cele estimate sunt nesemnificative. Pentru intervalul 0,05-0,01 ipoteza este respinsă, deoarece diferențele sunt semnificative, iar pentru valori

ale probabilităților mai mici de 0,01 se consideră că deosebirile sunt înalt semnificative, ipoteza fiind, de asemenea, respinsă.

Tabel 3.1 Valorile  $\chi^2$ 

	Probabilități									
GL	0.995	0.99	0.975	0.95	0.90	0.10	0.05	0.025	0.01	0.005
1	---	---	0.001	0.004	0.016	2.706	3.841	5.024	6.635	7.879
2	0.010	0.020	0.051	0.103	0.211	4.605	5.991	7.378	9.210	10.597
3	0.072	0.115	0.216	0.352	0.584	6.251	7.815	9.348	11.345	12.838
4	0.207	0.297	0.484	0.711	1.064	7.779	9.488	11.143	13.277	14.860
5	0.412	0.554	0.831	1.145	1.610	9.236	11.070	12.833	15.086	16.750
6	0.676	0.872	1.237	1.635	2.204	10.645	12.592	14.449	16.812	18.548
7	0.989	1.239	1.690	2.167	2.833	12.017	14.067	16.013	18.475	20.278
8	1.344	1.646	2.180	2.733	3.490	13.362	15.507	17.535	20.090	21.955
9	1.735	2.088	2.700	3.325	4.168	14.684	16.919	19.023	21.666	23.589
10	2.156	2.558	3.247	3.940	4.865	15.987	18.307	20.483	23.209	25.188
11	2.603	3.053	3.816	4.575	5.578	17.275	19.675	21.920	24.725	26.757
12	3.074	3.571	4.404	5.226	6.304	18.549	21.026	23.337	26.217	28.300
13	3.565	4.107	5.009	5.892	7.042	19.812	22.362	24.736	27.688	29.819
14	4.075	4.660	5.629	6.571	7.790	21.064	23.685	26.119	29.141	31.319
15	4.601	5.229	6.262	7.261	8.547	22.307	24.996	27.488	30.578	32.801
16	5.142	5.812	6.908	7.962	9.312	23.542	26.296	28.845	32.000	34.267
17	5.697	6.408	7.564	8.672	10.085	24.769	27.587	30.191	33.409	35.718
18	6.265	7.015	8.231	9.390	10.865	25.989	28.869	31.526	34.805	37.156
19	6.844	7.633	8.907	10.117	11.651	27.204	30.144	32.852	36.191	38.582
20	7.434	8.260	9.591	10.851	12.443	28.412	31.410	34.170	37.566	39.997
21	8.034	8.897	10.283	11.591	13.240	29.615	32.671	35.479	38.932	41.401
22	8.643	9.542	10.982	12.338	14.041	30.813	33.924	36.781	40.289	42.796
23	9.260	10.196	11.689	13.091	14.848	32.007	35.172	38.076	41.638	44.181
24	9.886	10.856	12.401	13.848	15.659	33.196	36.415	39.364	42.980	45.559
25	10.520	11.524	13.120	14.611	16.473	34.382	37.652	40.646	44.314	46.928
26	11.160	12.198	13.844	15.379	17.292	35.563	38.885	41.923	45.642	48.290
27	11.808	12.879	14.573	16.151	18.114	36.741	40.113	43.195	46.963	49.645
28	12.461	13.565	15.308	16.928	18.939	37.916	41.337	44.461	48.278	50.993
29	13.121	14.256	16.047	17.708	19.768	39.087	42.557	45.722	49.588	52.336
30	13.787	14.953	16.791	18.493	20.599	40.256	43.773	46.979	50.892	53.672

În interpretarea lui  $\chi^2$  trebuie să se țină cont de numărul de clase genotipice. Fiecare test  $\chi^2$  este asociat cu un număr de **grade de libertate**, care se referă la numărul de clase, care variază independent. În populațiile naturale, spre deosebire de populațiile rezultate în urma împerecherilor întâmplătoare, frecvențele alelice nu au valori predictibile teoretic. Ele se calculează din datele observate și din această cauză se

pierde un grad de libertate. Ca regulă generală, numărul de grade de libertate este, în această situație, egal cu diferența dintre numărul de clase genotipice (fenotipice) și numărul de alele.

Pentru a ilustra acest lucru vom utiliza datele din **Tabelul 3.2**, care reprezintă repartizarea grupelor de sânge MN într-un eșantion de 140 de persoane, precum și modul de calcul al valorii  $\chi^2$ . După cum reiese din tabel, valorile observate reprezintă numărul corespunzător de genotipuri din fiecare clasă, iar valorile estimate rezultă din predicția conform căreia genotipurile se întâlnesc cu frecvențele  $p^2$ ,  $2pq$ ,  $q^2$ . De aceea, pentru început se calculează frecvențele alelelor M și N din datele observate:

$$f(M) = p = \frac{83}{140} + \frac{1}{2} \left( \frac{46}{140} \right) = 0,593 + \frac{1}{2} (0,328) = 0,757$$

$$f(N) = q = 1 - 0,757 = 0,243$$

Aceste frecvențe sunt, apoi, utilizate pentru estimarea frecvențelor genotipice, presupunând că împerecheerea este întâmplătoare:

$$f(MM) = p^2 = (0,757)^2 = 0,573$$

$$f(MN) = 2pq = 2(0,757)(0,243) = 0,368$$

$$f(NN) = q^2 = (0,243)^2 = 0,059$$

**Tabel 3.2** Utilizarea testului  $\chi^2$  pentru verificarea echilibrului Hardy-Weinberg în privința frecvențelor genotipice pentru locusul MN într-un eșantion de 140 de persoane

	Clase genotipice (fenotipice)			Total
	MM	MN	NN	
<b>Numere observate</b>	83	46	11	140
<b>Proporții estimate</b>	$p^2$ 0,573	$2pq$ 0,368	$q^2$ 0,059	1 1
<b>Numere estimate</b>	80,2	51,5	8,3	140
<b>(O - E)<sup>2</sup>/E</b>	0,098	0,587	0,878	$\chi^2=1,56$

Chiar înainte de a calcula valorile corespunzătoare testului  $\chi^2$ , se observă o bună corelație între datele observate și cele calculate. Valoarea de 1,56 calculată pentru  $\chi^2$  corespunde unei probabilități între 0,2 și 0,3, ceea ce indică că între valorile observate și estimate nu există diferențe semnificative. În acest caz avem doar un singur grad de libertate, iar ipoteza conform căreia populația se împerechează întâmplător se confirmă. Folosirea testului  $\chi^2$  pentru verificarea prezumției ipotezei împerecherii întâmplătoare pare oarecum circulară, deoarece datele observate sunt

folosite, așa cum am amintit anterior, pentru calcularea frecvențelor genotipice estimate.

În general, testul  $\chi^2$  detectează doar deviațiile mari și, din această cauză, o bună potrivire a rezultatelor nu trebuie supraestimată. Este posibil ca, în populațiile naturale, să fie încălcate una sau mai multe prezumții (inclusiv cea legată de împerecherea întâmplătoare) și cu toate acestea să nu apară deviații suficient de mari de la frecvența genotipică așteptată, astfel încât să fie detectate cu ajutorul testului  $\chi^2$ .

### EXERCIIII ȘI PROBLEME

1. Într-o populație genotipurile AA, Aa și aa au următoarele frecvențe: 0,6, 0,4 și respectiv 0. Dacă populația se împerechează la întâmplare, ce proporție din totalul împerecherilor va fi între indivizi cu genotipuri diferite?
2. Într-o altă populație, genotipurile AA, Aa și aa au următoarele frecvențe: 0,1, 0,2 și respectiv 0,7. Dacă populația se împerechează întâmplător, ce proporție din totalul împerecherilor va fi între indivizi cu același genotip?
3. Dacă genotipul AA este letal în stadiul embrionar, iar genotipul aa este complet viabil și steril, ce frecvențe genotipice se vor găsi la adulți într-o populație aflată în echilibru care conține alelele A și a? Este necesar să ținem cont de condiția împerecherii întâmplătoare?
4. Câte alele A și a sunt prezente într-un eșantion de organisme format din 10 indivizi AA, 15 indivizi Aa și 4 indivizi aa. Care este frecvența alelică în această probă?
5. Care dintre următoarele frecvențe genotipice AA, Aa și aa satisfac principiul Hardy-Weinberg?
  - a) 0.25, 0.50, 0.25
  - b) 0.36, 0.55, 0.09
  - c) 0.49, 0.42, 0.09
  - d) 0.64, 0.27, 0.09
  - e) 0.29, 0.42, 0.29
6. Dacă frecvența unui genotip homozigot dominant într-o populație cu împerechere întâmplătoare este 0,09, care este frecvența alelei dominante? Care este frecvența combinată a tuturor celorlalte alele ale acestei gene?
7. Maladia Hartnup este o boală recesivă autozomală ce afectează transportul intestinal și renal al aminoacizilor. Frecvența nou-născuților afectați este de 1 la 14.000. Presupunând că împerecherea este întâmplătoare, care este frecvența heterozigoților?
8. La o anumită specie de plante ierboase, capacitatea de a crește pe soluri contaminate cu nichel este determinată de o alelă dominantă.



- a) Dacă 60% dintre semințele unei populații cu împerechere întâmplătoare au capacitatea de a germina pe soluri contaminate, care este frecvența alelei dominante?
- b) Dintre plantele care germinează, ce proporție sunt homozigote?
9. Dacă 36% din persoanele care formează o populație cu împerechere întâmplătoare au grupa O și 45% A, ce procente sunt așteptate pentru tipul B și AB?
10. Într-o populație de pigmei din Africa Centrală, frecvența alelelor care determină grupele sanguine ABO au fost estimate astfel:  $I = 0.74$ ,  $L^A = 0.16$  și  $L^B = 0.10$ . Presupunând că împerecherea este întâmplătoare, care sunt frecvențele așteptate pentru genotipurile și fenotipurile ABO?
11. Într-o populație umană, 16% din persoanele testate au fost Rh-/Rh- (condiție recesivă). Ce fracție din populația Rh+ este homozigotă?
12. Care este frecvența alelei recesive într-o populație aflată în echilibru Hardy-Weinberg în care heterozigoții sunt de 10 ori mai mulți decât homozigoții recesivi?
13. Dacă un caracter recesiv X-linkat este prezent la 2% dintre masculii unei populații cu împerechere întâmplătoare, care este frecvența caracterului la femele? Care este frecvența femelelor purtătoare?
14. Într-o populație de *Drosophila melanogaster* alela X-linkată care determină culoarea galbenă a corpului este prezentă în genotipuri cu o frecvență caracteristică pentru împerecherea întâmplătoare. Frecvența alelei recesive este 0,2. Care este numărul de fenotipuri galbene și sălbatică așteptate pentru 1000 de femele și 1000 de masculi?
15. Arătați că pentru un locus cu 2 alele, raportul  $A_1A_2/A_2A_2$  este  $2(1-q)/q$ . Calculați acest raport pentru  $q=0,2$ ,  $q=0,02$  și  $q=0,002$ .
16. Fenotipurile alcool dehidrogenazei la *Phlox cuspidata* sunt determinate de alelele codominante ale unei singure gene. Într-un eșantion de 35 de plante s-au obținut următoarele rezultate:
- | Genotip | AA | AB | BB | BC | CC | AC |
|---------|----|----|----|----|----|----|
| Număr   | 2  | 5  | 12 | 10 | 5  | 1  |
- Care sunt frecvențele alelelor A, B și C în acest eșantion?
17. La caucazieni lățimea frunții, care crește cu vârsta (uneori până la chelire completă), se datorează unei alele dominante la bărbați și recesivă la femei. Frecvența alelei ce determină chelia este de aproximativ 0,3. Presupunând că împerecherea este întâmplătoare, ce frecvențe de fenotipuri cu chelie și fără sunt așteptate la bărbați și la femei?
18. Într-un eșantion de 35 de exemplare de *Phlox roemariana* pentru formele electroforetice ale fosfoglucoizomeraza s-au observat următoarele genotipuri: 2AA, 13AB și 20BB.
- a) Care sunt frecvențele alelelor A și B?
- b) Presupunând că împerecherea este întâmplătoare, care sunt numerele așteptate pentru fiecare genotip?

19. 300 de plante au fost examinate electroforetic pentru o enzimă care variază din punct de vedere al mobilității și s-au obținut următoarele rezultate: 7 plante cu genotip FF, 106 cu genotip FS, 187 cu genotip SS. Care este frecvența alelelor F și S. Care sunt numerele așteptate ale celor 3 genotipuri, presupunând că împerecherea este întâmplătoare? Verificați ipoteza folosind testul  $\chi^2$ .

20. Într-o populație care se împerechează întâmplător se găsesc n alele cu frecvențe egale. Care este frecvența așteptată a heterozigoților?

21. 3 populații diferite, polimorfe pentru alelele A și a sunt reprezentate de următoarele genotipuri:

AA	Aa	Aa	Total
5	60	75	140
10	50	80	140
15	40	85	140

Aplicând testul  $\chi^2$ , care dintre populații este mai aproape de echilibrul Hardy-Weinberg? Deviază vreuna de la acest echilibru?

22. Într-o populație aflată în echilibru Hardy-Weinberg pentru o alelă recesivă cu frecvența q, ce valori trebuie să aibă q pentru ca raportul purtători/organisme afectate să fie egal cu: 10, 100 și 1000?

23. Studiul privind culoarea la 2 cirezi de vite a furnizat următoarele date:

Cireada 1: 112 roșii                      56 bălțate                      32 albe

Cireada 2: 98 roșii                      84 bălțate                      18 albe

Care cireadă se conformează și care nu împerecherii întâmplătoare?

#### 4. ABATERI DE LA LEGEA HARDY-WEINBERG. ÎMPERECHEREA NEÎNTÂMPLĂTOARE

Pentru ca echilibrul Hardy-Weinberg să fie valabil trebuie îndeplinite următoarele cerințe: împerechere întâmplătoare, populație mare, infinită, genotipuri egal viabile și fertile, fără migrație și mutații. Aceste condiții nu pot fi niciodată atinse într-o populație naturală pe perioade lungi de timp. Totuși, numeroase populații întrunesc aceste condiții pe durata de câteva generații și, din această cauză, legea Hardy-Weinberg poate fi considerată utilă în practică. Este suficient ca populația să fie mare, împerecherea aproximativ întâmplătoare, iar mutațiile și migrația neglijabile.

În mod normal, în populațiile naturale, frecvența alelică este supusă constant unor forțe care o modifică: drift genetic, migrație, mutații, selecție naturală. De asemenea, împerecherile neîntâmplătoare influențează și modifică, în timp, frecvențele genotipice. În acest capitol vom discuta despre efectele la nivel individual și populațional ale consangvinizării.

##### 4.1 Consangvinizarea

Consangvinizarea reprezintă unirea sexuală a indivizilor înrudiți (de exemplu: părinți-fii, frate-soră, veri de gradul I). Termenul de *consangvin* înseamnă de același sânge. După unii cercetători, consangvinizarea este o formă particulară a împerecherii asortative pozitive. Spre deosebire de aceasta, consangvinizarea afectează toate genele, nu numai pe cele care determină similaritatea fenotipică, în acest caz fiind vorba de o similaritate genotipică.

Consangvinizarea rezultă din două situații distincte:

- alegerea sistematică a rudelor ca parteneri de împerechere,
- împerechere neîntâmplătoare în populațiile care au suferit o reducere considerabilă a efectivului apt de reproducere.

Consecința consangvinizării este **reducerea heterozigoției**, însoțită evident de creșterea homozigoției. După cum am arătat în capitolul 2, cea mai evidentă descreștere a heterozigoției se întâlnește în autopolenizare, când aceasta se reduce la jumătate la fiecare generație. Consangvinizarea poate duce în final la obținerea de

linii pure, care adeseori sunt mai puțin viguroase. Acest fenomen este cunoscut sub numele de *depresiune consangvină*.

Indivizii înrudiți sunt acei indivizi care au ancesori comuni, adică printre ancesorii unuia se găsesc unul sau mai mulți ancesori ai celuilalt. Cu alte cuvinte, au **alele identice prin origine**, care sunt copii ale aceluiași ADN ancestral.

Identitatea prin origine este un concept de bază în descrierea cantitativă a relațiilor dintre indivizi înrudiți, care cuantifică relațiile consangvine. Trebuie subliniat faptul că, această identitate nu ține de tipul alelelei, ci de *proveniența* ei.

Într-un genotip pot exista mai multe alele identice, dar originea lor poate fi diferită.

Din această cauză distingem două tipuri de homozigotare:

- autozigotarea, care reprezintă homozigotarea în care cele două alele sunt identice și provin din același ancesor,
- alozigotarea, respectiv homozigotarea în care cele două alele sunt identice, dar neînrudite.

Consangvinizarea este dependentă de mărimea populațiilor; cu cât populația este mai mică, cu atât relațiile dintre parteneri sunt mai strânse. În populațiile cu efective reduse relațiile sunt strânse, chiar dacă partenerii sunt aleși la întâmplare. Deci, mărimea populației este importantă în acumularea consangvinizării. Într-o populație finită toate perechile posibile au la un moment dat în ascendență un strămoș comun (unul sau mai mulți), indiferent dacă se evită sau nu consangvinizarea.

#### 4.2 Măsurarea consangvinizării

Consangvinizarea produce efecte asupra individului, dar și asupra populației în ansamblul ei. Pentru măsurarea lor, în practică, se întâlnesc câteva posibilități, însă, ele nu sunt compatibile unele cu altele, pentru că măsoară procese biologice diferite. Cu toate acestea, toate determinările privind intensitatea consangvinizării și efectele pe care le generează, se regăsesc sub denumirea de **coeficient de consangvinizare**. Din această cauză, rezultatele și interpretarea lor crează confuzie. Pentru a putea sistematiza datele cu privire la acest tip de împerechere neîntâmplătoare, vom analiza consangvinizarea prin prisma efectului asupra individului, măsurând coeficientul de consangvinizare cu ajutorul pedigreeului și, de asemenea, la nivel populațional, prin intermediul estimării abaterilor de la legea Hardy-Weinberg.

#### 4.2.1 Calcularea coeficientului de consangvinizare din pedigree

Descendenții împerecherilor între indivizi înrudiți se numesc **descendenți consangvini** și pot avea cele două alele ale aceleiași gene identice ca origine, provenind din ancestor comun. Din această cauză, coeficientul de consangvinizare ( $F$ ), calculat pe baza relațiilor evidențiate din analiza pedigree-ului, poate fi denumit și **coeficient de înrudire**.

Coeficientul de consangvinizare a fost pentru prima dată definit de Segal Wright, unul dintre întemeietorii Geneticii populațiilor, în 1922, ca măsură a intensității consangvinizării.

**F** reprezintă probabilitatea ca două alele ale unei gene de la un anumit individ să fie identice prin origine dintr-un ancestor comun, deci, probabilitatea ca descendenții unei împerecheri să fie homozigoți datorită identității de origine pentru un locus autozomal ales aleator. **F** nu reprezintă o măsură directă a homozigoției, deoarece două alele pot forma un genotip homozigot și din alte motive (de exemplu prin alozigotare).

Coeficientul de consangvinizare ia valori între 0 și 1. Când  $F=0$  nu există ancesori comuni, nici un locus nu conține alele identice prin origine. Valoarea 0 este valabilă și pentru situațiile când, cu mai mult de zece generații în urmă a existat un ancestor comun. Valoarea  $F=1$  arată că toți locii conțin gene identice prin origine, situație care ar putea fi valabilă doar în cazul liniilor pure.

Coeficientul de consangvinizare este dependent de numărul și localizarea ancestorilor comuni în pedigree și se poate calcula ținând cont de **gradul de rudenie**.

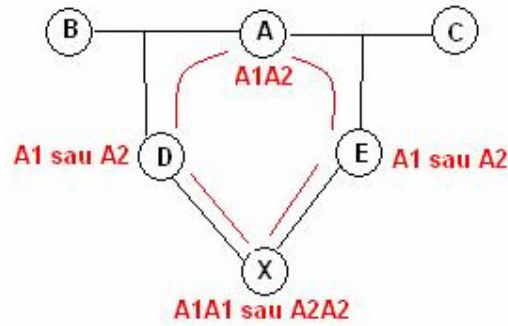
Gradul de rudenie este reprezentat ca  $\left(\frac{1}{2}\right)^k$ , unde  $\frac{1}{2}$  este valoarea care reflectă

proporția în care are loc transmiterea caracterelor ereditare de la părinți la descendenți, conform primei legi a lui Mendel, știut fiind că un individ primește în mod egal gene de la ambii părinți.  $k$  reprezintă numărul de generații dintre indivizi, așa încât, cu fiecare nouă generație gradul de rudenie se reduce la jumătate.

În cele ce urmează, ne propunem să demonstrăm cum se calculează coeficientul de consangvinizare ( $F$ ) pentru un individ **X**, rezultat în urma împerecherii între frați vitregi (**Figura 4.1**). Se pune următoarea întrebare: care este probabilitatea ca individul **X** să moștenească două alele identice ca origine (alelele  $A_1$  sau  $A_2$ ) de la ancestorul comun (notat **A** în **Figura 4.1**)? Pentru a răspunde la întrebare notăm:

$$F_X = P_{A_1A_1} + P_{A_2A_2},$$

unde  $F$ =coeficientul de consangvinizare pentru individul  $X$ ,  $P_{A_1A_1}$  reprezintă probabilitatea ca individul  $X$  să fie homozigot pentru alela  $A_1$ , iar  $P_{A_2A_2}$  este probabilitatea să fie homozigot pentru alela  $A_2$ . Astfel,  $F$  este o sumă de probabilități, deoarece cele două evenimente (ca  $X$  să fie homozigot pentru  $A_1$  sau pentru  $A_2$ ) se exclud reciproc.



**Figura 4.1** Reprezentarea grafică a unui pedigree ce ilustrează relația consangvină între frați vitregi. A este ancestorul comun pentru indivizii D și E, iar X este individul rezultat în urma acestei relații.

Pentru a calcula  $F_X$ , trebuie, așadar, cuantificate cele două probabilități.

$$P_{A_1A_1} = \frac{(1)^2}{(2)} \cdot \frac{(1)^2}{(2)}$$

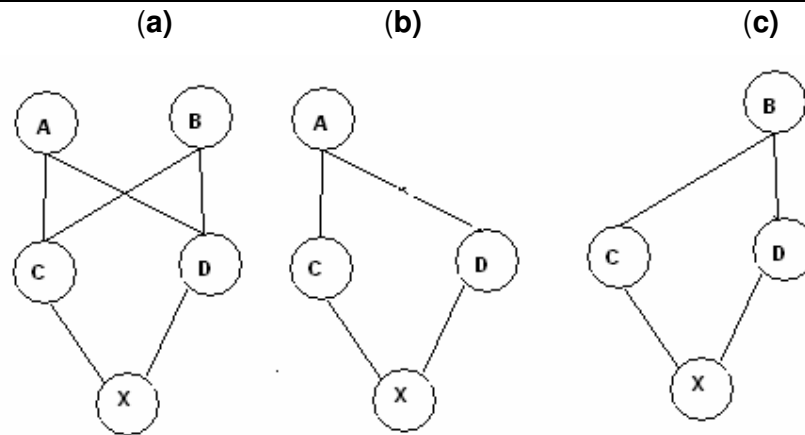
$$P_{A_2A_2} = \frac{(1)^2}{(2)} \cdot \frac{(1)^2}{(2)}$$

Valoarea  $\frac{(1)^2}{(2)}$  arată că două generații separă individul consangvin  $X$  de ancestorul comun, respectiv individul  $A$ . Este un produs de probabilități, întrucât sunt două evenimente simultane, adică  $X$  moștenește o alelă  $A_1$  de la ancestorul comun prin individul  $D$ , iar cealaltă alelă  $A_1$  prin individul  $E$ . În această situație,

$$F_X = \frac{(1)^2}{(2)} \cdot \frac{(1)^2}{(2)} + \frac{(1)^2}{(2)} \cdot \frac{(1)^2}{(2)} = \frac{1}{16} + \frac{1}{16} = \frac{1}{8}$$

Ca urmare, pentru împerecherile consangvine dintre frații vitregi, coeficientul de consangvinizare are valoarea  $\frac{1}{8}$ .

Pentru calculul coeficientului de consangvinizare se parcurg câteva etape, care pot reprezenta o modalitate prescurtată de calcul. Exemplificăm acest lucru prin calculul coeficientului de consangvinizare în cazul unui individ rezultat în urma împerecherii între frați (**Figura 4.2**).



**Figura 4.2** Reprezentarea grafică a unui pedigree ce ilustrează relația consangvină între frați. A și B sunt ancesorii comuni (a). Cele două bucle ce pleacă de la ancesorii comuni spre individul consangvin X (b și c)

În prima etapă, se identifică ancestorul comun. Spre deosebire de cazul împerecherii între frați vitregi în care aveam un singur ancestor comun, în acest caz există doi ancesori comuni, care sunt bunicii individului X. De la ancesorii comuni pleacă două bucle care converg spre X.

În cea de a doua etapă, se numără indivizii din fiecare buclă (n). În acest exemplu avem câte trei indivizi în fiecare dintre cele două bucle. (Atenție, nu se numără niciodată individul consangvin).

În ultima etapă se calculează valoarea  $\frac{(1)^n}{(2)}$  pentru fiecare buclă în parte și se însumează rezultatele. Astfel, pentru individul consangvin X, rezultat în urma împerecherii dintre frați

$$F_X = \frac{(1)^3}{(2)} + \frac{(1)^3}{(2)} = \frac{1}{8} + \frac{1}{8} = \frac{1}{4}$$

Se observă că valoarea coeficientului de consangvinizare pentru împerecherile între frați este mai mare decât în cazul împerecherilor între frați vitregi. Alte valori sunt:

- $\frac{1}{4}$  părinți-copii, frați
- $\frac{1}{8}$  frați vitregi, unchi-nepoți, dublu veri primari
- $\frac{1}{16}$  veri primari.

Trebuie remarcat că **F** calculat din pedigree se referă la individ nu la populație în ansamblul ei.

#### 4.2.2 Calcularea coeficientului de consangvinizare pentru o populație naturală

S. Wright, unul dintre întemeietorii Geneticii populațiilor, a inventat o modalitate de cuantificare a îndepărtării de echilibrul Hardy-Weinberg în condițiile în care se încalcă condiția împerecherii întâmplătoare.

Frecvențele genotipice așteptate în populațiile cu împerecherile întâmplătoare sunt  $p^2$ ,  $2pq$ ,  $q^2$ . Datorită consangvinizării, frecvența heterozigoților se reduce cu un procent care depinde de coeficientul de consangvinizare  $F$ . În această situație frecvența heterozigoților  $2pq$  devine  $2pq - 2Fpq$ . Din această valoare  $2Fpq$ , o jumătate se duce la o categorie de homozigoți, iar cealaltă jumătate la a doua categorie de homozigoți. În populația respectivă, frecvențele genotipice devin:

$$p^2 + Fpq \qquad 2pq - 2Fpq \qquad q^2 + Fpq$$

Dacă heterozigoții sunt eliminați total din populație, adică  $F=1$ , homozigoții se vor găsi în populație cu următoarea frecvență:

$$p^2 + pq \cdot 1 = p^2 + pq = p(p + q) = p \text{ pentru unul dintre genotipuri.}$$

În același mod se modifică și frecvența celuilalt genotip:

$$q^2 + pq \cdot 1 = q^2 + pq = q(q + p) = q$$

Se observă că frecvența homozigoților devine egală cu frecvența alelică corespunzătoare. Totuși, în populațiile naturale există grade diferite de identitate alelică prin origine, ceea ce înseamnă că  $F$  ia valori intermediare între 0 și 1. Chiar și atunci când ancestorul comun este necunoscut, coeficientul de consangvinizare se poate calcula pe baza valorii heterozigoției și a mărimii populației. Trebuie subliniat că heterozigoția descrește cu un factor ce depinde de mărimea populației și poate fi apreciată mai ușor în populațiile hermafrodite, însă nu este imposibil de estimat nici în celelalte populații.

Scăderea numărului de heterozigoți poate merge până la eliminarea lor totală, chiar dacă împerecherea este întâmplătoare. În populațiile mici nu se poate vorbi despre o situație de echilibru nici măcar pentru perioade scurte de timp.

**Tabelul 4.1** prezintă modul în care variază frecvențele genotipice în populațiile naturale cu împerechere întâmplătoare care prezintă grade diferite de consangvinizare.

#### Exemplu 4.1

Dacă consangvinizarea este singurul factor care modifică structura genetică a unei populații, care este coeficientul de consangvinizare a unei populații în care genotipurile AA, Aa și aa se întâlnesc cu frecvențele 0,752, 0,096 și 0,152?



Rezolvare: Frecvența heterozigoților în condiții de consangvinizare poate fi notată:

$$H = 2pq(1 - F) .$$

Rezolvând ecuația pentru  $F$  (coeficientul de consangvinizare) avem:

$$1 - F = \frac{H}{2pq} \quad \text{sau} \quad F = 1 - \frac{H}{2pq}$$

În această populație  $H$  este 0,096, iar frecvența alelică poate fi calculată după cum urmează:

$$p = D + \frac{1}{2}H = 0,752 + \frac{1}{2}(0,096) = 0,8$$

$$q = 1 - 0,8 = 0,2$$

Înlocuind cu aceste valori, putem calcula coeficientul de consangvinizare:

$$F = 1 - \frac{0,096}{2(0,8)(0,2)} = 0,7$$

**Tabel 4.1** Frecvențe genotipice în populații cu împerechere întâmplătoare și cu grade variate de consangvinizare

Numărul generațiilor de consangvinizare	Coeficientul de consangvinizare	Frecvențe genotipice		
		AA	Aa	aa
Nici una (echilibru Hardy-Weinberg)	$F=0$	$p^2$	$2pq$	$q^2$
Una sau mai multe	$0 < F < 1$	$p^2 + Fpq$	$2pq(1-F)$	$q^2 + Fpq$
Număr infinit (homozigotare completă)	$F=1$	$p^2 + pq = p$	0	$q^2 + pq = q$

#### 4.3 Efectele consangvinizării

În mod evident, consangvinizarea produce modificări care se observă atât la nivelul individului, cât și la nivelul populației. Efectele ei diferă în funcție de sistemul normal de împerechere al organismelor, în sensul că, într-un fel se manifestă la plantele care autopolenizează și în alt fel în populațiile umane.

Efectele sunt legate în principal de homozigotarea alelelor rare recesive, explicând, spre exemplu, în populațiile umane, frecvența maladiilor recesive la descendenții împerecherilor consangvine.

La om consangvinizarea este rară datorită convențiilor sociale și religioase. Apare doar în anumite condiții și, în special, între rude îndepărtate; cele mai frecvente sunt căsătoriile între rude de gradul II și III. Este, totuși, întâlnită în anumite comunități

religioase izolate, având, de multe ori drept consecință avorturi spontane, malformații congenitale sau incidență crescută a maladiilor ereditare.

O asemenea situație a apărut în cadrul sectei Amish din Pennsylvania, SUA, unde, datorită naturii izolate a grupului, căsătoriile sunt reținute la un efectiv populațional redus. În această comunitate se întâlnește, ca urmare, un nivel ridicat al consangvinizării și respectiv al homozigotării, chiar dacă nu întotdeauna au fost implicate persoane înrudite. Studii medicale au arătat că anumite maladii recesive se regăsesc cu o frecvență ridicată, comparativ cu populațiile învecinate. De exemplu, sindromul Ellis van Creveld, care este o formă rară de nanism, caracterizată și prin polidactilie și membre disproporționate, apare în secta Amish cu o frecvență de 0,005, valoare mult mai mare, comparativ cu populațiile învecinate.

Alte cercetări au constatat că albinismul are în populațiile cu împerechere întâmplătoare o frecvență de 1/20000, în timp ce în condițiile consangvinizării frecvența crește de 10 ori (1/2000).

Un studiu amănunțit, realizat în cazul fenilcetonuriei a arătat că incidența bolii crește cu gradul de consangvinizare; cu cât coeficientul de consangvinizare este mai mare, cu atât frecvența bolii este mai înaltă. Astfel, această incidență crește de la 1/10000 la indivizii neînruțiți, la 7/10000 descendenții verilor primari, la 13/10000 la descendenții fraților vitregi, până la 25/10000 la descendenții împerecherilor între frați.



**Figura 4.3** Copil Amish cu sindrom Ellis van Creveld. Se observă membrele scurte și șase degete la fiecare mână. Toți indivizii Amish cu acest sindrom sunt descendenții unui singur cuplu care a fondat comunitatea din Lancaster County, Pennsylvania în 1744.

Modificarea frecvenței caracterelor recesive în condițiile consangvinizării se observă din analiza raportului:

$$\frac{R_{cons}}{R_{HW}} = \frac{q^2 + pqF}{q^2} = 1 + \frac{F(1-q)}{q},$$

unde  $R_{cons}$  reprezintă frecvența genotipurilor homozigote recesive în condiții de consangvinizare, iar  $R_{HW}$  în condițiile împerecherii întâmplătoare. Această relație cuantifică modul în care împerecherea consangvină determină creșterea frecvenței homozigoților recesivi peste frecvența așteptată conform legii Hardy-Weinberg. După cum se observă, creșterea homozigoției este direct proporțională cu coeficientul de consangvinizare, care variază invers proporțional cu mărimea populației. De aceea, în populațiile mari,  $F$  este apropiat de 0, modificările în ceea ce privește frecvența homozigoților fiind minore. În schimb, în populațiile mici,  $F$  ia valori între 0 și 1, iar frecvența homozigoților se modifică vizibil.

Întrucât creșterea homozigoției este direct proporțională cu  $\frac{1-q}{q}$ , consangvinizarea are efect mai puternic atunci când caracterul este foarte rar, deci  $q$  (frecvența alelei recesive) tinde către 0.

Consangvinizarea în sine nu este neapărat dăunătoare. Dacă, datorită întâmplării, populația inițială nu a avut gene recesive dăunătoare, împerecherile consangvine pot să aibă loc fără a spori riscul apariției bolilor. Acesta se pare că este cazul Egiptului antic, unde căsătoriile frate-soră erau frecvente. De asemenea, dacă în populație există gene benefice recesive, consangvinizarea sporește șansa exprimării acestora în combinații homozigote.

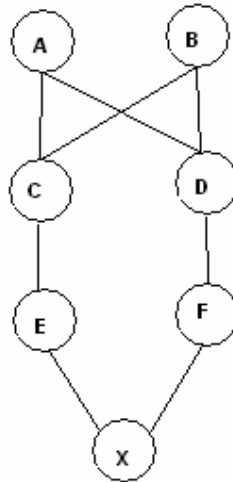
Oricum, trebuie reținut că, întotdeauna, *consangvinizarea modifică frecvențele genotipice, nu frecvențele alelice*, așa cum se întâmplă în cazul driftului genetic, migrației, mutațiilor și selecției naturale.

## EXERCIȚII ȘI PROBLEME

1. Secreția excesivă a hormonilor sexuali masculini determină maturizarea sexuală prematură la bărbați și masculinizarea caracterelor sexuale la femeie. Boala se numește sindrom androgenital. În Elveția există o formă recesivă autozomală a bolii care afectează aproximativ 1/5000 nou-născuți.

- Presupunând că împerecherea este întâmplătoare, care este frecvența alelei recesive?
- Care este frecvența heterozigoților purtători?
- Care este frecvența așteptată de persoane afectate în condițiile împerecherii între veri primari?

2. Galactosemia este o maladie autozomală recesivă asociată cu hipertrofia ficatului, cataractă, retardare mentală. Printre descendenții unor indivizi neînruțiți frecvența galactosemiei este de  $8,5 \cdot 10^{-6}$ . Care este frecvența așteptată în cazul descendenților verilor primari ( $F=1/16$ ) și printre cei ai verilor de gradul II ( $F=1/64$ )?
3. Care este probabilitatea ca o femeie heterozigotă să aibă descendenți heterozigoți în cazul unei gene autozomale cu 2 alele, ca urmare a împerecherii întâmplătoare?
4. Determinați coeficientul de consangvinizare al indivizilor din diagrama alăturată, considerând că ancesorii comuni nu sunt consangvini.



5. Într-un eșantion de 100 de persoane s-au găsit 14 indivizi MM, 32 MN și 54 NN. Calculați coeficientul de consangvinizare.
6. 100 de persoane din SUA au fost testate pentru grupele MN. Datele rezultate au fost: MM-41, MN-38 și NN-21. Calculați coeficientul de consangvinizare.
7. Dacă într-o populație cu 2 alele pentru un locus autozomal  $p=0,8$  și  $q=0,2$ , iar frecvența heterozigoților este 0,2, care este coeficientul de consangvinizare?

## 5. FORȚELE EVOLUTIVE CARE ACȚIONEAZĂ ÎN POPULAȚIILE NATURALE

Populațiile sunt extrem de complexe, iar principiul Hardy-Weinberg ignoră mare parte a acestei complexități. În primul rând nu sunt infinite ca efectiv, mărimea lor este rareori constantă, iar numeroasele fluctuații ale frecvenței alelice pot să apară pur și simplu întâmplător. Populațiile sunt supuse, de asemenea, acțiunii unor forțe evolutive sistematice (mutații, migrație și selecție naturală), care determină modificări neîntâmplătoare și orientate ale frecvenței alelice.

Modificarea frecvenței alelice reprezintă modificarea constituției genetice a populației. Deoarece, evoluția poate fi definită ca o transformare cumulativă a structurii genetice a populației, care determină creșterea adaptabilității la mediul de viață, procesul fundamental în evoluție îl reprezintă modificarea frecvențelor alelice. Acest capitol analizează diferitele forțe care modifică frecvența alelelor și care reprezintă cheia înțelegerii originii și menținerii variației genetice în populațiile naturale (Hartl 1987).

### 5.1 Driftul genetic întâmplător

**Driftul genetic** este un mecanism important în evoluție și reprezintă alterarea frecvenței alelice ca rezultat al întâmplării. Se observă în toate populațiile naturale, dar efectul său este mai vizibil în populațiile mici (100 de indivizi sau mai puțin). Cu cât populația este mai redusă numeric, cu atât este mai susceptibilă unor modificări întâmplătoare.

Așa cum am arătat în Cap. 3, legea Hardy-Weinberg descrie situația în care frecvența alelică se menține constantă de la o generație la alta. Driftul genetic influențează frecvența alelică, distrugând echilibrul existent în populațiile naturale. Distrugerea acestui echilibru se face independent de mutații, migrație sau selecție naturală și se datorează doar întâmplării. Uneori sunt implicate unele modificări ale intensității selecției naturale.

Driftul genetic se mai numește și *derivă genetică*, deoarece frecvențele alelice par să plutească în derivă de-a lungul câtorva generații.

Modificarea frecvenței alelice sub acțiunea driftului genetic nu este orientată, direcționată (cum se întâmplă în cazul celorlalte forțe evolutive), ci se face randomic.

Mecanismul care stă la baza driftului genetic este reprezentat de alegerea întâmplătoare a gameților în procesul de reproducere. De obicei doar o mică fracție dintre gameți se va transforma în adulți, iar această fracție este întâmplătoare, întrucât numărul de gameți disponibili este, de obicei, mult mai mare decât numărul adulților din generația următoare. Chiar și în condițiile în care nu există un exces de gameți, este posibil ca, în cazul organismelor heterozigote, gameții care trec în generația următoare să fie de același tip. În ambele situații, nu toate alele parentale sunt transmise descendenților, iar acest lucru este mai evident în populațiile cu număr mic de descendenți. Pentru populațiile mari, procesul nu are efect vizibil, întrucât natura randomică a procesului de selectare a gameților va tinde să păstreze frecvența alelică în jurul unei valori medii, care rămâne constantă în timp.

### 5.1.1 Consecințele driftului genetic

Importanța întâmplării în modificarea frecvențelor alelice se poate aprecia foarte ușor dacă înțelegem că echilibrul Hardy-Weinberg este un echilibru neutru, adică nu este nici stabil, nici instabil.

Astfel, dacă o populație mică se împerechează întâmplător, frecvențele genotipice vor fi  $p^2$ ,  $2pq$  și  $q^2$  atât timp cât  $p$  și  $q$  (frecvențele alelice) rămân neschimbate. Dacă frecvențele alelice  $p$  și respectiv  $q$  se modifică, adică  $p$  devine  $p'$ , iar  $q$  devine  $q'$ , frecvențele genotipice vor deveni  $p'^2$ ,  $2p'q'$  și  $q'^2$ . Aceste valori se vor menține la rândul lor constante cât timp nu vor interveni alți factori care să modifice  $p'$  și  $q'$ . Ceea ce este însă esențial, este faptul că nu se va mai reveni niciodată la condițiile inițiale. Explicația este legată de faptul că populațiile naturale nu au memorie genetică asupra stării lor din generațiile anterioare. Ca urmare, în condițiile în care frecvența alelică s-a modificat datorită întâmplării, noua valoare  $p'$  va depinde de valoare  $p$  din generația anterioară, dar nu și de valoare  $p^0$  din generațiile mai vechi, care sunt practic irelevante. Cu timpul, frecvențele alelice se vor îndepărta tot mai mult de frecvența inițială, iar modificările cauzate de driftul genetic tind să se acumuleze.

În termeni matematici, aceste caracteristici se pot exprima astfel:

- media frecvențelor alelice nu se modifică în timp, dar
- deviația față de medie (varianța) crește cu timpul tot mai mult.

Cu alte cuvinte, când asupra lui  $p$  și  $q$  nu acționează forțe stabilizatoare, populațiile naturale deviază tot mai mult în ceea ce privește frecvența alelică, dar aceste modificări nu merg constant în aceeași direcție. Spre exemplu, dacă avem 3 populații

de organisme, cu aceeași mărime a efectivului și cu aceeași frecvență inițială **p** și **q** a alelelor **A** și respectiv **a**, doar pe seama întâmplării vor evolua astfel:

- o populație se va fixa pentru alela **A** ( $p = 1$ )
- a doua populație se va fixa pentru **a** ( $q = 1$ )
- a treia va reține ambele alele, continuând să prezinte fluctuații în ceea ce privește frecvența alelică.

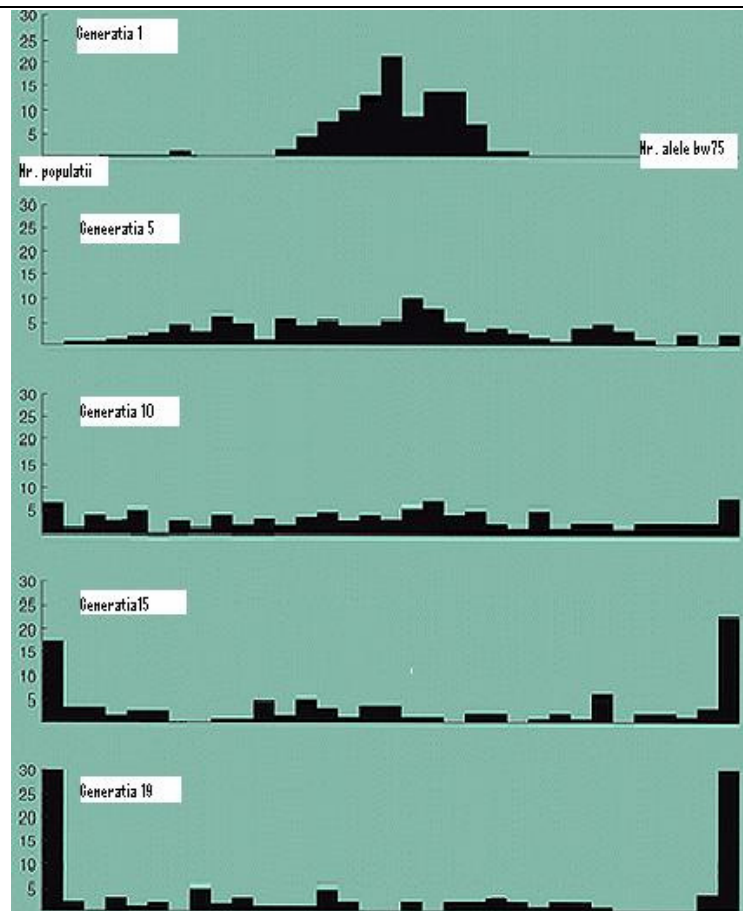
Acest exemplu ilustrează două consecințe importante ale driftului genetic:

1. descreșterea variației genetice în interiorul populațiilor, deoarece două dintre populații devin homozigote (**AA** sau **aa**);
2. creșterea diferențelor dintre populații, ca urmare a faptului că frecvențele alelice au devenit divergente.

Aceste efecte au fost demonstrate într-un experiment cu 107 populații de *Drosophila melanogaster*, urmărite pe parcursul a 19 generații. Fiecare generație a pornit cu 16 indivizi, 8 femele și 8 masculi, toți heterozigoți pentru două alele care determină culoarea ochilor (**bw** și **bw**<sup>75</sup>, alela **bw** pentru ochi maro și alela neutră **bw**<sup>75</sup>) și a fost menținută la mărime constantă prin alegerea randomică a 8 femele și 8 masculi ca părinți pentru generația următoare. După 19 generații, fiecare populație s-a fixat pentru una sau alta dintre alele, iar unele populații prezentau variații mari în ceea ce privește frecvența alelelor, chiar dacă în populație au fost păstrate ambele alele (**Figura 5.1**).

Driftul genetic nu este limitat la speciile care au puțini descendenți (cum sunt populațiile umane). Astfel, la plantele cu flori intervine întâmplarea atunci când semințele cad pe sol fertil sau nu, favorizând sau împiedicând producerea de descendenți. La pești sau la broaște, ponta depusă este foarte mare, însă, doar o mică parte din ea va ajunge la maturitate.

De asemenea, driftul genetic nu este limitat la ereditatea nucleară. De exemplu, acest proces poate explica de ce toți avem mitocondrii moștenite de la o femeie ancestrală (așa numita Eva mitocondrială). Acest lucru nu înseamnă că a existat o femeie unică, din care ne tragem toți, ci faptul că, dintr-o populație de maximum câteva sute de indivizi, din întâmplare, doar un set de gene mitocondriale a fost transmis descendenților. Această teorie, deși are numeroși adepți, este încă în discuție.



**Figura 5.1** Efectele driftului genetic asupra 109 populații de *Drosophila melanogaster* urmărite pe parcursul a 19 generații (după Elseth 1995).

### 5.1.2 Efectul gâtului de sticlă și efectul fondatorului

În afară de selectarea aleatorie a gameților, întâmplarea este implicată și în alte două procese care modifică frecvența alelică: efectul gâtului de sticlă și efectul fondatorului.

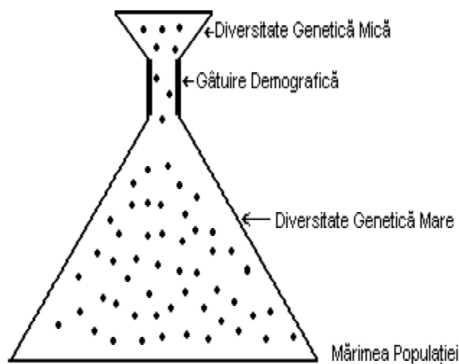
**Efectul gâtului de sticlă** (*bottleneck*) se observă în populațiile naturale supuse fluctuațiilor în ceea ce privește mărimea efectivului. Aceste populații pot avea diversitate genetică mare, dar, din anumite cauze pot suferi, periodic sau ocazional, o reducere drastică a efectivelor.

Uneori aceste scăderi masive ale numărului de indivizi se pot datora unor catastrofe naturale (cutremure, inundații, incendii devastatoare). Este posibil ca indivizii supraviețuitori să nu fie reprezentativi pentru populația din care provin și să difere semnificativ din punct de vedere a compoziției genetice de aceasta. Ca urmare, chiar dacă efectivul populației se reface, aceasta va include o variație genetică scăzută, care, în timp, se poate reduce și mai mult (**Figura 5.2**).



Efectul gâtului de sticlă pare să fi reprezentat un mecanism important în stadiile timpurii ale dezvoltării populațiilor umane, atunci când calamitățile naturale au decimat triburi întregi.

Așa s-a întâmplat și cu foca de Groenlanda, care a fost vânată foarte intens, până când în 1820 rămăseseră mai puțin de 20 de exemplare. Actual există aproximativ 30.000 de exemplare, dar care au o diversitate genetică foarte scăzută. Cele 20 de exemplare care au supraviețuit și care au refăcut numeric populația au fost mai mult norocoase decât au avut o capacitate mai mare de supraviețuire.



**Figura 5.2** Reprezentare schematică a "efectului gâtului de sticlă" (bottleneck).

**Efectul fondatorului.** Uneori un grup mic de indivizi se desprinde dintr-o populație mai mare și întemeiază o nouă populație. Acești indivizi provin de obicei din așa numitele specii pioniere, care colonizează noi teritorii (noi biotopi). Speciile colonizatoare conțin, de obicei, doar o mică parte din variația genetică a populației parentale și pot diferi considerabil în ceea ce privește frecvența alelică de populația parentală din care provin. Efectul fondatorului a fost studiat și în unele comunități umane. De exemplu, acest mecanism este probabil responsabil pentru lipsa aproape completă la indienii americani a grupei B de sânge. Ancestorii lor au venit, se pare, în grupuri mici din Asia, traversând strâmtoarea Bering, la sfârșitul erei glaciare, cu aproximativ 10.000 de ani în urmă.

Există însă și exemple mai recente din populațiile umane și nu numai. Astfel, unele comunități religioase, așa cum sunt Dunkerii sau secta Amish din America de Nord, au fost fondate de un număr mic de emigranți din Europa Centrală și au rămas aproape complet izolate de zonele înconjurătoare. Ca urmare, frecvența grupelor de sânge din sistemele ABO, Rh și MN este foarte diferită comparativ cu populațiile din jur, dar și cu populația din care au provenit.

În Islanda, vacile actuale sunt descendentele unui număr mic de exemplare adus pe insulă cu mai mult de 100 de ani în urmă. Constituția genetică a vacilor din Islanda diferă foarte mult în prezent de cea a “rudelor” din Norvegia, țara de origine, iar diferențele sunt în concordanță cu cele prezise de driftul genetic.

În mod similar, numeroase insule din Oceanul Pacific au fost colonizate de câteva exemplare de *Drosophila melanogaster*, iar populațiile formate sunt, din punct de vedere genetic, deosebit de uniforme.

### 5.1.3 Rolul driftului genetic în procesul evolutiv

Pentru explicarea evoluției, s-a considerat mult timp că singurul mecanism implicat este selecția naturală. Totuși, în anumite populații, unii loci sunt fixați pentru o alelă nefavorabilă, deoarece intensitatea selecției este insuficientă pentru a „învinge” driftul genetic, care a indus fixarea.

Cercetătorii trebuie să răspundă la două întrebări și în același timp la două provocări:

1. Dacă imensa variație genetică observată în populațiile naturale este necorelată cu supraviețuirea și reproducerea, putem considera driftul genetic întâmplător ca factor determinant al evoluției?
2. Dacă majoritatea modificărilor afectează fitnessul, selecția naturală este forța conducătoare a evoluției?

Deși rolul driftului genetic nu poate fi demonstrat direct, studiile la nivel molecular au furnizat dovezi în sprijinul teoriei potrivit căreia acesta este un mecanism important în evoluție. Mutațiile observate la nivel molecular sunt în majoritate neutre și, prin urmare, nu se află sub acțiunea selecției naturale. Astfel, singura cale prin care mutațiile neutre se pot fixa în populațiile naturale este driftul genetic.

Asupra acestor aspecte vom reveni în capitolul de Evoluționism molecular.

În concluzie, driftul genetic nu este direcționat, orientat, efectele sale se cumulează în timp și determină creșterea diferențelor genetice între populațiile naturale și scăderea variabilității genetice în interiorul populațiilor. Există, totuși, factori care acționează pentru a preveni driftul genetic, respectiv mărirea populațiilor, mutațiile și migrația care împiedică fixarea prin înlocuirea alelelor pierdute, dar și acele tipuri de selecție naturală care mențin diversitatea genetică.

## 5.2 Migrația

Una dintre forțele evolutive care afectează, la fel ca driftul genetic, frecvența alelică este **migrația**. Teoriile din Genetica populațiilor se bazează pe populații mari, izolate,

în care indivizii au șanse egale de împerechere cu oricare membru de sex opus, indiferent de localizarea lor geografică.

Această situație este imposibil de imaginat pentru că, organismele nu sunt întotdeauna mobile și nu pot transmite (disemina) gameții pe arii foarte largi. Indivizii aflați la distanțe mari sunt izolați unii de alții și nu se pot împerechea. În plus, unele organisme au tendința de agregare, dacă nu din alte motive, cel puțin din cauză că valorifică un habitat favorabil. De exemplu, numeroși pești agregă în bancuri, iar păsările formează stoluri. În timp ce membrii unor asemenea grupuri se împerechează între ei, împerecherile dintre diferitele grupuri sunt mai puțin frecvente și depind de rata migrației.

Este evident că, orice populație este subdivizată în **populații locale**, parțial izolate. Aceste populații locale sunt cunoscute și sub denumirea de **deme**.

Subdivizarea populațiilor permite tuturor forțelor evolutive (inclusiv migrației) să acționeze diferit pe tot cuprinsul arealului. În această situație, populațiile tind să evolueze divergent în ceea ce privește frecvența alelelor și, ca urmare, apar diferențieri genetice intrapopulaționale în funcție de mărimea populației și caracteristicile mediului înconjurător. Subdivizarea populațiilor este, astfel, un factor important în generarea variației genetice, deoarece permite apariția diferențelor genetice nu numai între indivizii aceleiași deme, ci și între diferitele deme ale populației mai mari.

### 5.2.1 Efectele migrației

Populațiile naturale sunt repartizate heterogen în arealul speciei, dar nu sunt complet izolate unele de altele. În mod normal există un anumit schimb de gene între populațiile unei specii, chiar dacă acest schimb are loc foarte rar, la scară de timp geologic. Dacă o populație, datorită evoluției divergente, diferă de restul populațiilor în ceea ce privește constituția genetică, un aflux de gene datorat migrației va contribui la remanierea genetică a populației și la limitarea tendinței de evoluție divergentă. Dintr-un anumit punct de vedere migrația este asemănătoare mutației, deoarece poate introduce noi alele într-o populație.

Fluxul migrator poate fi descris prin două modele: *modelul arhipelag* și *modelul insulă-continent*.

**Modelul arhipelag** descrie fluxul multidirecționat între diferitele populații și corespunde fragmentării unei specii în unități multiple, fiecare unitate populațională

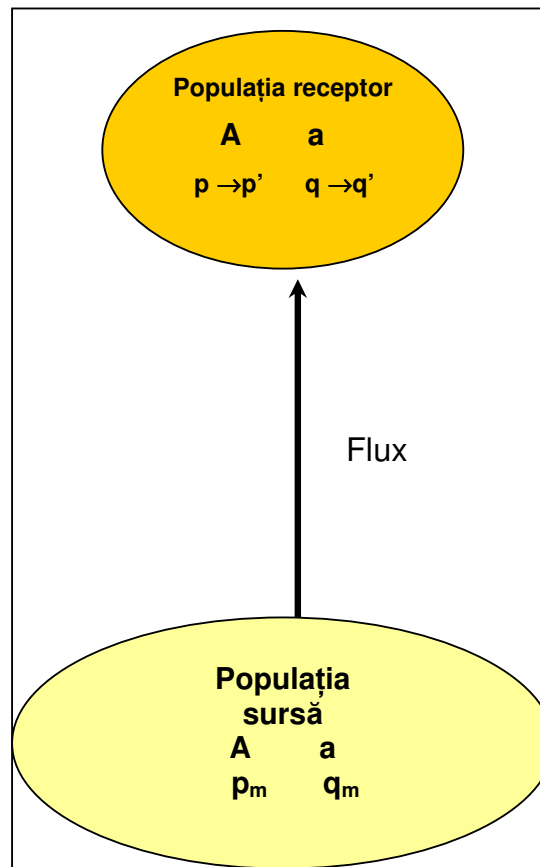
fiind aptă să accepte imigranți. Fluxul multidirecționat determină creșterea aportului alelic în anumite populații și diminuarea acestui aport în alte populații.

**Modelul insulă-continent** este mult mai simplu. În acest caz migrația este unidirecționată și dezechilibrată. Ea se realizează de la o populație mare (*sursa* sau *continentul*) spre una mai mică (*receptorul* sau *insula*).

Un exemplu, care corespunde acestui model, ar fi situația negrilor americani în perioada de sclavie. Deși a avut loc un amestec între cele două rase, deoarece descendenții împerecherilor au fost considerați întotdeauna negri, se poate considera că populația sursă au fost albi, iar populația care a recepționat fluxul de alele au fost negrii.

Conform modelului, insula recepționează un flux migrator constant, ai cărui imigranți sunt scoși la întâmplare din populația de origine și au o frecvență alelică echilibrată pentru locusul luat în discuție.

Să presupunem că avem o populație mare cu un locus autozomal cu două alele **A** și **a** și cu frecvențele alelice  $p_m$  și respectiv  $q_m$  și o populație mică cu aceleași două alele **A** și **a**, dar cu frecvențele  $p$  și respectiv  $q$  (**Figura 5.3**).



**Figura 5.3** Modelul insulă-continent, care ilustrează migrația unidirecționată.

În urma migrației, frecvența alelei **A** în generația următoare în populația receptor (**p'**) va depinde de :

- **m** = proporția alelelor aparținând indivizilor care au migrat, respectiv rata migrației și
- **1-m** = proporția alelelor din populația receptor, care aparține indivizilor care nu au migrat.

Astfel, după migrație:

$$p' = mp_m + (1 - m)p,$$

unde **mp<sub>m</sub>** reprezintă contribuția populației mai mari, a imigranților, în timp ce **(1-m)p** este contribuția populației mai mici, receptoare.

Este evident că modificarea frecvenței alelice este o consecință a ratei migrației și a diferențelor între nativi și migratori în ceea ce privește frecvența alelică.

După o generație de migrație, modificarea frecvenței alelice, adică  $\Delta p$  este:

$$\Delta p = p' - p$$

Pornind de la această relație se poate calcula rata migrației, după cum urmează:

$$\Delta p = mp_m + (1 - m)p - p$$

$$\Delta p = mp_m + p - mp - p$$

$$\Delta p = -m(p - p_m)$$

$$m = -\frac{\Delta p}{p - p_m}$$

Migrația continuă se opune evoluției divergente și, ca urmare, populațiile locale devin asemănătoare din punct de vedere al frecvenței alelice. Dacă migrației nu i se opun alte forțe evolutive se formează ansambluri omogene de populații locale.

Cu toate acestea, efectul de omogenizare al migrației este foarte rar observat pentru că intervin alte forțe evolutive, ca de exemplu selecția naturală. Presiunea selecției diferă de la o subpopulație la alta și induce adaptarea la condițiile locale de mediu. Este vorba de o selecție diferențiată, care determină compoziția genetică a diferitelor subpopulații.

În fapt, chiar și o rată redusă a migrației este suficientă pentru a preveni acumularea nivelurilor înalte de diferențiere genetică.

Unele restricții în ceea ce privește schimbul de gene induc în anumite populații conservarea caracterelor distincte. De exemplu, în populațiile umane, schimbul nerestricțiv de gene este împiedicat, uneori, prin bariere religioase, culturale, sociale sau prin separare geografică.

Efectul restricționării schimbului de gene este evident în cazul alelei  $L^B$ , care este absentă sau prezentă cu frecvență foarte mică (5-10%) la nativii din Australia, America de Nord și de Sud, se găsește în procent de 10-15% (sau chiar mai puțin) în Africa și descrește după un gradient de la est la vest în Asia și Europa. Această modificare gradată a frecvenței alelei  $L^B$ , cu maximum 30% în Asia și minimum 5% în Europa de Vest (chiar mai puțin la populația bască din Pirinei) este rezultatul migrației triburilor asiatice în secolele V-VI. Gradientul observat în cazul acestei alele indică o ruptură a barierelor culturale, religioase, sociale în timpul războaielor, iar efectele acestei rupturi depind de lungimea perioadei de contact dintre populația nativă și invadatori.

### Exemplu 5.1

Populația de culoare din Statele Unite are atât ancesori europeni, cât și africani. Testele de sânge au arătat că frecvența alelei  $Fy^a$  este 0,081 la negrii din New York, 0,43 la europeni și practic 0 la populațiile africane. Estimați fracția de gene europene prezente la descendenții negrii din New York.

Rezolvare: Această situație corespunde modelului insulă-continent, în care, prin migrație unidirecționată, genele europene au fost incorporate într-o populație africană. Proporția genelor europene (ale migratorilor) în populația neagră este de fapt  $m$ .

$$m = -\frac{\Delta p}{p - p_m} = \frac{p' - p}{p_m - p}$$

În exemplul acesta  $p'$ ,  $p$  și  $p_m$  reprezintă frecvența alelei  $Fy^a$  la negrii din New York, la africani și la europeni. Efectuând substituțiile în ecuația de mai sus:

$$m = \frac{0,081 - 0}{0,43 - 0} = 0,188$$

Astfel, aproximativ 19% dintre ancesorii populației negre din America de Nord sunt proveniți din Europa.

### 5.3 Mutațiile

Mutațiile sunt originea unor noi abilități genetice și reprezintă alterări sau substituiri ale materialului genetic. Ele constituie sursa fundamentală a variației genetice în populațiile naturale, fiind esențiale pentru evoluție, deși, datorită ratei reduse cu care

apar sunt o forță evolutivă relativ slabă. Datorită mutațiilor, care determină înlocuirea unei alele cu alta, frecvența alelică în populațiile naturale se modifică.

Mutațiile pot să nu afecteze fenotipul și sunt întâlnite la nivelul oricărui organism. Mutațiile pot apare ca rezultat al proceselor celulare normale (de exemplu, erori întâmplătoare în replicarea ADN) sau, ca rezultat al interacțiunii cu mediul de viață.

Există numeroase posibilități de clasificare a mutațiilor, pe baza unor criterii diferite.

1) Astfel, după **originea** lor sunt spontane și induse (rezultate sub acțiunea agenților mutageni fizici, chimici și biologici). Rata producerii mutațiilor spontane este caracteristică fiecărui organism.

Rata mutațiilor spontane este de  $10^{-5}$ – $10^{-6}$ /locus/generație, atât la procariote cât și la eucariote. Aceste valori scăzute par un compromis. Pe de o parte, sunt suficient de ridicate pentru a genera mutații favorabile, necesare speciilor să evolueze, iar, pe de altă parte, nu sunt atât de ridicate încât speciile să sufere datorită preponderenței mutațiilor dăunătoare. Studiul organismelor fosile a adus dovezi cu privire la rolul mutațiilor în evoluția speciilor.

2) După **cantitatea de material genetic afectat**, mutațiile pot fi punctiforme și în acest caz modificările sunt la nivelul unei singure perechi de baze, sau pot altera cantități mai mari din materialul genetic prin inserții sau deleții. Trebuie subliniat faptul că, susceptibilitatea față de mutații este direct proporțională cu mărimea genelor; cu cât o genă este mai mare, cu atât este de așteptat să apară un număr mai mare de mutații.

3) În funcție de **efectul selectiv** se întâlnesc mutații dăunătoare (*deletorius*), care reprezintă marea majoritate, mutații neutre și mutații avantajoase, care, deși sunt puține, contribuie efectiv la procesele evolutive.

Asupra mutațiilor dăunătoare acționează selecția negativă (purificatoare), în timp ce asupra mutațiilor favorabile acționează selecția pozitivă. În ceea ce privește mutațiile neutre, acestea nu afectează capacitatea de supraviețuire și reproducere, nefiind supuse acțiunii selecției naturale.

3) După **mecanismul mutațional** (adică direcția în care se produc mutațiile) și **efectele lor la nivelul populațiilor** se disting: mutații irreversibile, reversibile și neutre.

Mutațiile ireversibile. Să presupunem că avem o alelă **A** cu frecvența **p** și o alelă mutantă echivalentă **a** cu frecvența **q**. **A** suferă mutații la **a** cu o rată  $\mu$ , iar  $1 - \mu$  reprezintă proporția alelelor **A** care nu au suferit mutație la **a**. Frecvența alelică în generația **n** ( $p_n$ ) depinde de frecvența alelei **A** în generația anterioară ( $p_{n-1}$ ) și de proporția indivizilor care nu au suferit mutație și va fi:

$$p_n = p_{n-1}(1 - \mu). \text{ Astfel,}$$

$$p_1 = p_0(1 - \mu)$$

$$p_2 = p_1(1 - \mu) = p_0(1 - \mu)(1 - \mu) = p_0(1 - \mu)^2 \dots\dots\dots$$

$$p_n = p_0(1 - \mu)^n$$

Dacă rata mutațiilor este  $1 \times 10^{-5}$ /generație, la fiecare 69.314 generații frecvența alelică va descrește la jumătate. La om, considerând că o generație are aproximativ 20 de ani, pentru a reduce la jumătate frecvența alelică sunt necesari 1,4 milioane de ani.

Mutațiile reversibile. În acest caz, mutația directă (înainte) a alelei **A** la **a** este contrabalansată de mutația reversă (contrarie) a alelei **a** la **A**. Atunci când fiecare alelă **A** pierdută prin mutație este înlocuită cu o alelă **A** creată prin mutație reversă se realizează o situație de echilibru în ceea ce privește frecvența alelelor. La echilibru, frecvența alelelor devine stabilă și nu se modifică chiar dacă mutațiile sunt continue. Notând cu  $\mu$  rata mutației înainte a alelei **A** la **a** și cu  $\nu$  rata mutației reverse a alelei **a** la **A**, frecvența alelei **A** la echilibru ( $\hat{p}$ ) va fi:

$$\hat{p}\mu = \hat{q}\nu$$

Deoarece  $p + q = 1$

$$\hat{p}\mu = (1 - \hat{p})\nu$$

$$\hat{p}\mu = \nu - \hat{p}\nu$$

$$\hat{p}\mu + \hat{p}\nu = \nu$$

$$\hat{p} = \frac{\nu}{\mu + \nu}$$

În mod similar, la echilibru, frecvența alelei **a** va fi:  $\hat{q} = \frac{\mu}{\mu + \nu}$ .

Dacă  $\mu = \nu$ , atunci  $p = q = 0,5$ , însă, dacă  $\mu > \nu$  situația de echilibru dispare, iar frecvența alelei **a** ( $q$ ) crește.



Mutațiile neutre.

Pentru a înțelege ce semnificație au mutațiile neutre, să considerăm că avem o alelă **A** și alela mutantă echivalentă **a**. Alela **a** diferă de **A** prin substituirea (înlocuirea) unei nucleotide de la nivelul unui intron sau prin substituirea unui codon cu altul sinonim. În aceste două situații produsul proteic este nemodificat. Ca urmare, acest tip de mutație este considerat neutru și nu are semnificație adaptativă.

Totuși, conform **teoriei neutraliste a evoluției moleculare** (Kimura 1968) mutațiile neutre joacă un rol important în evoluție. Conform acestei teorii, majoritatea polimorfismelor moleculare sunt menținute în populații prin acțiunea comună a mutațiilor și driftului genetic întâmplător, și nu prin selecție naturală. Pe perioade lungi de timp apar numeroase mutații, dar majoritatea se pierd în primele generații datorită întâmplării. Rata fixării alelelor neutre este egală cu rata producerii mutațiilor/alelă/generație și nu depinde de mărimea populației. Când populația este mică nu se produc mai multe mutații pentru că numărul total de gene este mai mic.

Despre această teorie vom mai discuta în capitolul de genetică moleculară a populațiilor.

**5.3.1 Stabilitatea echilibrului mutațional**

Am constatat că, în cazul mutațiilor reversibile, se poate ajunge la o stare de echilibru în care alelele produse prin mutație înainte sunt contrabalansate de pierderea lor prin mutație contrarie. Se pune întrebarea: ce fel de echilibru este acesta?

Echilibrul poate fi stabil, instabil și neutru. Echilibrul stabil este cel care atunci când este perturbat revine la starea inițială. În cazul echilibrului instabil nu se revine la punctul de plecare, ci se îndepărtează tot mai mult de această stare. Echilibrul neutru este acel echilibru care rămâne în punctul în care a ajuns după perturbare, așa cum se întâmplă în cazul echilibrului Hardy-Weinberg.

Echilibrul mutațional este un echilibru stabil, pentru că orice populație care nu este în echilibru tinde să revină la starea inițială.

În populațiile naturale, orice modificare a frecvenței alelice datorată mutației are nevoie de timp îndelungat să se observe, totuși:

- rata mutațiilor poate modifica frecvența alelică dacă nu intervin alți factori care să elimine modificările cauzate de mutație,
- mutațiile pot afecta frecvența alelică prin reintroducerea alelelor pe care selecția naturală le-a îndepărtat,
- mutațiile furnizează alele alternative asupra cărora poate acționa selecția.

## 5.4 Selecția naturală

**Selecția naturală** este considerată forța motrice a evoluției, deoarece este singura forță evolutivă care are o relație directă și cauzală cu adaptarea.

Selecția naturală reprezintă reproducerea diferențiată a genotipurilor din populațiile naturale și este, așadar, consecința diferențelor ereditare dintre organisme în ceea ce privește capacitatea de supraviețuire și reproducere.

Conceptul de selecție naturală a fost introdus de Darwin (1859), iar ulterior, ca urmare a dezvoltării geneticii, a fost revizuit și extins. Conform lui Darwin, organismele produc mai mulți descendenți decât poate mediul natural să susțină și acest lucru generează lupta pentru existență. Ca urmare a acestei competiții, organismele care supraviețuiesc și se reproduc transmit descendenților caractere care favorizează supraviețuirea și reproducerea. După mai multe generații de asemenea competiție, caracterele asociate cu abilități competitive puternice devin predominante în populație, iar caracterele asociate cu competitivitate scăzută dispar. Astfel, selecția pentru supraviețuire și reproducere este mecanismul care modifică caracteristicile fizice și comportamentale ale speciei.

În prezent se consideră că selecția naturală se bazează pe trei premize:

1. Majoritatea organismelor produc mai mulți descendenți decât pot supraviețui și se pot reproduce.
2. În fiecare generație genotipurile care favorizează reproducerea și supraviețuirea se găsesc în exces printre genotipurile de vârstă reproductivă. Astfel, genotipurile favorizante contribuie disproporționat, în raport cu celelalte, la formarea generației următoare.
3. Organismele diferă între ele în ceea ce privește capacitatea de supraviețuire și reproducere. Diferențele referitoare la fertilitate provin din durata perioadei de reproducere, succesul reproductiv, numărul de gameți funcționali produși etc. Avantajul în privința supraviețuirii rezultă din capacitatea de a concura pentru resursele de hrană, de a scăpa de prădători și de a rezista rigorilor mediului fizic și chimic.

Așa cum postula Darwin, ca urmare a selecției naturale, alelele care cresc șansele de supraviețuire și reproducere ale organismelor își sporesc frecvența de la o generație la alta. În timp populația devine mai capabilă de supraviețuire și reproducere.

Îmbunătățirea genetică progresivă reprezintă **adaptarea evolutivă**.

Selecția naturală acționează asupra întregului organism, iar o modificare întâmplătoare a frecvenței alelice nu indică neapărat că a acționat selecția. Dar, nici lipsa modificărilor nu este o dovadă că selecția nu a fost activă.

În afară de selecția naturală existentă în natură, oamenii au practicat și **selecția artificială** asupra producției vegetale și animale. Selecția artificială reprezintă modificarea speciilor sălbatice de plante și animale în interesul omului prin perpetuarea indivizilor cu caractere utile. Acest subcapitol însă nu se va ocupa de acest tip de selecție, ci de tipurile de selecție întâlnite în natură.

#### 5.4.1 Fitnessul și măsurarea lui

Fitnessul unui genotip este o măsură a capacității indivizilor de a supraviețui și a se reproduce, cu alte cuvinte o măsură a succesului reproductiv și a valorii adaptative a genotipului față de modificările mediului de viață.

Fitnessul se măsoară prin intermediul **ratei reproductive**, care reprezintă contribuția reproductivă a unui genotip la generația următoare, înglobând atât *capacitatea de supraviețuire*, cât și *rata fertilității*.

Considerând  $I_i$  probabilitatea ca un zigot cu genotip  $i$  să supraviețuiască până la vârsta reproductivă (**rata supraviețuirii**) și  $m_i$  numărul mediu de descendenți produși de un adult supraviețuitor cu genotip  $i$  (**rata fertilității**), produsul  $m_i \cdot I_i$  reprezintă **fitnessul absolut** exprimat sub forma ratei reproductive.

De exemplu, dacă fiecare zigot cu un anumit genotip are 50% șanse să atingă maturitatea sexuală și produce în medie 2 urmași în timpul perioade sale fertile, atunci, un asemenea zigot va contribui cu  $2 \times 0,5 = 1$  descendenți la generația următoare. Trebuie subliniat că, produsul  $m_i \cdot I_i$  reprezintă o măsură a contribuției genetice viitoare a unui zigot cu un anumit genotip, deoarece, prin formarea descendenților, el contribuie cu gene la generația următoare.

În mod uzual se folosește **fitnessul relativ**, care reprezintă rata reproductivă a unui anumit genotip, împărțită la rata reproductivă a genotipului cu cel mai mare fitness absolut. **Figura 5.4** ilustrează modalitatea de calcul ale valorilor fitnessului relativ și absolut într-o populație cu împerechere întâmplătoare în care se găsesc trei genotipuri AA, Aa și aa cu frecvențele  $p^2$ ,  $2pq$  și respectiv  $q^2$ . Se observă că cea mai mică valoare a ratei nete reproductive se întâlnește la indivizii cu genotip aa, deși ca adulți sunt cei mai prolifici. Acest exemplu este o dovadă a faptului că, în analiza contribuției genetice ale genotipurilor implicate, trebuie ținut cont simultan atât de abilitatea de a supraviețui, cât și de fertilitate.

Fitnessul se notează cu **w** și ia valori între 0 și 1. Valoarea 0 este valoarea caracteristică genotipurilor letale, iar valoarea 1 este corespunzătoare genotipurilor cu rată reproductivă optimă. Majoritatea genotipurilor însă, au valori ale fitnessului cuprinse între aceste două extreme. Valoarea fitnessului este strâns corelată cu tipul de selecție care acționează asupra genotipurilor.

Există numeroși factori care descresc valoarea fitnessului. Toți acești factori sunt reuniți sub denumirea de **coeficient de selecție (s)**. Coeficientul de selecție, care reprezintă reducerea proporțională a fitnessului relativ, fiind totodată și o măsură a intensității selecției, poate fi calculat din relația:

$$s = 1 - w,$$

și ia valori între 0 și 1. Valoarea 0 este corelată cu lipsa acțiunii selecției, iar valoarea 1 corespunde selecției complete.

	<b>AA</b>	<b>Aa</b>	<b>aa</b>
Frecvența genotipică	<b>p<sup>2</sup></b>	<b>2pq</b>	<b>q<sup>2</sup></b>
Rata fertilității ( <b>m<sub>i</sub></b> )	<b>m<sub>AA</sub></b> <b>3</b>	<b>m<sub>Aa</sub></b> <b>4</b>	<b>m<sub>aa</sub></b> <b>10</b>
Rata supraviețuirii ( <b>l<sub>i</sub></b> )	<b>l<sub>AA</sub></b> <b>0,9</b>	<b>l<sub>Aa</sub></b> <b>0,7</b>	<b>l<sub>aa</sub></b> <b>0,1</b>
Fitnessul absolut ( <b>m<sub>i</sub> • l<sub>i</sub></b> )	<b>m<sub>AA</sub> • l<sub>AA</sub></b> <b>2,7</b>	<b>m<sub>Aa</sub> • l<sub>Aa</sub></b> <b>2,8</b>	<b>m<sub>aa</sub> • l<sub>aa</sub></b> <b>1</b>
Fitnessul relativ ( <b>w</b> )	<b>w<sub>AA</sub>/w<sub>Aa</sub></b> <b>2,7/2,8 = 0,96</b>	<b>w<sub>Aa</sub>/w<sub>Aa</sub></b> <b>2,8/2,8 = 1</b>	<b>w<sub>aa</sub>/w<sub>Aa</sub></b> <b>1/2,8 = 0,36</b>
Contribuția relativă a genotipului la generația următoare ( <b>w<sub>mediu</sub></b> )	<b>(p<sup>2</sup> • w<sub>AA</sub>)/w<sub>Aa</sub></b> <b>p<sup>2</sup> • 0,96</b>	<b>(2pq • w<sub>Aa</sub>)/w<sub>Aa</sub></b> <b>2pq</b>	<b>(q<sup>2</sup> • w<sub>aa</sub>)/w<sub>Aa</sub></b> <b>q<sup>2</sup> • 0,36</b>

**Figura 5.4** Calcularea contribuției relative a genotipurilor la generația următoare. Exemplul de calcul se referă la o populație care are într-un anumit locus două alele **A** și **a**; rata fertilității corespunzătoare celor trei genotipuri este 3, 4 și respectiv 10, iar rata supraviețuirii 0,9, 0,7 și respectiv 0,1.

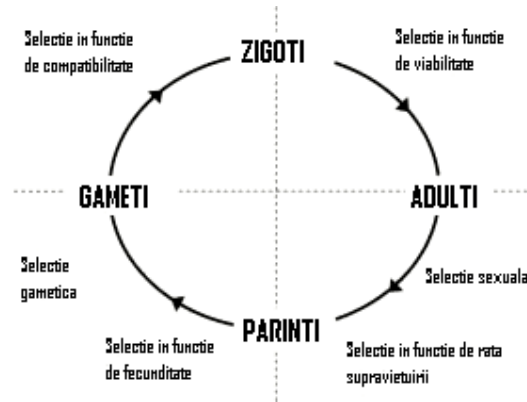
#### 5.4.2 Tipuri de selecție

Selecția naturală este un proces complex, care îmbracă diferite forme și de aceea pentru clasificarea ei se folosesc mai multe criterii.

După intensitatea cu care acționează, în populațiile naturale se întâlnesc două tipuri de selecție: **selecția completă** și **selecția parțială**.

După perioada în care se manifestă există:

- **Selecție zigotică**, care reprezintă supraviețuirea diferențiată a genotipurilor. Succesul reproductiv poate fi afectat de capacitatea de supraviețuire prenatală, juvenilă, adultă.
- **Selecție gametică**, care se referă la transmiterea preferențială a unei alele comparativ cu alte alele ale aceleiași gene.
- **Selecția sexuală**. Unele genotipuri au succes mai mare la împerechere față de altele.
- **Selecția cu privire la fecunditate**. Anumite genotipuri sunt mai fertile și produc mai mulți descendenți (**Figura 5.5**).



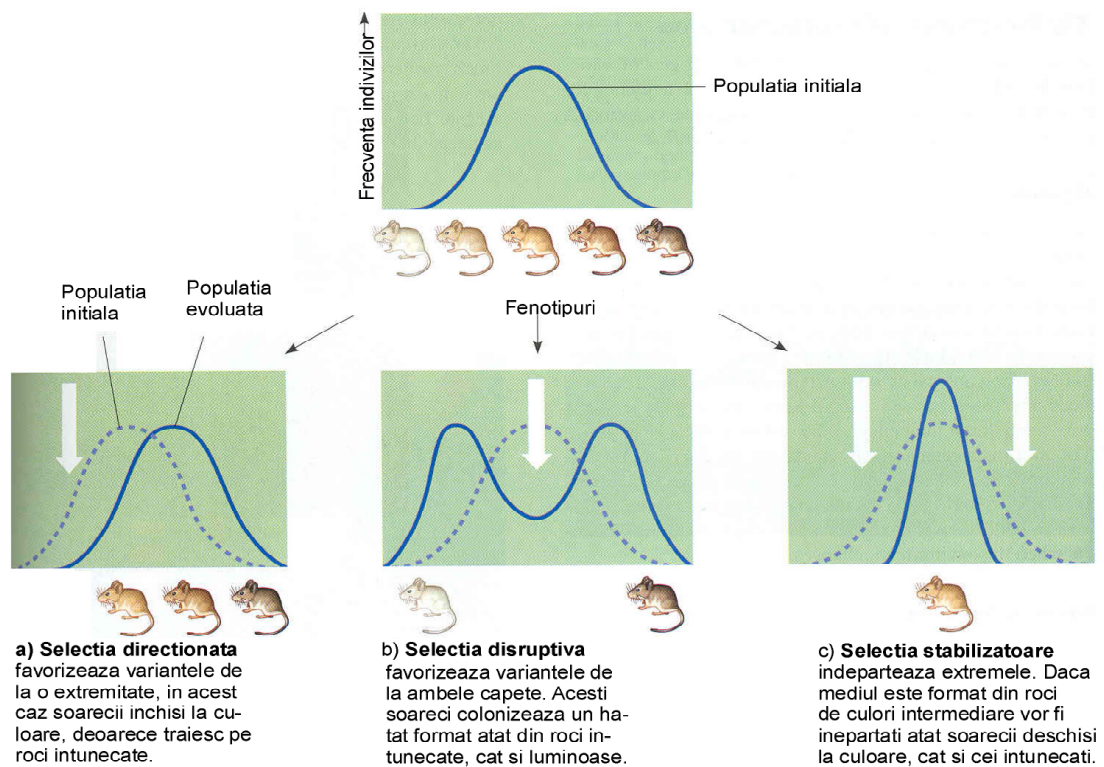
**Figura 5.5** Tipuri de selecție în funcție de perioada ciclului de viață în care acționează

În funcție de efectele pe care le produce, întâlnim:

- **Selecția direcționată**, care apare în mod obișnuit când se modifică mediul de viață, sau când membrii populației migrează. Acest tip de selecție deplasează frecvența unui anumit caracter fenotipic într-o altă direcție, favorizând indivizii care deviază de la medie. Studiul fosilelor a arătat că ursul brun european a crescut ca talie în perioada glaciară, iar între glaciațiuni și-a redus dimensiunile. Explicația constă în faptul că, urșii mai mari, cu suprafață mai mică raportată la volumul total își conservă căldura corpului și supraviețuiesc mai bine în perioadele foarte reci.
- **Selecția disruptivă** acționează atunci când condițiile de mediu favorizează indivizi de la ambele extremități ale domeniului fenotipurilor, în dauna fenotipurilor intermediare. De exemplu, o populație de cinteze care se hrănește cu semințe, din Camerun, este formată din indivizi cu ciocuri de diferite dimensiuni. Cele cu ciocuri mici se hrănesc cu semințe ușoare, iar cele cu ciocuri mari cu semințe mai grele. Se pare că cintezele cu ciocuri de dimensiuni intermediare sunt relativ

ineficiente pentru a sparge ambele tipuri de semințe și din această cauză au un fitness relativ redus. Selecția disruptivă pare a avea o mare importanță în primele stadii ale speciației.

- **Selecția stabilizatoare** favorizează variantele intermediare și acționează împotriva extremelor, reducând variația genetică. În cazul speciei umane, copiii se nasc cu o greutate medie de 3-4 kg. La cei născuți cu o greutate mai mică sau mai mare față de medie mortalitate este mai ridicată (**Figura 5.6**).



**Figura 5.6** Tipuri de selecție în funcție de efectele ei. Sunt reprezentate trei direcții de evoluție a unei populații ipotetice de șoareci, cu variații ereditare ale culorii blănii.

După relația dintre alele, care poate fi codominanță, recesivitate totală, dominantă totală, supradominanță sau subdominanță se întâlnesc, de asemenea, mai multe tipuri de selecție, și anume:

- selecție împotriva recesivilor,
- selecție împotriva dominanților,
- selecție împotriva heterozigoților și
- selecție care favorizează heterozigoții.

Ultimele două categorii induc o stare de echilibru caracterizată prin frecvențe alelice constante, în timp ce primele două elimină alela dăunătoare.

Indiferent de tipul ei, selecția favorizează anumite caractere ereditare prin succesul reproductiv diferențiat.

### 5.4.3 Selecția completă

Selecția completă este o formă extremă de selecție, care poate acționa împotriva homozigoților recesivi sau împotriva alelelor dominante.

**1. Selecția completă împotriva homozigoților recesivi** este un model util pentru numeroase maladii metabolice recesive la om, dar și pentru selecția artificială, atunci când se dorește eliminarea genotipurilor recesive. În acest tip de selecție fitnessul homozigoților recesivi este 0, așa încât sunt eliminați total din prima generație deoarece sunt fie letali, fie infertili.

În **Figura 5.7** este prezentat modelul de bază al selecției complete în cazul a trei genotipuri AA, Aa și aa, cu fitnessurile relative 1, 1 și respectiv 0, model care pornește de la următoarele prezumții:

- homozigoții recesivi s-au format normal la nivel de zigoți, dar nu se reproduc,
- genotipurile supraviețuitoare se împerechează întâmplător, iar zigoții formați în generația 2 se conformează legii Hardy-Weinberg.

		<b>AA</b>	<b>Aa</b>	<b>aa</b>
<b>Gene- rația 0</b>	Frecvența genotipică	$p_0^2$	$2p_0q_0$	0
	Fitnessul relativ (w)	1	1	0
	Frecvența genotipurilor la adulți	$p_0^2$	$2p_0q_0$	0
	Total adulți	$p_0^2 + 2p_0q_0$		
<b>Gene- rația 1</b>	Frecvența alelei A	$p_1 = \frac{p_0^2 + p_0q_0}{p_0^2 + 2p_0q_0} = \frac{1}{1+q}$		
	Frecvența alelei a	$q_1 = \frac{p_0q_0}{p_0^2 + 2p_0q_0} = \frac{q_0}{1+q_0}$		

**Figura 5.7** Modelul selecției complete împotriva heterozigoților

Asa cum reiese din **Figura 5.7** frecvența alelei recesive la zigoți în generația 1,  $q_1$ , este egală cu probabilitatea ca un descendent să primească o copie a alelei a de la un părinte dominant:

$$q_1 = \frac{p_0 q_0}{p_0^2 + 2p_0 q_0} = \frac{pq}{p_0(p_0 + 2q_0)} = \frac{q_0}{1 + q_0}$$

Deoarece heterozigoții nu pot fi deosebiți fenotipic de homozigoții dominanți, împerecherile au loc întâmplător între adulții supraviețuitori. Din această cauză, frecvența zigoților aa în generația 1 va fi pătratul frecvenței alelei a:

$$q_1^2 = \left( \frac{q_0}{1 + q_0} \right)^2$$

Modelul de calcul rămâne același și pentru generațiile următoare, astfel că, după t generații,  $q_t$  devine:

$$q_t = \frac{q_0}{1 + tq_0}$$

Conform modelului prezentat, deși homozigoții recesivi sunt eliminați total în prima generație, alelele recesive rămân, însă, în populație la purtătorii heterozigoți. Consecința unei generații de selecție completă este reducerea frecvenței alelei recesive. Deși homozigoții recesivi nu se reproduc în niciuna dintre generațiile următoare, declinul frecvenței alelei recesive este gradat.

Rezolvând pentru t ecuația de mai sus:

$$t = \frac{(q_0 - q_t)}{q_0 q_t} = \frac{1}{q_t} - \frac{1}{q_0}$$

Se observă că, numărul de generații necesare pentru reducerea frecvenței alelice este invers proporțional cu valoarea acesteia; cu cât frecvența alelică este mai mică, cu atât sunt necesare mai multe generații. De exemplu, timpul necesar pentru reducerea frecvenței alelice de la 0,1 la 0,05 este:

$$t = \frac{1}{0,05} - \frac{1}{0,1} = 10 \text{ generații,}$$

în timp ce timpul necesar pentru reducerea frecvenței alelice de la 0,01 la 0,005 este:

$$t = \frac{1}{0,005} - \frac{1}{0,01} = 100 \text{ generații}$$

Reducerea frecvenței alelei recesive este însoțită de o descreștere corespunzătoare a eficienței selecției împotriva ei, adică frecvența alelică este direct proporțională cu intensitatea selecției.

Scăderea randamentului selecției naturale împotriva alelelor cu frecvență redusă este foarte importantă pentru amelioratori, întrucât limitează eficiența oricărui program de îmbunătățire a soiurilor de plante cu importanță economică, precum și a raselor de animale. Același lucru este valabil și pentru programele ce urmăresc eliminarea



maladiilor recesive umane. Este evidentă, astfel, inutilitatea oricăror încercări de sterilizare sau avorturi terapeutice pentru indivizii purtători de alele recesive implicate în maladii genetice grave. De altfel, aceste maladii sunt, de obicei, atât de rare încât și selecția completă are efect scăzut.

În concluzie, pentru eliminarea caracterelor recesive din populațiile naturale este necesară o perioadă foarte lungă de timp, deși homozigoții recesivi nu se reproduc.

### Exemplu 5.2

Maladia Tay-Sachs este o boală recesivă letală în care, indivizii afectați sunt incapabili să producă o enzimă, hexoaminidaza A. Absența acestei enzime duce la acumularea unor lipide în neuroni, ceea ce determină deteriorarea sistemului nervos central. Alela responsabilă pentru această maladie este mai comună în anumite populații evreiești, unde atinge frecvența de  $1/80$ . Ignorând factorii care pot determina creșterea incidenței acestei maladii, câte generații sunt necesare pentru ca selecția împotriva homozigoților recesivi să reducă la  $1/800$  frecvența alelei Tay-Sachs în aceste populații?

#### Rezolvare:

Este necesar să calculăm valoarea  $t$  (timpul de generație) pentru a modifica  $q_0=1/80$  la  $q_t=1/800$ . Întrucât este vorba despre selecție completă împotriva caracterului recesiv putem calcula astfel valoarea  $t$ :

$$t = \frac{1}{1/800} - \frac{1}{1/80} = 800 - 80 = 720 \text{ generații}$$

**2. Selecția completă împotriva alelelor dominante** este mai eficientă, deoarece, în această situație atât homozigoții dominanți, cât și heterozigoții nu supraviețuiesc sau sunt sterili. Astfel, pentru eliminarea alelei dominante letale este necesară o singură generație, întrucât singurii capabili să se reproducă sunt homozigoții recesivi (**Figura 5.8**).

	<b>AA</b>	<b>Aa</b>	<b>aa</b>
Frecvența genotipică	$p^2$	$2pq$	$q^2$
Fitnessul relativ ( $w$ )	0	0	1
Frecvența genotipurilor la adulți	0	0	$q^2$

**Fig. 5.8** Modelul selecției complete împotriva dominanților

În concluzie, pentru eliminarea alelelor recesive sunt necesare mai multe generații, în timp ce pentru alele dominante este suficientă o singură generație.

#### 5.4.4 Selecția parțială

Procese selective în natură sunt mai puțin severe, comparativ cu selecția completă. Intensitatea selecției depinde foarte mult de fitnessul genotipurilor, care, în general, diferă destul de puțin de la un genotip la altul. Rezultatul acțiunii selecției parțiale constă în modificarea frecvenței alelice de la o generație la alta, care poate fi exprimată fie ca  $\Delta p = p' - p$  sau ca  $\Delta q = q' - q$ , unde  $p, p', q, q'$  sunt frecvențele a două alele în generații succesive. Deoarece  $p + q = p' + q' = 1$ ,  $\Delta p = -\Delta q$ , pentru un locus cu două alele, modificările frecvențelor celor două alele diferă prin direcție, adică, în timp ce valoarea uneia scade, valoarea celeilalte crește.

Relațiile de bază ce ilustrează modificarea frecvențelor alelice, precum și distribuția valorilor fitnessului se regăsesc în **Figura 5.9**, care reprezintă modelul general al selecției.

	Genotipuri	<b>AA</b>	<b>Aa</b>	<b>aa</b>	<b>Total</b>
<b>Gene-rația 0</b>	Frecvența genotipică înainte de selecție	$p^2$	$2pq$	$q^2$	1
	Fitnessul relativ ( $w$ )	$w_{AA}$	$w_{Aa}$	$w_{aa}$	
	Contributia relativă a genotipului la generația următoare ( $w_{\text{mediu}}$ )	$p^2 w_{AA}$	$2pq w_{Aa}$	$q^2 w_{aa}$	$\bar{w}$
	Contributia proporțională a genotipului la generația următoare	$\frac{p^2 w_{AA}}{\bar{w}}$	$\frac{2pq w_{Aa}}{\bar{w}}$	$\frac{q^2 w_{aa}}{\bar{w}}$	1
<b>Gene-rația 1</b>	Frecvența alelei A	$p_1 = \frac{p^2 w_{AA} + pq w_{Aa}}{\bar{w}}$			
	Frecvența alelei a	$q_1 = \frac{q^2 w_{aa} + pq w_{Aa}}{\bar{w}}$			

**Figura 5.9** Modelul general al selecției

Selecția parțială este mai eficientă la valori intermediare ale frecvenței alelice și este invers proporțională cu fitnessul mediu ( $\bar{w}$ ). Acesta reprezintă suma produșilor frecvențelor genotipice multiplicată cu valoarea fitnessului corespunzător pentru fiecare genotip. Cu cât fitnessul mediu este mai redus, cu atât selecția se manifestă cu intensitate mai mare, iar variațiile în ceea ce privește frecvența alelică de la o generație la alta sunt mai ridicate. În plus, modificarea frecvenței alelice este direct

proporțională cu diferențele dintre fitnessurile diferitelor genotipurilor în care apare alela; diferența dintre fitnessuri determină direcția modificării selective.

Selecția parțială poate acționa împotriva recesivilor, a dominanților, a heterozigoților, sau poate favoriza heterozigoții.

În cazul **selecției împotriva recesivilor**, dintre cele trei genotipuri doar homozigoții recesivi sunt în dezavantaj selectiv, așa încât, valorile corespunzătoare ale fitnessului sunt repartizate astfel:

Genotip	AA	Aa	aa
Fitness relativ	1	1	1 - s

(Reamintim că **s** este coeficientul de selecție și măsoară intensitatea cu care acționează selecția naturală).

În cazul acesta fitnessul mediu este:

$$\bar{w} = p^2 w_{AA} + 2pq w_{Aa} + q^2 (1-s) = p^2 w_{AA} + 2pq w_{Aa} + q^2 - q^2 s = 1 - q^2 s$$

Ca rezultat al selecției parțiale împotriva recesivilor se modifică frecvența alelică, iar această modificare depinde direct de frecvența genotipurilor homozigote recesive. Dacă valoarea frecvenței alelei recesive ( $q$ ) este redusă, frecvența homozigoților recesivi ( $q^2$ ) este și mai redusă, iar selecția împotriva recesivilor este foarte ineficientă. Acest tip de selecție se caracterizează printr-o rată inițială a selecției ridicată și o rată foarte lentă pe măsură ce frecvența alelei recesive scade.

Ineficiența selecției împotriva alelelor recesive are consecințe practice. În trecut se considera că tratamentele medicale pentru salvarea vieții pacienților cu maladii recesive rare deteriorau genofondul speciei umane datorită reproducerii persoanelor cu alele dăunătoare. Acest lucru este eronat din cel puțin două motive:

- în cazul alelelor rare proporția homozigoților este foarte mică, genotipurile homozigote contribuind aproape neglijabil la modificarea frecvenței alelice.
- în general, oamenii cu maladii genetice severe se reproduc oricum foarte rar și chiar și atunci nu modifică frecvența alelică.

Este evident că, cel mai mare rezervor de alele recesive dăunătoare este reprezentat de heterozigoții purtători, care, în majoritatea cazurilor, sunt normali fenotipic.

**Selecția parțială împotriva dominanților** acționează asupra genotipurilor purtătoare ale alelei în cauză (homozigote și heterozigote). În această situație, valorile fitnessului sunt:

Genotip	AA	Aa	aa
Fitness relativ	1 - s	1 - s	1

Fitnessul mediu este:

$$\bar{w} = p^2(1-s) + 2pq(1-s) + q^2 = 1 - s(1-q^2)$$

Când alela dominantă are frecvență apropiată de 1,  $(1-p^2)$  tinde către 0 doar puțini indivizi vor avea genotip favorizant ( $q^2$  este mic). Selecția împotriva alelei dominante este, în acest caz, inefficientă. Dacă p are valoare mică, genotipurile homozigote recesive se apropie de 1, iar frecvența alelei dominante descrește rapid.

Selecția împotriva dominanților se desfășoară inițial cu intensitate redusă, procesul devenind mai accelerat pe măsură ce frecvența alelei dominante descrește, iar frecvența homozigoților recesivi crește. Se observă că procesul se desfășoară invers față de selecția împotriva recesivilor.

#### 5.4.5 Dovezi în sprijinul teoriei selecției naturale

În decursul timpului s-au făcut numeroase încercări de a aduce dovezi experimentale sau observații directe, care să susțină teoria generală a selecției

Deși s-au realizat numeroase experimente de laborator, rezultatele acestora s-au corelat foarte bine doar cu predicțiile teoretice făcute în cazul selecției complete.

Pentru selecția parțială, predicțiile sunt mai puțin precise, ceea ce dovedește că, în populațiile naturale selecția este un proces mult mai complex decât au estimat teoriile clasice.

De exemplu, s-au efectuat experimente pe o populație de *Drosophila melanogaster*, heterozigotă pentru o alelă autozomală letală, datorată unei mutații privind culoarea ochilor. Rezultatele au arătat că rata reducerii frecvenței alelei letale este mai ridicată decât era de așteptat. Singura explicație posibilă în această situație este reprezentată de o scădere concomitentă a fitnessului heterozigoților.

În afară de experimentele de laborator, în unele situații a fost posibilă observarea directă a modului în care acționează selecția naturală. Astfel, s-au obținut numeroase rezultate prin urmărirea acțiunii selecției care favorizează creșterea rezistenței la antibiotice a bacteriilor, sau creșterea rezistenței insectelor la anumite insecticide.

Cel mai spectaculos exemplu este oferit de molia mestecănelui (*Biston betularia*), studiată în Anglia, în zonele urbane în care industrializarea a cunoscut, într-o perioadă scurtă de timp, o dezvoltare puternică. În prima parte a secolului XIX molia mestecănelui era deschisă la culoare, armonizându-se foarte bine cu lichenii de pe scoarța copacilor. În 1848 a fost prelevată prima formă închisă la culoare (melanică)

și se presupune că frecvența acesteia era, în acea perioadă, aproximativ 1%. În jurul anului 1900 frecvența formei melanice ajunsese deja la 95%. Întrucât acești fluturi au o singură generație pe an, este probabil că modificarea drastică a frecvențelor celor două forme (deschisă la culoare și melanică) a avut loc în aproximativ 50 de generații.

Cel care a adus dovezi experimentale în sprijinul teoriei privind *melanismul industrial* este H.B.D.Kettlewell. Spre exemplu, a efectuat eliberări/recapturări de forme deschise la culoare și forme melanice de *B. betularia* atât în zone industrializate, cât și în zone neindustrializate. S-a pus în evidență faptul că, formele melanice au un evident avantaj selectiv în zonele poluate. Numeroase fotografii au arătat că formele melanice sunt ferite de prădătorismul păsărilor, întrucât culoarea închisă le asigură protecție, făcându-le să se confunde cu scoarța copacilor.

Mai târziu, s-a decoperit că diferențele de culoare sunt date de o singură pereche de alele: una dominantă pentru culoarea închisă și una recesivă pentru culoarea deschisă. În acest caz, dominanța este răspunzătoare pentru creșterea rapidă a frecvenței genotipurilor melanice ca rezultat al selecției. În populațiile de *B. betularia* acționează, așadar, selecția împotriva recesivilor.

### Exemplu 5.3

Să presupunem că melanismul moliei mestecănului este determinat de o alelă dominantă, iar forma deschisă la culoare reprezintă 49% dintr-o populație adultă cu împerechere întâmplătoare și are doar jumătatea din potențialul reproductiv al formei melanice.

- Calculați fitnessul mediu al populației de *Biston betularia*.
- Determinați frecvența ambelor forme (melanică și deschisă la culoare) în generația următoare.

**Rezolvare:** a) Deoarece frecvența formei recesive este  $q^2 = 0,49$ , iar frecvențele alelelor recesive și dominante sunt  $q = \sqrt{0,49} = 0,7$  și  $p = 0,3$ . Deoarece forma recesivă are doar jumătate din potențialul reproductiv al formei melanice, valorile fitnessului relativ sunt:  $w_{AA} = w_{Aa} = 1$  și  $w_{aa} = 0,5$ . În această situație fitnessul mediu devine:

$$\bar{w} = (1)(0,3)^2 + (1)(2)(0,3)(0,7) + (0,5)(0,7)^2 = 0.755$$

- Frecvența alelei recesive în generația următoare este:

$$q' = \frac{w_{AA}q^2 + w_{Aa}pq}{w} = \frac{(0,5)(0,49) + (1)(0,3)(0,7)}{0,755} = 0,6$$

Astfel, frecvența formei deschise la culoare în generația următoare este  $q'^2 = 0,36$ , iar frecvența formei melanice este  $1 - 0,36 = 0,64$ . Se observă că frecvența formei deschise la culoare a scăzut de la 0,49 la 0,36 într-o singură generație.

### Exercițiu individual 5.1

Să presupunem că poluarea are efect invers și forma deschisă la culoare a moliei mesteacănului are un avantaj selectiv. Dacă această formă reprezintă 49% dintr-o populație adultă cu împerechere întâmplătoare și are de două ori potențialul reproductiv al formei melanice: a) calculați fitnessul mediu al populației de molii și b) determinați frecvența ambelor forme (melanică și deschisă la culoare) în generația următoare.

#### 5.4.6 Echilibrul mutație-selecție

Selecția naturală induce pe de o parte modificări orientate ale frecvenței alelice, modificări asociate cu evoluția și, pe de altă parte, singură sau în combinație cu alte forțe evolutive poate crea condițiile unui echilibru stabil.

În mediul natural, genotipurile cele mai frecvente sunt cel mai bine adaptate la condițiile existente, iar majoritatea modificărilor selective sunt direcționate spre eliminarea genotipurilor inferioare din punct de vedere al fitnessului. Aceste genotipuri apar, totuși, frecvent prin mutație și recombinare genetică.

Deci, pe de o parte, selecția determină crearea și păstrarea stării de echilibru, iar, pe de altă parte, înlătură mutațiile dăunătoare, care apar în mod spontan.

Astfel, **selecția naturală și mutațiile acționează ca două procese opuse:**

- mutațiile scad fitnessul prin introducerea continuă a alelelor dăunătoare în genofond, iar
- selecția se opune scăderii fitnessului populației prin eliminarea genotipurilor defavorizante.

Efectele opuse ale mutației și selecției pot determina o stare de echilibru, în care numărul alelelor dăunătoare apărute prin mutație în fiecare generație egalează numărul alelelor pierdute prin selecție.

Să luăm de exemplu, echilibrul mutație-selecție în cazul selecției împotriva recesivilor care este exprimat de relația:

$$p\mu - qv = q^2$$

Dacă  $q$  are valoare foarte mică, atunci  $qv \cong 0$ , iar relația de mai sus devine:

$$(1 - q)\mu = q^2 s$$

$$\mu - q\mu = q^2 s$$

$$\mu = q^2 s$$

În această situație ( $q$  tinde către 0), numărul alelelor introduse prin selecție este proporțional cu  $q^2 s$ , iar numărul noilor alele introduse prin mutație este proporțional

cu  $\mu$ . În condiții de echilibru  $\hat{q} = \sqrt{\frac{\mu}{s}}$ . Dacă  $s = 1$ , deci este un caracter recesiv letal,

relația devine  $\hat{q} = \sqrt{\mu}$ . Spre exemplu  $\mu = 10^{-6}$  și  $q = 0,001$ , aproximativ  $\frac{1}{1000}$  gameți

poartă alela mutantă. Majoritatea acestor alele mutante se găsesc în combinații heterozigote și nu sunt direct expuse efectelor selecției naturale.

Totuși, dacă rata mutației nu se modifică, scăderea intensității selecției naturale împotriva caracterelor recesive determină stabilirea unui nou echilibru, în care frecvența genotipurilor defavorizate crește. De exemplu, în populațiile umane, tratamentul pentru fenilcetonurie face ca indivizii afectați să se poată reproduce. Ca urmare, în genofondul generațiilor următoare se adaugă noi alele mutante recesive.

Dacă selecția nu acționează, frecvența alelică poate atinge un nou echilibru determinat de sensul opus al mutațiilor reversibile. Când se stabilește un anumit echilibru, raportul dintre alelele mutante și sălbătice va egala raportul dintre ratele mutațiilor înainte și înapoi  $\hat{q} / \hat{p} = \mu / v$ .

#### Exemplu 5.4

Așa cum s-a aratat și în exemplul 5.1, frecvența alelei Tay-Sachs la anumite populații de evrei este 1/80. Dacă gena mutantă este menținută în populație prin echilibrul dintre mutație și selecție completă împotriva caracterului recesiv, care este rata mutației de la alela dominantă normală la alela recesivă Tay-Sachs?

**Rezolvare:** Deoarece este vorba despre selecție completă împotriva recesivilor,  $s = 1$ , iar rata mutației ( $\mu$ ) de la alela dominantă la alela recesivă este egală cu  $q^2$ . Astfel, pentru maladia Tay-Sachs:

$$\mu = \left(\frac{1}{80}\right)^2 = \frac{1}{6400} = 1 \times 10^{-4} \text{ per generație. Deoarece această rată este neobișnuit de}$$

mare, geneticienii au propus și alte mecanisme alternative, care să explice incidența

mare a alelei recesive în populațiile evreiești, cum ar fi, de exemplu, avantajul heterozigoților.

#### 5.4.7 Selecția care favorizează heterozigoții

Un tip aparte de selecție este selecția care favorizează heterozigoții. Acest tip de selecție are un rol important în menținerea variabilității genetice în populațiile naturale. Există, astfel, situații în care fitnessul heterozigoților este superior celui aparținând ambelor categorii de homozigoți (*superioritatea heterozigoților*).

Genotip	AA	Aa	aa
Fitness relativ	1 - s	1	1 - s

Fitnessul mediu devine:

$$\bar{w} = (1 - s_A)p^2 + 2pq + (1 - s_a)q^2 = 1 - s_Ap^2 - s_aq^2$$

În această situație de echilibru nici o alelă nu poate fi eliminată prin selecție, deoarece, în fiecare generație, heterozigoții produc mai mulți descendenți decât homozigoții. Astfel, pentru un locus autozomal cu două alele **A** și **a**, proporția alelelor **A** eliminate prin selecție este  $p^2 s_A / p = p s_A$ , iar proporția alelelor **a** eliminate este  $q^2 s_a / q = q s_a$ , ceea ce în condiția unui echilibru duce la relația:

$$\hat{p} s_A = \hat{q} s_a .$$

Cu alte cuvinte, proporția alelelor **A** eliminate este echilibrată de proporția alelelor **a** eliminate din populație. În cazul supradominanței, frecvența alelelor tinde întotdeauna spre realizarea unui echilibru, dar rata depinde de valoarea coeficienților de selecție care acționează asupra celor două alele. Echilibrul poate fi atins mai repede când există și o selecție puternică împotriva homozigoților. Superioritatea heterozigoților este un mecanism important întrucât păstrează pe timp îndelungat în populație două sau mai multe alele cu frecvențe relativ ridicate. Această situație se numește **polimorfism echilibrat**; genotipuri cu valori diferite ale fitnessului pot coexista timp nedefinit în populație.

Exemplul binecunoscut de polimorfism echilibrat este cel constatat în cazul privind incidența anemiei falciforme și a rezistenței la malarie în anumite zone din Africa și Asia de Sud. Homozigoții pentru o genă  $Hb^s$  au hematii în formă de seceră și suferă de anemie falciformă care provoacă distrugerii masive ale hematiilor. Durata de viață a acestor indivizi este scurtă. Heterozigoții purtători ai alelei  $Hb^s$  au un număr mai redus de hematii anormale și nu suferă de anemie falciformă. În anumite zone ale



globului, unde malariea este foarte larg răspândită, homozigoții pentru alela  $Hb^A$  normală au, surprinzător, capacitatea de supraviețuire mai scăzută decât heterozigoții. Este evident că, în aceste zone, heterozigoții au un avantaj selectiv față de genotipurile homozigote. Polimorfismul în ceea ce privește forma hematiilor este corelat cu o rezistență diferențiată la malarie. Acest avantaj al heterozigoților nu se manifestă, însă, și în zonele unde nu există malarie.

Dovezi privind corelația între forma hematiilor și rezistența diferențiată la malarie sunt aduse de suprapunerea geografică între incidența malariei și frecvența ridicată a hematiilor anormale. De asemenea, înregistrările din spitale au arătat o creștere a mortalității provocate de malarie în cazul homozigoților, comparativ cu heterozigoții. În plus, în zonele fără malarie, sau cu număr redus de cazuri, heterozigoții nu prezintă un avantaj selectiv, selecția acționând exclusiv împotriva hematiilor anormale. De exemplu, la afro-americani, frecvența  $Hb^S$  a scăzut foarte mult datorită presiunii selective.

#### 5.4.8 Selecția dependentă de frecvență

Polimorfismul echilibrat rezultă și din alte tipuri de selecție, așa cum este **selecția dependentă de frecvență**. Acest tip de selecție apare atunci când valorile fitnessului sunt invers proporționale cu frecvențele genotipice. Ca urmare, genotipurile sunt favorizate când sunt rare (*avantajul minorității*) și sunt dezavantajate când sunt comune. În final se atinge starea de polimorfism echilibrat, genotipurile afectate rămânând în populație cu o valoare echilibrată a frecvențelor. Această stare de echilibru în condițiile păstrării polimorfismului se întâlnește în cazul împerecherii asortative negative, a competiției pentru resurse esențiale, precum și a prădătorismului selectiv.

Împerecherea asortativă negativă (împerecherea dintre indivizi mai puțin similari fenotipic decât este așteptat) este asociată cu selecția și este, adeseori, însoțită de modificarea frecvenței alelice. În general, sunt promovate doar împerecherile între genotipurile heterozigote și cele homozigote recesive. Așa se întâmplă în cazul speciilor de *Primula*, unde, prin împerecherea preferențială a plantelor cu flori cu stil lung și stamine scurte (tipul pin) cu plantele cu flori cu stil scurt și stamine lungi (tipul thrum) se perpetuează dimorfismul floral și se menține polimorfismul echilibrat.

În cazul competiției pentru resursele esențiale (hrană și spațiu vital), dacă resursele sunt prezente în cantități limitate, fitnessul genotipurilor direct implicate în competiție este influențat nefavorabil. Dacă genotipurile se deosebesc suficient în ceea ce

privește necesitățile sau preferințele, atunci competiția este mai puternică printre indivizii cu același genotip, comparativ cu indivizii cu genotipuri diferite. În final, fitnessul fiecărui genotip va descrește deoarece indivizii devin mai abundenți, iar efectele competiției mai severe.

Alt mecanism implicat în selecția dependentă de frecvență este prădătorismul selectiv. Fenotipurile cele mai abundente în populația pradă sunt preferențial atacate de prădători. Acest tip de selecție acționează în principal în populațiile care reprezintă sursă majoră de hrană pentru vertebratele prădătoare. Acestea învață să atace prada cu fenotipul cel mai des întâlnit, deoarece pierd foarte puțin timp pentru căutarea și urmărirea prăzii. Ca urmare, formele mai puțin abundente se reproduc și își sporesc numărul până când ating un nivel suficient de ridicat astfel încât să fie preferate de prădător. În concluzie, fiecare tip de pradă va fi avantajat când este puțin numeros și dezavantajat când este foarte comun.

### 5.5 Acțiunea comună a forțelor evolutive

Migrația, mutația și selecția natură sunt procese sistematice, care acționând singure sau în combinație produc un anumit echilibru în frecvența alelică a populațiilor naturale.

Driftul genetic este un proces dispersiv, care acționează prin fluctuații întâmplătoare, îndepărtând frecvențele alelice de la starea de echilibru către valorile 0 sau 1.

Cele două tipuri de procese au, astfel, tendințe opuse. Starea de echilibru se poate atinge atunci când dispersia frecvențelor alelice datorată driftului genetic este contrabalansată de forțele sistematice. Rolul pe care îl au toate aceste procese în inducerea stării de echilibru depinde de o serie de factori ca: efectivul populației apte de reproducere, mărimea ratei migrației, intensitatea selecției, rata mutației.

- **În populațiile mari domină forțele sistematice;** toate populațiile locale componente tind să aibă frecvențele genotipice la valori de echilibru. Evoluția populațiilor mari depinde de rarele apariții ale mutațiilor benefice și de modificarea condițiilor de mediu.
- **Populațiile cu număr redus de indivizi sunt puternic influențate de driftul genetic.** Majoritatea populațiilor de acest tip vor fixa și vor pierde alele, ceea ce va duce la creșterea homozigoției. În acest fel variația genetică este ca și inexistentă, iar populația este incapabilă să răspundă la orice modificare a presiunii selective. Rezultatul final este extincția populației respective.

- **Când mărimea populației este intermediară, în menținerea echilibrului sunt importante ambele categorii de procese.** În aceste populații frecvențele alelice tind să varieze. Apare, astfel, o divergență genetică, fără a se elimina, însă, populații locale. Variația genetică existentă la nivelul acestor populații locale este necesară pentru formarea combinațiilor genetice cu cea mai mare valoare adaptativă.

### EXERCIȚII ȘI PROBLEME

8. Alela R din sistemul Rh se găsește cu următoarele frecvențe: 0,62 la vest europeni, 0,45 la est europeni și 0,03 la mongoli. Care este rata migrației spre populația europeană (care este proporția alelelor care au pătruns în Europa)?
9. Frecvența alelei N într-o populație nativă este 0,25; 0,3 în populația conglomerată și 0,4 în populația de imigranți. Câte procente din alela N în populația conglomerată sunt derivate din populația migratoare?
10. Frecvența alelei t este 0,25 la populația migratoare și 0,45 în populația conglomerată. Dacă rata migrației a fost 0,1 calculați frecvența alelei t în populația originală.
11. Într-o populație cu împerechere întâmplătoare și aflată sub influența mutației avem un locus autozomal cu 2 alele A și a.
  - a) Dacă rata mutație lui A la a este  $6 \times 10^{-5}$  și rata mutației reverse la A este  $7 \times 10^{-7}$ , care este frecvența la echilibru a alelei a?
  - b) Dacă  $q=0,9$  în generația n, care va fi valoarea lui q o generație mai târziu?
12. Avem o populație în care  $p=0,9$  și  $q=0,1$ . Dacă rata mutației înainte este  $5 \times 10^{-5}$ , iar rata mutației reverse este  $2 \times 10^{-5}$ , calculați frecvența la echilibru a alelei a.
13. Dacă rata mutației înainte este de 5 ori mai mare ca rata mutației reverse, care este frecvența alelei a la echilibru?
14. O genă cu două alele segregă într-o populație. Fitnessul homozigoților este 90% din cel al heterozigoților și al homozigoților dominanți. Care este valoarea coeficientului de selecție împotriva alelei recesive?
15. O alelă recesivă ( $q=0,5$ ) a fost inițial neutră, dar prin modificarea bruscă a mediului homozigoții recesivi au devenit letali. Care este valoarea lui q după o generație de selecție? Care este frecvența așteptată pentru alela recesivă după două generații?
16. Deoarece indivizii cu fibroză chistică mor înainte de reproducere, coeficientul de selecție împotriva lor este 1. Presupunem că heterozigoții purtători ai alelei recesive sunt asemănători cu homozigoții dominanți, iar frecvența alelei mutante este 0,02.
  - a) Preziceți incidența fibrozei cistice după o generație de selecție.

b) Explicați de ce incidența bolii se modifică chiar când  $s=1$ .

17. Arătați că în cazul selecției complete împotriva recesivilor homozigoți fitnessul mediu devine  $p(1+q)$ .

18. Alelele  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $A_3$  afectează colorația la fluturi, influențând vizibilitatea și riscul prădătorismului. Observații asupra prădătorismului indică că probabilitatea supraviețuirii diferitelor genotipuri este:

$A_1A_1=0,45$	$A_2A_3=0,65$
$A_1A_2=0,65$	$A_3A_3=0,75$
$A_2A_2=0,65$	$A_1A_3=0,60$

Presupunând că această capacitate de a scăpa de prădătorism este datorată diferențelor în ceea ce privește fitnessul, care este fitnessul relativ pentru cele 6 genotipuri?

19. Kettlewell a studiat molia mesteacanului și a făcut experimente de eliberare/recapturare a indivizilor marcați. A obținut următoarele rezultate:

	<b>Eliberate</b>	<b>Recapturate</b>
Forme melanice	154	82
Forme deschise la culoare	73	16

Folosiți datele pentru a calcula fitnessul relativ.

20. Un anumit tip de piticism la câini este cauzat de o alela recesivă. Rata mutației de la tipul normal la cel mutant este  $5 \times 10^{-5}$ , iar fitnessul piticilor este 0,2 comparativ cu indivizii normali. Calculați frecvența la echilibru a alelei mutante.

21. Într-o populație de *Drosophila melanogaster* s-au determinat fitnessurile pentru 3 variante electroforetice ale malat dehidrogenazei. Aceste valori sunt:  $w_{FF}=0,85$ ,  $w_{FS}=1$ ,  $w_{SS}=0,6$ . Care este frecvența la echilibru a alelei S.

22. Ichtioma congenitală este o boală recesivă letală la om, caracterizată prin numeroase leziuni cutanate. Această anomalie apare cu o rată a mutației de aproximativ  $10^{-5}$  gameți/generație. Care este frecvența heterozigoților purtători?

23. Alela  $Hb^S$  responsabilă pentru anemia falciformă se menține în numeroase populații umane datorită avantajului heterozigoților. Totuși homozigoții sunt letali. Astfel, dacă malaria este eradicată ne așteptăm ca  $Hb^S$  să dispară din populațiile umane. Dacă alela normală  $Hb^A$  suferă mutații la  $Hb^S$  cu o rată de  $10^{-8}$ /generație, ce frecvență va avea  $Hb^S$  în condițiile lipsei malariei?

24. Într-o populație mare cu împerechere întâmplătoare 0,84 dintre indivizi au fenotipul alelei dominante A și 0,16 fenotipul alelei recesive a.

- Care este frecvența alelei dominante?
- Dacă homozigoții recesivi sunt cu 5% mai puțin adaptați decât celelalte genotipuri, care va fi frecvența alelei A în generația următoare?

25. Deficiența de factor IX este o boală de coagulare care afectează 1/190 evrei Ashkenazi din Israel. Afectează de asemenea 1/1.000.000 japonezi, coreeni, chinezi, germani etc.

- Care este frecvența alelei mutante în populația Ashkenazi?
- Care este frecvența tipului sălbatic în această populație?
- Calculați proporția purtătorilor în populația evreiască.

- 
- d) De ce este atât de ridicată incidența bolii în această populație din Israel?
26. Într-o populație de 177 afroamericani, 4 dintre ei s-au dovedit a avea o alelă mutantă a genei transtireninei. Care este frecvența purtătorilor heterozigoți?
27. O populație de 100 de *Drosophila melanogaster* a fost testată electroforetic pentru alcool dehidrogenaza. S-au obținut următoarele rezultate: SS-66, SF-20 și FF-14 indivizi.
- a) Calculați frecvențele alelice și genotipice.
  - b) Este populația descrisă în echilibru Hardy-Weinberg?
28. Ce frecvență alelică va genera de 2 ori mai mulți homozigoți recesivi decât heterozigoți?
29. O populație umană are 500 de indivizi MM, 300 MN și 700 NN.
- a) Calculați frecvența alelică.
  - b) Presupunând că împerecherea este întâmplătoare, care va fi numărul de indivizi cu fenotipuri MM, MN și NN în generația următoare?
30. Dovediți că nu este suficientă o generație de împerechere întâmplătoare pentru a stabili echilibrul Hardy-Weinberg pentru un locus autozomal cu 2 alele la o specie cu reproducere sexuată în care frecvența celor 2 alele diferă la cele 2 sexe.
31. Gasiți exprimarea matematică pentru echilibrul mutațional când nu exista mutație reversă.
32. Avem un locus autozomal cu alelele A și a. A suferă mutație la a cu rata  $\mu$  și nu există mutație reversă. Totuși asupra homozigoților aa acționează selecția cu o valoare a fitnessului 1-s. Găsiți formula pentru condiția de echilibru. Dacă  $\mu=5 \times 10^{-5}$  și  $s=0,15$ , care sunt frecvențele la echilibru?
33. Dacă un locus are alelele  $A_1$  și  $A_2$  care este frecvența la echilibru a  $A_1$  dacă ambii homozigoți sunt letali?
34. Frecvența alelelor A și a sunt 0,6 și 0,4 la o populație de plante. După numeroase generații de împerechere întâmplătoare, populația trece la un ciclu de autopolenizare. Care este frecvența așteptată a heterozigoților la descendenții plantelor care s-au autopolenizat?
35. O populație este alcătuită dintr-un număr egal de genotipuri AA, Aa și aa. Descendenții acestor genotipuri sunt în număr de 996, 996 și 224. Care este fitnessul relativ al celor 3 genotipuri?
36. În anumite regiuni din Africa frecvența alelei  $Hb^S$  este 0,2. Dacă această frecvență este rezultatul unui echilibru dinamic datorat superiorității heterozigoților, iar homozigoții  $Hb^S Hb^S$  sunt letali, care este intensitatea selecției împotriva homozigoților  $Hb^A Hb^A$ ?
-

## 6. NOȚIUNI DE EVOLUȚIONISM MOLECULAR

Începând cu anul 1960, dezvoltarea unor noi tehnici a făcut posibilă compararea secvenței de aminoacizi de la proteine omoloage prelevate de la specii diferite. Mai târziu, la începutul anilor '80 s-au putut compara secvențe omoloage de ADN de la specii diferite. În paralel, tehnicile electroforetice, PCR, secvențierea rapidă etc. au permis studiul variației genetice la indivizi aparținând aceleiași specii. Aceste metode moderne au identificat la nivel molecular prezența unei mari variații genetice.

Genetica moleculară a populațiilor caută să determine contribuția forțelor evolutive în apariția variațiilor la nivel molecular, să înțeleagă modelele de variație moleculară. Scopul final al acestui domeniu al geneticii este explicarea mecanismelor profunde ale procesului evolutiv, care în esență reprezintă modificarea constituției genetice a populațiilor naturale sub acțiunea forțelor evolutive (deterministice sau stochastice).

Metodologia folosită în Genetica moleculară a populațiilor implică numeroase tehnici moleculare, prezentate în Cap. 1, statistică și modelare matematică.

De cele mai multe ori, interpretarea rezultatelor obținute prin diferite metode depășește nivelul speciei, datele fiind utilizate în egală măsură pentru polimorfismele intraspecifice și interspecifice.

Se pune ades întrebarea: cum se explică nivelul extrem de ridicat al variației genetice? Pentru a răspunde la această întrebare s-au emis numeroase teorii, două dintre ele fiind mai importante.

O primă teorie (**teoria selecționistă**) susține că variația genetică este menținută în populațiile naturale prin selecție echilibrată, care favorizează alele diferite, în combinații diferite, în locuri și momente diferite. A doua teorie consideră că variația genetică este rezultatul mutațiilor întâmplătoare, care nu au efect asupra organismului, deci sunt neutre. **Teoria neutralistă** afirmă că majoritatea variației genetice nu este expusă selecției naturale și este menținută în populațiile naturale prin interacțiunea dintre mutații și driftul genetic întâmplător.

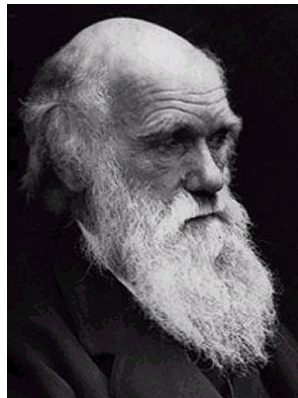
În realitate, se pare că o parte a variației genetice este aparent neutră și se menține datorită fixării întâmplătoare a mutațiilor neutre, iar o altă parte este rezultatul selecției naturale echilibrate. Din această cauză, pentru explicare procesului evolutiv în ansamblu (a micro și macroevoluției) trebuie să stabilim efectele și importanța

mutațiilor, driftului genetic, fluxului de gene și selecției naturale în fiecare situație în parte.

## 6.1 Selecționism versus neutralism

### 6.1.1 Teoria selecției naturale

Teoria evoluționistă, enunțată pentru prima dată de Darwin (**Figura 6.1**) a convins ușor majoritatea biologilor cu privire la faptul că speciile sunt rezultatul unui proces evolutiv; ele provin dintr-un ancestor comun prin modificări succesive. Nu același lucru s-a întâmplat cu teoria conform căreia selecția naturală este un mecanism al evoluției. Principalul obstacol l-a reprezentat lipsa cunoștințelor de genetică care să explice variațiile moștenite (necesare pentru ca selecția naturală să apară și să acționeze în populație) și modul în care acestea sunt transmise descendenților. Selecția naturală se baza pe ceva ce nu putea fi demonstrat. Cu alte cuvinte, Darwin a observat aspectele legate de ereditate, dar nu le-a putut explica.



**Figura 6.1** Charles Darwin (1809-1882)

Deși Gregor Mendel și Charles Darwin au fost contemporani, descoperirile lui Mendel au rămas practic necunoscute în acele vremuri și nimeni nu a realizat că el a elucidat principiile eredității, care puteau să dea credibilitate teoriei selecției naturale.

Atunci când, la începutul secolului XX, a fost redescoperit articolul lui Mendel, mulți geneticieni credeau că legile eredității nu se potriveau deloc cu teoria lui Darwin. Ca material brut pentru selecția naturală Darwin a folosit caractere care variază continuu în populație, precum lungimea femurului mamiferelor sau viteza cu care un animal se îndepărtează de prădător. Astăzi se cunoaște că asemenea caractere cantitative sunt influențate de mai multe gene situate în loci diferiți (sunt caractere poligenice).

Spre deosebire de Darwin, Mendel și alți geneticieni din acea vreme s-au ocupat de caractere discrete (de exemplu: mazăre cu boabe netede sau zbârcite, flori albe sau roșii etc.). Astfel, nu exista o bază genetică pentru variațiile subtile dintre organisme, care erau esențiale pentru teoria selecției naturale.

La începutul secolului XX, geneticienii și-au canalizat atenția pe mutații, ca o alternativă la teoria lui Darwin. Una dintre teoriile larg acceptate considera că evoluția a avut loc în salturi rapide ca rezultat al modificărilor radicale ale fenotipului cauzate de mutații.

Această idee contrasta puternic cu viziunea lui Darwin care privea evoluția ca un proces gradat, datorat selecției exercitate de mediu asupra variațiilor cantitative (continue) din populațiile naturale.

Un moment crucial pentru teoria evoluției l-a reprezentat apariția **Geneticii populațiilor**, care a pus în evidență rolul variabilității genetice în populațiile naturale și a recunoscut importanța caracterelor cantitative. S-a demonstrat că și aceste caractere poligenice se transmit descendenților după același model ca și caracterele discrete.

În prima jumătate a secolului XX, prin încorporarea Geneticii populațiilor în studiul evoluției a luat naștere **teoria sintetică a evoluției**, cunoscută și sub numele de **neo-darwinism**. Aceasta recunoștea importanța mutațiilor și a variabilității genetice din populațiile naturale. Selecția naturală a putut fi înțeleasă ca un proces care alterează frecvența genelor în populațiile naturale, generând evoluția acestora.

Neodarwinismul este o teorie sintetică deoarece integrează idei din numeroase alte domenii. Printre cei mai importanți cercetători care au contribuit la apariția acestei teorii sunt: statisticianul R.A. Fisher (1890-1962), care a demonstrat matematic legile prin care sunt moștenite caracterele ereditare, biologul J.B.S. Haldane (1892-1964), care a studiat regulile selecției naturale, geneticienii Theodosius Dobzhanski (1900-1975) și Sewall Wright (1889-1988), paleontologul G.G. Simpson (1902-1984), biogeograful Ernst Mayr (1904-) și botanistul G.L. Stebbins (1906-2000).

Conform acestei teorii selecția naturală are rol central în formarea constituției genetice a populațiilor. Treptat, neodarwinismul a devenit dogmă în evoluționism, iar selecția naturală singura forță capabilă să genereze evoluția. Mutațiile și driftul genetic erau privite ca forțe evolutive cu rol minor.

Neodarwinismul consideră că **substituția (înlocuirea) genelor** este o consecință a selecției pentru mutațiile avantajoase, fiind rezultatul unui proces adaptativ. Noile alele se transmit generației următoare numai dacă îmbunătățesc fitnessul.



**Polimorfismul genetic** este menținut în populație prin selecție echilibrată, dar numai dacă coexistența a două sau mai multe alele este avantajoasă. Marea majoritate a polimorfismelor sunt stabile, aceleași alele menținându-se la frecvențe constante, pe perioade lungi de timp.

Ca urmare, cele două procese (substituțiile și polimorfismul) sunt privite ca două procese separate, conduse de forțe evolutive diferite (mutații și selecție naturală).

### 6.1.2 Teoria neutralistă

La sfârșitul anilor '60, are loc o adevărată "revoluție" în genetica populațională. Apare posibilitatea utilizării tehnicilor moleculare, care permit măsurarea variației genetice prin intermediul cuantificării diferențelor în ceea ce privește succesiunea de aminoacizi în proteine și succesiunea nucleotidelor în catena de ADN. Tehnicile moleculare au marele avantaj că nu țin cont de fenotip și nici de tipul de gene.

Pe baza informației obținute din studiile moleculare, în anul 1968, Motoo Kimura (**Figura 6.2**) a enunțat **teoria neutralistă**. Această teorie consideră că la nivel molecular majoritatea modificărilor evolutive și majoritatea variabilității intraspecifice se datorează comportamentului întâmplător al alelelor neutre sau aproape neutre din punct de vedere selectiv.



**Figura 6.2** Motoo Kimura (1924-1994)

Neutralitatea nu este privită ca egalitate strictă pentru toate alelele în ceea ce privește fitnessul, dar ceea ce se întâmplă în timp cu alelele se datorează în principal driftului genetic. Selecția naturală operează, dar cu intensitate prea scăzută pentru a contracara efectele întâmplării.

Conform teoriei neutraliste, frecvența alelică este determinată de reguli stochastice, astfel că, în timp ce unele alele se fixează în populație (frecvența alelică este egală cu 1), alte alele se pierd (frecvența lor devine 0). Modificările la nivel molecular sunt rezultatul inputului mutațional și a unui proces continuu de extincție și de fixare de

alele. Substituția genelor și polimorfismul genetic sunt două fațete ale aceluiași proces. Înlocuirea genelor este gradată, are loc într-o perioadă lungă de timp, când frecvența alelelor mutante fluctuează continuu.

Chiar și în formele cele mai stricte, teoria neutralistă nu exclude adaptarea. În 1983, Kimura arăta că o populație care nu se află sub acțiunea selecției naturale poate acumula numeroase alele neutre. Dacă din întâmplare apar anumite circumstanțe ecologice, unele dintre mutațiile neutre devin deletorii. Ele vor fi eliminate sub acțiunea selecției purificatoare. Populația devine mai bine adaptată, cu alte cuvinte, cel puțin teoretic evoluția adaptativă poate avea loc fără selecție pozitivă.

Între adepții teoriei sintetice a evoluției și susținătorii neutralismului există numeroase dispute cu privire la valoarea fitnessului mutațiilor neutre. Ambele teorii susțin faptul că, majoritatea mutațiilor sunt dăunătoare (deletorii) și de aceea sunt rapid îndepărtate și nu contribuie la substituții și la polimorfismul genetic. Diferențele apar în ceea ce privește mutațiile nondeletorii. În timp ce neutraliștii consideră că majoritatea mutațiilor nondeletorii sunt neutre selectiv, neodarwiniștii consideră că doar puține mutații sunt neutre.

Disputele cu privire la teoria neutralistă au avut impact asupra înțelegerii evoluției la nivel molecular. În prezent s-a recunoscut efectul driftului genetic asupra modificărilor moleculare și s-au corelat rezultatele biologiei moleculare cu genetica populațiilor prin introducerea conceptului potrivit căruia, substituțiile moleculare și polimorfismele genetice sunt două aspecte ale evoluției moleculare.

## 6.2 Micro și macroevoluție

Evoluția poate fi înțeleasă în mai multe moduri:

- este modificarea compoziției genetice a unei populații de la o generație la alta ;
- reprezintă modificarea gradată a organismelor în decursul timpului, apariția de specii și linii evolutive pornind de la forme ancestrale, precum și generarea de diversitate.

Prima definiție subliniază modificările genetice, iar termenul utilizat frecvent este de **microevoluție**. Cu alte cuvinte, evoluția are loc la cea mai mică scală atunci când frecvențele alelelor dintr-o populație se modifică într-o succesiune de generații. Microevoluția reprezintă de fapt modificarea genofondului unei populații.

Cea de a doua definiție se referă la apariția de noi forme de viață, care pot fi grupate la un loc cu alte forme de viață apărute într-o ierarhie taxonomică. În mod obișnuit este denumită **macroevoluție** și privește schimbările evolutive peste nivelul speciei. O explicație completă a evoluției necesită corelarea celor două noțiuni: micro și macroevoluție. Numai așa putem înțelege cum modificările mici, gradate pot duce la apariția de noi specii și putem identifica momentul în care o populație a devenit o specie nouă.

### 6.3 Speciația

Procesul evolutiv care determină diferențierea populațiilor și diversificarea specifică se numește **speciație**. Fiecare specie este formată din populații, astfel că majoritatea speciilor sunt politipice. Se întâlnesc, însă și specii monotipice, alcătuite dintr-o singură populație naturală.

Conform celei mai cunoscute și mai larg acceptate definiții, **specia reprezintă o populație sau un grup de populații a căror indivizi au potențial de împerechere, dar care sunt izolați reproductiv de alte asemenea grupuri.**

Cel mai important aspect pe care definiția îl subliniază și care ne ajută să înțelegem modul în care iau naștere speciile îl reprezintă **izolarea reproductivă**.

#### 6.3.1 Mecanisme de izolare reproductivă

**Izolarea reproductivă** se referă la existența barierelor biologice, care împiedică membrii a două specii să producă descendenți viabili și fertili.

O singură barieră poate să nu blocheze complet toate schimburile genetice între specii, de aceea de obicei acționează o combinație de câțiva factori care izolează complet genofondul speciei.

Mecanismele de izolare reproductivă se pot clasifica, în funcție de momentul în care acționează raportat la momentul fecundării în: **mecanisme prezigotice** și **mecanisme postzigotice**.

**Mecanismele prezigotice** împiedică fecundarea ovulului și formarea zigotului. Din categoria acestor mecanisme fac parte:

1) **Izolarea habitatelor.** În acest caz speciile ocupă habitate diferite. De exemplu, două specii de șerpi din genul *Thamnophis* se găsesc în aceeași zonă geografică, dar unul trăiește mai ales în apă, iar celălalt este terestru. Același lucru se întâmplă și în cazul leilor și tigrilor; în timp ce leii trăiesc în habitate cu ierburi, tigrii populează

pădurile. Ca urmare, cele două specii nu produc hibrizi în natură, pentru că nu se întâlnesc. (Cu toate acestea, uneori, în grădinile zoologice, se împerechează.)

2) Izolare temporală. Speciile se împerechează în momente diferite ale zilei, în sezoane diferite, sau în ani diferiți. Astfel, două specii de sconși din America de Nord (*Spilogale putorius* și *Spilogale gracilis*), deși se suprapun ca habitat se reproduc la momente diferite: prima specie iarna târziu, iar a doua vara târziu. La fel se întâmplă și în cazul a cinci specii de *Rana*, care se deosebesc unele de altele prin momentul împerecherii.

3) Izolare comportamentală. Ritualurile de împerechere care atrag partenerii și alte tipuri de comportamente reprezintă bariere eficiente, chiar și pentru specii înrudite.

4) Izolare mecanică. Anumite diferențe morfologice pot împiedica împerecherea, așa cum se întâmplă chiar la unele specii înrudite de plante. De exemplu, două specii de *Mimulus* diferă în ceea ce privește culoarea și forma inflorescenței și din această cauză atrag polenizatori diferiți. Ca urmare nu poate avea loc polenizarea încrucișată.

Izolarea gametică. Mai multe mecanisme pot face ca spermatozoizii unei specii să nu poată fertiliza ovulul altei specii. Uneori, spermatozoizii nu pot supraviețui în tractusul genital al femelelor altei specii, sau anumite mecanisme biochimice împiedică fecundarea propriu-zisă. Așa se întâmplă în cazul aricilor de mare, care își eliberează gameții în mediul înconjurător. Cu toate acestea, gameții altor specii strâns înrudite (aricii de mare roșii sau purpurii) sunt incapabili să fuzioneze cu aceștia.

**Mecanismele postzigotice** previn dezvoltarea zigotului hibrid într-un adult viabil și fertil. Și în acest caz se întâlnesc mai multe tipuri de bariere:

Hibrizi neviabili. Dezvoltarea zigotului are loc anormal și ca atare hibridul este avortat. De exemplu, unele specii de salamandre din genul *Ensantina*, care trăiesc în același habitat, ocazional hibridează, dar majoritatea hibrizilor mor repede, înainte de a-și termina dezvoltarea.

Hibrizi sterili. Chiar dacă hibrizii sunt sănătoși și viguroși ei pot fi sterili (de exemplu catârul). Dacă cromozomii celor două specii parentale diferă ca număr sau structură, meioza se desfășoară anormal și nu se produc gameți normali. Deoarece hibridul infertil nu poate produce descendenți când se împerechează cu oricare dintre speciile parentale, între specii nu există un flux de gene.

Hibrizii sunt sănătoși și fertili, dar descendenții lor din generația următoare sunt mai puțin viguroși sau infertili. Spre exemplu, unele soiuri de orez au acumulat

numeroase alele recesive în cursul divergenței lor din strămoșul comun. Hibrizii dintre aceste soiuri, deși sunt viguroși și fertili, în generația ulterioară poartă multe alele recesive și din această cauză plantele sunt mici și sterile. Deși aceste soiuri de orez nu pot fi considerate specii distincte, separarea lor a început deja prin apariția mecanismelor postzigotice

Trebuie subliniat că mecanismele postzigotice sunt primele care apar în timpul izolării reproductive, deși sunt costisitoare pentru populație. De aceea, în timp ele sunt înlocuite cu mecanisme prezigotice.

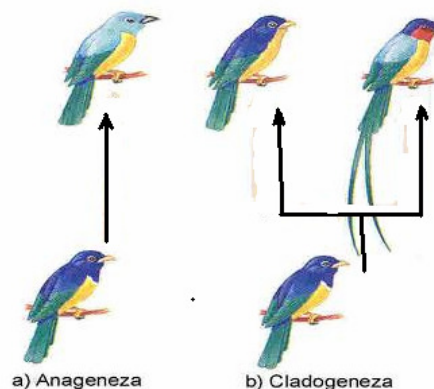
Situația în care alelele unei specii pot trece, totuși, în genofondul altei specii înrudite se numește **introgresiune**, iar hibrizii rezultați sunt fertili și se pot împerechea cu oricare dintre speciile parentale.

### 6.3.2 Anageneză și cladogeneză

În natură se întâlnesc două tipuri majore de speciație: anageneza și cladogeneza sau speciația propriu-zisă.

**Anageneza** (cunoscută și sub denumirea de evoluție filetică) reprezintă acumularea de modificări, care duc la transformarea gradată a unei specii într-o nouă specie cu caracteristici diferite (**Figura 6.3**).

În evoluția filetică există o acumulare gradată a întregii constituții genetice a unei specii, modificare datorată forțelor evolutive. Ca urmare a anagenezei, numărul de specii nu se modifică.



**Figura 6.3** Cele două modele ale modificărilor evolutive. a) Anageneza este acumularea de variații transmisibile, care alterează caracteristicile unei specii. b) Cladogeneza este modelul în care o specie nouă apare dintr-o specie parentală, cu care continuă să existe.

**Cladogeneza** (în greacă: klados=ramură) (denumită și geneza de ramuri) reprezintă despărțirea genofondului unei specii în două genofonduri separate, fiecare dintre

acestea dând naștere la una sau mai multe specii noi. Cladogeneza este mai importantă decât anageneza în istoria vieții, nu numai pentru că pare a fi un model de **speciație** mai des întâlnit, ci și pentru că este singurul model care poate genera diversitatea biologică prin apariția de noi specii.

### 6.3.3 Mecanismele speciației

Speciația are loc prin mai multe mecanisme, care pot fi grupate în două mari categorii: 1) apariția de bariere de izolare reproductivă și 2) rearanjamente cromozomale.

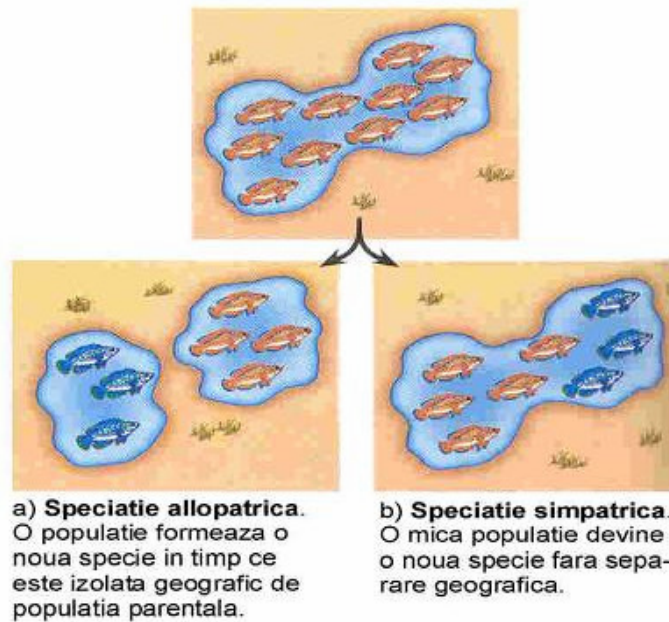
**1) Speciația prin apariția de bariere de izolare reproductivă.** În această situație, fluxul de gene între populații este întrerupt sau substanțial redus, iar populațiile evoluează divergent (diferențiere genetică), până când achiziționează unul sau mai multe mecanisme de izolare reproductivă.

Modul în care decurge speciația în condițiile apariției barierelor reproductive depinde de caracteristicile genetice ale populației, dar și de o serie de evenimente întâmplătoare. Există trei mecanisme uzuale ale speciației: **speciația allopatrică și speciația simpatrică.**

Speciația allopatrică (în greacă *allos*=alt) este tipul de speciație în care mecanismele de izolare reproductivă apar în timpul separării fizice, prin intermediu unor bariere fizice ca: râuri, deșerturi, munți etc., sau în situația în care unii indivizi dintr-o populație sunt transportați în noi locații, unde colonizează noi teritorii (*efectul fondatorului*). În aceste situații pot apare noi specii deoarece genofondul izolat acumulează prin microevoluție numeroase diferențe față de populația parentală (**Figura 6.4**). Separarea fizică este mai degrabă accidentală decât datorată selecției naturale.

Atunci când între populațiile izolate pot avea loc din nou împerecheri, iar mecanismele de izolare reproductivă sunt incomplete, apar **hibrizi**. În aceste condiții putem întâlni două situații distincte:

- a) Dacă hibrizii sunt normali și complet viabili, și se pot împerechea cu indivizii speciei parentale înseamnă că nu a avut loc speciația.
- b) Dacă hibrizii se află într-un anumit dezavantaj (de exemplu produc puțini descendenți) selecția naturală va favoriza mecanisme mai puternice de izolare reproductivă. Zonele în care populațiile izolate anterior vin în contact și produc hibrizi se numesc **zone hibride**.



**Fig. 6.4** Două tipuri importante de speciație: allopatrică și simpatică

În concluzie, în cazul speciației allopatrice, noile specii apar atunci când unele populații sunt izolate geografic de speciile parentale. Deoarece populațiile izolate evoluează prin selecție naturală, drift genetic, etc., pot apărea bariere reproductive ca rezultat al modificărilor genetice. Barierele reproductive previn împerecherea cu populația parentală, chiar dacă populațiile ajung în contact.

Speciația simpatică reprezintă apariția unei noi specii în arealul speciei parentale (**Figura 6.4**). În acest caz nu există izolare reproductivă. Acest tip de speciație se observă mai ales în condițiile în care un polimorfism apare într-o populație, înainte ca aceasta să se orienteze spre noi nișe ecologice.

Speciația simpatică este des întâlnită la paraziți și insecte fitofage. Un nou polimorfism într-o populație de paraziți le va permite adaptarea la o nouă gazdă și, ca urmare, există posibilitatea evoluției într-o nouă specie. Dacă parazitul se hrănește și se reproduce pe sau în noua gazdă, apare o barieră în fluxul de gene. Astfel, speciația simpatică are loc mai degrabă în mijlocul unei specii, decât la extremitățile arealului.

Așadar, speciația simpatică, spre deosebire de cea allopatrică, necesită apariția unei bariere reproductive care separă o anumită populație de populația parentală. De cele mai multe ori, ea se produce atunci când o parte a populației se orientează spre un habitat, sau spre anumite resurse de hrană neutilizate de restul populației.

**2) Speciația prin mecanisme cromozomale.** Formarea mecanismelor complexe de izolare reproductivă ca rezultat al diferențierii genetice durează foarte mult. Speciația produsă pe această cale este lentă și gradată. Spre deosebire de acest tip de speciație, cea produsă prin rearanjamente cromozomale se desfășoară în perioade scurte de timp. Unii cercetători consideră acest tip de speciație ca aparținând speciației simpatrice.

Rearanjamentele cromozomale care pot genera apariția de noi specii sunt poliploidia și translocațiile.

**Poliploidia** poate induce apariția de noi specii în una sau câteva generații. Este caracteristică în principal plantelor și are la origine erori în timpul diviziunii celulare, care generează extra seturi de cromozomi.

Atunci când o specie își dublează numărul de cromozomi se formează **tetraploizi**, iar procesul se numește **autopoliploidizare**. Dacă tetraploizii se împerechează cu organisme diploide originare apar triploizi care sunt sterili, deoarece prin meioză se produc cromozomi nepereche. Cu toate acestea, tetraploizii pot produce descendenți tetraploizi fertili prin autopolenizare sau prin împerechere cu alți tetraploizi. Astfel, într-o singură generație, autopoliploidia poate determina izolarea reproductivă, fără separare geografică.

O formă mult mai comună de poliploidie are loc când două specii diferite se împerechează și produc hibrizi. Hibrizii interspecifici sunt adesea sterili, deoarece setul de cromozomi al unei specii nu poate forma pereche în timpul meiozei cu setul de cromozomi al celeilalte specii. Totuși, deși infertil, hibridul se poate propaga asexuat (așa cum multe plante o fac). În generațiile următoare, numeroase mecanisme pot transforma hibridul steril într-un organism poliploid fertil, cunoscut sub denumirea de **alloploid**. Alloploidii sunt fertili atunci când se împerechează între ei, dar nu se pot împerechea cu speciile parentale. Din această cauză, reprezintă o nouă specie biologică. Aproximativ 25-50% dintre speciile de plante cu importanță economică sunt rezultatul alloploidizărilor.

Grâul (*Triticum aestivum*), spre exemplu, este un allohexaploid, genomul acestuia fiind format din șase seturi de cromozomi, câte două de la fiecare din cele trei specii diferite din care provine. Prima poliploidizare a avut loc probabil acum aproximativ 8.000 de ani și a implicat primele culturi de gâu și o specie sălbatică. În prezent, geneticienii crează în laborator noi poliploizi folosind **substanțe mutagene** pentru a modifica mitoza și meioza. Astfel, se produc specii care au calități deosebite, așa



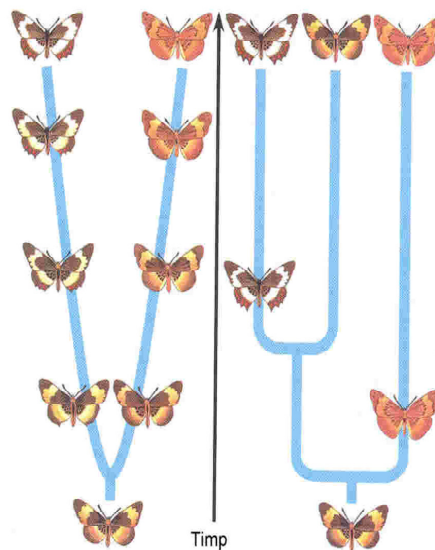
cum se întâmplă în cazul hibridului obținut din împerecherea între grâul înalt productiv și secara mai viguroasă și mai rezistentă la îmbolnăviri.

Oricum, acest mod de speciație accelerată este denumită **speciație instantanee** și este rezultatul mutațiilor cromozomale care duc la apariția mecanismelor de izolare reproductivă și permit formarea rapidă de noi specii.

#### 6.3.4 Gradualismul filetic și echilibrul întrerupt

Rezultatul cladogenezei îl reprezintă divergența unei specii în două sau mai multe specii noi. Inițial, speciația a fost privită ca un proces gradat (**gradualism filetic**) (**Figura 6.5**). Darwin a fost primul care a postulat că evoluția este gradată, pornește de la un ancestor comun și este rezultatul adaptării la mediu. Chiar el a recunoscut, însă că există perioade în care nu apar modificări importante.

În prezent, cercetătorii consideră că este posibil ca evoluția să se desfășoare și după un alt scenariu. Studiul fosilelor a arătat că există numeroase situații în care noi specii apar deodată în straturile geologice, persistă nemodificate o perioadă, după care aparent dispar. S.J.Gould, un paleontolog american, a enunțat modelul **echilibrului întrerupt** (punctuated equilibrium) (**Figura 6.5**).



**Figura 6.5** Modelul gradualismului filetic (stânga) și a echilibrului întrerupt (dreapta). În cazul gradualismului filetic speciile descendente dintr-un ancestor comun diverg gradat în ceea ce privește morfologia lor, pe măsură ce acumulează noi adaptări. După modelul echilibrului întrerupt, o nouă specie se modifică puternic la momentul desprinderii de specia parentală, după care modificările sunt mult mai lente pe durata existenței ei.

Conform acestui model, speciația și modificările morfologice care o însoțesc au loc rapid (*perioade de tranziție*) și sunt urmate de perioade lungi când au loc modificări minore (*perioade de stază*). În perioadele de stază toate speciile continuă să se adapteze, dar adesea în maniere care nu pot fi detectate prin studiul fosilelor (de exemplu, mici modificări biochimice). Din lipsa dovezilor, paleontologii își bazează ipoteza pe aspecte morfologice. Chiar și după lungi perioade de aparent echilibru, modificările comportamentale, de anatomie internă și fiziologice pot rămâne neidentificate.

În practică cele două modele sunt greu de deosebit din mai multe motive:

- ambele modele pornesc de la o specie ancestrală,
- indiferent de model, numărul de specii actuale la care se ajunge este același,
- speciația allopatrică și simpatică acționează atât în gradualismul filetic, cât și în echilibrul întrerupt,
- diferențele majore între cele două modele se referă la rata modificărilor, care este aproape imposibil de stabilit.

## 6.4 Evoluție moleculară

### 6.4.1 Substituții nucleotidice

Procesul de bază în evoluția secvențelor ADN îl reprezintă substituirea unei nucleotide cu alta. Analiza acestor substituții folosește pentru estimarea ratei evoluției și pentru reconstrucția istoriei organismelor.

Modificarea temporală a nucleotidelor reprezintă **dinamica nucleotidelor**, iar studiul ei se realizează cu ajutorul unor modele matematice.

Cel mai simplu model (Jukes și Cantor) presupune că substituțiile au loc cu o probabilitate egală între cele patru tipuri de nucleotide, fiecare nucleotidă putând fi înlocuită cu alta cu aceeași probabilitate. Modelul Kimura consideră că cele mai frecvente sunt acele substituții care înlocuiesc o baza azotată cu alta de același tip (de exemplu, o purină este înlocuită tot cu o purină). Aceste substituții se numesc **tranziții**. Spre deosebire de acestea, **transversiile**, adică înlocuirea unei purine cu o pirimidină și invers, sunt mai rare.

Două secvențe nucleotidice care diverg dintr-o secvență ADN comună se deosebesc, de obicei, unele de altele printr-un număr de substituții. Dacă timpul scurs de la desprinderea din secvența ancestrală este scurt, atunci numărul de substituții acumulate în fiecare dintre secvențe este redus. Dacă, dimpotrivă, a trecut mult timp de la momentul divergenței, este foarte posibil ca, chiar și în cazul unui număr redus

de diferențe observabile între secvențe, în anumite situsuri să fi avut loc substituții multiple.

De exemplu, dacă analizăm două secvențe de lungime  $N$  și care se deosebesc unele de altele în  $n$  situsuri, raportul dintre numărul de substituții și lungimea secvenței reprezintă gradul de divergență ( $p$ ) sau distanța Hamming :

$$p = \frac{n}{N}$$

Pe baza distanței Hamming se poate calcula numărul estimat de substituții nucleotidice ( $k$ ), care este posibil să se fi produs de la momentul divergenței :

$$k = -\ln(1 - p)$$

Pentru estimarea numărului de substituții, secvențele codificatoare și cele necodificatoare trebuie analizate diferit, deoarece, în mod normal, evoluează cu rate diferite.

Deși numărul de substituții nucleotidice este o valoare importantă, cea mai importantă mărime ce caracterizează evoluția moleculară este **rata substituțiilor nucleotidice**.

Rata substituțiilor nucleotidice ( $r$ ) se exprimă ca :

$$r = \frac{k}{2T}, \text{ unde } k \text{ este numărul de substituții, iar } T \text{ este timpul scurs de la}$$

momentul divergenței.

În analiza ratelor substituțiilor nucleotidice trebuie făcută distincția între modificările care afectează structura proteinelor (**substituții nonsinonime**) și cele care nu au efect asupra proteinelor (**substituții sinonime**).

Ratele substituțiilor nonsinonime variază mult între gene și se reflectă în ratele evoluției proteinelor. Unele proteine, cum sunt histonele, actina, proteinele ribozomale sunt foarte bine conservate, în timp ce alte proteine (de exemplu apolipoproteinele, imunoglobulinele) evoluează cu rate foarte rapide. Variații mari în ceea ce privește ratele substituțiilor sunt observate și în cazul regiunilor necodificatoare, cele mai afectate fiind pseudogenele, adică secvențe ADN similare genelor funcționale, dar care, datorită unor modificări în succesiunea de nucleotide au devenit nefuncționale.

Ratele substituțiilor sunt influențate de gradul de intoleranță a unui situs față de mutații, de selecția pozitivă, care menține în populații mutațiile avantajoase și de rata mutațiilor.

Substituțiile nucleotidice, care se repercutează la nivelul succesiunii de aminoacizi din proteine, joacă un rol deosebit în evoluție, iar cuantificarea ratelor cu care au loc aceste modificări folosește pentru datarea unor evenimente importante din istoria vieții pe pământ.

#### 6.4.2 Ceasuri moleculare

Studiul hemoglobinei și a citocromului c de la diferite specii au arătat că ratele de înlocuire ale aminoacizilor sunt asemănătoare la diferite linii evolutive de mamifere. S-a tras astfel concluzia că, pentru oricare dintre proteine, rata evoluției moleculare este aproximativ constantă în timp la toate liniile evolutive (lineage), deci că există un «ceas molecular».

Dacă proteinele evoluează cu rate constante, atunci aceste date pot fi folosite pentru determinarea momentului divergenței acelor specii pentru care nu există date paleontologice și pentru reconstrucția relațiilor filogenetice dintre organisme.

În 1983 Kimura a considerat că, pentru fiecare proteină rata evoluției moleculare, exprimată ca substituție de aminoacizi/an/situs, este aproximativ constantă pentru diferite lineage atât timp cât funcția și structura terțiară rămân nealterate.

Atunci când, într-o anumită linie evolutivă, o genă își pierde funcția sau achiziționează un nou rol biologic, ea nu mai evoluează cu aceeași rată ca genele omoloage de la alte organisme care și-au păstrat funcția inițială.

Totuși, încă de la început, chiar cei care au propus ipoteza ceasurilor moleculare au arătat că există și cazuri excepționale. De exemplu, o anumită proteină poate evolua cu o rată moleculară diferită la o singură linie evolutivă din mai multe linii evolutive la care se întâlnește proteine respectivă. Așa se întâmplă cu insulina, care la linia evolutivă care duce spre porcușorul de Guinea are o rată evolutivă mult mai rapidă.

Ipoteza ceasurilor moleculare a dat naștere la numeroase controverse în rândul specialiștilor. Evoluționiștii clasici consideră că o rată evolutivă constantă nu se potrivește cu timpul evolutiv la nivel morfologic și fiziologic. Cele mai vehemente discuții s-au iscat în momentul în care, conform acestei ipoteze s-a ajuns la concluzia că momentul divergenței între om și maimuțele africane se plasează acum aproximativ 5 milioane de ani. Paleontologii susțin că divergența s-a produs acum 15 milioane de ani.

Dar și evoluționiștii moleculari contestă teoria ceasurilor moleculare, în primul rând pentru că ei susțin că ratele evolutive se accelerează după duplicarea genelor. Astfel, după duplicarea genei care a dat naștere lanțurilor  $\alpha$  și  $\beta$  ale hemoglobinei,

ratele înlocuirilor de aminoacizi sunt foarte ridicate. De asemenea, ei consideră că evoluția proteinelor se desfășoară mai rapid în timpul speciației, comparativ cu perioadele în care aceasta nu are loc (perioadele de stază).

Deși există atâtea controverse cu privire la existența unei rate constante a evoluției, aceasta este încă larg utilizată pentru estimarea timpului de evoluție și pentru construcția arborilor filogenetici.

#### 6.4.2.1 Ratele evolutive la diferite lineage

În stabilirea ratelor evolutive la diferite lineage se utilizează, în prezent, atât secvențele de amino-acizi din proteine, cât și secvențele ADN, de multe ori rezultatele fiind analizate comparativ. Astfel, datele imunologice și cele privind proteinele arată că ratele evolutive încetinesc la hominide, după separarea de maimuțele ancestrale. Același rezultat s-a obținut și din analize efectuate direct la nivel de ADN, precum și din hibridizările ADN-ADN. Ratele substituțiilor în zonele necodificatoare, care reflectă, așa cum se știe, rata mutațiilor, sunt mai mari la maimuțele africane decât la om.

Studiile asupra ADN la mamifere au arătat că rozătoarele au o rată evolutivă mult mai ridicată decât la primate. Se constată, însă că, la mamifere există variații în ceea ce privește ratele substituțiilor printre speciile aceluiași ordin. Faptul că, nu există o rată evolutivă constantă printre mamifere, conduce la ideea că nu există un ceas molecular universal, aplicabil pentru toate organismele. De exemplu, la *D. melanogaster* rata evolutivă, chiar pentru cele mai bine conservate gene din genom, este de 5-10 ori mai rapidă.

Totuși, nu se poate susține că nu există deloc ceasuri moleculare ; există numeroase **ceasuri locale** specifice unor grupuri de specii strâns înrudite. Așa numitele ceasuri moleculare pot fi folosite pentru a estima divergența speciilor cu condiția să se facă anumite corecții.

#### 6.4.2.2 Cauzele variației ratelor evolutive

Asupra factorilor care determină variațiile ratelor evolutive în diferite lineage s-au emis numeroase ipoteze. Se pare că există două categorii de factori : factori dependenți de replicare și factori independenți de replicare. Din prima categorie fac parte timpul de generație și eficiența proceselor reparatorii ale ADN, iar din a doua categorie se poate exemplifica prin rata metabolismului bazal.

**Timpul de generație.** Ratele de substituție sunt mai mari la maimuțe decât la om, mai mari la rozătoare decât la primate, ceea ce este invers proporțional cu timpul de generație. La rozătoare, spre exemplu, timpul mult mai scurt de generație, face ca numărul de replicări per an să fie mult mai mare ca la om.

La mamifere, în genomul nuclear, rata substituțiilor confirmă ipoteza rolului timpului de generație. Genomul mitocondrial contravine acestei ipoteze; genele mitocondriale la specii cu timp de generație mai lung (elefanți, om) evoluează mai rapid decât omoloagele lor de la rozătoare.

**Eficiența sistemelor de reparare a ADN.** Unele date sugerează că rozătoarele dispun de sisteme de reparare a ADN mai puțin eficiente. De exemplu, îndepărtarea hipoxantinei, rezultată din dezaminarea adeninei, se datorează enzimei 3 metil ADN glucozilaza, care este mai eficientă la om decât la rozătoare. Prezența hipoxantinei este o cauză importantă a mutațiilor tranziționale.

**Ratele metabolismului bazal.** Sinteza, repararea, degradarea ADN sunt mai intense la organismele care au o rată metabolică ridicată.

În concluzie, toți acești factori influențează în măsură mai mare sau mai mică ratele substituțiilor nucleotidice, deci viteza cu care se desfășoară, la nivel molecular procesele evolutive.

#### 6.4.3 Ratele substituțiilor nucleotidice în ADN organitelor

Majoritatea eucariotelor au cel puțin un genom extranuclear, care se replică independent de cel nuclear, este mai mic și mai ușor de investigat. Majoritatea organitelor se moștenesc uniparental, mitocondriile animalelor pe linie maternă, iar cloroplastele și mitocondriile plantelor în general pe linie maternă, deși există și excepții. Cloroplastele coniferelor se moștenesc pe linie paternă, la fel ca mitocondriile de la *Chlamidomonas sp.*

#### Genomul mitocondrial de la animale.

ADNmt este reprezentat de o moleculă circulară de ADN dublucatenar, ce conține aproximativ 15-17000 pb, ceea ce înseamnă 1/10000 din cel mai mic genom eucariot. Genomul mitocondrial conține secvențe unice nerepetate: 13 gene care codifică proteine, 22 de gene pentru ARNt, o regiune ce controlează replicarea și inițierea transcrierii și, de asemenea, câțiva spaceri intergenici. Trebuie subliniat că genele mitocondriale nu au introni.

Ratele substituțiilor sinonime în ADN mitocondrial la mamifere sunt de zece ori mai ridicate ca în nucleu. În ceea ce privește substituțiile nonsinonime, ratele variază mai mult, dar întotdeauna sunt mai ridicate decât cele din nucleu. Nivelul înalt al ratelor substituțiilor în mitocondrii se datorează mai multor cauze : a) fidelitatea scăzută a replicării ADNmt, b) mecanisme ineficiente de reparare a ADN, c) concentrație mare de agenți mutageni (ex. radicali superoxid) rezultați din procesele metabolice mitocondriale.

### **Genoame extranucleare la plante.**

Deoarece plantele au evoluat divergent de acum aproximativ 1 miliard de ani, patternul evoluției moleculare este diferit de cel de la animale. Astfel, mitocondriile conțin ADN circular sau liniar, cu mărime cuprinsă între 26.000 și 2.500.000 pb, deși, în esență, este reprezentat de același set de gene ca la animale. Principala caracteristică a genomului mitocondrial la plante o reprezintă marea variabilitate, datorată numeroaselor rearanjamente, duplicații, deleții. Oricum, ratele substituțiilor nucleotidice la nivelul ADNmt sunt mai scăzute decât cele din genomul nuclear al mamiferele, dar sunt asemănătoare cu cele din genomul nuclear al plantelor.

În ceea ce privește ADN cloroplastelor, acesta variază mult în ceea ce privește mărimea, numărul de gene, dar și în privința pseudogenelor și a intronilor. Deși, până în prezent nu au fost analizate foarte multe secvențe, s-a constatat că ratele substituțiilor sunt mai reduse decât cele observate în genoamele plantelor.

## **6.5 Elemente de filogenie moleculară**

**Filogenia** reprezintă istoria unei specii sau a unui grup de specii. Pentru reconstrucția relațiilor filogenetice de mare importanță este **sistematica**. Sistematica analizează asemănările morfologice și biochimice dintre organisme, ca bază pentru deducerea relațiilor evolutive. Recent, sistematica tradițională a fost dezvoltată prin utilizarea tehnicilor moleculare. A apărut **sistematica moleculară**, care utilizează pentru stabilirea asemănărilor dintre organisme compararea moleculelor de ADN, ARN și a altor molecule. În acest mod se pot deduce relațiile evolutive dintre anumite gene și chiar dintre genoame în totalitatea lor, stabilindu-se cât de înrudite sunt unele organisme cu altele.

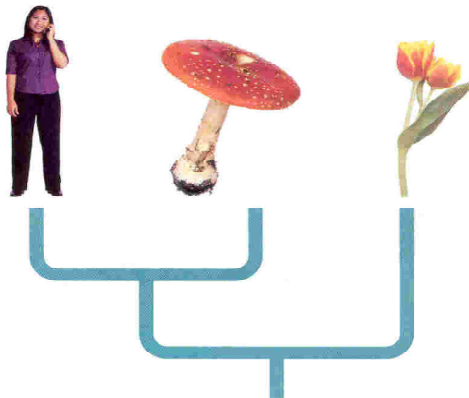
Așa a luat naștere **filogenia moleculară**, care are ca principale obiective :

- reconstrucția legăturilor genealogice corecte între diferitele entități biologice,
- estimarea timpului de divergență dintre organisme,

- datarea secvențelor de evenimente de-a lungul liniilor filogenetice.

Primele studii de filogenie moleculară au fost realizate prin studii imunochimice, pornind de la faptul că reacțiile serologice sunt mai puternice între organismele înrudite. Aceste studii au fost efectuate înainte de redescoperirea legilor lui Mendel. Cercetările au progresat, în special, după dezvoltarea metodologiei de secvențiere a proteinelor, urmată de electroforeza proteinelor, a ADN, hibridizările ADN-ADN etc. În acest mod s-au stabilit relațiile filogenetice dintre populații sau specii strâns înrudite, dar au fost datate și unele evenimente ca : apariția mitocondriilor și cloroplastelor sau divergența filumurilor și regnurilor. Pentru viitor se urmărește rezolvarea relațiilor evolutive dintre procariote și eucariotele unicelulare.

Informațiile de la nivel molecular au permis construirea unui **arbore universal** al vieții, care pe măsură ce se acumulează mai multe date va continua să fie modificat. Unele rezultate au fost de-a dreptul surprinzătoare. Sistematica moleculară a arătat, spre exemplu, că este o relație de rudenie mai strânsă între om și fungi, decât între fiecare dintre aceste organisme și plante. (**Figura 6.6**).



**Figura 6.6** Un arbore al vieții mai puțin obișnuit. Sistematica moleculară a arătat că, în ciuda aparențelor, animalele (inclusiv omul) sunt mai înrudite cu ciupercile, decât sunt acestea cu plantele.

### 6.5.1 Avantajele utilizării datelor moleculare în studiile filogenetice

Datele moleculare au devenit un instrument indispensabil în reconstrucția relațiilor filogenetice deoarece prezintă, în comparație cu caracterele morfologice, o serie de avantaje. Astfel:

- secvențele ADN sunt entități strict transmisibile, în timp ce caracterele morfologice sunt influențate de mediu,

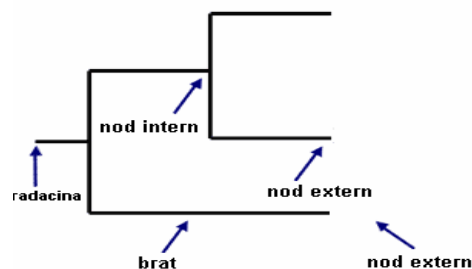


- caracterele moleculare sunt precise (de exemplu, al trelea aminoacid în preproinsulină la iepure este serina, iar la hamster este leucina). Descrierile morfologice, însă, sunt mai ambigue, folosindu-se, adeseori, termeni ca subțire, redus, parțial închis etc.
- caracterele moleculare evoluează mai regulat (vezi rata substituțiilor nucleotidice), permițând stabilirea unor relații mai clare între organisme,
- datele moleculare sunt mai potrivite pentru abordări cantitative și, pe această bază, s-au dezvoltat numeroase modele matematice. Studiile morfologice se bazează mai mult pe aspecte calitative.
- estimarea omologiei între secvențele ADN este mai simplă, decât stabilirea omologiei caracterelor morfologice,
- unele date moleculare pot fi folosite pentru stabilirea relațiilor evolutive între organisme îndepărtate filogenetic, așa cum este arborele filogenetic dintre fungi, plante și animale din **Figura 6.6**. Puține date morfologice pot fi folosite în acest scop.
- datele moleculare sunt mai abundente comparativ cu cele morfologice, ceea ce este mai avantajos, în special pentru speciile cu număr limitat de caractere morfologice, cum sunt bacteriile, algele, protozoarele

### 6.5.2 Arbori filogenetici

**Arborii filogenetici** reprezintă ilustrarea grafică a relațiilor filogenetice dintre organisme. Ei sunt formați din **noduri**, conectate prin **brațe**, care desemnează relațiile dintre unitățile taxonomice. Modelul de ramificare determină **topologia** unui arbore filogenetic.

Nodurile sunt unități taxonomice; dacă nodurile sunt **externe**, reprezintă unități taxonomice existente, actuale, în timp ce nodurile **interne** sunt unități taxonomice ancestrale, deduse. În general, nodurile interne sunt bifurcate, fiecare nod fiind incident cu trei brațe: unul ancestral și două derivate (**Figura 6.7**).

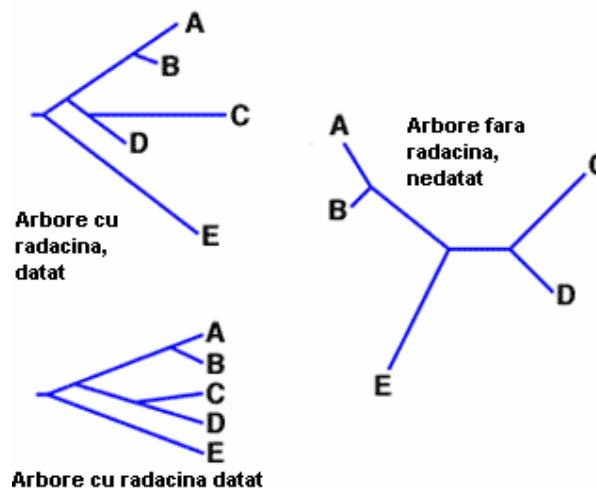


**Figura 6.7** Alcătuirea unui arbore filogenetic

Brațele unesc nodurile adiacente, iar lungimea lor este, în general, o măsură a distanței evolutive dintre un nod intern și un nod extern, sau dintre două noduri interne.

Există mai multe criterii de clasificarea a arborilor filogenetici. Astfel, după prezența sau absența în arbore a celui mai recent ancestor comun pentru toate unitățile taxonomice studiate, avem arbori **cu rădăcină**, de la care pornește spre toți ceilalți taxoni o cale unică și arbori **fără rădăcină**, în care este reprezentat doar gradul de înrudire dintre unitățile taxonomice, nu și calea evolutivă. Trebuie subliniat că, arborii filogenetici bazați pe date moleculare sunt, în general, fără rădăcină.

După lungimea brațelor, se întâlnesc arbori **datați**, ale căror brațe au lungimea proporțională cu numărul modificărilor evolutive care au avut loc de la momentul divergenței și arbori **nedatați**, cu brațe de lungimi egale. Arborii nedatați permit doar poziționarea taxonilor existenți și a nodurilor interne (a taxonilor dispăruți, deduși) (**Figura 6.8**).



**Figura 6.8** Tipuri de arbori filogenetici

Arborii filogenetici mai sunt împărțiți în **arborii speciilor** și **arborii genelor**. Arborii speciilor reprezintă relațiile filogenetice dintre specii, familii, populații sau alte grupe taxonomice. Într-un asemenea arbore bifurcația reprezintă timpul de speciație, momentul în care două specii au devenit distincte și izolate reproductiv una de cealaltă.

Arborii genelor reflectă relațiile filogenetice dintre secvențele ADN, inclusiv căile urmate de gene de la părinți la descendenți. Genele pot avea căi diferite de transmitere, care sunt, în general, limitate de barierele reproductive; fluxul de gene are loc doar în interiorul speciilor. Din această cauză, o specie este un mănunchi de

conexiuni genetice în care, numeroase linii părinți-descendenți formează conexiuni ce țin toți indivizii la un loc.

Arborii speciilor diferă de cei ai genelor din cel puțin trei motive:

- 1) Divergența a două gene de la două specii diferite poate avea loc înainte de divergența speciilor, ceea ce poate conduce la o supraestimare a lungimii brațelor. Totuși, acest lucru nu este foarte important în studiul evoluției pe termen lung, în care, de obicei, se ignoră polimorfismele genetice.
- 2) Modelul de ramificare (topologia) unui arbore genic poate să difere de topologia arborelui speciilor datorită polimorfismului speciilor ancestrale. Pentru a evita acest lucru trebuie analizate mai multe gene nelinkate, deoarece o cantitate mai mare de date evită erorile datorate substituțiilor nucleotidice întâmplătoare.
- 3) Duplicarea genelor și familiile de multigene complică și mai mult situația, întrucât este dificil de evaluat omologia. Dacă duplicarea a avut loc înainte de speciație, genele de la specii diferite sunt mai înrudite decât genele aceleiași specii. În cazul hemoglobinei de la vertebrate, lanțurile  $\alpha$  și  $\beta$  au momentul de divergență foarte îndepărtat, plasat acum aproximativ 450-500 milioane de ani. Ca urmare, genele pentru  $\alpha$  globină la mamifere sunt mai asemănătoare unele cu altele, decât cu gena  $\beta$  globinei de la aceeași specie.

### 6.5.3 Arborele filogenetic universal

Studiile filogenetice folosesc ca date de bază pentru reconstituirea relațiilor filogenetice fosilele, precum și omologiile morfologice și moleculare.

În general, organismele asemănătoare morfologic sau cu secvențe ADN similare sunt mai înrudite unele cu altele. Totuși, uneori divergența morfologică între specii înrudite poate fi mare, în ciuda divergenței genetice reduse (sau invers). De exemplu, multe specii de plante lemnoase din Hawaii sunt foarte diferite fenotipic, deși din punct de vedere genetic sunt asemănătoare. Explicația ar consta din faptul că, în cazul acestui grup care a început să evolueze divergent acum 5 milioane de ani, diversitatea morfologică este controlată de un număr relativ restrâns de gene.

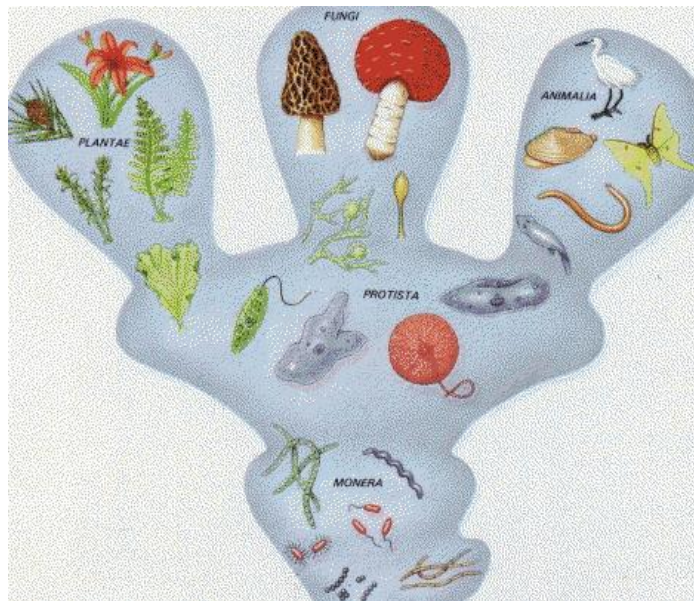
Arborii filogenetici reprezintă grafic modul în care organismele au evoluat și cum sunt acestea înrudite unele cu altele; sunt reprezentarea diagramatică a unei ipoteze emise pe baza datelor disponibile (studiul fosilelor, omologii și analogii morfologice și moleculare). După ce în sistematică au început să fie utilizate pentru compararea

speciilor metodele moleculare, numeroase ipoteze filogenetice mai vechi au fost eliminate.

În anii '60, cercetătorii au constatat universalitatea codului genetic, deducând astfel, că toate organismele vii au un ancestor comun. Astăzi, cercetările sunt îndreptate spre asamblarea tuturor organismelor într-un **arbore universal al vieții**.

Mult timp, încă de pe vremea lui Linnaeus, părintele sistematicii și taxonomiei, s-a considerat că există numai două regnuri. Chiar și după descoperirea diversității lumii microorganismelor acest sistem a persistat. Bacteriile erau considerate plante, la fel și fungii, iar protozoarele erau incluse în regnul animalelor.

Schemele taxonomice cu mai mult de două regnuri nu au fost acceptate până în anul 1969, când Robert Whittaker a adus argumente solide pentru împărțirea lumii vii în 5 regnuri: Monera, Protista, Fungi, Plantae și Animalia (**Figura 6.9**).



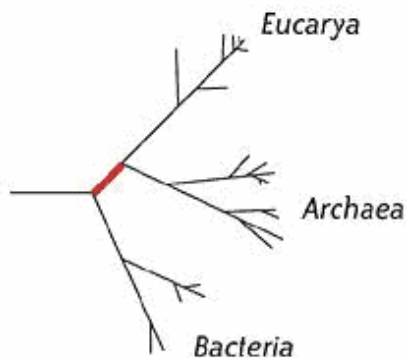
**Figura 6.9** Cele 5 regnuri ale lumii vii. Acest sistem de clasificare împarte lumea vie în 5 regnuri, unul procariot (Monera, bacteriile) și 4 eucariote (Protista, Fungi, Plantae și Animalia) (după Campbell, 1993).

Acest sistem recunoaște existența a două tipuri fundamentale de celule: procariote și eucariote, și plasează procariotele într-un regn separat: Monera. Eucariotele multicelulare (Plantae, Fungi și Animalia) sunt împărțite în trei regnuri pe criteriul nutriției. Plantele sunt autotrofe, în timp ce fungi și animalele sunt heterotrofe. Regnul Protista include organisme care nu repectă nici definiția dată plantelor, nici cea dată

animalelor sau fungilor. Ele sunt eucariote în majoritate unicelulare, dar există și protiste multicelulare.

Acest sistem de clasificare a rezistat în biologie mai mult de 20 de ani. În ultimile decenii, însă, datele moleculare, bazate pe analiza genelor care codifică pentru ARN-ul ribozomal (ARNr) au fost utilizate pentru reconstrucția arborelui universal al vieții. Rezultatele acestor analize au arătat următoarele:

Arborele vieții este format din **trei mari domenii: Bacteria, Archaea și Eukaria (Figura 6.10)**. Domeniul Bacteria este alcătuit din majoritatea organismelor cunoscute sub denumirea de procariote, inclusiv din bacterii strâns înrudite cu cloroplastele și mitocondriile. De altfel, o teorie larg acceptată se referă la **originea endosimbiotică** a cloroplastelor și mitocondriilor din celula eucariotă. Al doilea domeniu, Archaea, este format din organisme procariote care populează medii foarte diferite. Unele Archaea pot utiliza hidrogenul ca sursă de energie, altele metanul, la fel ca în condițiile atmosferei primitive. Al treilea domeniu, Eukaria, include numeroase organisme, unicelulare precum și eucariotele pluricelulare din regnurile Plantae, Fungi și Animalia.



**Figura 6.10** Arbore filogenetic universal construit prin analize comparative de secvențe ARNr 16S (după Woese, 2000)

Istoria timpurie a acestor trei domenii nu este cunoscută. Compararea genoamelor a arătat că, cel puțin la începutul vieții pe Pământ, existau numeroase schimburi de gene între organisme aparținând unor domenii diferite, prin intermediul **transferului orizontal de gene**. Astfel, prin intermediul elementelor transpozabile, sau prin fuzionarea unor organisme diferite, genele au fost transferate de la un genom la altul. Primele eucariote ar fi putut apare prin fuziunea unei bacterii ancestrale cu o archaea ancestrală. Deoarece arborele filogenetic se bazează pe presupunerea că genele se transmit vertical de la o generație la alta, o asemenea presupunere conform căreia au avut loc transferuri orizontale de gene pare nepotrivită. Ca urmare, numeroase

---

aspecte legate de arborele vieții sunt continuu revizuite, deși divizarea acestuia în cele trei domenii pare încă corectă.

Reamintim că arborii filogenetici sunt în esență ipoteze care se potrivesc cu datele pe care le avem în prezent la dispoziție pentru a reconstitui evoluția biologică, pentru a trasa principalele repere care au dus la actuala diversitate a vieții pe Pământ.

## 7. NOȚIUNI DE GENETICĂ CANTITATIVĂ

În capitolele anterioare am discutat despre caractere fenotipice datorate genotipurilor alternative ale unei singure gene. Aceste caractere, numite **caractere discrete**, se transmit ereditar în asemenea manieră încât există o corespondență relativ simplă între genotip și fenotip. Totuși, numeroase caractere, inclusiv unele de importanță economică (producția de cereale, de lapte, de carne etc.) prezintă variație continuă. Ele diferă în populație, mai ales prin cantitate, decât prin tipul lor și, de aceea, se numesc **caractere cantitative**. O asemenea variație a caracterelor este, de obicei, controlată de mai mulți loci (respectiv mai multe gene).

**Genetica cantitativă** studiază variația continuă a caracterelor controlate progresiv de mai mulți loci și de factorii de mediu. Din această cauză, aceste caractere se numesc **poligenice**, și, în același timp, **multifactoriale**.

În cazul acestor caractere un singur genotip poate avea, datorită influenței mediului, numeroase fenotipuri posibile. În același timp, un singur fenotip poate fi datorat mai multor genotipuri.

Analiza genetică a unor asemenea caractere complexe necesită concepte și metode speciale de investigare, deoarece:

- sunt influențate de două sau mai multe gene, răspândite în tot genomul (gene de pe cromozomi diferiți pot contribui la manifestarea aceluiași caracter), fiecare adăugând o anumită cantitate la fenotip;
- mediul ambiant crează condiții favorabile sau nefavorabile pentru exprimarea caracterului. De exemplu, nutriția are efecte asupra ratei de creștere la animale, iar fertilizatorii, ploaia, densitatea plantelor influențează producția vegetală.

Pentru unele caractere cantitative diferențele între fenotipuri se datorează în primul rând diferențelor genotipice, iar mediul este puțin important, sau chiar neglijabil. Pentru altele, însă, prevalenți sunt factorii de mediu, cei genetici având o influență mai mică. Majoritatea caracterelor cantitative se situează între aceste două extreme, astfel că, trebuie luate în considerare simultan ambele categorii de factori.

Datorită complexității lor, se pune ades întrebarea dacă aceste caractere pot fi analizate în populațiile naturale. Există posibilitatea ca, variația genetică să fie eliminată prin studiul liniilor pure, care sunt homozigote pentru majoritatea genelor sau prin analiza generației F1, rezultată din împerecherea liniilor pure și care se

caracterizează printr-o mare uniformitate a heterozigoților pentru toate genele pentru care părinții au fost homozigoți. Variația factorilor de mediu este, însă, imposibil de eliminat. La plante, spre exemplu, chiar la plante învecinate, apar mici variații în calitatea solului, sau în ceea ce privește expunerea la lumină. La *Drosophila melanogaster*, în condițiile unei puternice consangvinizări, pot apare mici diferențe fenotipice (de exemplu, mărimea corpului) datorită unor ușoare variații ale mediului, chiar pentru organisme din același borcan de cultură. În concluzie, caracterele care sunt sensibile la variații mici ale mediului nu vor fi niciodată uniforme, nici măcar în liniile pure.

Numeroase caractere importante pentru om sunt caractere cantitative. De exemplu, producția agricolă (mărimea recoltei la grâu, la soia, struguri etc./unitatea de suprafață), producția zootehnică (calitatea cărnii, producția de lapte/vacă, numărul de ouă/găină, cantitatea de lână/oaie etc.), unele caractere umane (rata de creștere la copii, greutatea adulților, presiunea sanguină, lungimea vieții etc.) sunt caractere cantitative. Inclusiv fitnessul, implicat în procesele evolutive este un caracter cantitativ important.

Majoritatea caracterelor cantitative nu pot fi studiate prin intermediul pedigree-ului pentru că:

- efectele segregării alelelor aparținând unei gene pot fi mascate de efectele altor gene;
- mediul generează fenotipuri diferite pentru același genotip.

Deci, caracterele cantitative nu se potrivesc modelului simplu de dominanță-recesivitate și sex-linkage. Totuși, efectele genetice asupra caracterelor cantitative pot fi evaluate prin compararea fenotipurilor rudelor, care au în comun un număr mai mare de gene.

### 7.1 Istoricul cercetărilor de genetică cantitativă

La începutul secolului XX s-a constatat că anumite caractere nu urmează ereditatea mendeliană. Ulterior, unele experimente au demonstrat că modelul eredității pentru caracterele cantitative poate fi explicat prin ereditatea mendeliană pentru mai mulți loci. Cu alte cuvinte, aceste caractere sunt controlate de mai mulți loci, fiecare locus urmând legile mendeliene.

Johannsen (1903) a studiat greutatea boabelor în linii consangvine sau aproape consangvine de mazăre. Fiecare individ dintr-o linie era homozigot pentru aceleași alele, dar diferitele linii erau homozigote pentru alele diferite. În experimentele sale,



Johannsen a comparat greutatea boabelor la descendenți cu greutatea boabelor părinților și a observat că:

- variația fenotipică dintre liniile consangvine se moștenește,
- variația fenotipică în interiorul unei linii nu se moștenește.

Astfel, liniile care produceau boabe mai grele produc descendenți asemănători și, ca urmare, diferențele dintre linii se datorează diferențelor genetice. În aceeași linie nu există o corelație între greutatea semințelor părinților și descendenți. Variația din cadrul fiecărei linii nu este ereditară ci, se datorează factorilor de mediu. Prin urmare, acest experiment a arătat că greutatea semințelor la mazăre este afectată atât de factori genetici, cât și de mediu, dar nu a precizat câte gene afectează acest caracter. Ceea ce a fost evident a fost faptul că sunt implicate mai multe gene, nu una singură.

Într-un experiment efectuat în 1909, Nilsson a demonstrat că o distribuție aproape continuuă a fenotipului poate fi produsă de câteva gene care acționează simultan. El a studiat culoarea boabelor la grâu, culoare care variază de la roșu închis la alb. Experimentul a constatat în împerecherea între linii consangvine ce produceau boabe roșii cu linii pentru boabe albe. Din examinarea culorii boabelor în F1 și F2 a rezultat că:

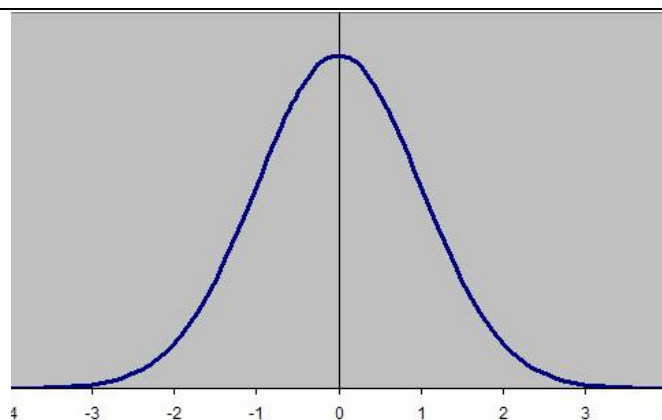
- în F1 toate boabele erau de un roșu intermediar
- în F2 a rezultat un domeniu de fenotipuri care variau de la roșu la alb. În această generație unele linii segregă în raport de 3:1 (roșu:alb), altele în raport 15:1 sau 63:1 (roșu de orice tip:alb).

Ca urmare a experimentului, Nilsson a stabilit următoarele:

- culoarea roșie este controlată de 3 gene (A, B, C) independente și fiecare genă are o alelă care produce culoarea (A1, B1, C1) și o alelă care nu produce pigment (A2, B2, C2).
- cele trei gene acționează aditiv și independent.

În experimentul lui Nilsson intensitatea culorii este controlată de numărul de alele A1, B1 și C1 primit de la părinți; cu cât numărul locilor implicați este mai mare, cu atât distribuția fenotipurilor în F2 începe să semene cu o distribuție normală. Chiar și pentru un număr moderat de loci, distribuția fenotipurilor aproximează distribuția normală. De fapt, numeroase caractere cantitative au o distribuție normală (**Figura 7.1**).

În ceea ce privește influența mediului, există, de asemenea, o distribuție continuuă a fenotipurilor, întrucât nu există o singură asociere între genotip și fenotip.



**Figura 7.1** Distribuția normală standard

În cazul exemplului privind culoarea boabelor la grâu, nu există o alelă dominantă; în toate situațiile, culoarea la heterozigoți este intermediară, având jumătate din culoarea homozigoților. De asemenea, nu există o interacțiune între gene, deși acest lucru trebuie luat în seamă în cazul altor caractere.

Este evident că un anumit fenotip pentru un caracter cantitativ se datorează factorilor genetici și de mediu. Acest tip de ereditate întâlnit în cazul culorii boabelor de grâu este poligenică, fiind determinată de mai multe gene. Fiecare genă exercită un mic efect aditiv, adică efectul genelor este *cumulativ* și nici o genă nu este dominantă sau recesivă.

În realitate, caractere precum inteligența sau înălțimea sunt influențate atât de mediu, cât și de mai multe sau mai puține gene care nu sunt aditive în ceea ce privește exercitarea efectului. Acest fapt se corelează cu o tendință observată la descendenți, tendință denumită „*regresia față de medie*”. De exemplu, părinți foarte inteligenți pot avea copii cu inteligență ușor mai scăzută comparativ cu media parentală. Există și situația inversă: părinți puțin inteligenți pot avea copii cu inteligență sub media populației, dar ușor mai ridicată decât media părinților. Explicația constă în faptul că, unele dintre genele implicate exercită un efect mai mare în manifestarea unui caracter cantitativ comparativ cu celelalte gene.

## 7.2 Caractere continue, meristice și prag

Unii geneticieni împart caracterele cantitative în trei categorii: 1) caractere continue, 2) caractere meristice și 3) caractere prag.

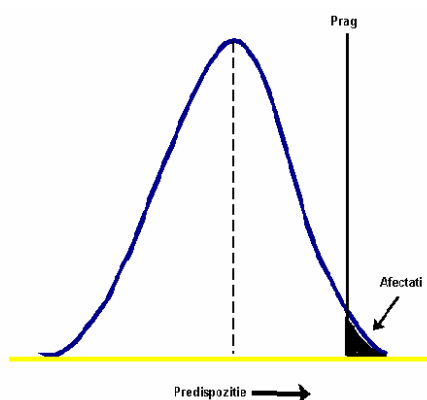
**1) Caracterele continue** variază de la o extremă fenotipică la alta, fără limite clare de la o variație la alta. În această categorie intră caractere precum înălțimea, greutatea, culoarea pielii etc.

Ca urmare, majoritatea caracterelor continue nu se încadrează în categorii fenotipice distincte; există un gradient continuu de la un fenotip la altul, de la un minim la un maxim, fără clase fenotipice clare. De exemplu, greutatea poate să se găsească în orice punct pe o scală a măsurătorilor, fiind posibil un număr practic nelimitat de fenotipuri.

**2) Caracterele meristice** sunt acele caractere în care fenotipul se determină prin numărare. Exemple de asemenea caractere sunt: numărul de creste epidermale care formează amprente, numărul de ouă/găină, numărul de peri/abdomenul musculițelor, etc.

**3) Caractere prag.** Sunt acele caractere care au 2 sau puține clase de mărime, dar și în această situație ereditatea este determinată de efectele genelor multiple și de factorii de mediu. În categoria caracterelor prag intră partenogeneza (dezvoltarea ouălelor nefertilizate) la curcan, sarcinile gemelare la vaci, dar și numeroase boli ereditare umane (schizofrenia, diabetul, autismul etc.).

Pentru aceste caractere fiecare organism are o **predispoziție** neobservabilă pentru exprimarea lor fenotipică. Așa este, spre exemplu, predispoziția pentru sarcini gemelare. Dacă predispoziția este suficient de ridicată (deasupra unui **prag**) caracterul se manifestă. În cazul maladiilor ereditare, există persoane afectate și persoane neafectate (**Figura 7.2**).



**Figura 7.2** Diagramă care ilustrează distribuția caracterelor prag în populație

Caracterele prag pot fi interpretate drept caractere continue pentru că fiecare individ are un risc sau o predispoziție de manifestare a caracterului. Peste un prag caracterul se exprimă, sub un prag este o stare de normalitate. Deși nu poate fi

observată, predispoziția poate fi dedusă din incidența caracterului printre indivizii din populație și printre rude.

### 7.3 Distribuția caracterelor cantitative

Descrierea populațiilor în termenii proporției indivizilor care au fiecare genotip posibil reprezintă *distribuția caracterelor cantitative*.

Pentru caracterele discrete distribuția caracterelor este simplă deoarece numărul claselor fenotipice este mic. Spre exemplu distribuția descendenței la mazăre este  $\frac{3}{4}$  boabe verzi și  $\frac{1}{4}$  boabe galbene. În cazul sistemului sanguin ABO, distribuția grupelor de sânge la greci este 42% grupa O, 5% grupa AB, 39% grupa A și 14% grupa B.

În cazul caracterelor continue, datorită numărului mare de fenotipuri posibile, este imposibil să le exprimăm procentual sau ca proporții. Adeseori este convenabil să reducem numărul de fenotipuri prin gruparea lor pe clase sau intervale de mărime.

Distribuția caracterelor continue are două caracteristici importante: **media** și **varianța**. Aceste valori au o mare importanță în statistica matematică.

**Media** reprezintă centrul distribuției și se estimează pe baza analizei unui eșantion reprezentativ din populație. Media ( $\bar{x}$ ) poate fi calculată pe baza relației:

$$\bar{x} = \frac{\sum f_i x_i}{N},$$

unde  $f_i$  reprezintă numărul de indivizi dintr-un interval de mărime,  $x_i$  este valoarea medie a fenotipului unui interval de mărime, iar  $N$  este numărul de indivizi din eșantion.

**Varianța** este măsura depărtării de medie și se estimează în termenii diferenței pătrate a fiecărei valori observate față de medie. Varianța ( $\sigma^2$ ) se calculează conform relației:

$$\sigma^2 = \frac{\sum f_i (x_i - \bar{x})^2}{N - 1},$$

unde  $(x_i - \bar{x})$  reprezintă diferența față de medie.

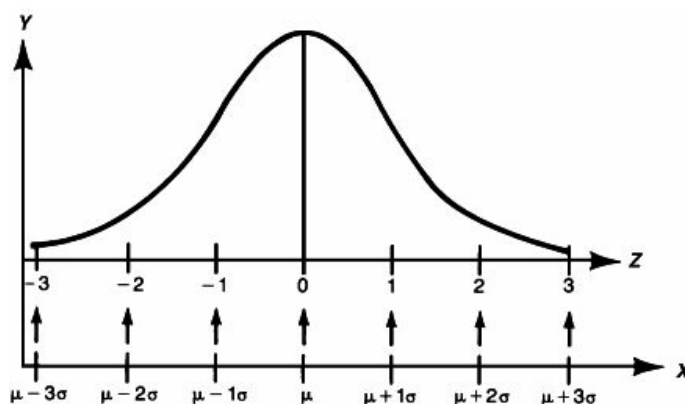
O altă măsură utilizată în descrierea distribuției caracterelor cantitative este **deviația standard** ( $\sigma$ ), care este strâns corelată cu varianța deoarece reprezintă:

$$\sigma = \sqrt{\sigma^2}$$

Deviația standard este foarte utilă deoarece se exprimă în aceleași unități de măsură ca și media.

Deoarece varianța descrie măsura în care fenotipurile sunt distribuite în jurul valorii medii, cu cât valoarea ei este mai mică cu atât distribuția fenotipurilor este mai grupată în jurul mediei.

Datele privind distribuția caracterelor cantitative sunt, de cele mai multe ori, conforme cu distribuția normală. În cazul acestui tip de distribuție 68% din populație are fenotipul situat în intervalul  $\mu \pm \sigma$ , 95% din populație între  $\mu \pm 2\sigma$  și 99,7% din populație între  $\mu \pm 3\sigma$ . Prin urmare, distribuția normală reprezintă regula pentru situațiile în care fenotipul este determinat de efectul cumulativ a numeroși factori independenți (**Figura 7.3**).



**Figura 7.3** Distribuția caracterelor cantitative

#### 7.4 Modelul predispoziție-prag pentru maladii ereditare complexe

Deși în dezvoltarea cunoștințelor privind caracterele cantitative inițial au fost abordate acele caractere care prezentau variație fenotipică continuă, în timp s-a extins teoria poligenelor la maladii multifactoriale complexe. Aceste maladii prezintă o incidență familială ridicată, care nu corespunde teoriilor mendeliene ale eredității. Maladiile complexe includ:

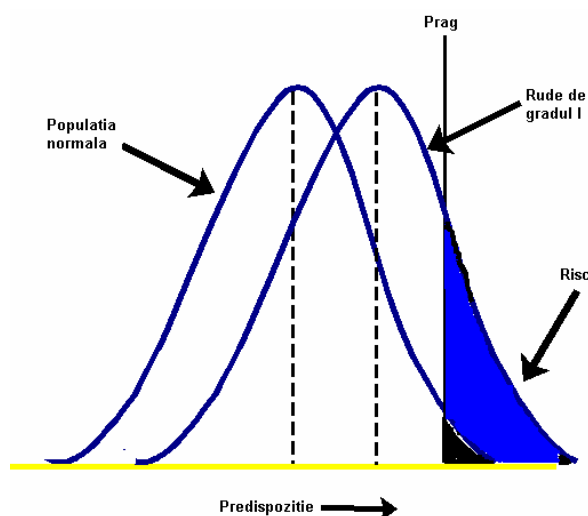
- numeroase malformații congenitale precum buza de iepure, dizlocarea congenitală de șold, boli congenitale ale inimii, defecte ale măduvei spinării, stenoza pilorică;
- numeroase maladii ale copilăriei și maturității ca astm, autism, diabet, glaucom, hipertensiune, schizofrenie, depresie maniacală, artrită reumatoidă etc.

Aceste maladii prezintă o tendință de apariție în anumite familii, deși incidența la rudele apropiate este de doar 2-4%, comparativ cu valorile mai mari observate dacă aceste maladii sunt cauzate de mutații ale unor gene.

În determinarea acestor boli intervin, așa cum era de așteptat, ambele categorii de factori: genetici și de mediu. Acest lucru nu înseamnă că se cunosc mecanismele genetice care declanșează maladiile.

Până de curând se considera că factorii de mediu interacționează cu numeroase gene și, din această interacțiune lua naștere o susceptibilitate distribuită normal. Conform acestei teorii indivizii sunt afectați dacă sunt situați la capătul „nefavorabil” al curbei distribuției. În prezent, conceptul distribuției normale, generat de poligene, fiecare acționând într-o manieră aditivă este plauzibil pentru anumite caractere fiziologice (de exemplu greutate, presiune sanguină etc.). Pentru stări de boală (diabet insulino-dependent) cercetări recente au arătat că nu există o contribuție genetică simplă, ci implică numeroși loci, dintre care unii au un rol mai important decât alții.

Conform modelului predispoziție-prag, toți factorii (gene și mediu) care influențează dezvoltarea maladiilor ereditare complexe pot fi considerați o singură entitate, denumită **predispoziție**. Predispoziția tuturor indivizilor dintr-o populație formează o variabilă continuă, care are o distribuție normală atât în populația generală, cât și la rudele indivizilor afectați. Totuși, curbele pentru predispoziție în cazul rudelor vor fi deplasate la dreapta. Măsura în care este deplasată curba este direct corelată cu gradul de rudenie (**Figura 7.4**).



**Figura 7.4** Distribuția maladiilor complexe în populația generală și în familiile cu indivizi afectați

În cazul fenotipurilor discontinue (indivizi afectați și neafectați) există un prag peste care se exprimă fenotipul anormal. Trebuie subliniat că predispoziția include toți factorii care contribuie la apariția stării de boală și nu se poate măsura. Însă,

predispoziția medie a unui grup poate fi determinată din incidența maladiei în acel grup, folosind valorile statistice ale distribuției normale (media și varianța).

Modelul predispoziție-prag este mai mult decât o ipoteză, el furnizează o explicație simplă pentru riscul familial observat pentru anumite maladii. Acest model de transmitere a maladiilor ereditare complexe are o serie de consecințe:

- incidența bolii este mai mare printre rudele pacienților cel mai sever afectați, care sunt cei mai deviați de la medie. În cazul buzei de iepure și a despicăturii palatine, incidența bolii este de 6% printre rudele celor care manifestă ambele malformații și doar 2% printre rudele celor care au doar buză de iepure.
- Riscul este mai mare la rudele apropiate și descrește rapid la rudele mai îndepărtate. De exemplu, spina bifida are risc de 4% printre rudele de gradul I, 1% printre cele de gradul II și 0,5% printre cele de gradul III.
- Dacă mai mult de o rudă este afectată, riscul este crescut pentru celelalte rude. În cazul în care doi frați au spina bifida, riscul pentru următorii frați este de 10%.
- Dacă maladia este mai frecventă la un anumit sex, rudele pacientului de sex mai puțin afectat vor avea un risc mai mare. În cazul stenozei pilorice raportul este de 5 bărbați afectați la o femeie afectată. Ca urmare, riscul ca descendenții unui bărbat afectat să sufere de stenoză pilorică este de 5,5% pentru fii și 2,4% pentru fiice. Dacă este vorba despre descendenții unei femei cu stenoză pilorică, riscul este de 19,4% pentru fii și 7,3% pentru fiice. Explicația constă în faptul că, pentru ca o femeie să fie afectată ea trebuie să fie plasată la extremitatea curbei predispoziției și, astfel, rudele apropiate vor avea o predispoziție mai mare pentru maladia respectivă. Deoarece bărbații sunt mai sensibili, riscul ca descendenții bărbați să facă boala este mult mai mare.
- Riscul recurenței pentru rudele de gradul I (frați și fii) aproximează rădăcina pătrată a incidenței în populația generală. Dacă incidența unei maladii în populația generală este 1/1000, atunci pentru frați și descendenți este

$$\sqrt{\frac{1}{1000}} = \frac{1}{32}, \text{ ceea ce reprezintă aproximativ } 3\%.$$

## 7.5 Cauzele variației caracterelor cantitative

În studiul caracterelor cantitative este foarte important să se evalueze importanța genotipului, dar și a mediului.

În unele experimente este posibil să separăm efectele genotipului și ale mediului asupra mediei. De exemplu, un ameliorator poate studia producția unor linii consangvine din medii care diferă în ceea ce privește densitatea plantelor. El poate compara producția aceluiași genotip în condiții diferite de mediu și, ca urmare se pot identifica factorii de mediu în funcție de efectul lor asupra producției vegetale. De asemenea, se pot compara producțiile diferitelor genotipuri cultivate în aceleași condiții de mediu. Astfel, se pot clasifica genotipurile în funcție de influența lor asupra producției.

În genetica umană, însă, nu sunt posibile asemenea analize. Spre exemplu, în ceea ce privește înălțimea unui individ, mediul poate fi considerat favorabil sau nefavorabil doar în comparație cu:

- înălțimea medie a unei populații identică genetic, dar provenind dintr-un mediu diferit. De altfel, o asemenea populație de referință nu există.
- înălțimea medie a unei populații diferită genetic, dar din mediu identic. Nici în această situație nu există o populație de referință.

Cu alte cuvinte, pentru populațiile umane (și nu numai) nu se poate face distincție între efectele genotipului și mediului asupra mediei. Totuși, este posibil să comparăm fenotipurile indivizilor din aceeași populație (atenție: nu mediile a două sau mai multe populații).

În orice distribuție a fenotipurilor există patru surse de variație: varianța genotipică, varianța mediului, varianța datorată interacțiunii genotip-mediu, varianța datorată asocierii genotip-mediu.

### 7.5.1 Varianța genotipică

Variația fenotipică cauzată de diferențele în ceea ce privește genotipul se numește **varianță genotipică**.

Pentru exprimarea caracterelor cantitative există alele favorabile și alele fără efect pentru exprimarea caracterului. De exemplu, dacă avem un caracter determinat de 3 gene cu câte două alele fiecare, există 6 fenotipuri posibile. Cea mai puternică exprimare a caracterului se realizează atunci când toate alelele aparțin celor care se exprimă fenotipic. Totuși, chiar și în absența variației mediului, distribuția fenotipurilor nu furnizează informații despre numărul de gene care influențează caracterul și nici despre relațiile dintre alele.

Este important să se cunoască numărul de gene care influențează un caracter cantitativ în special atunci când dorim să îmbunătățim prin selecție artificială un



asemenea caracter. Toate metodele de estimare a numărului de gene se bazează pe compararea distribuției fenotipurilor în F1 și F2 rezultate din împerecherea între linii parțial sau complet pure.

### 7.5.2 Varianța mediului

Acest tip de varianță se datorează diferențelor în ceea ce privește factorii de mediu. Reprezentarea grafică a distribuției fenotipice a unui caracter cantitativ nu face distincția între factori, cu atât mai mult cu cât varianța genotipică și a mediului pot fi rareori separate pentru că, de cele mai multe ori, acționează împreună.

În general, proporția variației caracterelor poligenice care poate fi atribuită factorilor de mediu s-a considerat a fi relativ scăzută. În prezent, se cunoaște că acest lucru nu este valabil pentru orice caracter cantitativ sau maladie ereditară complexă. Spre exemplu, comportamentul antisocial este în mare parte determinat de factori familiali. Același lucru se poate spune și despre obezitate, maladie în care sunt implicate evident obiceiuri alimentare nesănătoase ale unor familii care, în plus, posedă și o predispoziție genetică pentru această boală.

Una dintre cele mai importante relații din genetica cantitativă este:

$$\sigma_t^2 = \sigma_g^2 + \sigma_m^2,$$

unde  $\sigma_t^2$  este varianța totală,  $\sigma_g^2$  varianța genotipică, iar  $\sigma_m^2$  varianța mediului.

Conform acestei ecuații, când factorii genetici și de mediu contribuie independent la realizarea fenotipurilor, varianța totală este egală cu suma dintre varianța genotipică și varianța mediului.

### 7.5.3 Interacțiunea și asocierea dintre genotip și mediu

Deși relația de mai sus reprezintă, în unele cazuri, o bună aproximare, ea nu este corectă în totalitate decât în situația în care genotipul și mediul acționează în totalitate independent în ceea ce privește efectele asupra fenotipului. Atunci când există o interacțiune între genotip și mediu sau o relație de asociere între acești doi factori este evident că nu se poate vorbi despre o independență în influențarea distribuției fenotipice.

În cel mai simplu caz, fiecare mediu adaugă sau scade aceeași cantitate din fenotip, indiferent de genotip. În situația în care există o **interacțiune genotip-mediu**, efectele mediului diferă în funcție de genotip. Această interacțiune poate modifica

clasificarea genotipurilor, deoarece, genotipurile superioare într-un mediu pot deveni inferioare în alte condiții de mediu.

De exemplu, două soiuri de hibridi de porumb, rezultați în urma împerecherii unor linii consangvine diferite, pot avea o medie asemănătoare în ceea ce privește producția pentru toate condițiile de mediu. Totuși, unul dintre soiuri este avantajat în medii stressante (soluri mai puțin fertile, secetoase), iar altul este foarte bun în medii înalt calitative (soluri fertile, umiditate ridicată).

Pentru unele organisme, cum sunt plantele, se pot face, așadar, experimente pentru a determina contribuția interacțiunii genotip-mediu la numărul total de variații fenotipice.

La alte organisme (de exemplu, la om) efectele nu pot fi evaluate, deși este evident că atât la plante, cât și la animale, această interacțiune există. Datorită ei, nici o varietate de plante nu se va dezvolta foarte bine în orice tip de mediu, cultivatorii trebuind să folosească varietăți speciale, care să se potrivească solului pe care cresc.

Când diferențele genotipice nu sunt distribuite la întâmplare în toate mediile posibile, există o **asociere între genotip și mediu**. O asociere voită între acești factori o reprezintă hrănirea suplimentară a animalelor care dau, spre exemplu, o producție ridicată de lapte. În această situație, vitele cu genotipuri superioare în ceea ce privește producția de lapte beneficiază în plus și de condiții superioare de mediu.

Deoarece relațiile dintre factorii genetici și de mediu sunt foarte complexe, modelarea lor matematică este dificilă și, de aceea, se apelează de cele mai multe ori la simplificarea relațiilor existente.

#### 7.5.4 Analiza caracterelor cantitative

Pentru separarea efectelor genotipului și mediului asupra varianței fenotipice, utilizând relația cea mai importantă din genetica cantitativă:  $\sigma_t^2 = \sigma_g^2 + \sigma_m^2$ , sunt necesare două tipuri de date:

- varianța fenotipică a populațiilor uniforma genetic, care furnizează o estimare a varianței mediului, deoarece  $\sigma_g^2 = 0$ . Populațiile uniforme genetic sunt generația F1 rezultată în urma împerecherii dintre două soiuri înalt homozigote (exemplu: linii pure).

- varianța fenotipică a populațiilor heterogene genetic, care furnizează o estimare a varianței totale. Populațiile heterogene genetic sunt F2 ale împerecherii dintre linii pure.

Dacă condițiile de mediu sunt identice pentru ambele populații și nu există o interacțiune între genotip și mediu, atunci estimările se pot folosi pentru deducerea varianței genetice.

Să luăm ca exemplu variația mărimii ochiului la un pește bentonic din specia *Astyanax sp.*. Pentru acest experiment, toți indivizii au fost crescuți în aceleași condiții și s-au realizat împerecheri între două linii înalt homozigote. Ulterior au fost analizate generațiile F1 și F2 și s-a stabilit că:

- în F1, în care toți indivizii sunt omogeni genetic,  $\sigma_m^2 = 0,057$
- în F2,  $\sigma_t^2 = \sigma_g^2 + \sigma_m^2 = 0,563$

Din aceste date se poate calcula varianța genetică:

$$\sigma_g^2 = \sigma_t^2 - \sigma_m^2 = 0,506$$

În acest exemplu se observă că, varianța genetică este mult mai mare decât varianța mediului, însă acest lucru nu este general valabil.

Din datele asupra varianței genotipice se pot obține informații cu privire la numărul de gene implicat în exprimarea unui caracter cantitativ, precum și cu privire la heritabilitate, despre care vom discuta într-un subcapitol separat.

Atunci când un caracter cantitativ este influențat de un număr redus de gene se poate folosi varianța genetică pentru a estima acest număr.

Pentru acest lucru trebuie cunoscută media fenotipului la părinți, precum și varianța genotipică. Astfel, numărul de gene se determină din relația:

$$n = \frac{D^2}{8\sigma_g^2},$$

unde  $n$  este numărul de gene care contribuie la manifestarea caracterului, iar  $D$  este diferența dintre mediile părinților.

Pentru exemplul cu peștii din specia *Astyanax* media fenotipică a părinților este 7,05 și, respectiv 2,1, ceea ce înseamnă că  $D = 4,95$ . Înlocuind în relația anterioară constatăm că  $n = 6$ . Acest număr este *numărul minim de gene* care poate fi calculat din aceste date.

De fapt, relația matematică prin care se poate calcula numărul de gene ce afectează un caracter cantitativ se bazează pe o serie de presupuneri care nu sunt neapărat valabile, și anume:

- 
- toate generațiile sunt crescute în aceleași condiții de mediu,
  - alelele fiecărei gene sunt aditive,
  - genele contribuie egal la caracterul respectiv,
  - genele nu sunt linkate,
  - părinții sunt homozigoți pentru alelele alternative ale fiecărei gene.

Dacă unele dintre aceste condiții nu sunt îndeplinite, atunci numărul de gene calculat este mai mic ca numărul real de gene care afectează caracterul. Valoarea calculată, reprezintă, de fapt, numărul minim de gene, deoarece majoritatea deviațiilor de la presupunerile inițiale conduc la o valoare mai mică a varianței genetice în F2.

Determinarea numărului de gene este importantă pentru selecția artificială. Astfel, caracterele determinate de un număr mic de gene au un potențial redus de modificare, deoarece, cele mai bune genotipuri din populație diferă foarte puțin față de medie. Pentru caracterele determinate de un număr mare de gene, împerecherile selective pot crea populații îmbunătățite, în care valoarea fiecărui individ depășește cu mult valoarea celui mai bun individ care a existat în populația inițială. Acest lucru pare paradoxal, pentru că într-o populație suficient de mare fiecare genotip posibil există cu o frecvență mai mică. Însă, populațiile reale supuse împerecherilor selective constau în mod obișnuit din câteva sute de indivizi și, de aceea, multe dintre genotipurile posibile teoretic nu se formează niciodată. Sub acțiunea selecției, frecvența alelică se modifică, unele genotipuri devin comune și permit, în generația următoare selectarea organismelor superioare.

## 7.6 Heritabilitatea

Conceptul de heritabilitate a derivat de la cei care se ocupau de ameliorarea soiurilor de plante. Această noțiune este legată de măsura în care o anumită caracteristică a unui individ este rezultatul a ceea ce a moștenit, a mediului sau a unei combinații dintre cele două. Cu alte cuvinte, **heritabilitatea este raportul statistic care estimează pentru un anumit caracter cantitativ proporția diferențelor caracterului observate în populația generală și care poate fi atribuită influențelor genetice.**

În funcție de cum este influențată variația caracterelor în populație există două tipuri de heritabilitate: heritabilitate **în sens restrâns** și heritabilitate **în sens larg**.

**Heritabilitatea în sens restrâns** reprezintă proporția varianței care se datorează factorilor genetici transmisibili, respectiv efectului aditiv al genelor, independent de interacțiunea dintre alele, dintre loci și cu mediul. Acest tip de heritabilitate este mai util pentru specialiștii în ameliorare.

**Heritabilitatea în sens larg** este varianța datorată diferențelor genetice, indiferent de originea lor, aditivă sau interactivă.

Heritabilitatea ( $H^2$ ) se determină din raportul dintre varianța genotipică și varianța totală conform relației:

$$H^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_t^2}.$$

În exemplul cu *Astyanax*  $H^2 = \frac{0,506}{0,563} = 0,9$ , ceea ce înseamnă că 90% din variația în

privața diametrului ochilor se datorează diferențelor dintre genotipuri, nu că 90% din diametrul ochilor este explicat de gene.

Deoarece heritabilitatea este o proporție a varianței totale, estimarea ei variază în funcție de factorii genetici și de mediu. Dacă o populație este formată din indivizi identici genetici, heritabilitatea în sens restrâns este 0.

Între heritabilitate și determinarea genetică există deosebiri, deoarece modificarea mediului poate avea consecințe dramatice asupra fenotipului. De exemplu, pentru înălțimea la om heritabilitatea este de 90%, dar media înălțimii la populații vestice a crescut între 1920 și 1970 cu 1cm/deceniu, deși genele din populație nu s-au modificat substanțial. În populațiile mari cu împerechere întâmplătoare, în mod normal, orice modificare a genelor durează secole.

Tabel 7.1 Valori ale heritabilității în sens restrâns ale unor caractere și maladii umane

Caracterul sau maladia	Heritabilitatea (%)
Înălțime	90
Greutate	63
Longevitate	29
Abilitate verbală	63
Abilitatea numerică	76
Memorie	47
Schizofrenie	85
Astm	80
Buză de iepure	76
Stenoză pilorică	75
Hipertensiune	62
Dizlocare congenitală de șold	60

Estimarea heritabilității dă informații cu privire la importanța relativă a factorilor genetici; cu cât heritabilitatea este mai mare, cu atât factorii genetici sunt mai importanți. Heritabilitatea poate fi dedusă:

- din gradul de asemănare dintre rude, exprimat drept **coeficient de corelație**, folosind caracteristicile distribuției normale;
- folosind datele **concordanței** la gemenii monoziagoți și dizigoți. Concordanța reprezintă proporția gemenilor monoziagoți care au același caracter cantitativ, când unul dintre membrii perechii are caracterul respectiv.

În **Tabelul 7.1** sunt prezentate câteva valori ale heritabilității pentru unele caractere poligenice umane, precum și pentru unele maladii ereditare complexe.

## 7.7 Selecția artificială

**Selecția artificială** este practică de amelioratori, care selectează un grup de indivizi dintr-o populație, indivizi care vor deveni părinți pentru generația următoare. Selecția artificială poate fi folosită atât în populații cu reproducere asexuată, cât și în populații cu reproducere sexuată.

În **populațiile cu reproducere asexuată** selecția artificială constă în alegerea celui mai bun organism sau a celei mai bune subpopulații dintr-o serie de populații naturale care se reproduc prin strânsă consangvinizare (de exemplu prin autopolenizare). În asemenea populații heritabilitatea în sens larg permite evaluarea vitezei cu care se îmbunătățește populația. Prin clonare se perpetuează genotipurile superioare fără a distruge prin segregare mendeliană combinația favorabilă de gene. În populațiile cu reproducere sexuată, heritabilitatea în sens larg nu este relevantă pentru predicția progresului rezultat prin selecție artificială. Genotipurile superioare sunt distruse în procesul reproducerii sexuate prin segregare și recombinare genetică. De exemplu, ca rezultat al împerecherii unor indivizi cu genotip superior și care este heterozigot pentru doi loci AaBb,  $\frac{1}{4}$  dintre descendenți vor avea același genotip favorabil ca părinții, iar restul sunt inferiori genetic. Fiecare generație de selecție artificială va determina o reducere a acestei superiorități.

Totuși, heritabilitatea în sens restrâns poate fi folosită pentru realizarea de predicții asupra rezultatelor selecției artificiale în populații cu reproducere sexuată.

Pentru a înțelege aceste aspecte vom discuta efectele selecției artificiale aplicată la specia *Nicotiana longiflora*, la care plantele se selectează în funcție de lungimea corolei. Indivizii folosiți pentru încrucișare sunt aleși în funcție de un anumit nivel al fenotipului numit punct de trunchiere. În cazul *N. longiflora* se folosesc indivizi cu corola mai lungă de 77mm (aceasta e valoarea punctului de trunchiere).

Pentru calcule se folosesc trei medii:

- $M$  = media fenotipică a întregii populații din generația parentală (indivizi selectați + indivizi neselectați). La *N. longiflora*  $M=70\text{mm}$ .
- $M^*$  = media fenotipică a indivizilor selectați ca părinți ( $M^*=81\text{mm}$ )
- $M'$  = media fenotipică a descendenților indivizilor selectați ( $M'=77\text{mm}$ ).

Între cele trei medii există următoarea relație matematică:

$$M' = M + h^2(M^* - M) \Rightarrow h^2 = \frac{M' - M}{M^* - M} \Rightarrow h^2 = \frac{77 - 70}{81 - 70} = 0,64$$

Reamintim că heritabilitatea în sens restrâns ( $h^2$  în ecuația de mai sus) include doar efectele aditive ale genelor; cu alte cuvinte măsoară cât de similari sunt descendenții cu părinții. În general, heritabilitatea în sens larg are valoare mai mare decât cea în sens restrâns. Dacă cele două heritabilități sunt egale, alele care afectează caracterul nu prezintă relație de dominanță.

Cunoașterea valorii heritabilității în sens restrâns, a mediei populației parentale și a mediei indivizilor selectați permite calcularea mediei descendenților indivizilor selectați după una sau mai multe generații de selecție artificială.

### 7.7.1 Selecția artificială pe termen lung

Atât selecția naturală, cât și selecția artificială sporesc frecvențele alelelor care îmbunătățesc caracterul selectat.

Selecția artificială este mai eficientă în modificarea frecvenței alelelor din domeniul 0,2-0,8, mai puțin eficientă când sunt în afara acestui domeniu și foarte puțin eficientă pentru alelele rare recesive.

Pentru caracterele cantitative, inclusiv pentru fitness, selecția acționează asupra tuturor genelor care influențează caracterul. Coeficientul de selecție care afectează fiecare alelă este determinat de mărimea efectului alelelor, de frecvența alelelor, de numărul total de gene care determină caracterul, de proporția din populație selectată pentru împerechere și de heritabilitate. Dacă frecvența alelei este 1 sau 0, heritabilitatea este 0.

Heritabilitatea pentru un caracter descrește pe parcursul a mai multe generații de selecție artificială, ca rezultat al apropierii frecvențelor alelice de valoarea 1. De exemplu, zece generații de selecție artificială asupra porcilor din rasa Duroc a determinat descreșterea heritabilității de la 73% la 30% datorită modificării frecvențelor alelice.

Este evident că îmbunătățirea populațiilor prin intermediul selecției artificiale nu poate continua la nesfârșit; populația răspunde la selecție doar până când media

caracterului respectiv diferă de media populației inițiale cu două deviații standard. Astfel, populația atinge o limită a selecției peste care generațiile succesive nu vor mai manifesta nici o îmbunătățire.

Creșterea caracteristicilor favorabile ale populației sunt stopate dacă:

- alelele se fixează sau se pierd din populație
- selecția naturală contrabalansează efectele selecției artificiale. Numeroase gene răspund la selecția artificială datorită efectului favorabil asupra unui anumit caracter, dar au efect indirect asupra fitnessului. De exemplu, selecția artificială pentru creșterea mărimii ouălelor sau a taliei la majoritatea animalelor induce o scădere a fertilității.

Când un caracter (exemplu: mărimea taliei) modifică în cursul selecției artificiale un caracter diferit (fertilitatea în cazul acesta), caracterul neselectat are un **răspuns corelat** la selecție.

Răspunsul corelat al fitnessului este foarte obișnuit în cazul selecției pe termen lung și fiecare îmbunătățire a unui caracter selectat este parțial mascată de descreșterea fitnessului datorită acestui răspuns.

### 7.7.2 Depresia consangvinizării și heterozisul

Consangvinizarea poate avea efect dăunător asupra caracterelor de importanță economică, acest declin al performanțelor fiind cunoscut ca **depresia consangvinizării**. Cauza principală a depresiei consangvinizării o reprezintă homozigotarea alelelor recesive dăunătoare. Majoritatea raselor, varietăților, soiurilor înalt consangvine suferă de numeroase defecte genetice, de obicei mai multe decât erau de așteptat.

Totuși, în general când două soiuri diferite, înalt consangvine se împerechează indivizii din F1 vor avea trăsături îmbunătățite. Acest lucru se datorează mascării alelei recesive dăunătoare moștenită de la un părinte de către alela normală dominantă de la celălalt părinte. Cu alte cuvinte, F1 este superioară liniilor parentale. Fenomenul este cunoscut ca **heterozis** sau **valoarea hibrizilor**.

Prin heterozis se obțin, spre exemplu, plante hibride identice genetic și cu caracteristici mai favorabile decât ale plantelor ancestrale din care provin părinții consangvini. Dintre caracteristicile plantelor hibride pot fi menționate: creșterea mai rapidă, mărimea mai mare, producția mai mare, varianța genotipică egală cu zero. Cultivatorii preferă plantele hibride datorită uniformității lor (înălțime uniformă, timp de



coacere identic etc.), ceea ce favorizează recoltarea mecanizată. Din această cauză s-a dezvoltat o adevărată industrie de producere a semințelor hibride.

## 7.8 Metode de studiu utilizate în genetica cantitativă

Analiza caracterelor cantitative se bazează pe mai multe tipuri de studii: studii familiale, studiul gemenilor monoziгоți și dizigoți și studiul adopțiilor. Aceste tipuri de studii nu se exclud reciproc și se folosesc combinat.

### a) Studiile familiale

Acest tip de abordare examinează la nivelul familiilor posibilitatea manifestării cu frecvență crescută a caracterelor multifactoriale sau a maladiilor ereditare complexe la rudele celor care posedă caracterul și boala, comparativ cu rudele celor care nu au acel caracter.

Dacă incidența este mai mare la rudele indivizilor afectați se consideră că acel caracter este familial. Similaritatea rudelor biologice este estimată prin intermediul **coeficientului de corelație**. Dacă acesta are valoarea 0 nu există nici o similaritate între rude. Valoarea maximă a acestui coeficient este 1, ceea ce corespunde unei similitudini perfecte.

O corelație pozitivă arată că acel caracter este familial, dar asta nu înseamnă că este neapărat genetic. Cu alte cuvinte, studiile familiale nu furnizează dovezi clare cu privire la contribuția genetică în apariția unei maladii sau a unui caracter poligenic.

### b) Studiul gemenilor

Gemenii pot proveni din același ovul fecundat (monoziгоți) și în această situație, din punct de vedere genetic sunt identici. Gemenii dizigoți sunt asemănători altor frați, având aproximativ 50% dintre gene în comun. Existența unei similarități mai mari între monoziгоți comparativ cu dizigoții indică influența factorilor genetici.

Studiul gemenilor permite determinarea proporției din variația fenotipică care se datorează factorilor genetici și a proporției datorate factorilor de mediu. Deși foarte utile, studiile asupra gemenilor se bazează pe niște prezumții care nu sunt în totalitate corecte, deoarece:

- se consideră că sunt supuși unor factori de mediu foarte asemănători
- se ignoră rolul mediului prenatal
- rezultatele obținute nu pot fi ușor extrapolate la frații obișnuiți

- deși se consideră că monoziagoții au același genom, ei nu sunt cu adevărat identici. La modul general, dezvoltarea intra și extrauterină este un proces complex și nu se cunosc toate mecanismele biologice care determină diferențele dintre ei.

Spre exemplu, numărul de creste epidermale este un alt caracter determinat genetic, dar care răspunde și la influența factorilor de mediu. În perioada cuprinsă între a șasea și a treisprezecea săptămână de viață intrauterină modelul creștelor, cu alte cuvinte, amprente digitale, se modifică, ca urmare a atingerii de sacul amniotic. În acest mod se explică de ce amprente gemenilor identici (monoziagoți) sunt diferite, deși aceștia au exact aceleași gene.

### **c) Studiul adopțiilor**

Acest tip de studiu implică studiarea rudelor biologice ale indivizilor care au fost adopțați. Dacă se dovedește că în cazul unui caracter indivizii înrudiți genetic sunt mai asemănători decât rudele adoptive este evident că predomină factorii genetici. În situația inversă, când există o asemănare mai mare cu familia adoptivă, prevalenți sunt factorii de mediu.

Studiul adopțiilor este util pentru examinarea importanței factorilor genetici și de mediu și pentru stabilirea interacțiunii dintre gene. Ele dovedesc că genele și mediul pot avea o influență interactivă, efectele mediului nefavorabil fiind mult mai evidente atunci când există și o susceptibilitate genetică.

Totuși, această abordare prezintă și dezavantaje, deoarece copii adopțați nu sunt plasați întâmplător în familiile adoptive, iar adopția în sine este un eveniment rar și neobișnuit.

## **7.9 Identificarea genelor implicate în determinarea caracterelor cantitative și în apariția maladiilor multifactoriale**

Identificarea genelor implicate în exprimarea caracterelor cantitative este dificilă, deși în decursul timpului, s-au întreprins numeroase cercetări, care în cele mai multe cazuri nu au putut fi reproduse.

Pentru a putea stabili care gene determină un caracter multifactorial trebuie examinați un număr mare de indivizi, trebuie folosite metode statistice foarte riguroase pentru eliminarea rezultatelor fals pozitive și nu în ultimul rând trebuie reduse pe cât posibil sursele de eroare. Pentru identificarea poligenelor se utilizează

mai multe tipuri de abordări: studiul genelor candidat, analize de linkage și studii de asociere.

#### **a) Studiul genelor candidat**

Cel mai simplu mod de a explica cum se realizează studiul genelor candidat o reprezintă maladiile multifactoriale.

Uneori, natura unei maladii sugerează posibilitatea examinării unor anumite **gene candidat**, chiar înainte de a realiza o analiză a întregului genom. Spre exemplu, pentru diabetul de tip 1, care este o maladie autoimună care determină distrugerea celulelor  $\beta$  pancreatice poate exista o corelație cu imunitatea celulară sau cu secreția de insulină. Cu alte cuvinte, între genele candidat pot fi incluse gene ale complexului de histocompatibilitate (genele HLA) de pe cromozomul 6, precum și gene de pe cromozomul 11, care codifică sinteza insulinei. Aceste gene candidat au fost studiate ulterior prin metoda asocierii și s-a dovedit că anumite alele se asociază cu risc crescut de apariție a bolii.

Alteori, însă, studiile de cartare identifică regiuni din genom în care există o alelă susceptibilă, iar examinarea ulterioară a regiunii stabilește o posibilă genă candidat.

#### **b) Analiza de linkage**

Aceste analize sunt foarte utile pentru caracterele monogenice, urmărindu-se transmiterea înlănțuită a unui marker genetic cu alela care determină caracterul.

Dintre markerii genetici, cei mai des utilizați sunt STRP-urile (**S**ingle **T**andem **R**epeat **P**olymorphism), deoarece sunt răspândiți în întreg genomul.

În cazul caracterelor cantitative metoda implică monitorizarea markerilor genetici împreună cu caracterul pe parcursul a câteva generații succesive, iar ulterior analiza statistică a markerilor genetici care sunt cei mai buni în predicția acestor caractere.

Analizele de linkage sunt foarte dificile pentru caracterele și bolile multifactoriale pentru că:

- este improbabil ca alelele dintr-un anumit locus să aibă o contribuție majoră, astfel că, matematic este dificil să se dezvolte o strategie pentru detectarea linkage-ului poligenelor aditive,
- majoritatea maladiilor poligenice au o vârstă variabilă de debut, ceea ce face să nu se cunoască statusul genetic al indivizilor neafecțați din familie,

- maladiile multifactoriale sunt heterogene etiologic, cu mecanisme genetice și de mediu care generează anumite subtipuri ale bolilor, care nu pot fi distinse ușor la nivel fenotipic.

Totuși aceste studii de linkage sunt utile dacă pentru identificarea alelelor sau regiunilor din cromozom implicate se folosesc rezultatele furnizate de studiul gemenilor. Ulterior identificării regiunilor cromozomiale se face o cartare fină, folosind ca metodă analiza dezechilibrelor de linkage. Genele candidat dintr-o anumită regiune sunt secvențiate pentru a descoperi variantele care pot fi asociate cu caracterul sau maladia.

### **c) Studiile de asociere**

Studiile de asociere sunt folosite în special în cazul maladiilor ereditare complexe și se realizează prin compararea incidenței unei variante fenotipice la pacienți, comparativ cu incidența aceleiași variante într-un grup de control (sau lot martor). Din această cauză studiile de asociere sunt denumite și studii caz-control.

Dacă incidența în cele două grupuri diferă semnificativ, rezultatele reprezintă dovezi pentru asocieri pozitive sau negative.

În studiile de asociere importantă este interpretarea rezultatelor. Astfel, asocierea trebuie să fie plauzibilă din punct de vedere biologic, iar ambele loturi trebuie să se potrivească în ceea ce privește multe caracteristici ce nu țin neapărat de structura genetică.

Identificarea unui locus care pare să fie corelat cu susceptibilitatea la o anumită maladie multifactorială nu înseamnă că a fost identificată gena.

Descoperirea locilor implicați în manifestarea caracterelor cantitative este încă un deziderat nerezolvat de geneticieni. Nu se poate nega, însă, că în ultimii ani s-au făcut progrese, în special datorită secvențierii genomului uman și identificării unui număr mare de markeri genetici care pot fi utilizați în studiile de linkage.

## BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

- Bond W.J., 1994 – *Keystone species*. In: Biodiversity and ecosystem functions, Springer Verlag, Berlin, p. 237-253.
- Botnariuc N., 1979 – *Biologie generală*, Ed. did. și ped., București, 425p.
- Botnariuc N., 1992 – *Evoluționismul în impas?*, Ed. Acad. Române, București, 286p.
- Botnariuc N., 2003 – *Evoluția sistemelor biologice supraindividuale.*, Ed. Acad., București.
- Botnariuc N., Vădineanu A., 1982 – *Ecologie*, Ed.did. și ped., București, 438p.
- Bougneres P., 2002 – *Genetics of obesity and type 2 diabetes*. Diabetes, vol. 51, suppl. 3, p. 295-303.
- Brack A. (Ed.), 1999 – *The molecular origins of life: Assembling pieces of the puzzle*. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Brandon R.N., 1995 - *Concepts and methods in evolutionary biology*. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Bush G.L., 1994 – *Sympatric speciation in animals*. TREE, 9, p. 285-288.
- Campbell A.M., Heyer L.J., 2002 – *Discovering genomics, proteomics and bioinformatics*, Benjamin Cummings, USA, 352 p.
- Campbell N.A., Reece J.B., 2005 – *Biology, 7-th Ed.*, Benjamin/Cummings Publishing Company, USA.
- Campbell N.A., 1993 – *Biology , 3-rd Rd.*, Benjamin/Cummings Publishing Company, USA.
- Cavalli-Sforza L., 1997 – *Genes, peoples and languages*. Proc. Natl. Acad. Sci USA, 94, p. 7719-7724.
- Ciolpan O., 2005 – *Monitoringul integrat al sistemelor ecologice*, Ed. Ars Docendi, București, 294p.
- Cogălniceanu D., 1999 – *Managementul capitalului natural*, Ed. Ars Docendi, București, 222p.
- Constanza R., 1997 – *The value of the world's services and natural capital*. Nature 387, p. 253-260.
- DeLong D.C., 1996 – *Defining biodiversity*. Wildlife Society Bulletin, 24, p. 738-749.
- Ehrlich P.R., Daily G.C., 1993 – *Population extinction and saving biodiversity*. Ambio, 22, p. 64-68.
- Elseth G.D., Baumgardner K.D., 1995 – *Principles of modern genetics*. West Publishing Company. St.Paul. 587-674 p.
- Gavrilă L., Ardelean A., Dăbală I., Soran V., 1994 – *Evoluționism*, Ed. Mirton, Timișoara, 212p.
- Gesteland R.T., Cech T., Atkins J., 1999 – *The RNA world*. Cold Spring Harbour Lab. Press.
- Gillespie J.H., 1998, *Population genetics. A concise guide*. John Hopkins University Press, UK, 174 p.
- Halliburton R., 2004 – *Introduction to population genetics*. Pearson Ed. Inc, USA, 650 p.
- Hartl D.L., Clark A.G., 1997 – *Principles of population edition*. 3rd Ed. Sunderland, MA: Sinauer Associates.

- 
- Hartl D.L., Freifelder D., Snyder L.A., 1988 – *Basic genetics*, Jones and Bartlett Publisher, USA, 505 p.
  - Hartl L.D. 1989– *A primer of population genetics* , Sinauer Associates, USA.
  - Hawley R.S., Mori C.A, 1999 – *The human genome. A user guide.*, Harcourt/Academic Press, USA, 415 p.
  - Hirschhorn J.N, 2005 – *genetic approaches to studying common diseases and complex traits*. Ped. Research, 57/5, p. 4-77.
  - Hoelzel A.R., 1998 – *Molecular genetic analysis og populations. A practical approach*. 2nd Ed., Oxford University Press, 445 p.
  - Hugues J.B., Daily G.C., Ehrlich P.R., 1997 – *Population diversity: its extent and extinction*. Science, 278, p. 689-691.
  - Kimura M., 1983 – *The neutral theory of molecular evolution*. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
  - Levinson D.F., 2003 – *Molecular genetics of schizofrenia: a review of recent literature*. Curr. Opin. Psychiatry, 16, p. 157-170.
  - Lewin B., 1997 – *Genes*, Oxford University Press, USA, 1260 p.
  - Lewis R., 1999 – *Human genetics. Concepts and applicatins*. 3rd Ed., McGraw-Hill, 420 p.
  - Lode T., 1998 – *Cours de genetique des population*. Ellipses/Ed. Marketing, Paris, 126 p.
  - Lowe A., Harris S., Ashton P. 2004– *Ecological genetics, design, analysis and application*, Blackwell Publishing Company, United Kingdom.
  - Luft F.C, 2004 – *genetics of essential hypertension*. Journal of Am. Heart Ass., 43, p. 1155-159.
  - Magurran A.E, May R. (Ed.), 1999 – *Evolution of biological diversity.*, Oxford/New York: Oxford Univ. Press.
  - Margulis L., Fester R. (Ed.), 1998 – *Five kingdoms*. 3-rd Ed., New Zork, W.H. Freeman.
  - Mayr E., 2004 – *De la bacterii la om. Evoluția lumii.*, Ed. Humanitas, București, 374p.
  - Meffe G.K., Carroll R., 1994 – *Principles of bioconservation*. Sinauer Associates Inc., Sunderland.
  - Odum E.P., 1993 – *Ecology of our endangered life-suport systems*. Sinauer Associates Inc., Sunderland.
  - Popa R., 2004 – *Between necesity and probability: Searching for the definition and origin of life.*, Speinger-Verlag Berlin Heidelberg, Germany, 252p.
  - Shaffer M.L., 1981 – *Minimum population size for conservation*. BioScience, 31, 131-134.
  - Singh R.S., Krimbas C.B., 2000 – *Evolutionary genetics: From Molecules to morphology*. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
  - Starr C., Taggart R., 1992 – *Diversity of life*. Pacific Grove, California, Brooks Cole.
  - Stoica I., Vassu-Dimov T., Săsărman E., 2002 – *Biologia și taxonomia moleculară a microorganismelor*. Colecția de culturi microbiene., Ed. Arvin Press, 180p.
  - Sudbery P., 2002 – *Human molecular genetics*. 2nd Ed., Pearson Ed. Limited., UK, 364 p.
  - Tamarin R.H., 1999 – *Principles of genetics*. The McGraw-Hill Comp., 684 p.
  - Vassu T., Stoica I., Csutak O., Mușat F., 2001 – *Genetica microorganismelor și inginerie genetică microbiană. Note de curs și tehnici de laborator*. Ed. Petron., București, 256 p.
-

- 
- Vădineanu A., 1998 – Dezvoltarea durabilă. Teorie și practică. Ed. Univ. București, 247 p.
  - Weissman S.M., 1995 – *Genetic bases for common diseases*. PNAS, 92, p. 8543-8544.
  - Silva E.P., Russo C.A., 2000 – *Techniques and statistical data analysis in molecular population genetics*. Hydrobiologia, 420, p. 119-135.
  - Levin B. R., Bergstrom C.T, 2000 – *Bacteria are different: observations, interpretations, speculations, and opinions about the mechanisms of adaptative evolution in prokariotes*. PNAS, 97/13, p. 6981-6985.
  - Cohan M.F., 2002 – *What are bacterial species*. Ann. Rev. Microbiol, 56, p. 457-487.