

LA LEGGE DI HARDY-WEINBERG

INTRODUZIONE

Nel 1908, il matematico britannico Godfrey Hardy e il medico tedesco Wilhelm Weinberg dedussero le condizioni necessarie perché la struttura genetica di una popolazione rimanga invariata nel tempo. Definirono "popolazione in equilibrio" una popolazione all'interno della quale le frequenze alleliche rimangono costanti da una generazione all'altra e le frequenze genotipiche sono ricavabili da quelle alleliche. Le condizioni che devono essere soddisfatte affinché una popolazione si trovi all'equilibrio di Hardy-Weinberg (HWE) sono le seguenti:

- Gli accoppiamenti devono essere casuali
- La popolazione deve essere di grandi dimensioni (teoricamente infinita)
- Non deve esserci flusso genico (migrazioni di alleli dentro o fuori una popolazione)
- Non ci devono essere mutazioni
- Non si deve verificare selezione naturale

Se queste condizioni sono idealmente soddisfatte, le frequenze alleliche entro una popolazione rimangono costanti per un periodo indefinito di tempo. Tale equilibrio è espresso dalla *Legge di Hardy-Weinberg*, ovvero dall'equazione $p^2 + 2pq + q^2 = 1$, dove p indica la frequenza di un allele e q la frequenza dell'altro allele. p più q deve sempre essere uguale a 1 (cioè il 100% degli alleli di quel particolare gene nel pool genico). L'espressione p^2 indica la frequenza di individui omozigoti per un allele, q^2 la frequenza di individui omozigoti per l'altro allele e $2pq$ la frequenza degli eterozigoti.

Il venir meno di una o più delle condizioni precedentemente elencate determina un cambiamento nelle frequenze alleliche, ovvero un'evoluzione. Pochissime popolazioni naturali sono in perfetto equilibrio.

CAPITOLO 1

GENETICA DELLE POPOLAZIONI (Concetti preliminari)

La *genetica delle popolazioni* è una branca della biologia che studia la costituzione genetica delle popolazioni biologiche e del cambiamento di questa composizione per l'influsso delle quattro forze evolutive: selezione naturale, deriva genetica, mutazione e migrazione. E' cioè lo studio dell'origine e della dinamica della variabilità genetica fra individui e popolazioni nel tempo e nello spazio.

Il termine "popolazione" può essere definito in vari modi, ma nel senso più comune della parola, è un'insieme di persone o organismi di una particolare specie vivente in una determinata area geografica. In biologia, una popolazione è la più piccola unità nella quale è possibile il cambiamento evolutivo, perchè permette l'origine di nuovi alleli e il cambiamento della loro frequenza. La variabilità genetica è la base sulla quale agisce l'evoluzione.

Basilare è il concetto di *frequenza*: rapporto tra il numero degli elementi con una data proprietà e il numero totale di elementi dell'insieme. La frequenza è ovviamente compresa tra 0 e 1.

Per studiare la variabilità genetica possiamo considerare:

- Frequenze alleliche (o geniche)
- Frequenze genotipiche

Consideriamo ad esempio un locus¹ in cui sono presenti due alleli: A e a.

Le frequenze alleliche sono

$$p = f(A) \quad \text{e} \quad q = f(a)$$

dove abbiamo indicato con p la frequenza di A e con q la frequenza di a. Queste devono soddisfare la relazione $p + q = 1$.

Le frequenze genotipiche le indichiamo con

$$P = f(AA) \quad H = f(Aa) \quad Q = f(aa)$$

e verificano l'equazione $P + H + Q = 1$.

Vediamo ora quale rapporto esiste tra frequenze alleliche e genotipiche. Se indichiamo con n il numero di individui del campione e con n_{AA} e n_{Aa} il numero di individui AA e Aa rispettivamente otteniamo

$$p = \frac{(2n_{AA} + n_{Aa})}{2n} = \frac{2n_{AA}}{2n} + \frac{n_{Aa}}{2n} = \frac{n_{AA}}{n} + \frac{1}{2} \frac{n_{Aa}}{n} = P + \frac{H}{2}$$

e in maniera del tutto analoga che

$$q = Q + \frac{H}{2}$$

¹ Posizione di un gene all'interno di un cromosoma. Un locus può essere occupato da uno qualsiasi degli alleli del gene. Cellule diploidi omozigoti possiedono il medesimo allele AA, cellule eterozigoti possiedono alleli diversi Aa.

CAPITOLO 2

PRINCIPIO DI HARDY-WEINBERG

Nel 1908, due scienziati, Godfrey H. Hardy, un matematico inglese, e Wilhelm Weinberg, un medico tedesco, lavorarono indipendentemente ad una legge matematica che mette in relazione le frequenze alleliche a quelle genotipiche. Il loro concetto matematico, chiamata *legge di Hardy-Weinberg*, è un punto chiave in genetica delle popolazioni. Essa prevede come le frequenze alleliche saranno ereditate di generazione in generazione dato un insieme specifico di ipotesi (presupposti del modello di HW). Il principio di Hardy-Weinberg afferma che in una grande popolazione dove gli incontri avvengono casualmente, le frequenze alleliche rimarranno le stesse di generazione in generazione assumendo che non vi siano alcuna mutazione, migrazione di geni, selezione o deriva genetica. Questo principio è importante poichè fornisce ai biologi uno standard da cui partire per misurare i cambiamenti nella frequenza degli alleli in una popolazione.

Legge di Hardy-Weinberg

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

Per illustrare il funzionamento della legge di HW, consideriamo il gruppo sanguigno Mn. Alla prima generazione di individui, se p è la frequenza allelica di M e q è la frequenza allelica di n , le frequenze genotipiche manterranno i seguenti rapporti:

- Frequenza del genotipo $MM = f(MM) = p^2$
- Frequenza del genotipo $Mn = f(Mn) = 2pq$
- Frequenza del genotipo $nn = f(nn) = q^2$

Infatti si dimostra che perchè nasca un individuo con genotipo MM servirà la coincidenza di un gamete maschile M e pure di uno femminile M . Poichè i due fatti sono indipendenti, la probabilità del prodotto è il prodotto delle probabilità, per cui:

$$f(MM) = Pr(MM) = Pr(\text{gamete maschile } M) * Pr(\text{gamete femminile } M) = p * p = p^2$$

e lo stesso varrà per tutti gli omozigoti (MM o nn).

Gli eterozigoti (Mn) si possono ottenere in due modi: M dal padre e n dalla madre o viceversa. Ognuno dei due casi ha probabilità pq , per cui:

$$f(Mn) = Pr(Mn) = Pr[(\text{maschile } M \text{ e femminile } n) \text{ o } (\text{femminile } M \text{ e maschile } n)] = pq + qp = 2pq$$

Possiamo rappresentare il processo della formazione di uno zigote mediante un *Diagramma di*

Punnet, in cui le frequenze alleliche sono rappresentate dalla lunghezza di un segmento su due assi cartesiani di lunghezza 1, così che la frequenza di ciascun genotipo è rappresentata dal prodotto di due frequenze, cioè dall'area di un quadrilatero.

	p M	q n
p M	p^2 MM	pq Mn
q n	pq Mn	q^2 nn

Diagramma di Punnet

Calcoliamo ora, attraverso l'utilizzo di un grafico, i genotipi e le frequenze alleliche della seconda generazione di individui, ricordando che stiamo supponendo di essere nel caso di *accoppiamento casuale* o "*random mating*".

Possibili incroci	Probabilità dell'incrocio	Frequenza degli zigoti		
		MM	Mn	nn
MM x MM	P^2	1	0	0
MM x Mn	$2PH$	1/2	1/2	0
MM x nn	$2PQ$	0	1	0
Mn x Mn	H^2	1/4	1/2	1/4
Mn x nn	$2HQ$	0	1/2	1/2
nn x nn	Q^2	0	0	1
Totale generazione successiva		P'	H'	Q'

$$P' = P^2 + \frac{1}{2}(2PH) + \frac{1}{4}(H^2) = \left(P + \frac{H}{2}\right)^2 = p^2$$

$$H' = \frac{1}{2}(2PH) + 2PQ + \frac{1}{2}(H^2) + \frac{1}{2}(2HQ) = 2\left(P + \frac{H}{2}\right)\left(Q + \frac{H}{2}\right) = 2pq$$

$$Q' = \frac{1}{4}(H^2) + \frac{1}{2}(2HQ) + Q^2 = \left(Q + \frac{H}{2}\right)^2 = q^2$$

inoltre

$$p' = P' + \frac{(H')}{2} = p^2 + \frac{(2pq)}{2} = p^2 + pq = p(p+q) = p$$

$$q' = Q' + \frac{(H')}{2} = q^2 + \frac{(2pq)}{2} = q^2 + pq = q(q+p) = q$$

Siamo giunti alla conclusione che:

- Le frequenze degli alleli in una popolazione presa ad esame rimangono costanti.
- Le relative frequenze dei diversi genotipi sono rimaste le stesse dopo la prima generazione.

Se queste condizioni sono verificate allora possiamo parlare di **equilibrio di Hardy-Weinberg**.

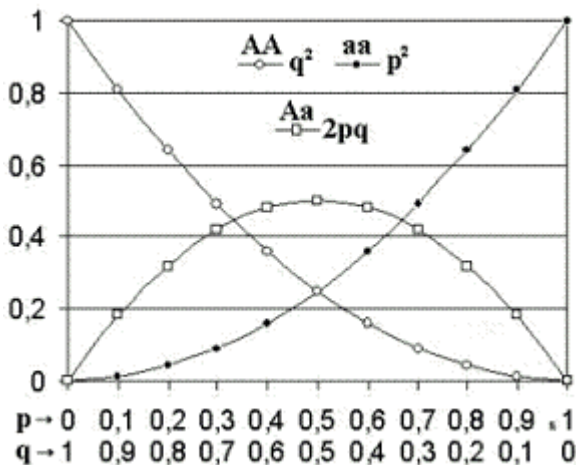
CAPITOLO 3

EQUILIBRIO DI HARDY-WEINBERG (HWE)

Abbiamo visto che affinché il modello di HW sia valido occorre che sia verificato un insieme specifico di ipotesi. Diamo qui l'elenco completo delle supposizioni:

- L'organismo è *diploide a riproduzione sessuale*
- Le *generazioni non sono sovrapposte*
- *Frequenze alleliche sono uguali nei due sessi*
- La *segregazione dei geni è di tipo mendeliano*
- La popolazione è costituita da un *numero elevato di individui*
- Gli incroci avvengono completamente a caso (popolazione *panmittica*)
- Gli individui non differiscono tra loro per il tasso di riproduzione e la capacità riproduttiva (assenza di *selezione*)
- Gli alleli sono del tutto stabili (assenza di *mutazione*)
- Non c'è *migrazione dei geni*.

Rappresentiamo l'equilibrio di HW in forma di grafico



Notare che:

- Queste sono solo le frequenze genotipiche all'equilibrio
- Quando le frequenze alleliche hanno valori medi intorno allo 0,5 la classe più frequente è quella degli eterozigoti (*Aa*)

Per la verifica dello stato di equilibrio il test statistico da utilizzare è quello del χ^2 (chi-quadro). Il test ci permette di verificare se le frequenze genotipiche osservate si discostano da quelle attese, se questo scostamento risulta evidente significa che una o più ipotesi del modello di HW è stata violata (ad esempio può esservi mutazione, selezione, deriva casuale).

Gli esseri umani non verificano tutte le condizioni di HWE, infatti le loro frequenze alleliche cambiano da una generazione all'altra e la popolazione si evolve. Le popolazioni che verificano l'equilibrio infatti non si evolvono e i fattori che provocano l'allontanamento dallo stato di equilibrio

sono i fattori di evoluzione.

Per chiarire quanto fatto fin qui, vediamo come possiamo determinare se una popolazione è in equilibrio di Hardy-Weinberg o meno. Supponiamo che gli scienziati stiano osservando una popolazione di mosche per scoprire il gene che controlla il colore degli occhi. L'allele R produce il pigmento del colore "occhi normali", mentre l'allele r produce il pigmento del colore "occhi rossi". Gli individui che sono eterozigoti Rr hanno gli occhi rosa.

In una popolazione di 150 mosche

- 15 hanno gli occhi rossi
- 90 hanno gli occhi di colore normale
- 45 hanno gli occhi rosa

Questa popolazione è in equilibrio di HW?

Affinchè una popolazione possa essere considerata in equilibrio, occorre che rimanga la stessa di generazione in generazione. Pertanto, al fine di determinare se questa popolazione di mosche è in equilibrio di HW, la distribuzione genetica della generazione corrente deve essere confrontata con la distribuzione genetica prevista nella prossima generazione, utilizzando l'equazione di Hardy-Weinberg.

1° passo: Determinare le frequenze alleliche della generazione corrente

Fenotipo	Genotipo	Numero di individui
Occhi normali	RR	90
Occhi rossi	rr	15
Occhi rosa	Rr	45

Utilizzando le formule enunciate nel capitolo 1 otteniamo:

$$p = P + \frac{H}{2} = f(RR) + f(Rr) \frac{1}{2} = \frac{90}{150} + \left(\frac{45}{150}\right) \frac{1}{2} = \frac{225}{300} = \mathbf{0.75}$$

$$q = Q + \frac{H}{2} = f(rr) + f(Rr) \frac{1}{2} = \frac{15}{150} + \left(\frac{45}{150}\right) \frac{1}{2} = \frac{75}{300} = \mathbf{0.25}$$

2° passo: Determinare le frequenze genotipiche attese nella prossima generazione

Inseriamo le frequenze alleliche trovate nell'equazione di HW per trovare i genotipi attesi della popolazione.

- $p^2 = f(R) * f(R) = 0.5625$
- $q^2 = f(r) * f(r) = 0.0625$

- $2pq = 2 * [f(R) * f(r)] = 0.375$

Moltiplicando ciascuna frequenza con il numero totale della popolazione (150 mosche) troviamo le frequenze genotipiche attese

- 84 mosche con occhi normali (RR)
- 9 mosche con occhi rossi (rr)
- 56 mosche con occhi rosa (Rr)

(Poichè gli individui parziali non esistono, i numeri sono arrotondati)

3° passo: Si confronta la frequenza attesa con i numeri originali della popolazione

Confrontando i numeri attesi con i numeri reali di ciascun fenotipo, i genetisti sono in grado di determinare se le popolazioni sono in equilibrio (o molto vicini ad esso) o si verifica uno *squilibrio* di qualche tipo. Si può verificare quanto una popolazione si discosta dall'equilibrio di HW attraverso il test "bontà di adattamento" o test Chi-quadro (χ^2).

Matematicamente il test chi-quadro è rappresentato come

$$\chi^2 = \sum \left[\frac{(\text{valori osservati} - \text{valori attesi})^2}{(\text{valori attesi})} \right]$$

Inseriamo in una tabella i valori trovati

Genotipo	Valori osservati	Valori attesi	Osservati- attesi	(Oss-att) ²	(Oss-att) ² /att
RR	90	84	6	36	0.429
Rr	45	56	-11	121	2.161
rr	15	9	6	36	4
Totale	150	~150	~0		6.59

Gradi di libertà della distribuzione = (Numero delle classi - 1) - numero di parametri stimati

Poichè abbiamo 3 genotipi, avremo

$$n^{\circ} \text{ gradi di libertà} = (3 - 1) - 1 = 1$$

Se consideriamo un livello di significatività pari al 5%, ovvero $\alpha = 0.05$, otteniamo il valore critico

$$\chi^2_{0.05} = 3.84$$

Dal momento che il nostro valore di chi-quadro 6.59 è al di sopra della soglia critica di 3.84, considerata ad un livello di significatività del 5%, possiamo concludere che i valori trovati per la popolazione di mosche si discostano significativamente rispetto a quelli attesi secondo l'equilibrio di Hardy-Weinberg e quindi la popolazione non è in equilibrio.

CAPITOLO 4

FATTORI CHE POSSONO ALTERARE LE FREQUENZE ALLELICHE IN UNA POPOLAZIONE

La *mutazione*, *flusso genico*, *deriva genetica* e *selezione naturale* sono dei processi che vanno a modificare il pool genetico delle popolazioni: gli alleli presenti e le loro frequenze.

La **mutazione** è un permanente, ereditabile cambiamento nella sequenza nucleotidica di un cromosoma, di solito in un singolo gene. Essa può essere frutto del caso senza un effetto fenotipico oppure determinare le variazioni al fenotipo di un individuo. Anche se le mutazioni possono influenzare la vita di un individuo, vi è evoluzione solo se questa mutazione può essere trasmessa alla generazione successiva, interessando così la sopravvivenza delle generazioni.

La ricombinazione è un'altra fonte di variazione in una popolazione. Si tratta di un processo in cui due cromosomi omologhi si scambiano parte del loro materiale genetico producendo così due cromosomi che sono geneticamente unici rispetto ai cromosomi originali. La ricombinazione aumenta la quantità di diversità genetica nella popolazione incrementando il numero degli alleli in un dato locus genetico.

Sia la mutazione che la ricombinazione possono alterare le frequenze alleliche di generazione in generazione, e almeno nella teoria delle piccole popolazioni, possono influenzare il HWE. Anche se la mutazione e la ricombinazione aggiungono una variazione all'interno di una popolazione, i loro effetti sono limitati.

Per **flusso genico** si intende ogni scambio genetico tra popolazioni, per migrazioni di individui in età riproduttiva, per dispersione dei propaguli, o nel caso delle piante, per dispersione dei gameti sottoforma di polline seguiti da riproduzione. L'effetto del flusso genico è quello di ridurre le differenze genetiche fra popolazioni e aumentare il polimorfismo² all'interno delle popolazioni.

La **deriva genetica** è un cambiamento evolutivo indipendente dalla selezione naturale ed è sottoposto unicamente alle leggi del calcolo delle probabilità. La frequenza allelica nelle piccole popolazioni non riflette generalmente quella delle grandi popolazioni dal momento che un piccolo insieme di individui non può rappresentare la totalità della popolazione. Il limitato numero di individui e il loro isolamento permettono oscillazioni delle frequenze geniche estremamente ampie e totalmente casuali, cosicché nelle generazioni successive si può avere la prevalenza di alcuni alleli e la scomparsa di altri, indipendentemente dal fatto che ciò sia favorevole per gli individui.

² Due o più fenotipi esistono contemporaneamente all'interno di una popolazione

Infine la *selezione naturale* è il meccanismo evolutivo proposto da Charles Darwin nell'ambito della sua teoria dell'evoluzione ed esposto nel libro "Sull'origine delle specie per selezione naturale" del 1859. Nel libro Darwin delinea la "discendenza con modificazioni", quello che noi oggi chiamiamo *evoluzione*. Egli ipotizza che tutte le specie provengono da un antenato comune. Nel corso del tempo, di fronte a nuovi ambienti ed habitat, le popolazioni hanno acquisito modificazioni, le quali hanno permesso loro di adattarsi meglio alle proprie condizioni. Darwin definì questi cambiamenti all'interno delle popolazioni come *selezione naturale* e propose l'idea della "sopravvivenza del più adatto". Variazioni individuali che si sono rivelate utili dovrebbero essere preservate all'interno di una popolazione, mentre le variazioni letali per l'organismo sarebbero state distrutte. Sotto la selezione naturale, alcuni individui di una popolazione hanno dei cambiamenti che permettono loro di sopravvivere e riprodursi con maggior successo, rendendo i loro adattamenti più comuni nel complesso a causa di un maggior successo riproduttivo. Nel lungo periodo di tempo, il cambiamento delle caratteristiche di una popolazione può portare alla produzione di una nuova specie.

La teoria evolutivista di Darwin può essere riassunta in tre principi:

- Principio di variazione: Tra individui della stessa popolazione, c'è una variazione nella morfologia, psicologia e comportamento.
- Principio di ereditarietà: I figli assomigliano ai genitori più di quanto si assomiglino individui non apparentati.
- Principio di selezione: Alcune forme hanno avuto più successo a sopravvivere e riprodursi rispetto ad altre in un dato ambiente.

E' importante ricordare che l'evoluzione si verifica a livello di popolazione e non a livello individuale.

Per descrivere un esempio concreto di mutazione e selezione naturale, consideriamo il caso delle falene. In Inghilterra prima della rivoluzione industriale, la falena era presente quasi esclusivamente nella sua forma colorata. Il suo colore serviva per mimetizzarsi tra i licheni degli alberi, impedendo così alle falene di essere viste dai predatori. L'inquinamento della rivoluzione industriale causò la morte della maggior parte dei licheni presenti negli alberi. Come risultato la falena colorata è diventata più visibile agli uccelli, mentre le falene di colore scuro (nate da una mutazione) erano in grado di confondersi meglio tra gli alberi ed evitare di essere mangiate. Il risultato fu che la popolazione di falene scure, che era circa l'1% nel 1848, è aumentata a circa il 90% entro il 1959.

SITOGRAFIA E BIBLIOGRAFIA

- Sito web http://www.nfstc.org/pdi/Subject07/pdi_s07_m01_02.htm "*DNA Analyst Training*"
- Sito web <http://www.ndsu.edu/pubweb/~mcclean/plsc431/popgen/popgen1.htm>
- Il corso "*Genetica di popolazioni*" del prof. Guido Barbujani, università di Ferrara
- "*Basic population genetics*" di M.Tevfik Dorak, M.D., Ph.D.
- Enciclopedia Treccani
- "*Fondamenti di Biologia*" di P. Solomon, R. Berg, W. Martin
- Appunti del corso di "*Statistica*" della prof.ssa Susanna Ragazzi