



DIPARTIMENTO DI SCIENZE AGRARIE ALIMENTARI E AMBIENTALI

CORSO DI LAUREA IN: SCIENZE E TECNOLOGIE AGRARIE

# CONSERVAZIONE DINAMICA IN VARIETÀ LOCALI D'ORZO

Un approccio di evoluzione sperimentale

TIPO TESI: sperimentale

Studente:

RICCARDO RONCONI

Relatore:

PROF. ROBERTO PAPA

ANNO ACCADEMICO 2018-2019

## **INDICE**

<b>1 INTRODUZIONE</b>	<b>3</b>
1.1 Biodiversità delle risorse genetiche agrarie	3
1.2 Strategie di conservazione della biodiversità vegetale agraria	6
1.3 Caratteristiche dell'orzo ( <i>Hordeum vulgare</i> L.)	8
1.4 "S'orgiu sardu ERDAS", un esempio di landrace di orzo	10
<b>2 MATERIALI E METODI</b>	<b>11</b>
2.1 Descrizione della conservazione ex situ e dello schema sperimentale	11
2.2 Allevamento dei materiali vegetali e raccolta dati	14
2.3 Analisi statistica dei dati fenotipici	22
<b>3 RISULTATI</b>	<b>26</b>
<b>4 DISCUSSIONE</b>	<b>41</b>
<b>5 CONCLUSIONI</b>	<b>43</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>44</b>

# 1 INTRODUZIONE

## 1.1 Biodiversità delle risorse genetiche agrarie

Con la rivoluzione neolitica nasce l'agricoltura, attraverso la domesticazione delle piante selvatiche, la loro coltivazione e la creazione di un ambiente caratterizzato dalle pratiche colturali operate dai primi agricoltori (agroecosistema). Le prime popolazioni agricole provvedevano alla riproduzione e alla propagazione delle piante coltivate e all'allevamento degli animali domestici, ottenendo in cambio cibo e altri prodotti utili (es. fibre tessili), instaurando una vera e propria simbiosi (Harlan, 1992).

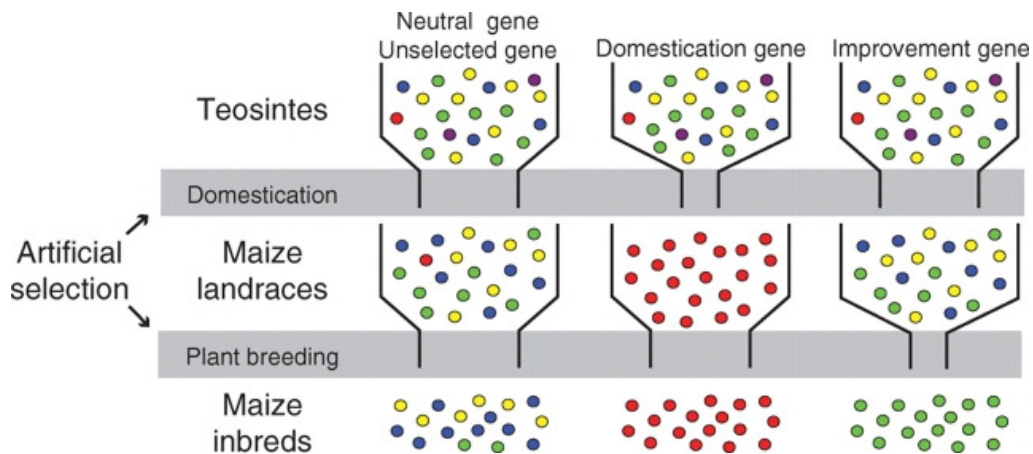
Il processo di domesticazione ha avuto inizio per diverse specie tra il 12000 e il 3000 a.C. in vari centri di domesticazione, quali il Vicino Oriente, la Cina, il Sud-Est Asiatico, le regioni del Sahel e gli altopiani etiopi in Africa, l'America Centrale e le Ande Meridionali (Vavilov, 1992; Harlan, 1992). La domesticazione è avvenuta in modo indipendente nei centri di domesticazione, e da questi le specie attraverso fenomeni di migrazione ed adattamento sono state diffuse in centri di coltivazione e domesticazione secondari. Il processo di domesticazione, che ha portato alle attuali specie coltivate, è cominciato a partire da specie selvatiche, le quali hanno subito la modificazione o la perdita di alcune loro caratteristiche, tra cui: perdita dei meccanismi di dispersione dei semi, riduzione o perdita della dormienza dei semi, habitus più compatto e modifiche dell'habitus di crescita, incremento della dimensione degli organi edibili (gigantismo), riduzione del numero di frutti e semi prodotti, ridotta o assente sensibilità al fotoperiodo, maggiore precocità, incremento delle rese e del rapporto produzione/biomassa (harvest index), diversificazione del colore di frutti e semi, e riduzione o mancata produzione di composti tossici (Gepts e Papa, 2002). Queste variazioni fenotipiche sono state ottenute dalle comunità agricole nel corso del tempo, attraverso la riproduzione di quegli individui che presentavano le caratteristiche desiderate (sia tramite selezione cosciente sia tramite selezione inconsapevole) e che dimostravano anche un sufficiente

adattamento all'insieme dei fattori ambientali di natura fisica (caratteristiche del suolo, piovosità) e biologica (es. flora e fauna locali) di un certo agroecosistema.

La selezione operata dall'uomo consiste nella scelta degli individui da destinare alla riproduzione conferendo ai rispettivi genotipi, e quindi ai singoli alleli che controllano i caratteri selezionati, una fitness più elevata rispetto ai genotipi caratterizzati da varianti fenotipiche indesiderate presenti nella popolazione. Se si confrontano i genotipi dei progenitori selvatici con le attuali varietà, nella maggioranza delle colture si nota una considerevole riduzione della diversità genetica e ciò è imputabile all'effetto "bottleneck", ovvero alla riduzione della dimensione della popolazione determinata da un effetto di campionamento casuale detto anche "effetto del fondatore" (**Figura 1**). Questo fenomeno si manifesta in seguito ad una drastica riduzione della dimensione di una popolazione (collo di bottiglia) che determina una riduzione della diversità genetica, rappresentando un esempio di deriva genetica (genetic drift) che in popolazioni reali, cioè costituite da un numero finito di individui, determina variazioni casuali delle frequenze alleliche ad ogni generazione. La deriva genetica è particolarmente rilevante in piccole popolazioni. In molte specie domestiche è stata osservata una forte riduzione della diversità genetica a livello della sequenza di DNA (Bellucci et al. 2013) ma anche a livello trascrizionale (RNA) come è stato evidenziato per la prima volta in fagiolo da Bellucci et al. (2014).

Oltre che dalla deriva genetica, la diversità genetica è influenzata dalla selezione diretta su alleli presenti a loci che controllano caratteri soggetti a selezione. Ad esempio, un allele responsabile dell'aumento della dimensione delle cariossidi aumenterà in frequenza nel corso delle generazioni di selezione fino a fissarsi, riducendo la variabilità molecolare a quel locus. La differenza fra deriva genetica e selezione è che la prima influenza l'intero genoma secondo un processo stocastico mentre la selezione agisce solo sulla variante molecolare (gene) che determina la variazione fenotipica (Cavalli Sforza, 1966; Lewontin Krakauer, 1973), anche se la ridotta ricombinazione fra il locus sotto selezione e loci neutrali strettamente associati ad esso mima l'effetto della selezione anche

nelle regioni genomiche che fiancheggiano il locus sotto selezione (effetto hitchhiking).



**Figura 1.** Rappresentazione schematica della riduzione della diversità genetica dovuta all'effetto "bottleneck". Da Yamasaki et al. 2005

Al contempo, durante le fasi successive alla domesticazione, ovvero durante la diffusione delle colture e l'espansione del loro areale di coltivazione si è assistito ad un aumento della diversità genetica con la formazione di una miriade di varietà locali dette anche landraces o folk varieties (Meyer & Purugganan, 2013). L'aumento della variabilità genetica dopo la domesticazione è da imputarsi a geni legati all'adattamento all'ambiente ed è stato dimostrato in fagiolo da Bellucci et al. (2014) e da Bitocchi et al. (2017). Inoltre, diversi studi dimostrano che un importante livello di variabilità genetica e fenotipica è riscontrabile nelle landraces, considerando sia la diversità genetica tra le popolazioni che quella entro popolazione, come è stato messo in evidenza in orzo da Tanto Hadado et al. (2010) e da Bellucci et al. (2013) lavorando rispettivamente su landraces di orzo etiopi e sarde. Ad esempio, Bellucci et al. (2013) hanno messo in evidenza che la diversità molecolare di un singolo campo di orzo di una popolazione di landrace è equivalente a quella dell'insieme delle varietà migliorate europee. Tale fatto era stato messo in evidenza in orzo da Papa et al. (1998) e in altre specie coltivate come pomodoro (Mazzucato et al. 2008), mais (Bitocchi et al. 2009, Qi-Lun et al. 2008) e riso (Pusadee et al. 2009) indicando come ancor oggi le landraces delle diverse specie coltivate siano contraddistinte da una notevole variabilità genetica e che la conservazione in

situ rappresenta uno strumento imprescindibile per la conservazione della diversità genetica.

La diversità geno-fenotipica era, ed è ancora oggi, una risorsa fondamentale per l'adattamento delle specie alla variabilità ambientale, per avere una maggior capacità di resistenza agli stress biotici ed abiotici e quindi, in conclusione, per ottenere degli esiti positivi dalle coltivazioni che sostentano le popolazioni mondiali. Infatti le numerose comunità umane hanno nel tempo selezionato e tramandato le varietà più adatte ai vari ambienti di coltivazione ma oggi si assiste al fenomeno contrario: una forte riduzione ed erosione del patrimonio genetico agrario.

Attualmente l'agricoltura utilizza in prevalenza varietà basate su singoli genotipi (linee pure, ibridi, cloni) mentre la coltivazione di varietà eterogenee (landraces, varietà in equilibrio, composite e miscugli) è limitata, pur rappresentando un'importante strategia di conservazione dinamica dell'agrobiodiversità.

## **1.2 Strategie di conservazione della biodiversità vegetale agraria**

La conservazione della biodiversità in campo agricolo rappresenta un metodo di gestione, trasmissione e mantenimento nel tempo delle numerose risorse genetiche che caratterizzano i diversi agroecosistemi in modo che le varietà conservate possano essere utili alle comunità e agli ecosistemi agricoli di oggi ma anche a quelli futuri.

La conservazione dei diversi genotipi locali è importante sia perché essi rappresentano una fonte di geni e/o combinazioni geniche che possono rivelarsi utili alle comunità agricole in futuro, sia perché essi sono legati ad ambienti e contesti agricoli molto particolari, spesso marginali, di difficile coltivazione, soggetti a spopolamento e caratterizzati da produzioni su piccole superfici e di modesta entità. Programmi di miglioramento genetico volti a migliorare l'adattabilità o la resistenza delle cultivar potrebbero avvalersi del patrimonio genetico delle diverse landraces.

Esistono sostanzialmente due metodologie di conservazione della variabilità genetica e si definiscono conservazione *in situ* o conservazione *ex situ*. (Frankel, 1995). Nella conservazione *in situ* la varietà locale viene propagata nel tempo all'interno della propria zona d'origine che coincide con la zona in cui è solitamente coltivata (in particolare, la conservazione *on farm* rappresenta una forma di conservazione *in situ* nella quale una folk variety viene conservata dalle stesse aziende agricole che tradizionalmente la coltivavano e che continuano a farlo). Nella conservazione *ex situ* le landraces vengono conservate in una zona che non corrisponde al loro areale d'origine.

La conservazione dei germoplasmi vegetali può inoltre avvenire seguendo due strategie:

➤ Conservazione statica, in cui viene raccolto e catalogato del materiale biologico come semi, bulbi, talee, rizomi, plantule in vitro, polline o altri tessuti per poi essere riposto in “banche semi” o “banche del germoplasma”. Tuttavia esistono specie che mantengono una scarsa vitalità se conservate con i materiali quiescenti sopra citati e quindi, per queste specie, si ricorre alla loro conservazione riproducendole in campi catalogo o in orti botanici. L'obiettivo della conservazione statica è quello di prelevare un certo pool genico e di conservarlo nel tempo così come si presenta, senza che subisca mutazioni ed evoluzione. Quindi si estraggono le risorse genetiche dai processi selettivi ed evolutivi a cui sono normalmente e perennemente sottoposti e le si “cristallizza”.

➤ Conservazione dinamica, in cui, viceversa, la popolazione continua ad essere sottoposta alla pressione selettiva ed evolutiva, essendo coltivata in uno specifico ambiente; il materiale genetico conservato continuerà ad evolvere nel tempo adattandosi ai cambiamenti ambientali.

Il miglior approccio di conservazione delle risorse genetiche prevede l'integrazione di tutti questi metodi tanto che la Convenzione sulla Diversità Biologica, siglata nell'ambito del Summit della Terra di Rio de Janeiro del 1992,

obbliga all'utilizzo della conservazione *ex situ* complementariamente alla conservazione *in situ*.

L'organizzazione e il coordinamento tra le differenti vie di conservazione è un fattore cruciale per la valorizzazione e la vendita dei prodotti derivanti dalla conservazione on farm. In questo modo si possono ottenere dei giovamenti per la futura ricerca in campo agronomico-genetico e per gli agricoltori conservatori.

### **1.3 Caratteristiche botaniche dell'orzo (*Hordeum vulgare* L.)**

L'orzo presenta una diffusione capillare e la sua coltivazione perdura nella penisola italiana da tempi remoti. Ciò è testimoniato dalla varietà di nomi dialettali con cui è noto a seconda della regione in cui questa specie viene coltivata: orgiu, orge, uorio, ordzo, jòrgio o ordi.

L'orzo appartiene alla Famiglia delle *Poaceae* e alla Tribù delle *Triticeae*. La pianta presenta un aspetto erbaceo ed un apparato radicale fascicolato in grado di esplorare un volume di suolo considerevolmente ampio. I culmi, caratterizzati da un certo numero di nodi pieni e internodi cavi, sono più o meno numerosi e di differenti dimensioni. Le foglie hanno la morfologia tipica della famiglia: sono infatti lanceolate, parallelinervie e con margini lisci, mentre si riscontrano differenze nella morfologia delle ligule e delle auricole rispetto agli altri cereali autunno-vernini; infatti le prime risultano più piccole, mentre le seconde sono maggiormente sviluppate. L'infiorescenza dell'orzo è una spiga, inserita su ogni culmo fertile. Ogni nodo della spiga porta tre spiglette uniflore, contenenti un fiore perfetto. A maturazione, l'orzo produce una cariosside vestita, nella quale le glumelle sono adese al seme. Ogni cariosside pesa in media dai 35 ai 40 milligrammi e può essere provvista o meno di una arista; rispettivamente si parlerà quindi di cultivar aristate o mutiche.

Gli orzi possono essere classificati come distici o polistici (tetrastici ed esastici) (**Figura 2**). In dettaglio, negli orzi distici, ad ogni nodo risulta fertile soltanto la spigletta centrale, ed a maturazione si formeranno due file di cariossidi, dette



ranghi. Nelle cultivar tetrastiche ed esastiche le tre spiglette portate su ogni nodo risultano fertili. In particolare, nelle varietà tetrastiche i semi si dispongono sovrapponendosi uno sull'altro, andando a formare una spiga costituita da quattro ranghi. Diversamente, negli orzi esastici le cariossidi laterali di ogni nodo si posizionano in modo sfalsato tra loro mentre le cariossidi centrali si sovrappongono formando un rango lineare; questa disposizione fa apparire la spiga costituita da sei ranghi.



**Figura 2.** Spighe da varietà di orzo distico (A), tetrastico (B vista laterale; C vista apicale) ed esastico (D vista laterale; E vista apicale)

La biologia fiorale dell'*H. vulgare* L. è caratterizzata da una autogamia strettissima (cleistogamia). L'impollinazione degli organi femminili, da parte dei granuli pollinici prodotti dallo stesso fiore, si verifica infatti nel 99% dei casi prima che avvenga l'apertura delle spighe (Abdel-Ghani et al. 2004). Tra le principali conseguenze della fecondazione cleistogama si annovera la drastica riduzione dell'incrocio, con conseguente limitato gene flow tra individui della stessa popolazione.

#### **1.4 “S’orgiu sardu ERDAS”, un esempio di landrace di orzo**

Il “S’orgiu sardu” è una landrace di orzo coltivata nella penisola del Sinis, nella provincia di Oristano, nella Regione autonoma di Sardegna. L’orzo sardo è una varietà composta da popolazioni diverse aventi in comune diversi tratti fenotipici: taglia considerevole o elevata, spiga tetrastica e reste piuttosto lunghe. Questa particolare varietà locale può essere coltivata durante il periodo autunno-primaverile ma è principalmente una varietà primaverile (Papa et al. 1998). Il nome della varietà “ERDAS” deriva dal cognome dell’agricoltore che ha concesso di campionare il quantitativo di seme necessario all’avvio della sperimentazione.

## 2 MATERIALI E METODI

### 2.1 Descrizione della conservazione ex situ e dello schema sperimentale

La presente tesi ha lo scopo di studiare la validità e gli effetti della conservazione dinamica ex situ di una varietà locale di orzo, al fine di estendere le informazioni raccolte a specie che presentano caratteristiche simili a quelle dell'orzo.

La sperimentazione ha avuto inizio nell'estate del 1999 quando, grazie ad una collaborazione tra l'Università Politecnica delle Marche e l'Università degli Studi di Sassari, sono stati campionati circa 23 kg di semente della varietà ERDAS nella penisola del Sinis, in Sardegna (**Figura 3**). La semente è stata successivamente utilizzata per la moltiplicazione in campi sperimentali nella regione Marche.



**Figura 3.** Località di campionamento di ERDAS nella penisola del Sinis e località di prima moltiplicazione (Gallignano, Ancona)

In dettaglio, nel novembre dello stesso anno è stata effettuata la semina della landrace ERDAS nei campi sperimentali dell'azienda agraria dell'ateneo marchigiano, in località Gallignano (Ancona). Il campo sperimentale presentava

una superficie di circa 1500 m<sup>2</sup> e la semina è stata effettuata mediante l'utilizzo di una seminatrice a righe, adottando una densità di semina di 150 kg/ha di seme. La densità di semina non elevata e l'assenza di concimazioni sono state adottate come misure finalizzate a contenere lo sviluppo in altezza della coltura e il conseguente fenomeno di allettamento al quale la cultivar ERDAS è suscettibile.

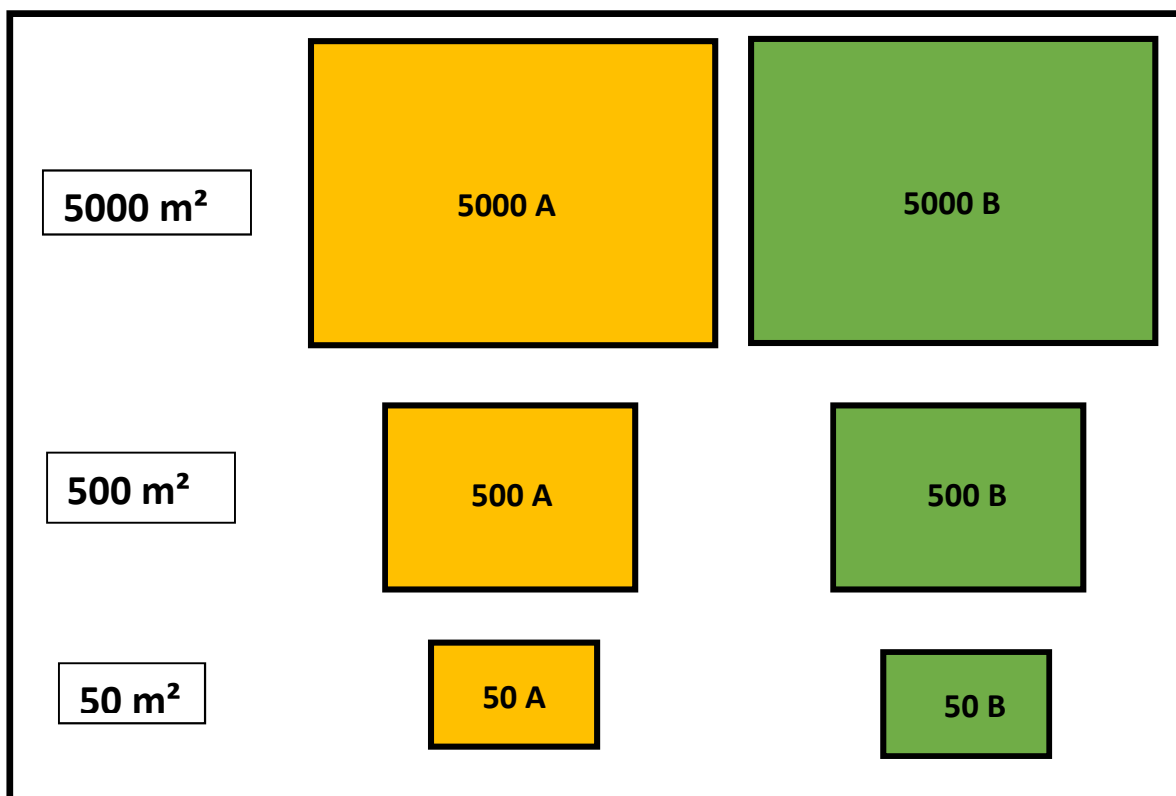
Nell'estate del 2000 lo stesso campo sperimentale, sviluppato su una superficie di 1500 m<sup>2</sup>, è stato suddiviso in sei parcelle di differenti dimensioni prima di effettuare la raccolta:

- 2 parcelle da 50 m<sup>2</sup> denominate 50A e 50B;
- 2 parcelle da 200 m<sup>2</sup> denominate 500A e 500B;
- 2 parcelle da 500 m<sup>2</sup> denominate 5000A e 5000B.

Da ogni parcella è stato effettuato un campionamento casuale delle spighe. Da questi campionamenti sono stati quindi ottenuti sei lotti di semente, uno per ogni parcella, i quali sono stati conservati separatamente.

Nell'autunno del 2000 i sei lotti di semente sono stati utilizzati per seminare sei parcelle di diverse dimensioni, che sono state mantenute separate tra loro (**Figura 4**):

- 2 parcelle da 50 m<sup>2</sup> denominate 50A e 50B;
- 2 parcelle da 500 m<sup>2</sup> denominate 500A e 500B;
- 2 parcelle da 5000 m<sup>2</sup> denominate 5000A e 5000B.



**Figura 4.** Rappresentazione schematica delle parcelle mantenuta durante il periodo sperimentale per gli anni compresi tra il 2000 ed il 2015. Sono state predisposte e mantenute nel tempo sei parcelle: 50A e 50B di 50 m<sup>2</sup>, 500A e 500B di 500 m<sup>2</sup>, 5000A e 5000B di 5000 m<sup>2</sup>.

Il disegno sperimentale prevedeva una distanza di circa 6 metri tra le parcelle. Al momento della raccolta il bordo di ognuna delle sei parcelle è stato eliminato per evitare inquinamenti genetici dovuti a flusso di polline tra le parcelle attigue. Lo spessore del bordo da eliminare è stato fissato in 1,5 m.

Dall'inizio della sperimentazione, si è deciso quindi di moltiplicare e conservare separatamente le sei sottopopolazioni, mantenendo costante la loro dimensione. Questa strategia è stata applicata allo scopo di valutare l'effetto della grandezza della popolazione sulla conservazione ex situ.

La procedura sperimentale descritta è stata applicata per ogni anno dal 2000 al 2015 e continua tutt'ora.

## 2.2 Allevamento dei materiali vegetali e raccolta dati

Nel periodo gennaio-luglio 2018 è stato effettuato un esperimento presso la serra del Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari ed Ambientali dell'Università Politecnica delle Marche.

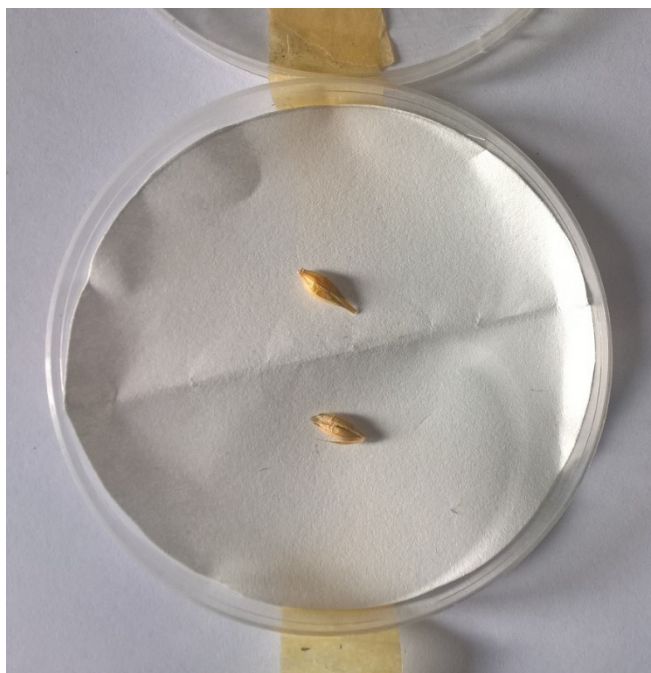
Per l'esperimento sono state selezionate casualmente 100 linee provenienti dai campi sperimentali effettuati nelle annate 1999 (inizio esperimento), 2008 e 2015. Per ogni annata si è scelto di coltivare 100 linee, giungendo ad un totale di 300 linee di orzo. Ogni annata comprendeva le sei sottopopolazioni precedentemente descritte (50A, 50B, 500A, 500B, 5000A, 5000B) ognuna delle quali è stata rappresentata in media da 16/17 individui.

La prova sperimentale è stata ideata con il fine di verificare se dall'inizio della sperimentazione fossero insorte delle differenze fenotipiche nella popolazione di orzo sardo ERDAS. Infatti, essendo trascorsi 16 cicli colturali, la varietà locale, in seguito al trasferimento nel nuovo areale marchigiano, avrebbe potuto sviluppare in questo periodo degli adattamenti al nuovo ambiente di coltivazione.

Due cariossidi sono state selezionate casualmente per ognuna delle 300 linee studiate.

La concia dei semi è stata effettuata mediante conciatrice liquida, al fine di prevenire principalmente il mal del piede. Per la concia si è utilizzata una soluzione di acqua distillata e Celest (Fludioxonil 2,5 %; Syngenta) al 10% ed i semi sono stati immersi nella soluzione per 30 secondi.

I semi sono stati quindi trasferiti in una piastra Petri dotata di una carta filtro. **(Figura 5).**



**Figura 5.** Cariossidi campionate e poste in piastra Petri

Nella piastra Petri è stata effettuata la pre-germinazione dei semi, aggiungendo circa 4 ml di una soluzione di acqua distillata e Celest al 1%. L'immissione di questo volume di liquido, di cui la maggior parte è stata assorbita dal disco di carta filtro posto sul fondo, è servito a fornire ai semi l'umidità di cui necessitano per germinare. La germinazione delle cariossidi è stata inoltre favorita lasciando inizialmente le piastre alla temperatura di 4°C per 24 ore.

Le cariossidi pre-germinate sono state seminate in vasi aventi un volume di 2,5 l e pianta quadrata con lato di 13 cm. Il substrato di coltivazione è stato ottenuto miscelando in parti uguali tra loro sabbia grossa del Po e terriccio universale. La sabbia, prima di essere miscelata con il terriccio, è stata accuratamente lavata per eliminare eventuali impurità, potenzialmente tossiche per le plantule di orzo.

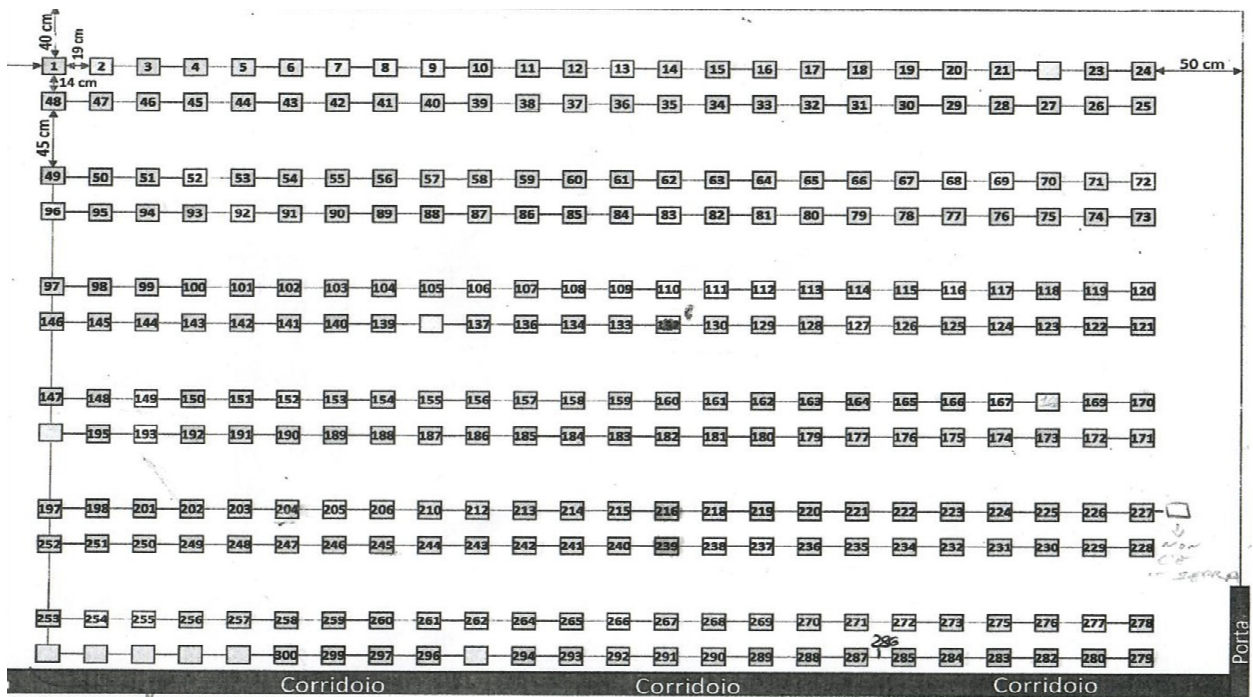
La semina delle 300 linee precedentemente selezionate è stata effettuata il giorno 12 gennaio 2018. Delle due cariossidi pre-germinate per ogni linea, una soltanto è stata messa a dimora, ovvero quella che presentava il miglior sviluppo. Ogni linea è stata contrassegnata tramite un cartellino (**Figura 6**).



**Figura 6.** Vasi cartellinati in cui è stata effettuata la semina delle plantule pre-germinate

Le 300 linee sono state randomizzate entro ognuna delle sei sottopopolazioni ed entro ognuno dei tre anni di sperimentazione presi in considerazione (1999, 2008 e 2015). In dettaglio, le 16-17 piante che provenivano dallo stesso anno di sperimentazione e dalla stessa sottopopolazione erano casualmente distribuite nello spazio della serra destinato all'esperienza (**Figura 7**).





**Figura 7.** Schema sperimentale e disposizione delle 300 linee di orzo ERDAS con indicazione delle distanze tra file, sottofile e sulla fila

Ogni vaso è stato dotato di un gocciolatoio, al fine di garantire un costante ed uniforme apporto di acqua per tutta la durata della prova (**Figura 8**).



**Figura 8.** Plantule di orzo in post emergenza e dettaglio dell'impianto di irrigazione.

A fine marzo, all'inizio della fase di levata, le piante sono state dotate di opportuni sostegni (**Figura 9**).



**Figura 9.** Linee di orzo nella fase di levata

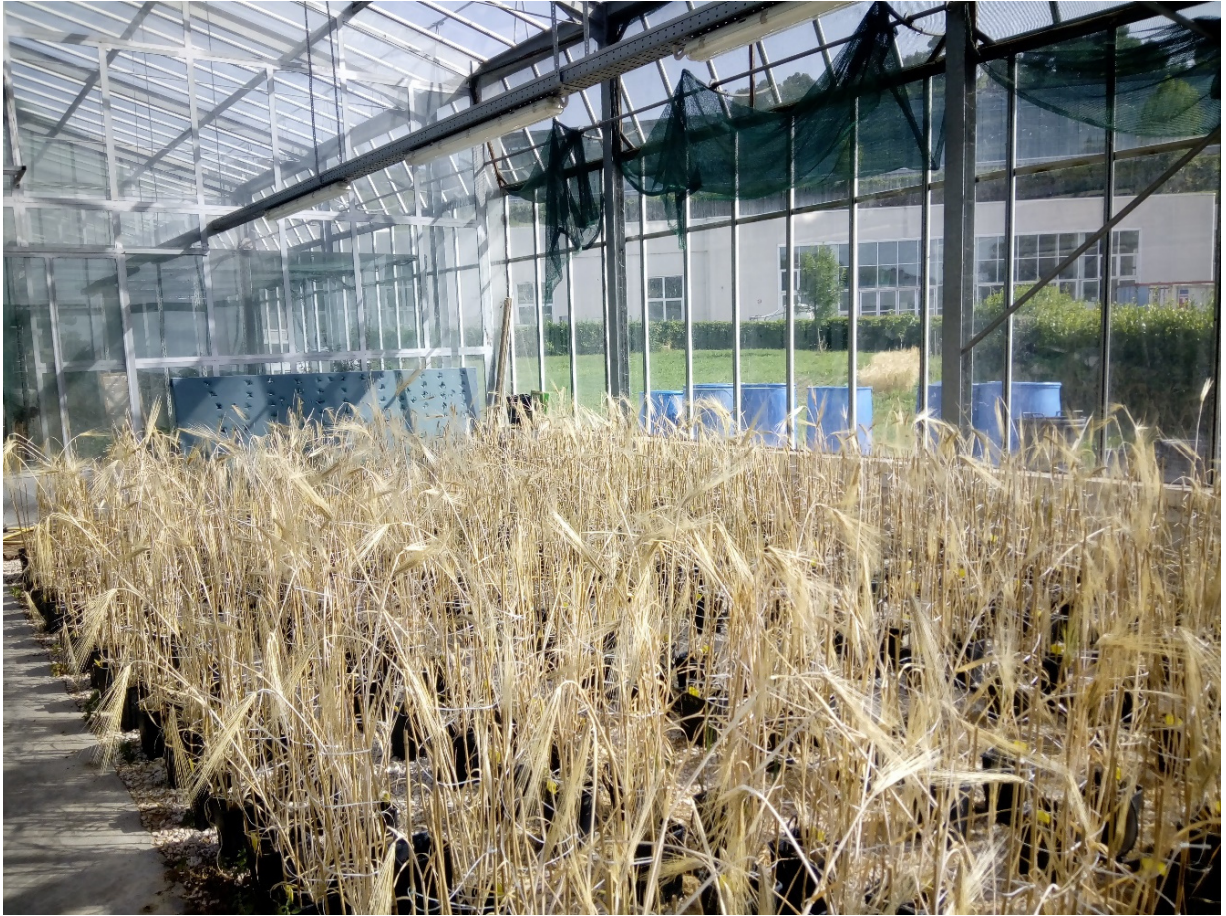
A fine aprile, si è proceduto con la fenotipizzazione delle 300 linee, registrando il carattere data di inizio fioritura. In dettaglio, si è deciso di considerare come descrittore della precocità di fioritura il numero di giorni trascorsi tra il 1° aprile e la data in cui è avvenuta la fuoriuscita delle reste dal culmo per una lunghezza di un cm, come mostrato nella **Figura 10**.



**Figura 10.** Inizio fioritura: emergenza delle reste dal culmo principale per una lunghezza di 1 cm

Durante i mesi di aprile e maggio sono stati effettuati trattamenti per contrastare attacchi fungini e da parte di afidi. In particolare sono stati fatti tre trattamenti con ossicloruro di rame e tre trattamenti aficidi (uno con piretro; due con “confidor” a base di imidacloprid).

Nel mese di luglio 2018, con le piante a completa maturazione (**Figura 11**), sono stati raccolti ulteriori dati sperimentali quali: numero di culmi, numero di culmi fertili (cioè portanti spiga), altezza all’inserzione della spiga, altezza a fine spiga e altezza a fine reste. Le tre misurazioni riguardanti l’altezza sono state effettuate sul culmo principale di ogni pianta. Nella stessa giornata si è proceduto alla raccolta di tutte le spighe. Le spighe prodotte da ogni pianta sono state conservate separatamente in buste di carta.



**Figura 11.** Linee di orzo completamente mature prima della raccolta

Ulteriori caratteri fenotipici sono stati registrati successivamente alla raccolta:

- Lunghezza della spiga
- Lunghezza delle reste
- Numero totale di semi prodotti per pianta
- Numero medio di semi per spiga
- Peso 1000 semi
- Produzione totale per pianta (peso totale dei semi prodotti per pianta)

In seguito alla raccolta è stata effettuata la sgranatura manuale delle spighe per ogni linea. Durante questa operazione sono state eliminate le reste dalle cariossidi e separati i semi dal rachide, sul quale sono state effettuate ulteriori misurazioni. Infatti, per ogni individuo sono stati raccolti i seguenti dati: la

lunghezza dell'articolo basale del rachide e la lunghezza dei dieci internodi centrali del rachide.

Riassumendo, i dati sperimentali che sono stati complessivamente raccolti sono:

- Data di inizio fioritura (giorni dal 1° aprile)
- Numero di culmi
- Numero di culmi fertili
- Altezza all'inserzione della spiga (cm)
- Altezza a fine spiga (cm)
- Altezza a fine reste (cm)
- Lunghezza dei 10 internodi centrali del rachide (mm)
- Lunghezza dell'articolo basale del rachide (mm)
- Numero totale di semi per pianta
- Produzione totale per pianta (gr)

Utilizzando i dati fenotipici sopra descritti, sono stati derivati alcuni caratteri che in questo elaborato vengono definiti come “caratteri secondari”, ovvero:

- Lunghezza della spiga (cm) = altezza fine spiga - altezza all'inserzione
- Lunghezza delle reste (cm) = altezza fine reste - altezza fine spiga
- Numero medio di semi per spiga =  
= numero di semi totale/numero di culmi fertili
- Peso 1000 semi (gr) =  
= (produzione totale per pianta \* 1000) / numero totale di semi

### 2.3 Analisi statistica dei dati fenotipici

Per l'analisi statistica dei dati sono state considerate le informazioni fenotipiche raccolte su 252 piante, le quali risultavano vive alla fine dell'esperimento e per le quali il trapianto era avvenuto contemporaneamente.

Il test del  $X^2$  (chi quadrato) è stato utilizzato per evidenziare la presenza di scostamenti del dato fenotipico osservato rispetto a quello atteso, per tutti i caratteri analizzati.

Il test del  $X^2$  è un test statistico che si basa sulla comparazione tra i dati attesi e i dati osservati in una popolazione di individui. In dettaglio, si riporta di seguito la formula per il calcolo del  $X^2$ :

$$X^2 = \sum (\text{osservato} - \text{atteso})^2 / \text{atteso}$$

Dalla formula del  $X^2$  si ottiene un valore numerico che va confrontato con dei valori tabellari (**Tabella 1**). Se il valore di  $X^2$  è inferiore al valore tabellare si accetta l'ipotesi nulla e la variazione del dato osservato rispetto a quello atteso è da imputarsi al caso, ovvero non ci sono stati particolari fattori (ambientali, genetici, o di altra natura) che hanno influenzato il valore stesso. Al contrario, se il valore numerico trovato è maggiore del valore riportato in tabella, l'ipotesi nulla viene rigettata e il dato osservato si discosta dall'atteso per effetti non casuali.

Il dato tabellare da usare per la comparazione con il valore di  $X^2$  viene identificato sulla base dei gradi di libertà (degree of freedom; df), che corrispondono al numero di osservazioni indipendenti.

$$df = (n^\circ \text{righe} - 1) * (n^\circ \text{colonne} - 1)$$

**Tabella 1.** Valori tabellari da comparare con il valore numerico trovato applicando la formula del  $X^2$  in relazione ai valori di significatività (in testa ad ogni colonna) e ai gradi di libertà (GL; riportati su ogni riga)

Test del Chi-Quadrato										
GL	P									GL
	0.995	0.975	0.9	0.5	0.1	0.05	0.025	0.01	0.005	
1	.000	.000	0.016	0.455	2.706	3.841	5.024	6.635	7.879	1
2	0.010	0.051	0.211	1.386	4.605	5.991	7.378	9.210	10.597	2
3	0.072	0.216	0.584	2.366	6.251	7.815	9.348	11.345	12.838	3
4	0.207	0.484	1.064	3.357	7.779	9.488	11.143	13.277	14.860	4
5	0.412	0.831	1.610	4.351	9.236	11.070	12.832	15.086	16.750	5
6	0.676	1.237	2.204	5.348	10.645	12.592	14.449	16.812	18.548	6
7	0.989	1.690	2.833	6.346	12.017	14.067	16.013	18.475	20.278	7
8	1.344	2.180	3.490	7.344	13.362	15.507	17.535	20.090	21.955	8
9	1.735	2.700	4.168	8.343	14.684	16.919	19.023	21.666	23.589	9
10	2.156	3.247	4.865	9.342	15.987	18.307	20.483	23.209	25.188	10

Il test del  $X^2$  è stato utilizzato per confrontare i valori medi dei caratteri fenotipici nelle sottopopolazioni dell'anno 1999 (valori attesi in quanto il 1999 è la data di inizio dell'esperimento) con i dati fenotipici ottenuti dalle sei sottopopolazioni degli anni 2008 e 2015 (considerati come dati osservati, in quanto ottenuti in anni successivi all'inizio della prova). Quindi è stato effettuato un confronto tra il 1999 e il 2008 e tra il 1999 e il 2015 per verificare l'occorrenza di cambiamenti significativi in questi due lassi temporali sulla popolazione sperimentale di ERDAS.

In dettaglio, il calcolo del  $X^2$  è stato effettuato utilizzando la funzione TEST.CHI.QUAD nel programma Excel del pacchetto Office.

Per verificare ulteriormente lo scostamento dei dati fenotipici osservati rispetto ai dati attesi è stato effettuato anche il test di Wilcoxon dei ranghi con segno per dati appaiati (Wilcoxon, 1945), comparando i dati fenotipici delle annate 2008 e 2015 con le performance della popolazione nell'annata 1999 (**Tabella 5 e 6** nei risultati).

Il test di Wilcoxon dei ranghi con segno prevede cinque fasi di calcolo:

1. Calcolare la differenza tra i valori medi per ogni carattere nelle due annate prese in considerazione (vedere il parametro  $D$  nella **Tabella 5 e 6**);
2. Ordinare le differenze (valore  $D$ ), senza considerare il segno, da quella di minor valore a quella di maggior valore assegnando un rank. Quando due o più differenze sono uguali, assegnare a ciascuna di esse la media dei numeri di posizione che esse dovrebbero avere (così, per esempio, se la quinta e la sesta differenza sono uguali, assegnare come numero di posizione nella lista il valore 5.5 a entrambe). In caso di differenze pari a zero il rank sarà zero.
3. Assegnare ai ranks i segni delle differenze corrispondenti ( $D$ );
4. Fare la somma assoluta dei ranks con segno positivo e, separatamente, la somma assoluta dei ranks con segno negativo;
5. Confrontare la somma di minor valore ( $T_s$ ) con il valore tabellare riscontrabile nella tabella dei valori critici per il Wilcoxon Signed-Rank Test (**Tabella 2**) considerando 14 gradi di libertà (numero di caratteri considerati) e livello di significatività  $\alpha = 0,05$  (due code).

Lo scostamento dei dati è da ritenersi significativo se il valore  $T_s$  è minore o uguale al valore critico tabulare.



**Tabella 2.** Valori critici del Wilcoxon Signed-Rank Test in relazione ai valori di significatività (in testa su ogni colonna) e ai gradi di libertà ( $n$ ; riportati su ogni riga) (\* indica che non è possibile assegnare un valore critico per quel numero di gradi di libertà)

$n$	$\alpha$		
	.005 (one tail) .01 (two tails)	.01 (one tail) .02 (two tails)	.025 (one tail) .05 (two tails)
<b>5</b>	*	*	*
<b>6</b>	*	*	1
<b>7</b>	*	0	2
<b>8</b>	0	2	4
<b>9</b>	2	3	6
<b>10</b>	3	5	8
<b>11</b>	5	7	11
<b>12</b>	7	10	14
<b>13</b>	10	13	17
<b>14</b>	13	16	21
<b>15</b>	16	20	25
<b>16</b>	19	24	30
<b>17</b>	23	28	35
<b>18</b>	28	33	40
<b>19</b>	32	38	46
<b>20</b>	37	43	52

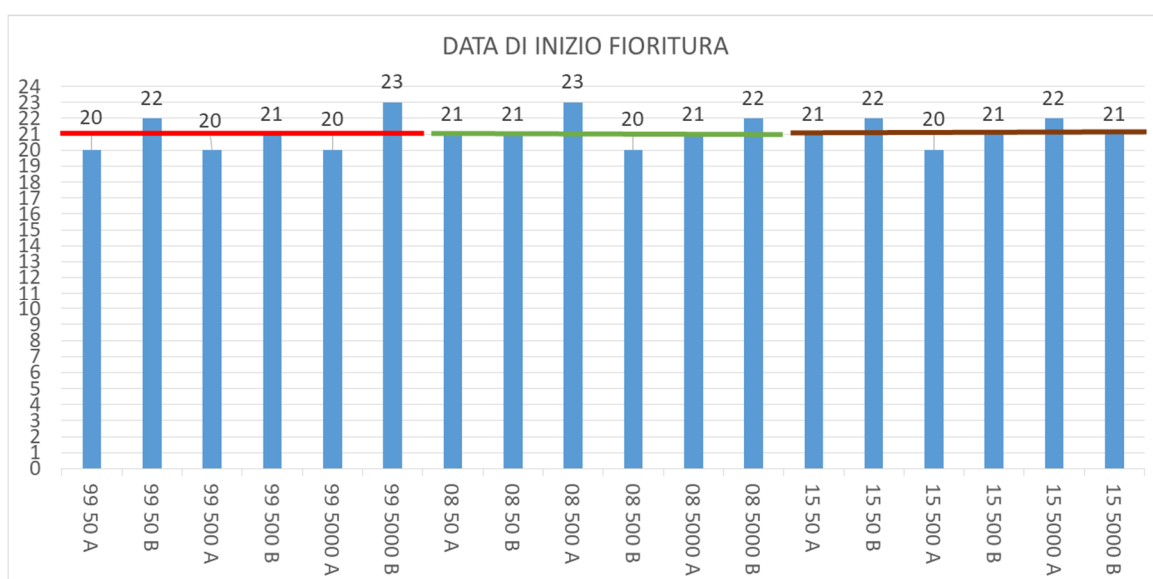
### **3 RISULTATI**

I valori medi per ogni carattere ed ogni sottopopolazione sono riportati nella **Tabella 3**.

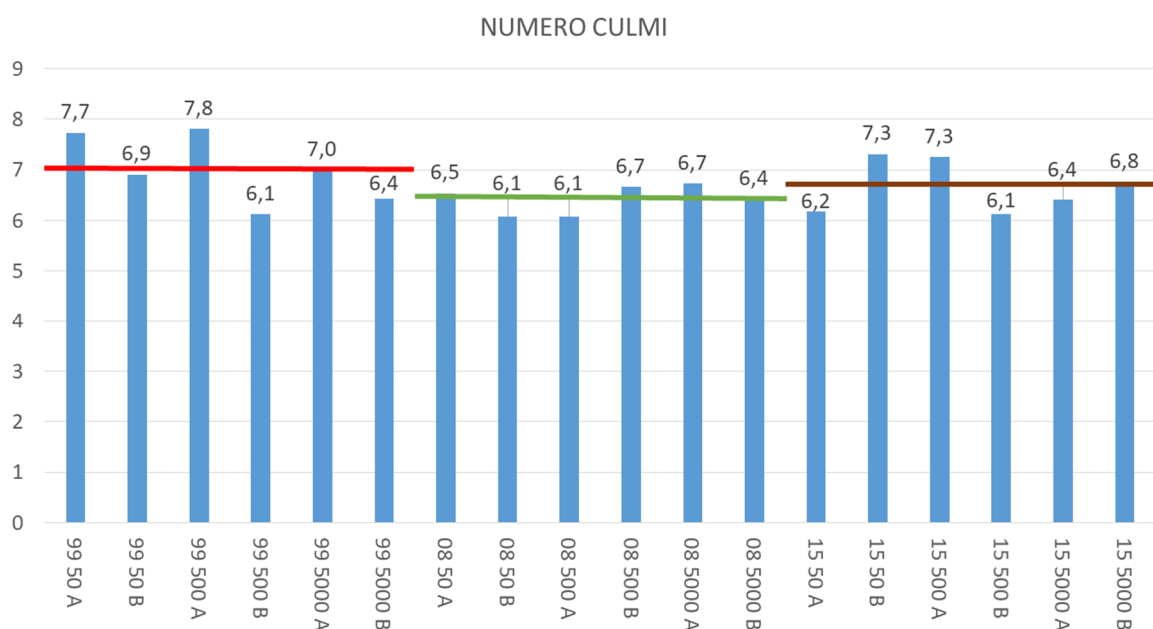
**Tabella 3:** dati fenotipici medi delle 6 sottopopolazioni per ognuna delle 3 annate (1999, 2008 e 2015) rappresentate nell'esperimento in serra.

	FIORITURA gg dal 01/04	N° CULMI	N° CULMI FERTILI	ALTEZZA ALL' INSERZIONE cm	ALTEZZA FINE SPIGA cm	ALTEZZA FINE RESTE cm	LUNGHEZZA SPIGA cm	LUNGHEZZA RESTE cm	LUNGHEZZA 10 INTERNODI CENTRALI DEL RACHIDE mm	LUNGHEZZA ARTICOLO BASALE RACHIDE mm	N° SEMI TOTALE	N° SEMI MEDIO PER SPIGA	PESO 1000 SEMI gr	PRODUZIONE TOTALE PER PIANTA gr
99 50 A	20	7,7	5,3	97,7	104,5	120,0	6,8	15,5	39,3	2,8	169,4	32,3	58,0	9,7
99 50 B	22	6,9	5,5	85,2	92,3	108,4	7,1	16,1	39,5	2,6	153,5	27,5	57,0	8,9
99 500 A	20	7,8	6,1	99,1	105,6	120,9	6,5	15,4	38,6	2,8	188,9	32,2	54,6	10,4
99 500 B	21	6,1	4,8	81,5	86,9	101,9	5,4	15,0	35,5	2,4	143,6	29,4	51,4	7,2
99 5000 A	20	7,0	5,0	90,1	97,5	112,4	7,4	14,9	38,5	2,5	191,9	39,1	52,2	9,9
99 5000 B	23	6,4	5,3	82,0	89,2	104,5	7,2	15,3	37,3	2,6	168,3	30,7	52,2	8,8
<b>MEDIA 99</b>	<b>21</b>	<b>7,0</b>	<b>5,3</b>	<b>89,3</b>	<b>96,0</b>	<b>111,3</b>	<b>6,7</b>	<b>15,4</b>	<b>38,1</b>	<b>2,6</b>	<b>169,3</b>	<b>31,9</b>	<b>54,2</b>	<b>9,2</b>
08 50 A	21	6,5	5,8	87,3	93,8	108,8	6,5	15,0	39,2	2,6	152,5	26,2	56,9	8,7
08 50 B	21	6,1	5,3	84,9	91,2	106,8	6,3	15,6	38,3	2,5	151,8	28,5	58,9	8,9
08 500 A	23	6,1	4,8	92,4	99,3	114,5	6,8	15,3	39,8	2,5	152,4	31,4	58,7	9,0
08 500 B	20	6,7	5,8	85,7	91,8	107,3	6,2	15,4	38,2	2,4	166,0	29,9	54,1	8,9
08 5000 A	21	6,7	5,5	88,3	95,0	111,1	6,7	16,1	40,2	2,7	164,5	29,8	56,3	9,3
08 5000 B	22	6,4	5,7	90,4	97,2	112,9	6,8	15,7	39,1	2,4	165,2	29,4	55,5	9,2
<b>MEDIA 08</b>	<b>21</b>	<b>6,4</b>	<b>5,5</b>	<b>88,2</b>	<b>94,7</b>	<b>110,2</b>	<b>6,6</b>	<b>15,5</b>	<b>39,1</b>	<b>2,5</b>	<b>158,7</b>	<b>29,2</b>	<b>56,7</b>	<b>9,0</b>
15 50 A	21	6,2	5,5	90,8	97,5	112,8	6,8	15,2	39,1	2,9	169,5	29,3	54,7	9,5
15 50 B	22	7,3	6,1	93,1	99,8	115,6	6,7	15,8	39,5	3,0	173,4	28,2	56,8	9,8
15 500 A	20	7,3	6,1	86,7	93,6	108,5	6,9	14,9	38,6	2,9	200,8	33,2	53,9	11,0
15 500 B	21	6,1	5,1	82,6	88,6	104,6	6,0	16,0	36,4	2,4	150,0	28,4	55,8	8,4
15 5000 A	22	6,4	5,4	88,1	94,8	111,1	6,6	16,4	38,6	2,6	164,2	30,1	56,7	9,3
15 5000 B	21	6,8	6,1	88,1	94,5	110,1	6,4	15,6	38,9	2,6	167,5	27,5	58,5	9,9
<b>MEDIA 15</b>	<b>21</b>	<b>6,7</b>	<b>5,7</b>	<b>88,2</b>	<b>94,8</b>	<b>110,4</b>	<b>6,6</b>	<b>15,6</b>	<b>38,5</b>	<b>2,7</b>	<b>170,9</b>	<b>29,4</b>	<b>56,1</b>	<b>9,6</b>

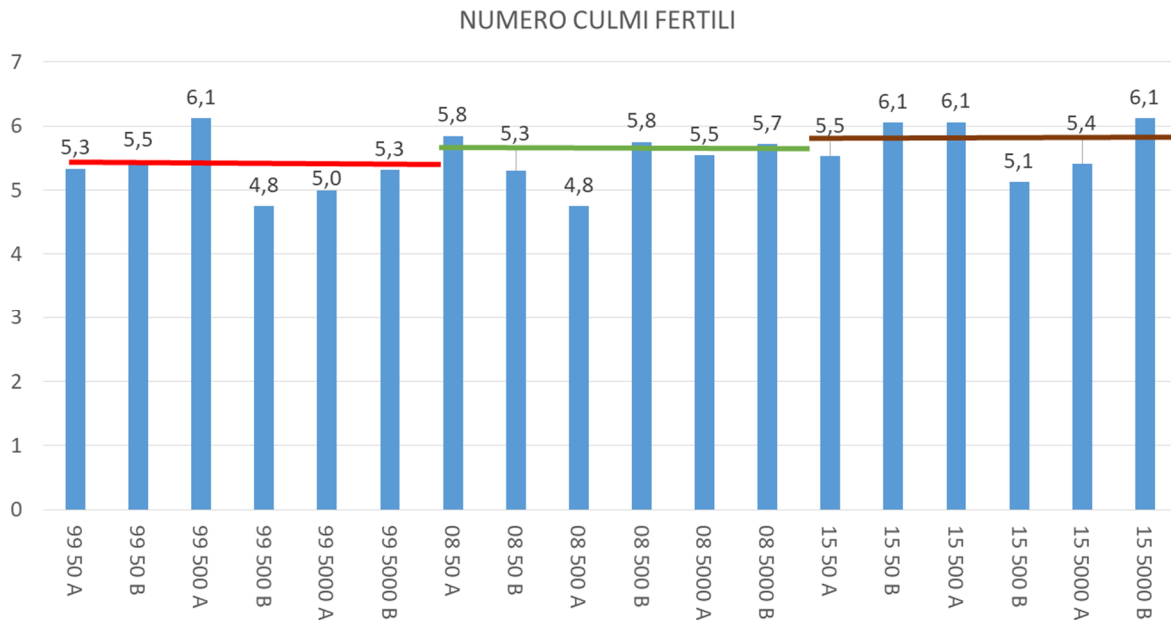
Di seguito (**Figura 12-25**) si riportano i dati medi ottenuti per ogni carattere in ognuna delle 6 sottopopolazioni per le tre annate (1999, 2008, 2015) rappresentate nell'esperimento di serra.



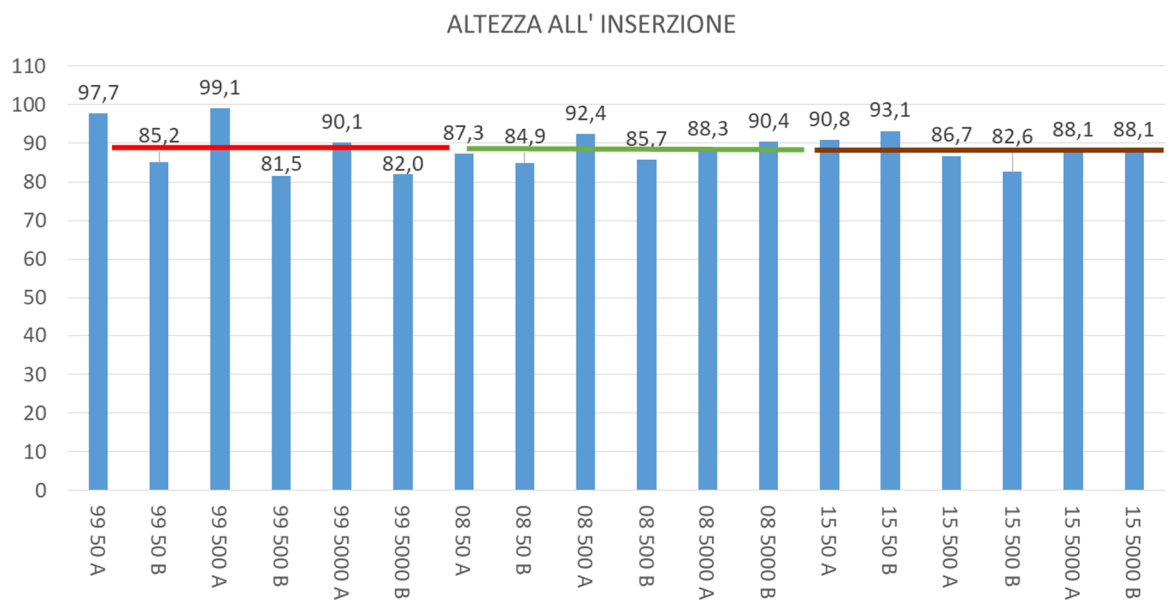
**Figura 12.** Dati di inizio fioritura. Valore medio delle annate (1999; rosso, 2008; verde, 2015; marrone): 21 – 21 – 21 (giorni tra il 1° aprile e l'emissione delle reste dal culmo per un 1 cm; asse y). Il dato medio per annata è stato ottenuto come media dei valori delle singole sottopopolazioni (50A, 50B, 500A, 500B, 5000A, 5000B).



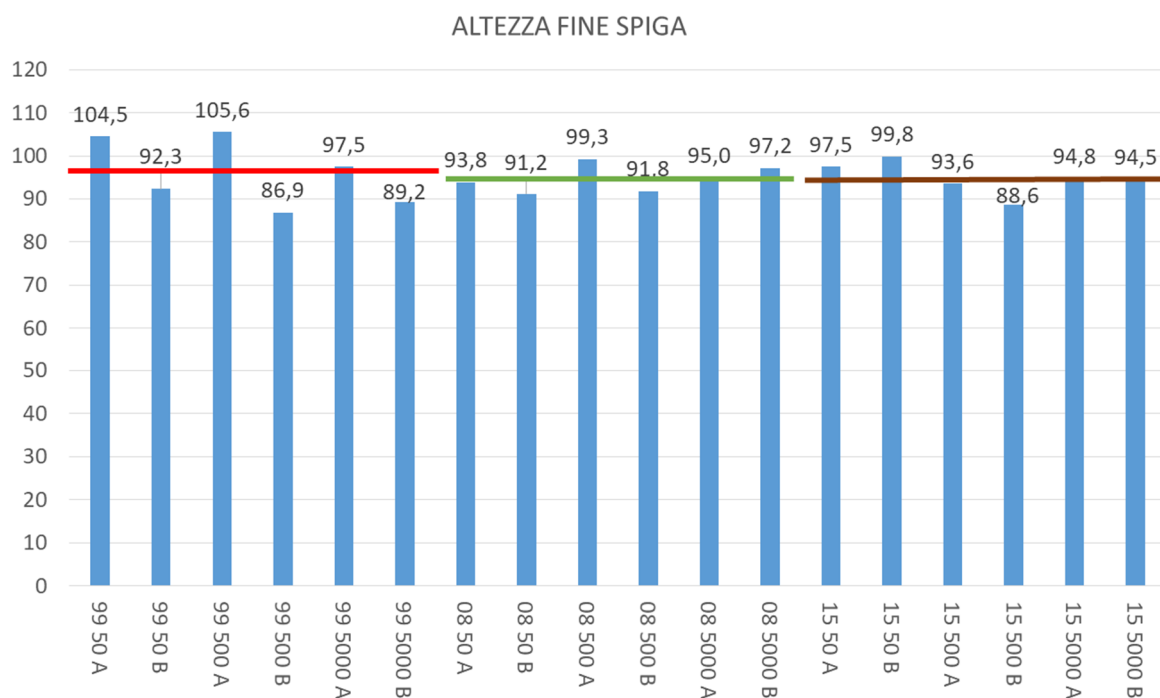
**Figura 13.** Numero culmi. Valore medio delle annate (1999; rosso, 2008; verde, 2015; marrone): 7 – 6,4 – 6,7 (asse y). Il dato medio per annata è stato ottenuto come media dei valori delle singole sottopopolazioni (50A, 50B, 500A, 500B, 5000A, 5000B).



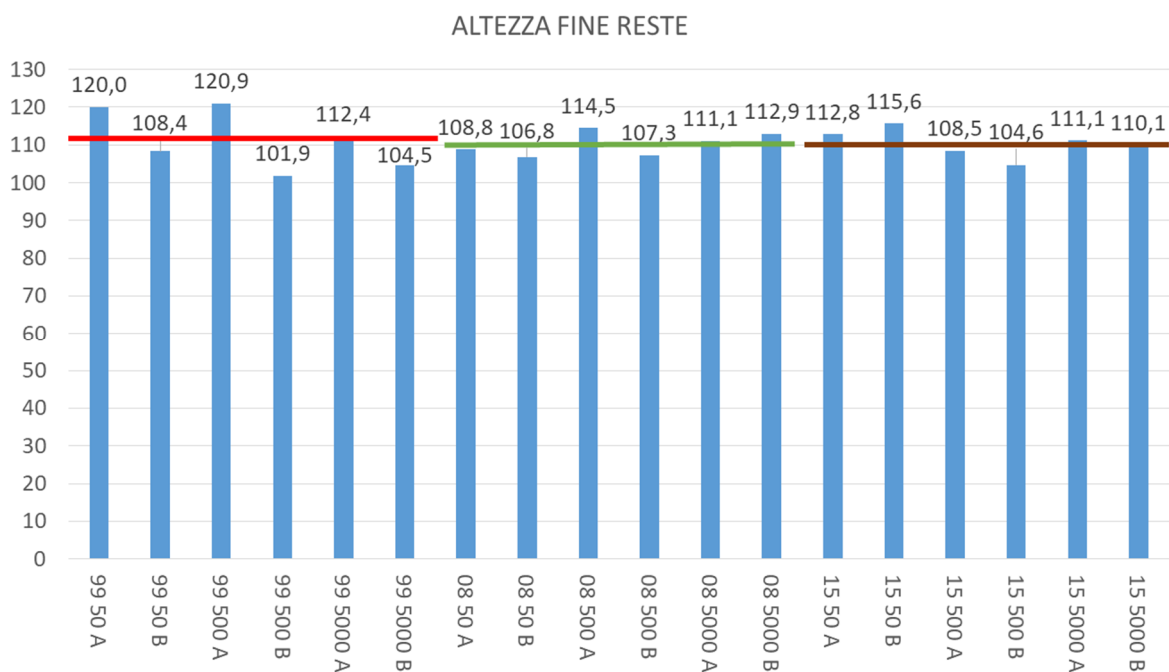
**Figura 14.** Numero culmi fertili. Valore medio delle annate (1999; rosso, 2008; verde, 2015; marrone): 5,3 – 5,5 – 5,7 (asse y). Il dato medio per annata è stato ottenuto come media dei valori delle singole sottopopolazioni (50A, 50B, 500A, 500B, 5000A, 5000B).



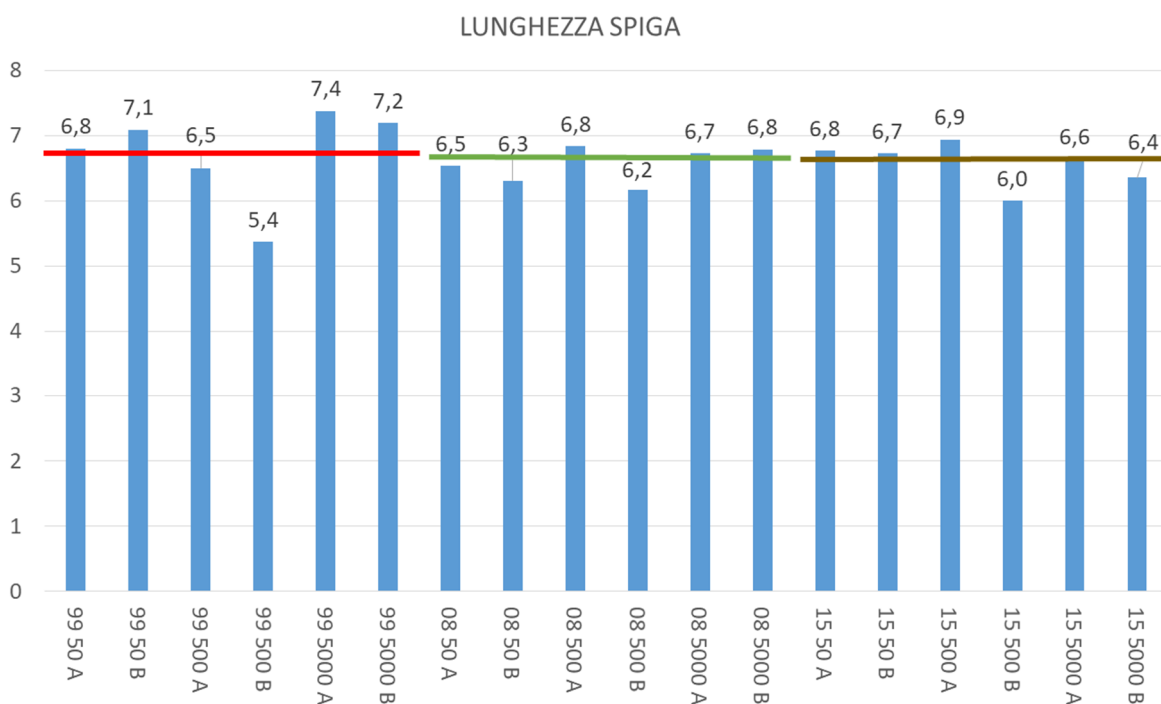
**Figura 15.** Altezza all'inserzione. Valore medio delle annate (1999; rosso, 2008; verde, 2015; marrone): 89,3 – 88,2 – 88,2 (cm; asse y). Il dato medio per annata è stato ottenuto come media dei valori delle singole sottopopolazioni (50A, 50B, 500A, 500B, 5000A, 5000B).



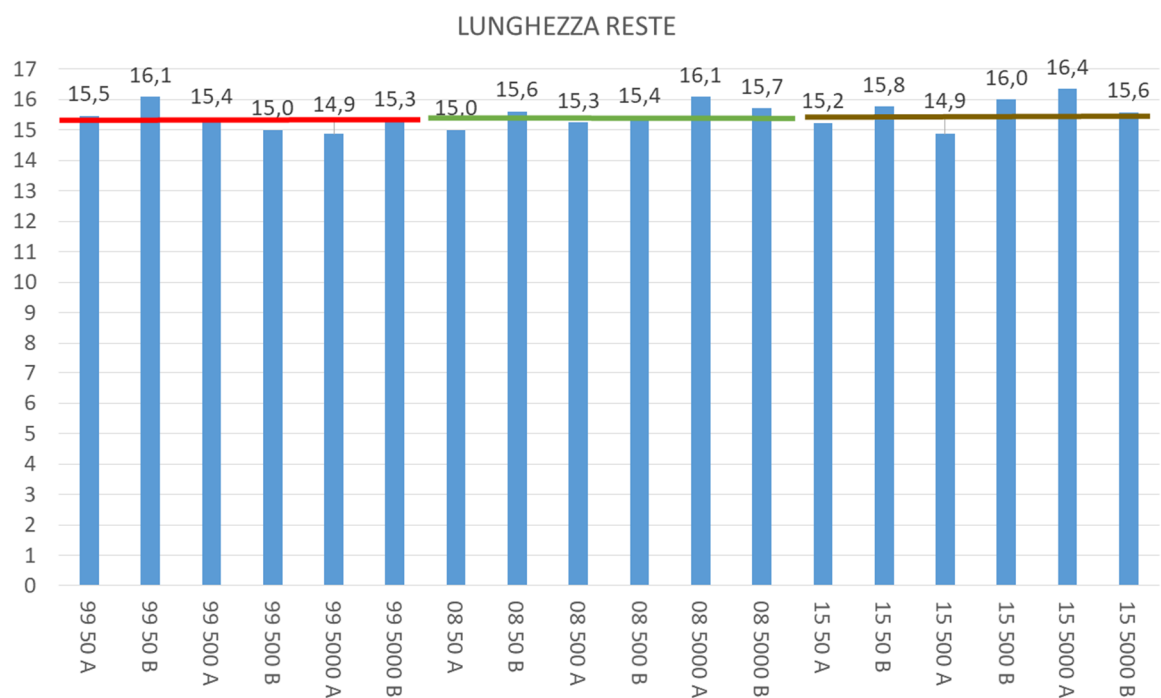
**Figura 16.** Altezza a fine spiga. Valore medio delle annate (1999; rosso, 2008; verde, 2015; marrone): 96 – 94,7 – 94,8 (cm; asse y). Il dato medio per annata è stato ottenuto come media dei valori delle singole sottopopolazioni (50A, 50B, 500A, 500B, 5000A, 5000B).



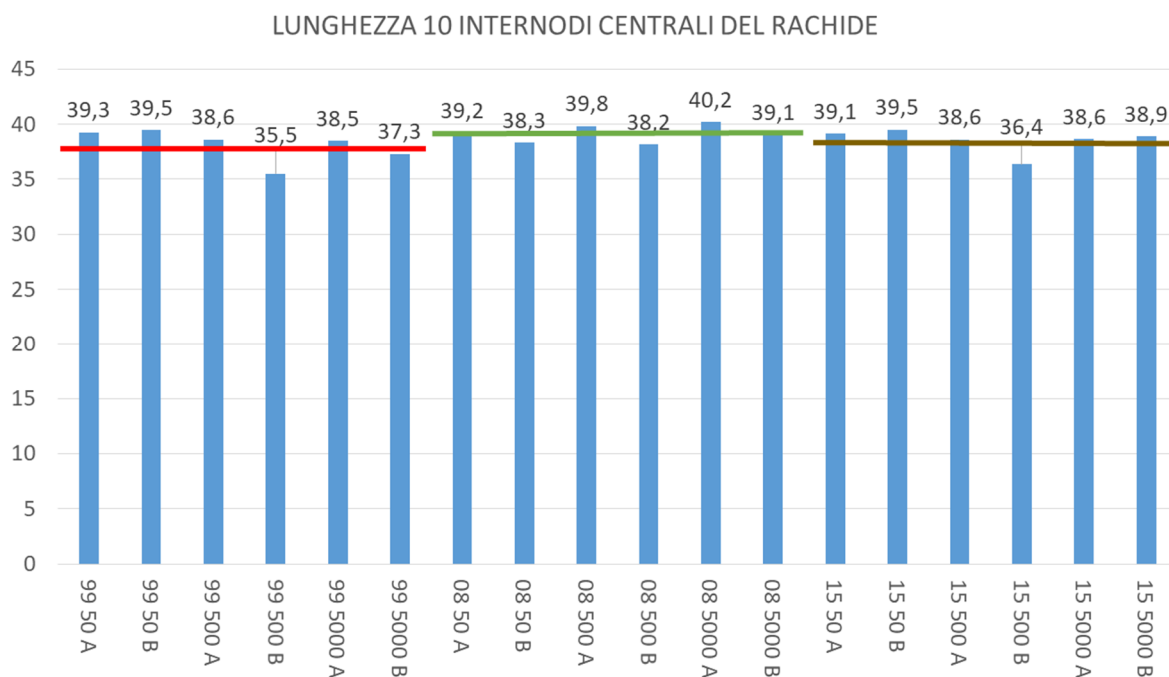
**Figura 17.** Altezza a fine reste. Valore medio delle annate (1999; rosso, 2008; verde, 2015; marrone): 111,3 – 110,2 – 110,4 (cm; asse y). Il dato medio per annata è stato ottenuto come media dei valori delle singole sottopopolazioni (50A, 50B, 500A, 500B, 5000A, 5000B).



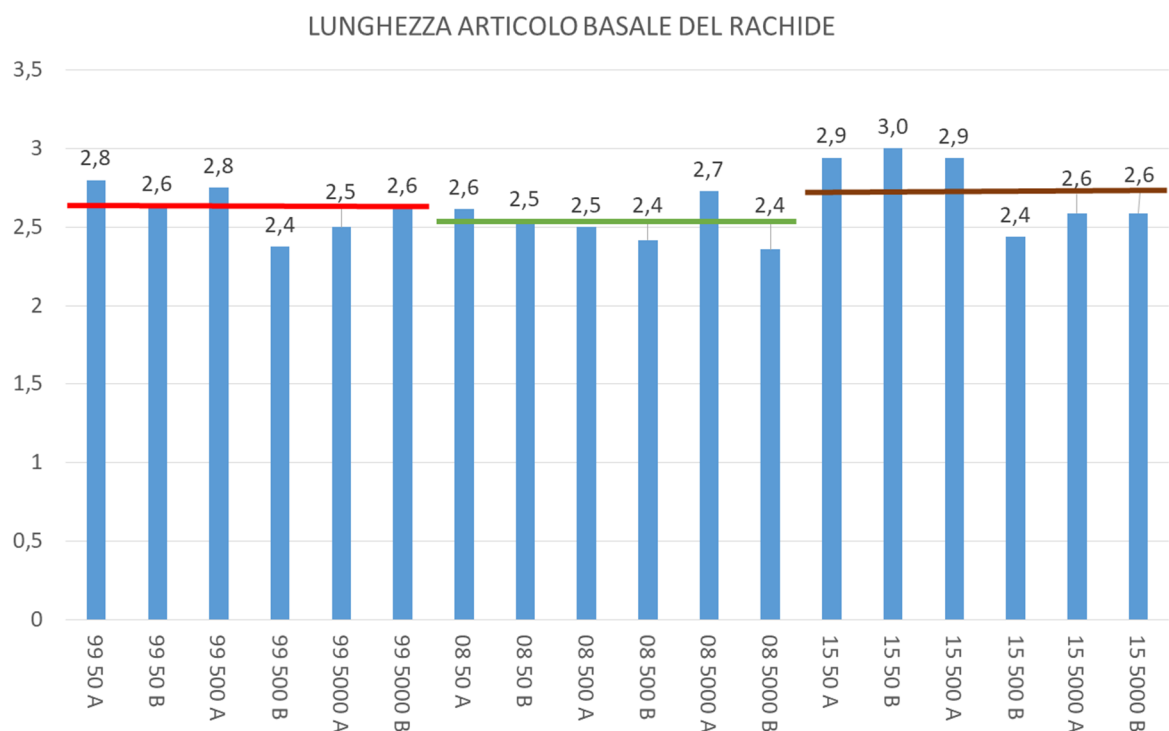
**Figura 18.** Lunghezza spiga. Valore medio delle annate (1999; rosso, 2008; verde, 2015; marrone): 6,7 – 6,6 – 6,6 (cm; asse y). Il dato medio per annata è stato ottenuto come media dei valori delle singole sottopopolazioni (50A, 50B, 500A, 500B, 5000A, 5000B).



**Figura 19.** Lunghezza reste. Valore medio delle annate (1999; rosso, 2008; verde, 2015; marrone): 15,4 – 15,5 – 15,6 (cm; asse y). Il dato medio per annata è stato ottenuto come media dei valori delle singole sottopopolazioni (50A, 50B, 500A, 500B, 5000A, 5000B).

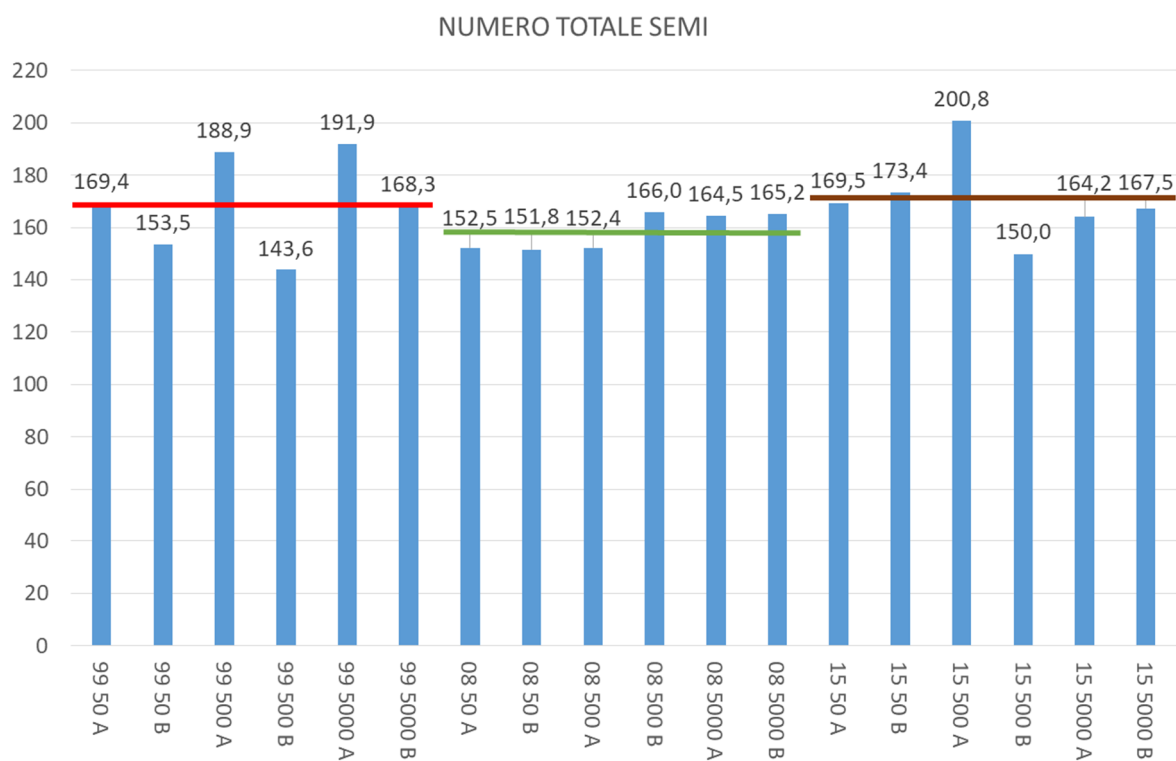


**Figura 20.** Lunghezza dei dieci internodi centrali del rachide. Valore medio delle annate (1999; rosso, 2008; verde, 2015; marrone): **38,1 – 39,2 – 38,5** (mm; asse y). Il dato medio per annata è stato ottenuto come media dei valori delle singole sottopopolazioni (50A, 50B, 500A, 500B, 5000A, 5000B).

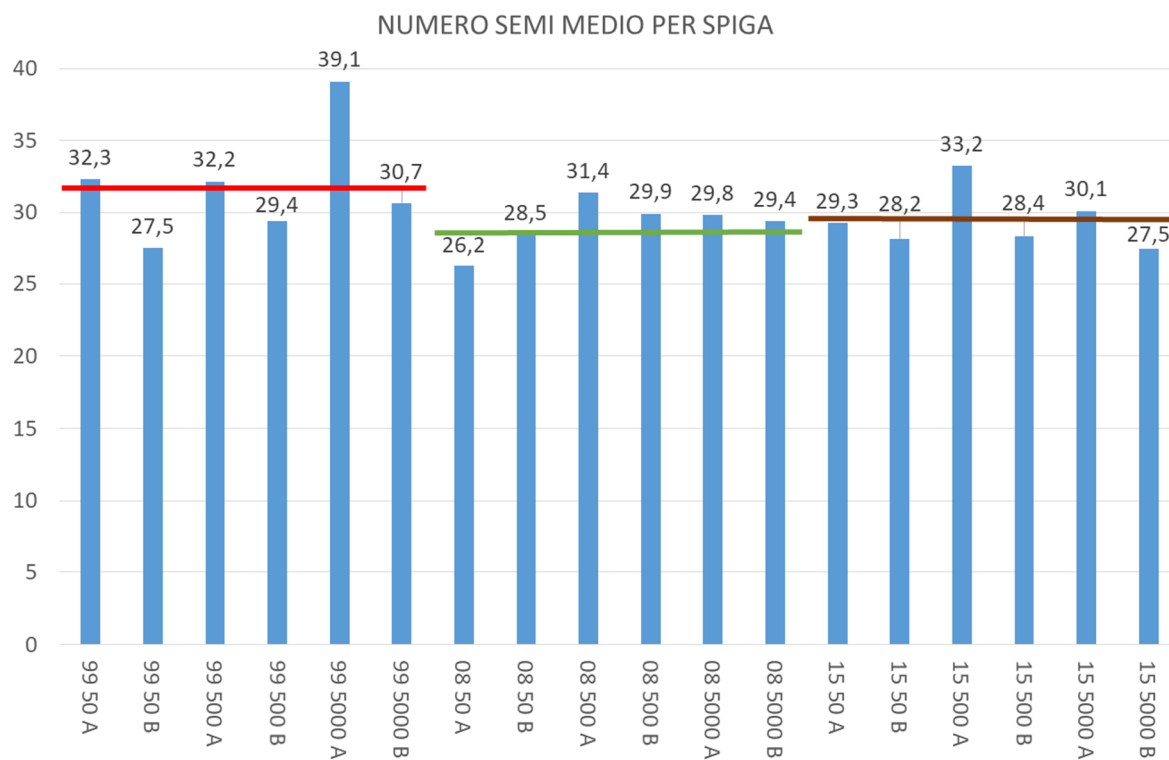


**Figura 21.** Lunghezza dell'articolo basale del rachide. Valore medio delle annate (1999; rosso, 2008; verde, 2015; marrone): **2,6 – 2,5 – 2,7** ( mm; asse y). Il dato medio per annata è stato ottenuto come media dei valori delle singole sottopopolazioni (50A, 50B, 500A, 500B, 5000A, 5000B).

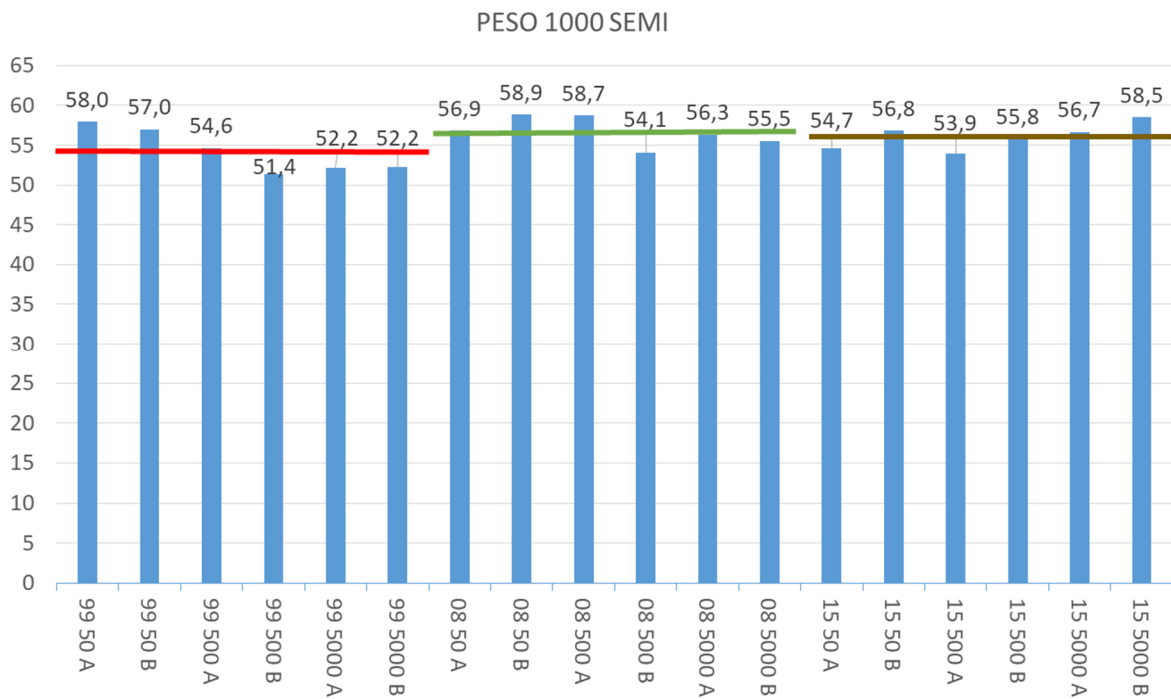




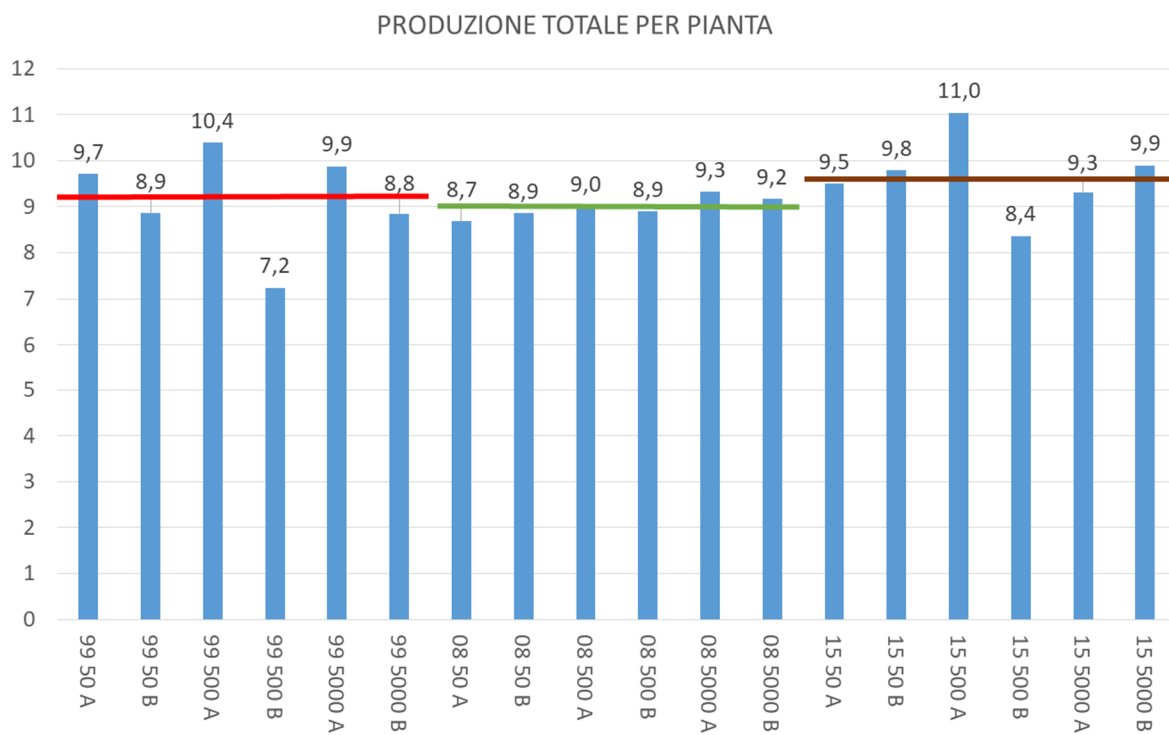
**Figura 22.** Numero totale di semi prodotti per pianta. Valore medio delle annate (1999; rosso, 2008; verde, 2015; marrone): 169,3 – 158,7 – 170,9 (asse y). Il dato medio per annata è stato ottenuto come media dei valori delle singole sottopopolazioni (50A, 50B, 500A, 500B, 5000A, 5000B).



**Figura 23.** Numero totale di semi medio per spiga. Valore medio delle annate (1999; rosso, 2008; verde, 2015; marrone): 31,9 – 29,2 – 29,4 (asse y). Il dato medio per annata è stato ottenuto come media dei valori delle singole sottopopolazioni (50A, 50B, 500A, 500B, 5000A, 5000B).



**Figura 24.** Peso 1000 semi. Valore medio delle annate (1999; rosso, 2008; verde, 2015; marrone): 54,2 – 56,7 – 56,1 (gr; asse y). Il dato medio per annata è stato ottenuto come media dei valori delle singole sottopopolazioni (50A, 50B, 500A, 500B, 5000A, 5000B).



**Figura 25.** Produzione totale per pianta. Valore medio delle annate (1999; rosso, 2008; verde, 2015; marrone): 9,2 – 9 – 9,6 (gr; asse y). Il dato medio per annata è stato ottenuto come media dei valori delle singole sottopopolazioni (50A, 50B, 500A, 500B, 5000A, 5000B).

Complessivamente, i risultati del test di  $X^2$  per tutti i caratteri e confrontando le linee del 1999 (dato atteso) con quelle del 2008 (dato osservato), e le linee del 1999 (dato atteso) con quelle del 2015 (dato osservato), sono riportati nella **Tabella 4**.

**Tabella 4.** Risultati del test di  $X^2$  confrontando i dati medi per caratteri fenotipici tra le linee del 1999 (dato atteso) con quelle del 2008 e del 2015 (dato osservato)

Carattere fenotipico	$X^2$ (Atteso; 1999, Osservato; 2008)	$X^2$ (Atteso; 1999, Osservato; 2015)
Data di inizio fioritura	0,983699	0,994645
Numero di culmi	0,981505	0,994033
Numero di culmi fertili	0,984971	0,998344
Altezza all'inserzione della spiga	0,749752	0,654218
Altezza a fine spiga	0,76874	0,720996
Altezza a fine reste	0,794637	0,763785
Lunghezza spiga	0,997485	0,994823
Lunghezza reste	0,999556	0,998562
Lunghezza dei 10 internodi centrali del rachide	0,994527	0,999879
Lunghezza dell'articolo basale del rachide	0,999884	0,999919
Numero totale di semi	0,006267	0,180505
Numero di semi medio per spiga	0,928484	0,736872
Peso 1000 semi	0,956257	0,885019
Produzione totale per pianta	0,981995	0,992985

Dalla **Tabella 1** si evince che il valore di  $X^2$  con 5 gradi di libertà e un valore di significatività del 1% è 15,086. Per i caratteri oggetto di studio, come evidenziato nella **Tabella 4**, il valore di  $X^2$  è inferiore al valore tabellare.

Ciò significa che si può accettare l'ipotesi nulla e che la variabilità osservata per i caratteri fenotipici nelle annate 2008 e 2015 rispetto al valore atteso (1999) è imputabile al caso con una probabilità del 99%.

Ciò significa che non ci sono differenze statisticamente significative tra la popolazione del 1999 e quelle del 2008 e del 2015 per tutti i caratteri analizzati.

I risultati del test di Wilcoxon per i caratteri fenotipici considerati sono riportati in **Tabella 5** (confronto tra 1999 e 2008) e in **Tabella 6** (confronto tra 1999 e 2015).

**Tabella 5.** Risultati del test di Wilcoxon per il confronto tra i valori medi dei caratteri fenotipici tra le annate 1999 e 2008. *D*: differenza tra valori medi delle due annate. Rank: ordine (dal minore al maggiore) dei valori assoluti di *D*. Ai valori di rank è stato attribuito successivamente il segno (negativo o positivo) del corrispondente valore *D* e i valori di rank positivi e negativi sono stati sommati separatamente.

<b>Carattere fenotipico</b>	<b>MEDIA 1999</b>	<b>MEDIA 2008</b>	<b><i>D</i></b>	<b>RANK</b>
<b>DATA DI INIZIO FIORITURA</b>	21	21	0	0
<b>N° CULMI</b>	7,00	6,42	+0,58	+3
<b>N° CULMI FERTILI</b>	5,33	5,49	-0,16	-2
<b>ALTEZZA ALL' INSERZIONE (cm)</b>	89,27	88,17	+1,10	+5.5
<b>ALTEZZA FINE SPIGA (cm)</b>	95,99	94,73	+1,26	+7
<b>ALTEZZA FINE RESTE (cm)</b>	111,34	110,24	+1,10	+5.5
<b>LUNGHEZZA SPIGA (cm)</b>	6,72	6,56	+0,16	+2
<b>LUNGHEZZA RESTE (cm)</b>	15,35	15,51	-0,16	-2
<b>LUNGHEZZA 10 INTERNODI CENTRALI DEL RACHIDE (mm)</b>	38,11	39,13	-1,02	-4
<b>LUNGHEZZA ARTICOLO BASALE RACHIDE (mm)</b>	2,61	2,53	+0,08	+1
<b>N° SEMI TOTALE</b>	169,26	158,72	+10,54	+10
<b>N° SEMI MEDIO PER SPIGA</b>	31,86	29,20	+2,66	+9
<b>PESO 1000 SEMI (gr)</b>	54,23	56,74	-2,51	-8
<b>PRODUZIONE TOTALE PER PIANTA (gr)</b>	9,15	8,99	+0,16	+2
<b>SOMMATORIA ASSOLUTA RANKS NEGATIVI</b>				16
<b>SOMMATORIA ASSOLUTA RANKS POSITIVI</b>				45

**Tabella 6:** Risultati del test di Wilcoxon per il confronto tra i valori medi dei caratteri fenotipici tra le annate 1999 e 2015. *D*: differenza tra valori medi delle due annate. Rank: ordine (dal minore al maggiore) dei valori assoluti di *D*. Ai valori di rank è stato attribuito successivamente il segno (negativo o positivo) del corrispondente valore *D* e i valori di rank positivi e negativi sono stati sommati separatamente.

<b>Carattere fenotipico</b>	<b>MEDIA 1999</b>	<b>MEDIA 2015</b>	<b><i>D</i></b>	<b>RANK</b>
<b>DATA DI INIZIO FIORITURA</b>	21	21	0,00	0
<b>N° CULMI</b>	7,00	6,67	+0,33	+4
<b>N° CULMI FERTILI</b>	5,33	5,72	-0,39	-5
<b>ALTEZZA ALL' INSERZIONE (cm)</b>	89,27	88,24	+1,03	+9
<b>ALTEZZA FINE SPIGA (cm)</b>	95,99	94,81	+1,18	+10
<b>ALTEZZA FINE RESTE (cm)</b>	111,34	110,45	+0,90	+8
<b>LUNGHEZZA SPIGA (cm)</b>	6,72	6,57	+0,15	+2
<b>LUNGHEZZA RESTE (cm)</b>	15,35	15,64	-0,28	-3
<b>LUNGHEZZA 10 INTERNODI CENTRALI DEL RACHIDE (mm)</b>	38,11	38,52	-0,41	-6
<b>LUNGHEZZA ARTICOLO BASALE RACHIDE (mm)</b>	2,61	2,75	-0,13	-1
<b>N° SEMI TOTALE</b>	169,26	170,91	-1,64	-11
<b>N° SEMI MEDIO PER SPIGA</b>	31,86	29,45	+2,41	+13
<b>PESO 1000 SEMI (gr)</b>	54,23	56,07	-1,83	-12
<b>PRODUZIONE TOTALE PER PIANTA (gr)</b>	9,15	9,65	-0,49	-7
<b>SOMMATORIA ASSOLUTA RANKS NEGATIVI</b>				45
<b>SOMMATORIA ASSOLUTA RANKS POSITIVI</b>				46

Dai risultati del test di Wilcoxon si nota che la somma di minor valore ( $T_s$ ) è pari a 16 nella **Tabella 5** e a 45 nella **Tabella 6**, mentre il valore critico tabulare per il Wilcoxon Signed-Rank Test (**Tabella 2**) equivale a 21 (14 gradi di libertà e significatività pari al 5%).

È quindi possibile concludere che lo scostamento dei dati osservati da quelli attesi non è significativo nel confronto tra l'annata 1999 e l'annata 2015 (**Tabella 6**), in quanto i valori  $T_s$  sono maggiori rispetto al dato tabellare, mentre risulta significativo, seppur di poco nel confronto tra l'annata 1999 e l'annata 2008 (**Tabella 5**).



## 4 DISCUSSIONE

La rilevanza delle landraces, e quindi l'importanza della loro salvaguardia e conservazione, risiede nel fatto che esse rappresentano un'importantissima fonte di materiale genetico con un peculiare adattamento ad un determinato areale di coltivazione. In virtù di questa loro caratteristica possono quindi essere inserite in programmi di miglioramento genetico delle specie agrarie. Le varietà locali inoltre rappresentano un fondamentale mezzo di conservazione e protezione della biodiversità agricola dall'erosione genetica.

Nel presente lavoro di tesi è stato svolto un esperimento di conservazione dinamica ex situ di una varietà locale di orzo, il quale è stato realizzato dall'unità di ricerca di Genetica Agraria dell'Università Politecnica delle Marche. In particolare, l'esperimento si è svolto a partire dal 1999, e la landrace ERDAS è stata coltivata ogni anno al fine di verificare gli eventuali effetti che la conservazione dinamica ex situ può avere su una varietà locale di *Hordeum vulgare* L.

Il risultato principale del presente elaborato è che per i caratteri fenotipici analizzati non si osservano differenze significative tra le diverse annate.

Ciò significa che la varietà locale studiata ha mantenuto intatti ed inalterati i caratteri presi in considerazione e che le differenze rilevate nei dati registrati sono imputabili a fattori casuali e quindi non legate ad una variazione ereditabile. In dettaglio, come evidenziato nella **Tabella 5**, il test di Wilcoxon dei ranghi con segno ha permesso di evidenziare soltanto una lieve differenza tra i dati del 1999 e quelli del 2008, esattamente entro il limite del 2% di significatività. Tuttavia, è necessario considerare che utilizzando una procedura di correzione del livello di significatività che tenga conto dei confronti multipli effettuati, ovvero i 14 confronti a coppie tra annate per ogni carattere fenotipico (es: correzione di Benjamini-Hochberg), le differenze osservate tra 1999 e 2008 risulterebbero non più significative.

Considerando anche i dati molecolari ottenuti da Mores (2019), i risultati del presente lavoro di tesi indicano che la deriva genetica non ha prodotto variazioni nel corso della coltivazione della varietà locale ERDAS, anche in relazione all'elevata diversità genetica della popolazione e all'elevato numero di genotipi presenti anche nelle sottopopolazioni più piccole (allevate in 50 m<sup>2</sup> dove

possono essere presenti circa 5000-10000 individui). Inoltre, i risultati ottenuti indicano che i caratteri esaminati non sono stati soggetti ad una pressione selettiva capace di modificare le frequenze alleliche per loci specifici. È però necessario considerare che le caratteristiche esaminate dovranno essere soggette ad ulteriori prove per validare i risultati ottenuti.

In generale i risultati della prova in esame confermano, utilizzando per la prima volta un approccio di evoluzione sperimentale legato ad una specie coltivata, i risultati già ottenuti nell'analisi genetica di popolazioni locali (Mazzucato et al. 2008, Bellucci et al. 2013, Bitocchi et al. 2009, Tanto Hadado et al. 2010) che indicano la loro elevata capacità di mantenere la diversità genetica anche in presenza di una frammentazione delle popolazioni e con popolazioni di ridotta dimensione (Bitocchi et al. 2009). I dati presentati suggeriscono anche che la conservazione ex situ delle varietà locali è una forma molto efficace di conservazione della diversità genetica al fine di mantenere la potenzialità adattativa delle popolazioni conservate.

## 5 CONCLUSIONI

In conclusione si può affermare che la conservazione di tutte le forme di biodiversità agricola è di particolare importanza per due principali motivazioni: contrastare l'erosione genetica e assicurarsi fonti materiale genetico che possano essere usate nei programmi di miglioramento genetico delle specie coltivate. Per raggiungere questo obiettivo possono essere attuate diverse tecniche ed approcci. La tesi qui presentata ha indagato l'efficacia della conservazione dinamica ex situ per una varietà locale di orzo sardo e tale tecnica è stata giudicata adeguata alla conservazione di landraces di *Hordeum vulgare L.*

## BIBLIOGRAFIA

ABDEL-GHANI, Adel H., et al. Estimating the outcrossing rate of barley landraces and wild barley populations collected from ecologically different regions of Jordan. *Theoretical and Applied Genetics*, 2004, 109.3: 588-595

BELLUCCI, Elisa, et al. Decreased nucleotide and expression diversity and modified coexpression patterns characterize domestication in the common bean. *The Plant Cell*, 2014, 26.5: 1901-1912.

BELLUCCI, Elisa, et al. Population structure of barley landrace populations and gene-flow with modern varieties. *Plos one*, 2013, 8.12: e83891.

BITOCCHI, Elena, et al. Introgression from modern hybrid varieties into landrace populations of maize (*Zea mays* ssp. *mays* L.) in central Italy. *Molecular Ecology*, 2009, Vol 18, 603-621.

BITOCCHI, Elena, et al. High Level of Nonsynonymous Changes in Common Bean Suggests That Selection under Domestication Increased Functional Diversity at Target Traits. *Frontiers in Plant Science*, 2017. doi.org/10.3389/fpls.2016.02005.

CAVALLI SFORZA, L. Population structure and human evolution. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 1966, vol 164

FRANKEL, Otto Herzberg; BROWN, Anthony hd; BURDON, Jeremy James. *The conservation of plant biodiversity*. Cambridge University Press, 1995.

GEPTS, Paul; PAPA, Roberto. Evolution during domestication. *Encyclopedia of life sciences*, 2002, 1-7.

HARLAN, Jack Rodney, et al. *Crops and man*. American Society of Agronomy, 1992.

LEWONTIN, R. C.; KRAKAUER, Jesse. Distribution of gene frequency as a test of the theory of the selective neutrality of polymorphisms. *Genetics*, 1973, 74.1: 175-195.

MAZZUCATO, Andrea, et al. Genetic diversity, structure and marker-trait associations in a collection of Italian tomato (*Solanum lycopersicum* L.) landraces. *Theoretical and Applied Genetics*, 2008, 116.5: 657-669.

MEYER, Rachel S.; PURUGGANAN, Michael D. Evolution of crop species: genetics of domestication and diversification. *Nature reviews genetics*, 2013, 14.12: 840.

MORES, Antonia. Experimental evolution approach to study crop adaptation. (unpublished)

PAPA, Roberto, et al. Genetic diversity in landrace populations of *Hordeum vulgare* L. from Sardinia, Italy, as revealed by RAPDs, isozymes and morphophenological traits. *Plant breeding*, 1998, 117.6: 523-530.

PUSADEE, Tonapha, et al. Genetic structure and isolation by distance in a landrace of Thai rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2009, 106.33: 13880-13885.

QI-LUN, Yao, et al. Genetic diversity based on SSR markers in maize (*Zea mays* L.) landraces from Wuling mountain region in China. *Journal of Genetics*, 2008, 87.3: 287-291.

TANTO HADADO, Tesema, et al. Adaptation and diversity along an altitudinal gradient in Ethiopian barley (*Hordeum vulgare* L.) landraces revealed by molecular analysis. *BMC Plant Biology*, 2010, 10.1: 121.

VAVILOV, Nikolai Ivanovich, et al. Origin and geography of cultivated plants. Cambridge University Press, 1992.

WILCOXON, Frank. Individual comparisons by ranking methods. Biometrics bulletin, 1945, 1.6: 80-83.

YAMASAKI, M. ; TENAILLON, M. ;SCHROEDER, S.G. ; et al. A large-scale screen for artificial selection in maize identifies candidate agronomic loci for domestication and crop improvement. The Plant Cell, 2005

## **RINGRAZIAMENTI**

Sento di dover ringraziare innanzitutto il Professor Roberto Papa che mi ha dato la possibilità di partecipare alla sperimentazione che ha condotto alla stesura di questa tesi.

Un grande ringraziamento va anche al Dottor Valerio Di Vittori e alla Dottoressa Antonia Mores il cui aiuto è stato determinante per creare questa piccola opera.

Sono felice di aver potuto collaborare con il team del Dipartimento di Genetica Agraria dell'Università Politecnica delle Marche e quindi ringrazio tanto le Dottoresse Elena Bitocchi, la Dottoressa Elisa Bellucci e tutti coloro che fanno parte di questa bella squadra.