

ALESSANDRO TONDELLI\*, STEFANO DELBONO\*, FRANZ BADECK\*,  
CHIARA BISELLI\*, FULVIA RIZZA\*, DONATA PAGANI\*, NADIA FACCINI\*,  
RENZO ALBERICI\*, MARINA BARONCHELLI\*, FABIO REGGIANI\*,  
ALBERTO GIANINETTI\*, GIAMPIERO VALÈ\*, LUIGI CATTIVELLI\*

## Innovazione e sostenibilità nella coltivazione dell'orzo

### I. INTRODUZIONE

La capacità delle piante coltivate di adattarsi ai diversi ambienti del pianeta determina il loro areale di diffusione, così se da un lato esistono specie capaci di crescere solo in ambienti molto specifici (ad esempio le piante tropicali) dall'altro ci sono piante caratterizzate da una marcata adattabilità ambientale. L'orzo è probabilmente la specie in cui questa caratteristica è più accentuata, essendo coltivato a partire dagli ambienti freddi del circolo polare artico sino ai margini del deserto, passando per l'altopiano himalayano. La capacità di questa specie di adattarsi alle condizioni più disparate è sostenuta da una ricca diversità genetica che oggi è accuratamente caratterizzata a livello molecolare e valutata a livello fenotipico per identificare nuovi caratteri che possono contribuire a migliorare la sostenibilità della coltura. La grande capacità di adattamento dell'orzo è innanzitutto legata alla presenza di fattori genetici che consentono di sincronizzare il ciclo vegetativo della pianta con l'ambiente (richiesta di vernalizzazione, sensibilità al fotoperiodo e geni di precocità). In questo modo si possono avere orzi primaverili precoci adatti agli ambienti con inverni freddi e lunghi e una breve stagione primaverile-estiva, così come orzi invernali tardivi capaci di sfruttare appieno tutte le potenzialità produttive dei climi temperati. Inoltre la buona resistenza alla siccità dell'orzo consente alla pianta di ben adattarsi agli ambienti siccitosi come quelli del Nord Africa o del Medio Oriente dove varietà di orzo primaverile vengono seminate in inverno per sfruttare al meglio la maggiore piovosità della stagione invernale-primaverile (fig. 1).

\* *Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria (CREA), Centro di ricerca per la genomica vegetale, Fiorenzuola d'Arda (PC)*

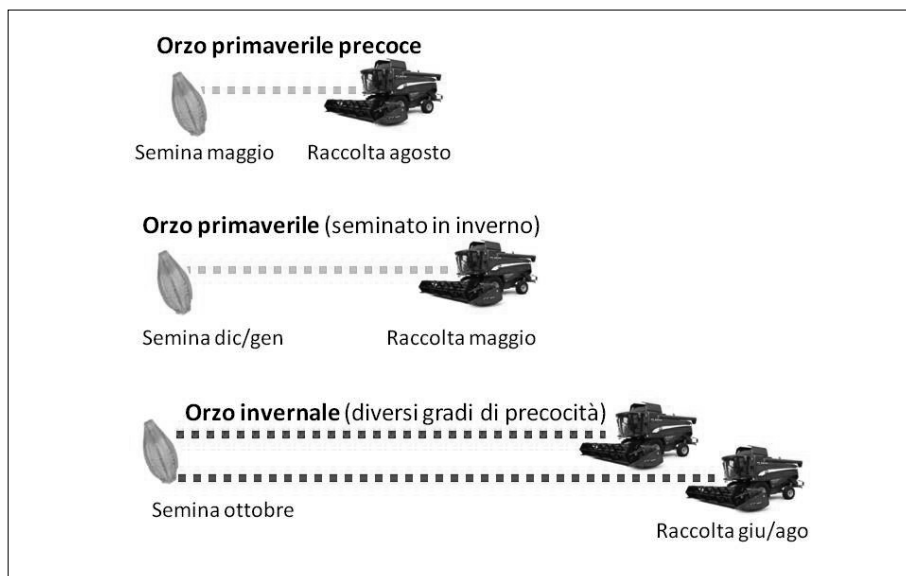


Fig. 1 L'orzo con un ciclo produttivo che può variare da 90 a 300 giorni e una buona resistenza alla siccità è in grado di adattarsi a una vasta gamma di ambienti, dal circolo polare artico ai limiti del deserto

La biodiversità dell'orzo coltivato non è limitata solo alla capacità della specie di adattarsi ai vari ambienti, ma si estende anche alla tipologia di spiga (orzo distico e orzo polistico), alla tipologia di granella (seme nudo e seme vestito) e alla composizione del seme che consente di selezionare piante per uso zootecnico, per la produzione di malto, o ad alto contenuto di betagluconi per l'alimentazione umana. Infine esiste una enorme biodiversità costituita dalle varietà antiche e dalle forme selvatiche che spesso portano importanti fonti di resistenza a malattie. Tutto questo patrimonio di biodiversità è alla base del processo di selezione che porta allo sviluppo delle nuove varietà ad alta sostenibilità, piante resistenti alle malattie, efficienti nell'utilizzo delle risorse nutritive (elementi fertilizzante e acqua) e capaci di produrre un seme con specifici profili qualitativi.

## 2. CARATTERIZZAZIONE MOLECOLARE DELLA BIODIVERSITÀ DEGLI ORZI COLTIVATI

Nell'ambito di un progetto Europeo dedicato all'esplorazione della diversità genetica dell'orzo (EXBARDIV) è stata condotta una caratterizzazione molecolare di circa 400 varietà europee testandone la variabilità allelica per circa

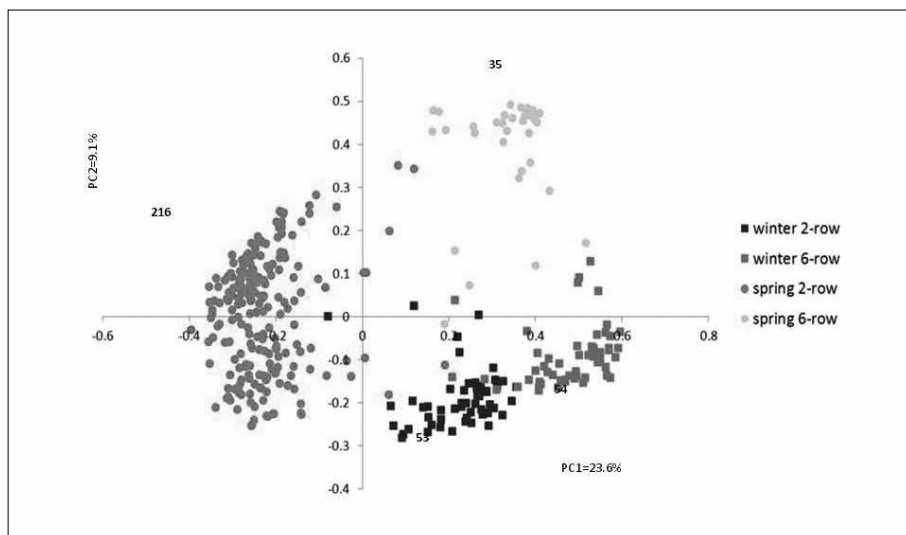


Fig. 2 Analisi delle componenti principali (PCA) generata dalla caratterizzazione molecolare di circa 400 varietà di orzo mediante circa 9.000 marcatori molecolari

9.000 polimorfismi di singolo nucleotide (SNP; Tondelli et al., 2013). I risultati hanno evidenziato come le varietà si raggruppano chiaramente sulla base del loro habitus di crescita (invernale e primaverile) e delle diverse tipologie di spiga (distico e polistico), un dato che suggerisce come il miglioramento genetico degli ultimi 50 anni abbia operato prevalentemente entro ciascuna tipologia di pianta limitando la diversità entro ciascun gruppo di breeding ma ampliando quella tra le diverse tipologie di orzo. La figura 2 illustra il risultato dell'analisi delle componenti principali della varianza (PCA) realizzata con i dati molecolari. La componente principale (PC1) spiega il 23% di tutta la diversità analizzata e distingue chiaramente il gruppo dei primaverili distici, prevalentemente da malto dalle altre tipologie, mentre la PC2 (9% delle diversità spiegata) separa nettamente i primaverili polistici da tutti gli invernali. Ulteriori analisi sul gruppo dei soli orzi primaverili hanno indicato come il miglioramento genetico degli ultimi decenni abbia significativamente modificato la diversità genetica determinando un'associazione tra certe regioni cromosomiche e le superiori caratteristiche produttive delle varietà moderne (Tondelli et al., 2013). Questi dati spiegano l'azione del miglioramento genetico sul genoma e consentono di procedere a un'analisi genetica attraverso *Genome Wide Association Scan* (GWAS; Barabaschi et al., 2016) per l'identificazione dei caratteri necessari a migliorare la sostenibilità della coltura dell'orzo e dei geni a essi associati. Ad esempio, usando il sottoinsieme degli

orzi primaverili è stato analizzata la base genetica della tolleranza al freddo dimostrando come esista una variabilità genetica per tale carattere anche all'interno del germoplasma primaverile e come questo carattere sia controllato dagli stessi loci sul cromosoma 5H responsabili della generalmente maggior resistenza al freddo degli orzi invernali (Tondelli et al., 2015).

### 3. SVILUPPO DI PIANTE RESISTENTI ALLE MALATTIE

La sostenibilità dell'orzo, e più in generale di tutte le piante coltivate, è supportata da un continuo progresso genetico che mira a inserire nelle moderne varietà nuovi geni che conferiscono particolari caratteristiche produttive o qualitative e di resistenza a stress di natura biotica e abiotica. In questa attività di miglioramento genetico grande attenzione è rivolta alla ricerca e all'introduzione di fonti di resistenza alle malattie virali e fungine. Piante geneticamente resistenti permettono produzioni più elevate e salubri senza ricorrere a trattamenti fitosanitari. Le moderne varietà di orzo portano fonti di resistenza alle virosi (virus del mosaico giallo dell'orzo e virus del nanismo dell'orzo), all'oidio, alla striatura e alla maculatura bruna e altre malattie fungine, tutte introdotte attraverso l'uso di marcatori molecolari (Marker-Assisted Selection). Le principali malattie dell'orzo in Italia sono illustrate in figura 3.

La ricerca di nuove fonti di resistenza alle malattie è essenziale per contrastare l'evoluzione dei patogeni. Da oltre 20 anni, il Centro di ricerca per la genomica di Fiorenzuola cura la ricerca di nuove fonti di resistenza alla striatura bruna dell'orzo, una patologia trasmessa dal seme, causata dal fungo *Pyrenophora graminea* e normalmente controllata con la concia. Questo lavoro ha portato all'identificazione di due fonti di resistenza denominate *Rdg1* e *Rdg2* e all'isolamento di uno di essi (Biselli et al., 2010; Bulgarelli et al., 2010). I marcatori associati a queste fonti di resistenza sono attualmente utilizzati nei programmi di miglioramento genetico. L'introduzione di resistenze genetiche alla striatura bruna è fondamentale per la coltivazione in biologico, dove non è possibile ricorrere alla concia del seme e, più in generale, costituisce un passo avanti per migliorare la sostenibilità della coltura.

L'analisi di ampie collezioni di germoplasma rappresenta la strada maestra per l'identificazione di nuove fonti di resistenza. In questo lavoro sino a qualche tempo fa si procedeva unicamente con un'analisi fenotipica testando con sistemi di inoculo artificiale la risposta di tutti i materiali genetici. Oggi è invece possibile operare anche attraverso il ri-sequenziamento dei genomi, ovvero andando alla ricerca di nuove varianti alleliche codificanti per nuove fonti di



Fig. 3 Alcune delle principali malattie dell'orzo in Italia

resistenza. Un primo lavoro fatto per il gene *Rdg2* che controlla la resistenza alla striatura bruna dell'orzo ha portato all'identificazione di nuove varianti alleliche codificanti per nuovi profili di resistenza (Biselli et al., 2013).

#### 4. HABITUS DI CRESCITA E PRECOCITÀ

La sincronizzazione del ciclo vegetativo della coltura con le caratteristiche climatiche delle aree di coltivazione è un altro aspetto fondamentale per garantire il successo e la sostenibilità della coltura. La pianta deve infatti produrre la spiga e successivamente riempirla quando le condizioni ambientali (in particolare temperatura e disponibilità idrica) sono le più favorevoli. Nel caso dell'orzo esistono due principali tipologie di piante: quelle ad habitus invernale (inducono la fioritura solo dopo il soddisfacimento di un fabbisogno di freddo) e quelle ad habitus primaverile (non necessitano di una esposizione al freddo per indurre la fioritura) (Rizza et al., 2011). Gli orzi ad habitus invernali hanno il potenziale di sviluppare una resistenza al freddo più elevata degli orzi ad habitus primaverile. Negli ultimi anni è aumentato l'interesse in un terzo tipo di habitus chiamato

alternativo o facoltativo. Questo habitus è caratterizzato da un elevato potenziale di sviluppo di resistenza al freddo ma non necessita di una esposizione al freddo per indurre la fioritura. Mentre nel centro-nord Italia gli orzi invernali sono raccomandati per la semina autunnale e quelli primaverili sono utilizzati per le semine in febbraio-marzo, nelle zone meridionali o più in generale nelle aree mediterranee, è frequente l'utilizzo di orzi primaverili in semina autunnale. Oltre all'habitus di crescita, molti altri geni controllano la regolazione fine e l'esatta determinazione dell'epoca di fioritura contribuendo all'ampia adattabilità dell'orzo all'ambiente. Tra questi i regolatori della risposta alla lunghezza del giorno (fotoperiodo) e i geni di precocità *per se* (Comadran et al., 2012). Le migliori combinazioni alleliche a tutti questi fattori sono state, dapprima inconsciamente e oggi sempre più consapevolmente, selezionate dai breeders per permettere alle migliori linee di sfruttare al meglio le diverse condizioni ambientali (Comadran et al., 2012).

## 5. ORZO DA MALTO

Una particolare tipologia di orzo è quello destinato alla produzione di malto per la produzione di birra o whisky. Il tipico orzo da malto è un orzo distico con semi grandi e omogenei, solitamente primaverile, con basso contenuto in betaglucani. La maltazione è un processo industriale basato su una parziale germinazione dei semi in condizioni controllate. Il processo di germinazione, a seguito dell'azione di vari enzimi, determina una parziale degradazione dei polisaccaridi e delle proteine della cariosside, il processo viene bloccato mediante essiccazione e il prodotto ottenuto (malto) viene macinato, ammostato e utilizzato come substrato per la fermentazione del lievito. Il contenuto proteico deve essere limitato al 10-11%, un eccessivo contenuto proteico limita la macinabilità dell'orzo maltato (friabilità) e provoca intorbidamento della birra. Questa particolare caratteristica dell'orzo da malto contribuisce a incrementare la sostenibilità della coltura in quanto limita il fabbisogno di concimazione azotata (Gianinetti et al., 2005; Gianinetti et al., 2015). Gli orzi da malto vengono valutati sulla base di vari parametri, soprattutto della resa in estratto del malto, che indica la sostanza estratta utilizzabile per la fermentazione alcolica. Infatti, la resa in birra, e/o il grado alcolico di questa, dipendono da quanto materiale utile può essere estratto (solubilizzato) dall'orzo maltato (Gianinetti et al., 2015).

| CARATTERE                                       | PRINCIPALI GENE FONTI DI RESISTENZA | REFERENZE                                     |
|---|-------------------------------------|---|
| Barley Yellow Dwarf Virus                       | <i>Yd2, Yd3</i>                     | Jefferies et al., 2003                        |
| Barley Yellow Mosaic Virus                      | <i>rym9, rym11</i>                  | Werner et al., 2005                           |
| Striatura bruna ( <i>Pyrenophora graminea</i> ) | <i>Rdg1, Rdg2</i>                   | Biselli et al., 2010; Bulgarelli et al., 2010 |
| Oidio ( <i>Blumeria graminis f.s. hordei</i> )  | <i>mlo11</i>                        | Tacconi et al, 2006                           |
| Maculatura bruna ( <i>Pyrenophora teres</i> )   | <i>Rpt5</i>                         | Manninen et al., 2006                         |
| Habitus di crescita                             | <i>Hv-BM5, ZCCT-H</i>               | Rizza et al., 2011                            |

Tab. 1 *Principali malattie dell'orzo per le quali sono disponibili fonti di resistenza associate a marcatori molecolari routinariamente utilizzati nei programmi di breeding in atto presso il Centro di ricerca per la genomica vegetale di Fiorenzuola d'Arda. Nell'ultima riga della tabella sono riportati i loci e i marcatori utilizzati per determinare l'habitus di crescita*

## 6. MIGLIORAMENTO GENETICO DELL'ORZO

Presso il Centro di ricerca per la genomica del CREA è in atto un intenso programma di miglioramento genetico dell'orzo in cui la sostenibilità costituisce uno degli obiettivi prioritari. Particolare attenzione è dedicata allo sviluppo di linee con resistenze genetiche alle principali malattie, per molte di esse si dispone di marcatori molecolari usati per la selezione assistita. Marcatori molecolari sono utilizzati anche per l'esatta determinazione dell'habitus di crescita (tab. 1).

## 7. PROSPETTIVE

Oltre alle malattie, le nuove frontiere della ricerca genetica per migliorare la sostenibilità dell'orzo sono rivolte verso il miglioramento dell'efficienza d'uso dell'azoto (Nitrogen Use Efficiency, NUE) e dell'acqua (Water Use Efficiency, WUE), caratteri indispensabili per garantire una coltivazione sostenibile nell'ottica della riduzione degli input e dei cambiamenti climatici. L'ampliamento dell'apparato radicale giocherà un ruolo fondamentale nel miglioramento di questi caratteri, e oggi molti studi sono volti all'identificazione dei geni che controllano l'architettura del sistema radicale e la sua plasticità, ovvero la capacità di svilupparsi in modo diverso a seconda delle condizioni del suolo.

## RIASSUNTO

L'orzo è una delle specie coltivate con la più ampia capacità di adattamento all'ambiente. La sostenibilità dell'orzo, e più in generale di tutte le piante coltivate, è supportata da un continuo progresso genetico che inserisce nelle moderne varietà nuovi geni che confe-

riscono particolari caratteristiche produttive o qualitative e di adattamento all'ambiente biotico e abiotico. Nell'attività di miglioramento genetico grande attenzione è rivolta alla ricerca e all'introduzione di fonti di resistenza alle malattie virali e fungine. La continua ricerca di nuove fonti di resistenza alle malattie fornisce nuovi alleli per contrastare l'evoluzione dei patogeni mentre l'uso esteso dei marcatori molecolari consente di introgredire rapidamente tali alleli nelle linee elite.

#### ABSTRACT

Barley has a well know adaptation capacity and sustainability, being able to growth in fertile as well as in marginal environments. These traits are sustained by a continuous genetic improvement through breeding activity that introduce new yield and quality related traits as well as new sources of resistance to diseases and environmental stresses in the modern cultivars. Modern breeding work relies on the availability of novel sources of resistance as well as on the extensive application of molecular markers to sustain the discovery of new alleles and their introgression into the elite lines.

#### REFERENZE

- BARABASCHI D., TONDELLI A., DESIDERIO F., VOLANTE A., VACCINO P., VALÈ G., CATTIVELLI L. (2016): *Next generation breeding*, «Plant Science», 242, pp. 3-13.
- BISELLI C., URSO S., BERNARDO L., TONDELLI A., TACCONI G., MARTINO V., GRANDO S., VALÈ G. (2010): *Identification and mapping of the leaf stripe resistance gene Rdg1a in Hordeum spontaneum*, «Theoretical Applied Genetics», 120, pp. 1207-1218.
- BISELLI C., URSO S., TACCONI G., STEUERNAGEL B., SCHULTE D., STEIN N., CATTIVELLI L., VALÈ G. (2013): *Haplotype variability and identification of new functional alleles at the Rdg2a leaf stripe resistance gene locus*, «Theoretical and Applied Genetics», 126, pp. 1575-1586.
- BULGARELLI D., BISELLI C., COLLINS N.C., CONSONNI G., STANCA A.M., SCHULZE-LEFERT P., VALÈ G. (2010): *The CC-NB-LRR-type Rdg2a resistance gene confers immunity to the seed-borne barley leaf stripe pathogen in the absence of hypersensitive cell death*, «PLoS One», 5: e12599.
- COMADRAN J., KILIAN B., RUSSELL J., RAMSAY L., STEIN N., GANAL M., SHAW P., BAYER M., THOMAS W., MARSHALL D., HEDLEY P., TONDELLI A., PECCHIONI N., FRANCA E., KORZUN V., WALTHER A., WAUGH R. (2012): *Natural variation in a homolog of Antirrhinum CENTRORADIALIS contributed to spring growth habit and environmental adaptation in cultivated barley*, «Nature Genetics», 44, pp. 1388-1392.
- GIANINETTI A., BARONCHELLI M., ALBERICI R., FACCINI N., CATTIVELLI L. (2015): *Valutazione qualitative degli orzi da birra in Italia*, «L'Informatore Agrario», 32, pp. 56-59.
- GIANINETTI A., TOFFOLI F., CAVALLERO A., DELOGU G., STANCA A.M. (2005): *Improving discrimination for malting quality in barley breeding programmes*, «Field Crop Research», 94, pp. 189-200.
- JEFFERIES J.P., KING B.J., BARR A.R., WARNER P., LOGUE S.J., LANGRIDGE P. (2003): *Marker-assisted backcross introgression of the Yd2 gene conferring resistance to barley yellow dwarf virus in barley*, «Plant Breeding», 122, pp. 52-56.



- MANNINEN O.M., JALLI M., KALENDAR R., SCHULMAN A., AFANASENKO O., ROBINSON J. (2006): *Mapping of major spot-type and net-type netblotch resistance genes in the Ethiopian barley line CI 9819*, «Molecular Breeding», 49, pp. 1564-1571.
- RIZZA F., PAGANI D., GUT M., PRÁŠIL I.T., LAGO C., TONDELLI A., ORRÙ L., MAZZUCOTELLI E., FRANCA E., BADECK F.W., CROSATTI C., TERZI V., CATTIVELLI L., STANCA A.M. (2011): *Diversity in the response to low temperature in representative barley genotypes cultivated in Europe*, «Crop Science», 51, pp. 2759-2779.
- TACCONI G., BALDASSARRE V., COLLINS N.C., BULGARELLI D., STANCA A.M., VALÈ G. (2006): *Haplotype characterization and markers at the barley Mlo powdery mildew resistance locus as tools for marker-assisted selection*, «Genome», 49, pp. 864-872.
- TONDELLI A., PAGANI D., NASEH GHAFORI I., RAHIMI M., ATAEI R., RIZZA F., FLAVELL A.J., CATTIVELLI L. (2014): *Allelic variation at Fr-H1/Vrn-H1 and Fr-H2 loci is the main determinant of frost tolerance in spring barley*, «Environmental and Experimental Botany», 106, pp. 148-155.
- TONDELLI A., XU X., MORAGUES M., SHARMA R., SCHNAITHMANN F., INGVARSDEN C., MANNINEN O., COMADRAN J., RUSSELL J., WAUGH R., SCHULMAN A., PILLEN K., RASMUSSEN S., KILIAN B., CATTIVELLI L., THOMAS W., FLAVELL A.J. (2013): *Structural and temporal variation in the genetic diversity of a European collection of barley cultivars and utility for association mapping of quantitative traits*, «Plant Genome», 6, p. 2.
- WERNER K., FRIEDT W., ORDON F. (2005): *Strategies for Pyramiding resistance genes against the barley Yellow Mosaic Virus complex (BaMMV, BaYMV, BaYMV-2)*, «Molecular Breeding», 16, pp. 45-55.