



UNIMORE

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI
MODENA E REGGIO EMILIA

Dipartimento di Scienze della Vita

Corso di Laurea Magistrale in
Sostenibilità Integrata dei Sistemi Agricoli

**VALUTAZIONE DEL CONTRIBUTO DI
VERNALIZZAZIONE E RESISTENZA AL FREDDO
ALL'ADATTAMENTO CLIMATICO IN ORZO MEDIANTE
LINEE QUASI ISOGENETICHE (NIL) PORTATRICI DI
SPECIFICI QTL**

Relatore

Prof. Enrico Francia

Correlatore

Dott. Giovanni Caccialupi

Tesi di Laurea di

Nicolò Catellani

Anno Accademico 2024/2025

Sommario

Abstact	3
1. Introduzione	4
1.1. L'Orzo (<i>Hordeum vulgare</i> L)	4
1.1.1. Caratteristiche Botaniche	4
1.1.2. Agronomia e Destinazione D'uso	8
1.1.3. Miglioramento Genetico	11
1.2. L'Orzo e il Cambiamento Climatico	14
1.2.1. Acclimatemento al Freddo, Vernalizzazione e De-acclimazione: Processi Fisiologici e Significato Agronomico	17
1.2.2. Basi Genetiche Dell'Adattamento al Freddo e Della Fenologia Nell'orzo	19
2. Scopo Della Tesi	22
3. Materiali e Metodi.....	25
3.1. Genotipi.....	25
3.2. Estrazione DNA	28
3.3. Genotipizzazione	29
3.4. Prova Agronomica Multi-Ambiente.....	30
3.5. Analisi Statistica.....	32
4. Risultati	33
4.1. Genotipizzazione	33
4.2. Risultati Prova Agronomica Multi-Ambiente	35
5. Discussione	40
6. Bibliografia	47

Abstact

L'orzo (*Hordeum vulgare*) è la quarta coltura cerealicola più importante al mondo in termini di produzione ed è la specie più coltivata tra i cosiddetti cereali minori. Viene utilizzato principalmente per la produzione di malto destinato all'industria birraria, per le sue cariossidi ricche di amido impiegate nella mangimistica zootecnica e per le sue proprietà nutrizionali, che lo rendono un cereale adatto anche all'alimentazione umana.

Attualmente, le produzioni agricole globali risentono fortemente degli effetti del cambiamento climatico, poiché le piante non sempre riescono a sviluppare efficaci meccanismi di adattamento e acclimatazione agli stress ambientali. Questo scenario potrebbe tradursi in una significativa riduzione delle rese e/o della qualità delle produzioni, con conseguente aumento dei prezzi dei prodotti alimentari.

In questo contesto, risulta fondamentale sviluppare approcci innovativi per adattare le coltivazioni alle attuali condizioni climatiche in continua evoluzione. I progressi degli ultimi decenni nel campo della genomica e delle biotecnologie hanno rivoluzionato il miglioramento genetico dell'orzo, anche grazie all'impiego di strumenti come la selezione assistita da marcatori.

Nel presente lavoro di tesi è stata studiata l'adattabilità di linee quasi isogeniche per QTL (QTL-NILs) mediante una prova multi-ambiente, con l'obiettivo di valutare il ruolo di QTL associati alla resistenza al freddo e alla vernalizzazione, in particolare *FR-H1* e *FR-H2*, nell'adattamento dell'orzo a differenti condizioni di coltivazione. A tal fine, il comportamento delle linee è stato analizzato in ambienti caratterizzati da condizioni climatiche eterogenee, così da approfondire il contributo di tali regioni genomiche alla risposta adattativa della specie.

Dalla prova multi-ambiente è risultato che *FRI-Tr/Nure* è la linea più interessante per combinazione di resa, precocità e stabilità, mentre la NIL *FR2-Nu/Tremois* ha confermato che l'introggressione del solo locus *FR-H2/CBF* nel background primaverile di Tremois non è sufficiente a ricreare il vantaggio adattativo tipico dei materiali invernali. L'adattamento dell'orzo a condizioni pedoclimatiche contrastanti quindi, è il risultato dell'interazione tra geni della vernalizzazione, geni coinvolti nell'acclimatazione al freddo e background genetico complessivo.

1. Introduzione

1.1. L'Orzo (*Hordeum vulgare* L.)

1.1.1. Caratteristiche Botaniche

L'orzo (*Hordeum vulgare* L.) è una delle specie cerealicole di maggiore importanza a livello globale e occupa storicamente un ruolo centrale nei sistemi agrari delle regioni temperate, semi-aride e mediterranee. La sua ampia diffusione geografica dipende da una combinazione di fattori biologici e agronomici, come il ciclo relativamente breve, la buona plasticità fenologica e la capacità di adattarsi a contesti pedoclimatici differenti e possibilità di valorizzazione in filiere molto diverse tra loro (Baldoni et al., 2000). In termini produttivi l'orzo rappresenta una coltura importante sia per l'alimentazione animale sia per l'industria maltaria, ma negli ultimi anni ha acquisito crescente interesse anche per l'alimentazione umana (Fatemi et al., 2022). La specie è infatti in grado di inserirsi con notevole flessibilità nelle rotazioni, di sfruttare in modo efficiente finestre di semina differenziate e di garantire produzioni soddisfacenti anche in aree dove altre colture cerealicole manifestano limiti più marcati (Baldoni et al., 2000). Questa versatilità non deve però essere interpretata come semplice rusticità generica. L'adattabilità dell'orzo è il risultato di un equilibrio complesso tra sviluppo vegetativo, percezione dei segnali ambientali, risposta agli stress e regolazione del passaggio alla fase riproduttiva. Il comportamento della coltura varia in misura sostanziale a seconda della combinazione tra habitus di crescita, fabbisogno di vernalizzazione, sensibilità al fotoperiodo e assetto allelico dei geni coinvolti nella risposta al freddo. Proprio per questo motivo l'orzo rappresenta un eccellente modello per studiare come i caratteri di adattamento si traducano in performance agronomica in ambienti contrastanti (Muehlbauer et al., 2009). La letteratura degli ultimi decenni ha mostrato con chiarezza che la sopravvivenza invernale, la precocità di spigatura, la capacità di acclimatarsi alle basse temperature e la stabilità della resa non sono caratteri indipendenti, ma dimensioni interconnesse della stessa sindrome adattativa (Francia et al., 2004; Tondelli et al., 2011).

Dal punto di vista sistematico, l'orzo è una specie erbacea monocotiledone appartenente alla famiglia delle *Poaceae* e alla tribù delle *Triticeae*, la quale comprende i principali cereali autunno-vernini, tra cui i frumenti (*Triticum* spp.), la segale (*Secale cereale* L.) ed il triticale (\times *Triticosecale* Wittm. ex A. Camus) (Dido et al., 2022). L'orzo coltivato (*Hordeum vulgare* L.) deriva dall'orzo selvatico (*Hordeum spontaneum*) con il quale mantiene una stretta affinità genetica e riproduttiva. L'orzo viene comunemente classificato in base a diversi criteri, tra cui la destinazione d'uso (zootecnica, maltaria o alimentazione umana), l'habitus di crescita (autunnale, primaverile o

alternativo), il numero di ranghi di spighe della spiga (2, 4 o 6 file, corrispondenti rispettivamente alle forme distica, tetrastica ed esastica), il tipo di cariosside (nuda o vestita) e il rapporto amilosio/amilopectina dell'amido (Giardini, 2000; Bonciarelli, 2001). Generalmente gli orzi ad habitus di crescita invernale sono orzi zootecnici, mentre gli orzi ad habitus di crescita primaverile sono orzi destinati alla produzione maltaria. La pianta presenta un apparato radicale di tipo fascicolato, originato inizialmente dalle radici seminali o primarie, cui segue lo sviluppo delle radici avventizie o secondarie, che si formano a partire dalla corona basale del fusto e completano il sistema radicale, consentendone l'approfondimento nel terreno. Il culmo, cilindrico e privo di midollo, è costituito da nodi, nei quali si inseriscono le foglie, e da internodi cavi, in numero variabile generalmente da 5 a 8, separati da setti trasversali. La lunghezza del culmo è molto variabile in funzione della cultivar, del grado di domesticazione e dell'intensità del miglioramento genetico, passando da poche decine di centimetri in alcune forme selvatiche fino a circa 150 cm in alcune cultivar. L'orzo è inoltre caratterizzato da una spiccata capacità di accestimento, mediante la quale al culmo principale si affiancano generalmente due o tre culmi secondari, mentre si completa parallelamente lo sviluppo dell'apparato radicale (Baldoni et al., 2000). L'apparato fogliare è costituito da foglie inserite alternativamente ai nodi del culmo; il loro angolo di inserzione, così come lunghezza, larghezza e forma, rappresenta un carattere fortemente varietale. Le foglie dell'orzo si distinguono da quelle di altri cereali microtermi per la presenza di lunghe auricole e di una ligula poco appariscente, ridotta a una piccola escrescenza. La pagina inferiore della lamina fogliare è liscia al tatto, mentre quella superiore presenta caratteristiche scanalature (Giardini, 2000). La foglia terminale, detta foglia a bandiera, assume particolare importanza nella fase riproduttiva: è generalmente più piccola delle altre e la sua guaina racchiude la spiga in formazione, mostrando il tipico rigonfiamento durante lo stadio fenologico di botticella. L'infiorescenza dell'orzo è una spiga, il cui rachide è formato da 20–30 articoli, ognuno dei quali porta, in posizione alterna, tre spighe uniflore: una centrale e due laterali. Negli orzi distici soltanto la spigetta centrale di ciascun nodo del rachide è fertile; di conseguenza, la spiga matura presenta due soli ranghi di cariossidi e una forma fortemente appiattita. Nelle forme esastiche o polistiche, invece, tutte e tre le spighe sono fertili e la spiga matura presenta sei file di cariossidi, che possono disporsi regolarmente a raggera oppure in modo più irregolare e parzialmente sovrapposto, conferendo alla spiga un aspetto apparentemente tetrastico. Ogni spigetta è accompagnata da due glume sterili, ridotte a semplici formazioni pelose, e racchiude un fiore protetto da piccole brattee. Il fiore si sviluppa all'ascella della lemma, brattea protettiva dotata di una nervatura mediana che termina con la resta; sul lato opposto è presente la palea, di dimensioni inferiori ma avvolta dalla lemma. A maturazione, lemma e palea avvolgono la cariosside, fatta eccezione per le varietà a seme

nudo (Baldoni e Giardini, 1989). Diversamente dal frumento, che presenta generalmente una spiga eretta, l'orzo è caratterizzato dal tipico portamento reclinato della spiga, dovuto all'incurvamento dell'ultimo internodo o della spiga stessa (Bonciarelli, 2001). Il fiore è ermafrodita ed è costituito da tre stami, due stimmi pelosi e due lodicole. Il frutto è una cariosside di colore generalmente giallo pallido, talvolta biancastro, rossastro o nero in alcuni genotipi (Siebenhandl et al., 2007), con embrione fortemente saldato al pericarpo, un marcato solco ventrale e un'appendice apicale, la rachilla, più o meno pelosa (Baldoni e Giardini, 1989). La cariosside misura generalmente 8–12 mm di lunghezza, 3–4 mm di larghezza e 2–3 mm di spessore. Il peso delle cariossidi vestite varia da 27 a 56 g, mentre gli involucri fiorali rappresentano circa il 10–15% del peso totale del frutto (Giardini, 2000). Le pareti cellulari dell'endosperma sono ricche di β -glucani, composti di grande interesse nutrizionale e tecnologico (Bonciarelli, 2001). Inoltre, i colori osservabili nelle cultivar e nelle varietà autoctone di orzo sono associati all'accumulo di pigmenti flavonoidi nel pericarpo e nello strato aleuronico del seme. A maturità, le cariossidi possono assumere differenti colorazioni, quali giallo, viola, rosso e blu, dovute principalmente alla presenza di proantocianidine e antocianidine; tali pigmentazioni possono essere presenti anche nella guaina fogliare, nel fusto e nel pericarpo del seme (Meng et al., 2023).

Il ciclo biologico dell'orzo è simile a quello del frumento tenero, ma risulta generalmente più breve di circa 10–15 giorni; questa caratteristica lo rende una specie più precoce e rustica, in grado di completare la maturazione prima dell'arrivo delle elevate temperature estive (Giardini, 2000). Il ciclo vegetativo comprende le principali fasi fenologiche tipiche dei cereali autunno-vernini: germinazione ed emergenza, accestimento, levata, botticella, antesi e maturazione. Essendo un cereale generalmente ad habitus autunno-vernino, l'orzo presenta temperature minime di germinazione molto basse, anche prossime a 0 °C, sebbene la germinazione risulti più pronta a temperature di 2–4 °C (Bonciarelli, 2001). Alla fuoriuscita della prima radichetta embrionale seguono l'emissione del coleoptile e successivamente lo sviluppo delle altre radici primarie. Una volta emerso dal terreno il coleoptile, la prima foglia rompe l'apice e si espande, seguita progressivamente dalle altre. Come gli altri cereali microtermi, anche l'orzo possiede una marcata capacità di accestimento: i culmi secondari si originano dall'ascella delle foglie sviluppate nei primi stadi di crescita, contribuendo ad adeguare la fittezza della copertura vegetale alle disponibilità di spazio e risorse. Questa fase risulta importante anche per l'accrescimento delle radici avventizie secondarie, che completano e approfondiscono il sistema radicale. L'accestimento ha origine in una porzione basale del fusto prossima al terreno, definita piano di accestimento (Bonciarelli, 2001), ed è valutato mediante l'indice di accestimento, generalmente più elevato nell'orzo rispetto al

frumento. In questa fase iniziale, compatibilmente con le condizioni ambientali, l'accrescimento della pianta è relativamente lento, poiché deve consentire il corretto sviluppo delle plantule e dei culmi; al contrario, durante la levata la crescita diviene molto più rapida.

Un ruolo fondamentale nel ciclo dell'orzo è svolto dalla vernalizzazione, processo adattativo mediante il quale l'esposizione prolungata al freddo invernale promuove o anticipa la fioritura, impedendo che la transizione riproduttiva avvenga in periodi sfavorevoli, come il tardo autunno o l'inizio dell'inverno (Trevaskis et al., 2007). Tale processo agisce attraverso la modulazione dell'espressione genica e la repressione di fattori che ostacolano l'induzione a fiore (Kim et al., 2009). Studi di raffreddamento localizzato hanno mostrato che il meristema apicale costituisce il principale sito di percezione del freddo durante la vernalizzazione e che l'esposizione protratta alle basse temperature rende il meristema competente alla fioritura. Inoltre, la pianta conserva una "memoria" del trattamento, evidenziando la natura epigenetica della vernalizzazione (Amasino et al., 2004). In relazione alla risposta al freddo e al fabbisogno in vernalizzazione, le varietà di orzo si distinguono in invernali, primaverili e facoltative. Le varietà invernali richiedono un determinato periodo di basse temperature per indurre la fioritura e presentano generalmente anche una marcata sensibilità al fotoperiodo (Fernández-Calleja et al., 2021). Le varietà primaverili, al contrario, non necessitano di vernalizzazione e sono caratterizzate da un ciclo vegetativo più breve, che le rende particolarmente adatte, ad esempio, alla filiera maltaria, nella quale è spesso richiesto un basso contenuto proteico della granella (Rasheed et al., 2022). Le varietà facoltative, o alternative, presentano caratteri intermedi: mostrano una certa flessibilità agronomica, un ciclo relativamente breve e una ridotta o assente esigenza di vernalizzazione (Muñoz-Amatriain et al., 2020).

La transizione dalla fase vegetativa a quella riproduttiva è regolata dall'interazione tra temperatura e fotoperiodo (Cha et al., 2022): il viraggio a fiore si verifica generalmente alla fine dell'inverno, quando l'apice caulinare raggiunge lo stadio di doppio anello e inizia la differenziazione florale. Successivamente, con l'allungamento delle giornate all'inizio della primavera, si osserva l'allungamento degli internodi e l'ingresso nella fase di levata, che prepara la pianta alla fioritura (Bonciarelli, 2001). Durante l'allungamento dell'ultimo internodo, la spiga ormai formata viene spinta attraverso la guaina della foglia a bandiera, determinando il tipico rigonfiamento della botticella. A questa fase segue la spigatura, che nel Nord Italia avviene generalmente verso la fine di aprile, mentre nell'Italia centro-meridionale può verificarsi tra la fine di marzo e l'inizio di aprile (Amirante, 2014). La fioritura inizia solitamente dalla porzione centrale della spiga e procede in entrambe le direzioni, completandosi in circa quattro giorni. Come il frumento, anche l'orzo è una

specie prevalentemente autogama: l'impollinazione avviene generalmente 3–4 giorni dopo la spigatura, ma può verificarsi anche quando la spiga è ancora racchiusa nella guaina della foglia a bandiera. Le cultivar di orzo possono presentare due modalità di fioritura: a fiore aperto (casmogamia), come nel frumento, oppure a fiore chiuso (cleistogamia) (Yoshida et al., 2005). Nell'orzo casmogamo, la dispersione del polline è sincronizzata con l'allungamento dei filamenti staminali; nelle forme cleistogame, invece, il rilascio del polline precede tale allungamento e avviene all'interno dell'infiorescenza ancora chiusa. In alcune cultivar le antere restano all'interno dell'infiorescenza, mentre in altre risultano estroflesse (Bushnell et al., 2003). Dopo l'antesi si sviluppano le cariossidi, che rappresentano l'ultimo organo a completare il proprio accrescimento. Il periodo compreso tra la fioritura e il termine del riempimento della granella varia generalmente da 20 a 40 giorni e, nell'Italia settentrionale, la maturazione viene di norma raggiunta prima dell'arrivo delle elevate temperature estive (Giardini, 2000). Durante la prima fase del riempimento, la cariosside accumula sostanze di riserva (Arduini et al., 2007) fino a raggiungere la maturazione latte, stadio in cui il seme contiene un liquido biancastro costituito da succo cellulare e granuli di amido in sospensione (Bonciarelli, 2001). Successivamente si entra nella fase di maturazione cerosa, caratterizzata da un progressivo accumulo di amido, dall'ingiallimento delle cariossidi e da una consistenza pastosa, con un contenuto idrico della granella pari a circa il 40–45%. Con l'avanzare della maturazione, i granuli di amido riempiono completamente le cellule dell'endosperma e la cariosside si disidrata ulteriormente fino a raggiungere la maturazione fisiologica, con un contenuto idrico intorno al 30%. Infine, si giunge alla maturazione piena, quando i chicchi contengono meno del 13% di acqua e la pianta appare completamente ingiallita. Sebbene questo rappresenti il momento ottimale per la raccolta, il processo naturale di maturazione può proseguire fino alla cosiddetta maturazione di morte, fase in cui le cariossidi si distaccano molto facilmente e il culmo è completamente disseccato.

1.1.2. Agronomia e Destinazione D'uso

Per quanto riguarda le principali tecniche colturali, l'orzo è considerato una specie rustica e flessibile, capace di adattarsi a un'ampia gamma di condizioni pedoclimatiche e di inserirsi efficacemente nelle rotazioni colturali (Abebe et al., 2023; Ismail et al., 2023). Può sostituire il frumento in molti ordinamenti colturali, in particolare come coltura depauperante successiva a colture da rinnovo, quali bietola, patata, mais e pomodoro, oppure a leguminose da granella. Rispetto al frumento, presenta una maggiore tolleranza al mal del piede e richiede tecniche colturali in gran parte analoghe, pur mantenendo un elevato potenziale produttivo nelle cultivar moderne (Bonciarelli, 2001).

La semina può essere autunnale o primaverile, anche se quella autunnale risulta generalmente preferibile, poiché consente produzioni superiori grazie a una maggiore durata del ciclo e a un più lungo periodo utile per il riempimento della granella (Bonari et al., 1980; Arduini et al., 2007). La semina primaverile rappresenta invece una soluzione di ripiego nei casi in cui non sia stato possibile effettuare quella autunnale (Amirante, 2014; Bonciarelli, 2001). La scelta della cultivar in funzione dell'epoca di semina è quindi un aspetto determinante. In ambienti con inverni rigidi, un lieve anticipo della semina può favorire l'affermazione delle plantule prima delle basse temperature, mentre anticipi eccessivi possono aumentare il rischio di virosi trasmesse dagli afidi. In aree a inverno mite è invece possibile utilizzare varietà primaverili anche in semina autunnale. Generalmente, la semina viene eseguita con seminatrici a file, ponendo il seme a 3–4 cm di profondità, con densità tali da ottenere circa 300–400 piante m², sufficienti a raggiungere 600–800 spighe m² grazie all'accestimento (Amirante, 2014).

Anche se l'orzo è una coltura ben adattabile, la concimazione influisce sensibilmente sulla produttività e sulla qualità della granella. Fosforo e potassio vengono normalmente distribuiti alla semina, mentre l'azoto è somministrato in più frazioni tra pre-accestimento, fine inverno e levata, in funzione del potenziale produttivo della coltura (Bonciarelli, 2001). La gestione dell'azoto deve tuttavia essere calibrata sulla destinazione d'uso: negli orzi da malto, ad esempio, è opportuno evitare eccessi di concimazione tardiva per non aumentare eccessivamente il contenuto proteico della granella, carattere indesiderato dall'industria maltaria (Mallet, 2016).

La gestione delle infestanti richiede un approccio integrato, basato sull'avvicendamento colturale e, quando necessario, sull'impiego mirato di erbicidi, tenendo conto della maggiore sensibilità dell'orzo rispetto al frumento ad alcune sostanze attive, in particolare ai diserbanti fitormonici. La raccolta dell'orzo da granella viene effettuata generalmente all'inizio dell'estate e deve essere eseguita tempestivamente, poiché la spiga è relativamente fragile e soggetta a perdite in caso di ritardo. Per una corretta conservazione, la granella deve essere raccolta con un'umidità idonea e successivamente portata sotto il 14%, se necessario mediante essiccazione controllata (Bonciarelli, 2001; Borghi et al., 1984).

Dal punto di vista ecologico e agronomico, l'orzo presenta esigenze simili a quelle degli altri cereali autunno-vernini, ma si distingue per una maggiore adattabilità agli ambienti marginali. È una specie longigiurna, capace di coltivazione anche a latitudini elevate, fino a contesti nei quali rappresenta l'unico cereale in grado di completare il ciclo nelle brevi estati delle aree nordiche (Bonciarelli,

2001). Tale adattabilità dipende dalla precocità del ciclo, dalla rusticità e dalla buona tolleranza a diversi stress ambientali, caratteristiche che ne hanno favorito la diffusione anche nelle aree semiaride del Medio Oriente e del Nord Africa (Allel et al., 2016).

L'orzo è una specie microterma: germina a temperature poco superiori a 0 °C, cresce in modo ottimale intorno a 15 °C e presenta condizioni favorevoli alla fioritura con temperature di circa 17–18 °C. Le forme invernali richiedono un periodo di basse temperature per soddisfare il fabbisogno in vernalizzazione, che può variare indicativamente da 15 a 60 giorni, mentre le forme primaverili non ne necessitano. Le varietà con forte esigenza di vernalizzazione, tipiche degli ambienti a inverno freddo, mantengono più a lungo la fase vegetativa e dispongono di un periodo più esteso per acclimatarsi al freddo; al contrario, i genotipi privi di tale requisito tendono a essere meno tolleranti al gelo (Greenup et al., 2011).

Dal punto di vista pedologico, l'orzo può essere coltivato in suoli anche molto diversi, pur preferendo terreni di medio impasto, ben drenati e con pH subalcalino (Bonciarelli, 2001). Le esigenze nutritive sono simili a quelle del frumento, ma la specie si avvantaggia particolarmente di una buona disponibilità di fosforo e potassio, mentre eccessi di azoto favoriscono un eccessivo sviluppo vegetativo e aumentano il rischio di allettamento. Grazie alla buona capacità di approfondimento radicale, l'orzo mostra una discreta tolleranza alla siccità e può risultare più adatto del frumento in condizioni di limitata disponibilità idrica o moderata salinità del suolo (Giardini, 2000; Munns et al., 2006).

Nonostante la sua rusticità, l'orzo resta sensibile ad alcuni fattori limitanti. La disponibilità idrica è particolarmente importante nelle fasi di accrescimento vegetativo, fioritura e riempimento delle cariossidi, mentre stress idrici in tali periodi possono ridurre la durata del riempimento e compromettere la resa (Samarah, 2005). Anche le gelate tardive possono danneggiare la fertilità della spiga durante la fioritura (Giardini, 2000). Sul piano fitosanitario, l'orzo è relativamente tollerante al mal del piede, ma più suscettibile del frumento all'oidio e ad alcune malattie specifiche, come il giallume virotico da BYDV, la rincosporiosi e l'elmintosporiosi (Bonciarelli, 2001).

La composizione nutrizionale della cariosside di orzo è costituita dal 70% di carboidrati, 10,3% di proteine, un contenuto lipidico che si attesta su una percentuale dell' 1,4% , mentre le fibre ammontano intorno al 9%. La rimanente parte è composta dal 12% di acqua. L'apparto calorico è

pari a 319 Kcal/100g . L'orzo vanta importanti proprietà mineralizzanti, ha infatti un alto contenuto in Sali minerali: su 100g di orzo si trovano c.ca 189 mg di fosforo, 120 mg di potassio, 79 mg di magnesio, nonché tracce di ferro, calcio, zinco e silicio. Oltre ai sali minerali, l'orzo contiene una discreta quantità di vitamine, in particolare la vit.E, tocoferoli e tocotrienoli e le vitamine del gruppo B (B1, B2, B3); risultano essere assenti la vitamina A e la vitamina C (Amirante, 2014). La granella d'orzo trova impiego nell'alimentazione del bestiame, nella preparazione del malto (soprattutto per la birra), ma anche come surrogato del caffè (Bonciarelli, 2001). La destinazione d'uso dell'orzo varia in funzione della varietà coltivata: le varietà esastiche sono generalmente utilizzate per la produzione di mangimi zootecnici perché hanno un contenuto di proteine superiore rispetto alle varietà distiche (FAO, 2009); l'orzo zootecnico utilizzato per la preparazione di mangimi concentrati può essere utilizzato sfarinato, fioccato oppure, decorticato (Bonciarelli 2001). Le varietà distiche invece sono tendenzialmente utilizzate dall'industria di trasformazione per la produzione di malto, in quanto più omogenee per dimensioni, con un contenuto proteico inferiore (meno dell'1,6%, corrispondente all'11,5% di sostanze azotate, Bonciarelli 2001) e una maggiore quantità di amido utilizzabile nella produzione della birra (Shewry, 1992).. Inoltre, in paesi come Etiopia, India, Cina e Marocco, l'orzo è ritenuto un'importante coltura destinata all'alimentazione quotidiana (Bekele et al., 2001).

1.1.3. Miglioramento Genetico

L'orzo è una poacea appartenente alla tribù *Hordeae* e al genere *Hordeum*, che comprende numerosi taxa e specie di interesse agronomico e botanico. Tra queste, *Hordeum vulgare* L. rappresenta la specie di maggiore rilevanza, includendo sia le forme coltivate sia quelle selvatiche strettamente affini e facilmente incrociabili (Fedak, 1985). A questa specie appartengono i principali gruppi coltivati, tra cui le forme distiche e polistiche. Tra le altre specie del genere si ricordano *Hordeum distichum* L., la cui forma spontanea è tradizionalmente ricondotta a *Hordeum spontaneum*, diffusa nell'Africa settentrionale e nell'Asia sud-occidentale, e *Hordeum irregulare* A.W., segnalata in Etiopia.

L'orzo è considerato una delle prime specie vegetali addomesticate dall'uomo durante la rivoluzione neolitica nella Mezzaluna Fertile, a partire da popolazioni selvatiche riconducibili a *Hordeum spontaneum*. Queste forme spontanee erano caratterizzate da spiga distica e da un rachide fragile, con disarticolazione delle spighette a ogni nodo (Fetch et al., 2003). Sia *H. vulgare* sia *H. spontaneum* sono specie diploidi interfertili con $2n = 14$ cromosomi (Lü et al., 2015). Uno dei passaggi chiave del processo di domesticazione fu la selezione di piante con spiga non fragile,

carattere controllato dai geni complementari *Btr1* e *Btr2* (Komatsuda et al., 2004). L'area di origine dell'orzo viene collocata in Medio Oriente, in particolare nella regione compresa tra Israele, Giordania, Siria e Anatolia meridionale, mentre le forme a cariosside nuda sembrano avere un centro di origine distinto, probabilmente localizzato in Cina (Amirante, 2014). Studi genetici più recenti indicano inoltre che la domesticazione dell'orzo non sia stata un evento unico, ma un processo articolato in più fasi e aree geografiche: in particolare, le cultivar europee e americane sembrano derivare principalmente dalla Mezzaluna Fertile, mentre l'orzo coltivato in Asia orientale risulta più strettamente affine a forme selvatiche diffuse nell'area dell'altopiano tibetano (Dai et al., 2012; Dokter et al., 2015).

A differenza di altri cereali della tribù *Triticeae*, l'orzo è caratterizzato da un genoma diploide relativamente semplice, fattore che ne ha favorito l'impiego come specie modello per lo studio dei cereali autunno-vernini (Muehlbauer et al., 2009). Il suo genoma, stimato intorno a 5,1 Gb, è costituito per oltre l'80% da elementi ripetitivi, ma la sua organizzazione risulta comunque più accessibile rispetto a quella dei frumenti poliploidi (Lü et al., 2015). Per questa ragione, molte conoscenze acquisite nell'orzo hanno avuto importanti ricadute anche nello studio di altri cereali, in particolare del frumento, con il quale condivide numerose omologie funzionali (Francia et al., 2004). Il sequenziamento del genoma e lo sviluppo delle risorse genomiche hanno reso possibile l'identificazione, la mappatura e il clonaggio di numerosi geni di interesse agronomico, ponendo le basi del moderno miglioramento genetico della specie (Stein et al., 2018; Sato, 2020).

Per lunghi periodi storici, il miglioramento genetico dell'orzo è avvenuto in modo empirico, attraverso la selezione operata dagli agricoltori in pieno campo, che ha favorito la formazione di ecotipi adattati a specifici ambienti pedoclimatici (Amirante, 2014). Questo processo ha contribuito alla generazione di un'elevata diversità fenotipica, comprendente, ad esempio, le diverse forme di spiga distica ed esastica. Con lo sviluppo della genetica classica, la selezione è divenuta progressivamente più mirata, basata su incroci controllati tra genotipi portatori di caratteri complementari, quali elevata resa, rusticità, precocità e resistenza agli stress. Un passaggio particolarmente importante si è verificato con l'introduzione, tra gli anni '50 e '60 del secolo scorso, delle tecniche di mutagenesi indotta, che hanno ampliato la variabilità genetica disponibile e consentito l'ottenimento di varietà migliorate, per esempio con culmo più corto e maggiore resistenza all'allettamento (Bonciarelli, 2001). La riduzione dell'altezza della pianta ha rappresentato infatti uno dei principali obiettivi del miglioramento genetico dell'orzo, poiché l'allettamento compromette fortemente la resa e la qualità della granella. Quando si manifesta in

prossimità della raccolta, esso ostacola la mietitura meccanica; se invece si verifica durante la fase di accrescimento, determina una riduzione del numero e del peso delle cariossidi, oltre a favorire il ristagno di umidità e quindi l'insorgenza di infezioni fungine e fenomeni di germinazione pre-raccolta (Dokter et al., 2015). L'introduzione di alleli nanizzanti nei programmi di selezione è stata quindi determinante per ottenere piante più robuste, con culmo più corto ma capaci di sostenere spighe più produttive (Hedden, 2003). Tuttavia, nonostante i lavori di miglioramento fatti sino ad oggi, l'orzo rimane una pianta più alta e quindi soggetta all'allettamento rispetto ai frumenti. Accanto alla resistenza all'allettamento, tra gli obiettivi storici del miglioramento genetico dell'orzo rientrano la resistenza al freddo, la possibilità di effettuare semine autunnali più sicure, la precocità del ciclo biologico, la stabilità produttiva e il miglioramento dei parametri qualitativi della granella (Boncarelli 2001). Il progresso genetico ha infatti consentito di incrementare la resa in granella, l'indice di raccolta, il numero e il peso delle cariossidi, nonché di migliorare caratteri rilevanti per la filiera maltaria, quali estratto di malto, attività diastatica, contenuto di α -amilasi e qualità tecnologica complessiva (Wych et al., 1980). Anche le varietà primaverili sono state oggetto di intensi programmi di miglioramento, in particolare nei Paesi nordici, dove il freddo rappresenta un fattore determinante per la produttività (Grausgruber et al., 2002).

Negli ultimi decenni, il miglioramento genetico dell'orzo è stato profondamente trasformato dallo sviluppo delle tecnologie genomiche e biotecnologiche. Alla selezione fenotipica tradizionale si sono progressivamente affiancati strumenti avanzati quali marcatori molecolari, collezioni di EST, librerie BAC, collezioni di mutanti, piattaforme di DNA array, tecnologie per la produzione di doppi aploidi e protocolli di trasformazione genetica efficienti (Sreenivasulu et al., 2008). In questo contesto, la selezione assistita da marcatori (MAS) ha assunto un ruolo centrale, rendendo più rapida ed efficace l'introggressione di alleli favorevoli. La disponibilità di piattaforme di genotipizzazione ad alto rendimento basate su polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) ha ulteriormente accelerato questo processo, consentendo una caratterizzazione sempre più fine del germoplasma e delle regioni genomiche associate ai principali caratteri di interesse agronomico (Muñoz-Amatriaín et al., 2014). Le banche del germoplasma conservano oggi decine di migliaia di accessioni di orzo, comprendenti cultivar moderne, varietà tradizionali, linee mutanti e forme selvatiche, che costituiscono una risorsa fondamentale per il miglioramento genetico. Grazie al sequenziamento e all'assemblaggio del genoma, è stato possibile identificare un numero crescente di QTL associati a caratteri quantitativi complessi, come efficienza d'uso dell'azoto, tolleranza a siccità, salinità, ristagno idrico e resistenza alle malattie (Fang et al., 2019; Karunarathne et al., 2020; Zhang et al., 2017). Parallelamente, le moderne varietà di orzo incorporano fonti di resistenza

a importanti fitopatie, tra cui virosi, oidio, striatura e maculatura bruna (Tondelli et al., 2017), oltre a caratteri di interesse per la qualità maltaria, come la riduzione delle proantocianidine nella cariosside, associata a una migliore limpidezza e stabilità della birra (von Wettstein, 2007).

Nel complesso, l'integrazione tra approcci convenzionali e tecnologie genomiche ha consentito di sviluppare cultivar di orzo più produttive, più stabili e meglio adattate a condizioni ambientali variabili. In uno scenario segnato dal cambiamento climatico, queste innovazioni rivestono un'importanza crescente, poiché permettono di intervenire in modo più preciso su caratteri complessi legati all'adattamento, alla qualità e alla tolleranza agli stress. In questa prospettiva, l'orzo si conferma non solo una coltura di grande interesse agronomico, ma anche una specie modello di riferimento per lo studio e il miglioramento della resilienza dei cereali autunno-vernini (Ochagavía et al., 2022; Meng et al., 2023).

1.2. L'Orzo e il Cambiamento Climatico

L'orzo può essere coltivato sia in semina autunnale sia in semina primaverile, ma i due sistemi esprimono strategie adattative differenti. L'orzo autunnale, tipicamente associato a genotipi invernali o facoltativi per la produzione zootecnica, sfrutta la semina anticipata per sviluppare l'apparato radicale, utilizzare meglio le riserve idriche accumulate nel suolo durante l'inverno e prolungare il ciclo vegetativo; l'orzo primaverile, generalmente coltivato per la produzione di malto, ha un ciclo più breve, evita il rischio di danni invernali ma dispone di una finestra di crescita più limitata e, in molti contesti, risulta più esposto agli stress termo-idrici della tarda primavera e dell'inizio estate. In diversi ambienti europei, infatti, le rese dell'orzo primaverile da malto risultano generalmente inferiori rispetto a quelle dell'orzo seminato in autunno, proprio per la minore durata del ciclo e per la ridotta capacità di intercettare risorse e costruire biomassa (Schils et al., 2018). In questo quadro, la coltivazione autunnale di orzi da malto sta suscitando un interesse crescente perché appare una delle strategie agronomiche più promettenti per adattare la coltura al cambiamento climatico: la semina autunnale consente spesso di anticipare le fasi di sviluppo, evitare in parte gli stress terminali di caldo e siccità durante riempimento e maturazione della granella, e migliorare l'efficienza d'uso di acqua e nutrienti grazie a un apparato radicale più profondo e a una copertura del suolo più precoce (Yau et al., 2011). Tuttavia, questo crescente interesse è strettamente legato alla disponibilità di genotipi capaci di combinare correttamente resistenza al freddo, requisito di vernalizzazione, adeguata fenologia e caratteristiche produttive, poiché il vantaggio della semina autunnale si realizza pienamente solo quando la coltura mantiene

una buona sopravvivenza invernale e una corretta sincronizzazione dello sviluppo con l'ambiente (Köster et al., 2026).

L'adattabilità dell'orzo è il risultato dell'interazione tra sviluppo vegetativo, percezione dei segnali ambientali, risposta agli stress e regolazione della transizione alla fase riproduttiva. Il comportamento della coltura varia in funzione della combinazione tra habitus di crescita, quindi in funzione del suo fabbisogno di vernalizzazione, sensibilità al fotoperiodo e assetto allelico dei geni coinvolti nella risposta al freddo (Lü et al., 2015). Per questo motivo, l'orzo rappresenta un modello particolarmente utile per studiare come i caratteri di adattamento si traducano in performance agronomica in ambienti contrastanti per i cereali autunno-vernini. La letteratura ha mostrato chiaramente che sopravvivenza invernale, precocità di spigatura, capacità di acclimatamento alle basse temperature e stabilità della resa non costituiscono caratteri indipendenti, ma componenti strettamente interconnesse della stessa sindrome adattativa (Distelfeld et al., 2009). In questo contesto, il cambiamento climatico rappresenta una delle principali fonti di instabilità per le colture cerealicole autunno-vernine. Nel caso dell'orzo, il problema non riguarda soltanto l'aumento delle temperature medie, ma soprattutto la crescente variabilità climatica intra- e inter-stagionale (Rapacz et al., 2014). In molte aree di coltivazione, infatti, gli inverni tendono a essere mediamente più miti, ma anche più irregolari, con alternanza tra fasi di riscaldamento e bruschi ritorni di freddo, gelate tardive, precipitazioni disomogenee e periodi di deficit o eccesso idrico (Kòsova et al., 2025). Questo scenario può compromettere la coerenza tra i modelli adattativi selezionati in passato e le condizioni ambientali nelle quali la coltura è oggi chiamata a esprimersi.

Gli effetti del cambiamento climatico sull'orzo sono molteplici e agiscono sia direttamente sia indirettamente. L'aumento della temperatura dell'aria influenza la fisiologia della pianta, alterando fotosintesi, senescenza e fertilità degli organi riproduttivi, con conseguenze negative sulla resa e sulla qualità della granella (Cammarano et al., 2019). Anche la disponibilità idrica del suolo svolge un ruolo determinante, poiché condizioni di stress idrico limitano la crescita, riducono la conduttanza stomatica e compromettono i processi fotosintetici e traspirativi (Huntingford et al., 2005). A ciò si aggiungono effetti indiretti legati alla disponibilità dei nutrienti e alla loro dinamica nel suolo, anch'essi suscettibili di modificare la produttività della coltura (Högy et al., 2013). Sebbene l'orzo sia una specie dotata di elevata plasticità e ampiamente diffusa in diversi ambienti colturali, le attuali sindromi di adattamento potrebbero non risultare ottimali nelle nuove condizioni climatiche imposte dal riscaldamento globale (Maho et al., 2022; Giraldo et al., 2019).

Tra i processi più rilevanti per l'adattamento dell'orzo agli ambienti freddi vi è l'acclimatamento al freddo, ossia l'insieme di modificazioni fisiologiche e biochimiche indotte dall'esposizione a basse temperature non letali, che consentono alla pianta di aumentare progressivamente la tolleranza al gelo (Thomashow et al., 2010). Questo processo comporta una profonda riorganizzazione del metabolismo cellulare, comprendente modificazioni dell'attività fotosintetica, accumulo di zuccheri e osmoprotettori, rimodellamento delle membrane, variazioni dell'omeostasi ormonale e attivazione dei sistemi antiossidanti (Gilmour et al., 2000; Suzuki et al., 2006; Seydel et al., 2022). Tali risposte permettono alla pianta di mantenere l'integrità cellulare e limitare i danni indotti dalle basse temperature. La tolleranza al gelo rappresenta quindi una componente fondamentale della resistenza invernale, soprattutto nei genotipi autunno-vernini. Tuttavia, negli ambienti temperati interessati dal riscaldamento climatico, l'acclimatamento può essere compromesso dall'aumento della frequenza di periodi miti durante l'inverno (Kòsova et al., 2025). Queste condizioni favoriscono infatti la de-acclimatazione, cioè la perdita progressiva della tolleranza al gelo in seguito all'esposizione temporanea a temperature più elevate (Rapacz et al., 2017; Vyse et al., 2019). La de-acclimatazione può verificarsi in diversi momenti della stagione fredda e comporta un rapido turnover di carboidrati e proteine, associato alla riduzione della capacità di sopravvivere a successive gelate. In alcuni casi il fenomeno può essere almeno parzialmente reversibile attraverso il ri-indurimento, ma tale capacità tende a diminuire con l'aumentare della durata del periodo caldo e risulta spesso limitata nelle piante già vernalizzate (Kalberer et al., 2006; Trischuk et al., 2014). I meccanismi molecolari che regolano de-acclimatazione e riacclimatazione non sono ancora completamente chiariti, ma recenti studi suggeriscono un possibile coinvolgimento di sistemi ossidoreduuttivi e di meccanismi di memoria dello stress (Wójcik-Jagła et al., 2021; Wójcik-Jagła et al., 2023).

Un ulteriore elemento critico è rappresentato dal rapporto tra temperature invernali e fabbisogno in freddo. Nei cereali autunno-vernini, e in particolare nell'orzo invernale, la vernalizzazione è necessaria per rendere la pianta competente alla fioritura e consentire il corretto passaggio dalla fase vegetativa a quella riproduttiva. Inverni troppo miti possono quindi non solo ridurre la tolleranza al gelo, ma anche compromettere il pieno soddisfacimento del fabbisogno in freddo, con effetti negativi sulla sincronizzazione dello sviluppo, sulla fenologia e, in ultima analisi, sulla resa. Ne consegue che, in un contesto di crescente instabilità climatica, la comprensione dei meccanismi genetici e fisiologici che regolano acclimatamento, de-acclimatazione, vernalizzazione e risposta ambientale assume un'importanza centrale per il miglioramento dell'adattabilità dell'orzo.

1.2.1. Acclimatamento al Freddo, Vernalizzazione e De-acclimazione: Processi Fisiologici e Significato Agronomico

Per quanto concerne l'orzo, al fine di valutare l'impatto delle condizioni climatiche sulla resa e sulla qualità della granella, sono necessarie registrazioni meteorologiche a breve e a lungo termine, che fungano da indicatori per descrivere in modo probabilistico i possibili impatti del clima sulle coltivazioni (Cammarano et al., 2019). Le stagioni stanno diventando sempre più variabili, con una maggiore alternanza di periodi caldo-secchi e freddo-piovosi, accompagnati anche da episodi di gelo; inoltre, la siccità in autunno-inverno e all'inizio della primavera è aumentata nelle aree temperate ove le colture di *Triticeae* sono principalmente coltivate, e dove le fluttuazioni climatiche stanno sempre più influenzandone il ciclo colturale e le risposte fenologiche (Caccialupi et al., 2023). L'alternanza di periodi caldi con quelli freddi, infatti, potrebbe indurre un processo di de-acclimatazione nei genotipi di orzo invernali, riducendone la loro tolleranza al gelo con conseguenti perdite di resa. Inoltre, lo stress da siccità, che si verifica a causa di una ridotta quantità di pioggia e di un livello inferiore di umidità del suolo durante il periodo di semina autunnale e nelle prime fasi fenologiche che la seguono, può diminuire il tasso di germinazione e lo sviluppo delle piantine. Anche i requisiti di vernalizzazione potrebbero non essere totalmente soddisfatti a causa delle alte temperature che oramai caratterizzano sempre più il periodo invernale, esponendo le piante ad una fioritura ritardata, fenomeno aggravato anche dallo stress idrico. Persino i genotipi primaverili non sono immuni a questo problema, poiché l'alternanza di stress da siccità ed eventi di gelate tardive possono compromettere la germinazione e lo sviluppo, esponendole le piante ad un maggior rischio di ondate di calore durante la fase di riempimento delle cariossidi (Caccialupi et al., 2023). Il cambiamento climatico quindi, inciderà negativamente sulle rese, anche durante lo sviluppo riproduttivo, a causa dell'effetto sinergico delle alte temperature e della siccità; le temperature future più elevate, unite alle precipitazioni ridotte potrebbero infatti determinare un elevato stress idrico, soprattutto se l'acqua è limitata nei periodi primaverili e all'inizio dell'estate, specie laddove la perdita di acqua per evapotraspirazione è maggiore dell'apporto di acqua utile dalle precipitazioni che arriva nel suolo, oppure, ove i terreni sono caratterizzati da una bassa capacità di trattenere l'acqua. Le aree con una migliore capacità di ritenzione idrica del suolo sembrano infatti essere caratterizzate da maggior resilienza e potrebbero garantire aumenti di resa quando però le condizioni climatiche (soprattutto di temperatura) favorevoli, lo permettono. Sono le temperature in aumento infatti, un altro fattore limitante da tenere in considerazione in questa parte del ciclo della pianta, in quanto influenzano i tassi di fotosintesi e contribuiranno ad accelerare i tassi di senescenza (Cammarano et al., 2019). Lo sviluppo fenologico più rapido impatta negativamente sull'accumulo della biomassa, in quanto la pianta, avendo a disposizione meno tempo per

accumularla , trasloca una quantità inferiore di materiale dalle foglie e dagli steli, alle cariossidi. Ci sono poi danni indiretti e/o correlati al cambiamento climatico, basti pensare alla diffusione di parassiti e funghi che potranno potenzialmente trovare condizioni favorevoli per svilupparsi. Le proiezioni climatiche future indicano anche un aumento della severità delle precipitazioni, che risulteranno più brevi ma più intense, determinando danni fisici sulle piante sul fusto e sulla spiga, oltre all'aumento dell'allettamento causato dal vento (Rivington et al., 2022). Le mutevoli condizioni climatiche future inoltre, aumenteranno le fluttuazioni annuali di resa, con maggior variabilità spaziale e temporale. Sebbene le rese complessive possano diminuire, potrebbero esserci anni in cui le condizioni climatiche favorevoli permettano di perseguire rese ottimali, specialmente laddove la semina è anticipata, pratica che può contribuire significativamente a ridurre i rischi di cali della resa (Rivington et al., 2022).

Le considerazioni fatte nel capitolo precedente sottolineano come una coltura moderna debba essere pronta ad adattarsi alle condizioni ambientali sempre più mutevoli: da qui, la necessità di fruire di un buon programma di miglioramento genetico è oggi sempre più imprescindibile, al fine di garantire la riuscita di una produzione moderna e funzionale. Il miglioramento genetico per selezione prende in considerazione due tipologie di caratteri controllati a livello genetico, i caratteri monogenici e i caratteri poligenici: i primi (caratteri qualitativi) sono ascrivibili a uno o pochi geni (numero limitato di loci) e hanno caratteristiche fenotipiche facilmente individuabili e prevedibili, non influenzabili dall'ambiente; solitamente non sono oggetto di miglioramento in quanto la loro importanza economica è limitata (ad esempio, il colore del tegumento) (Alpi et al. 1972). Per quanto concerne i caratteri poligenici (o quantitativi), essi sono portati da un alto numero di geni e sono a variabilità continua: ne consegue che i fenotipi non sono classificabili in classi discrete, ma soltanto attraverso la misura mediante parametri numerici. La loro espressione è particolarmente influenzata dall'ambiente e, a differenza dei caratteri qualitativi, non hanno andamento mendeliano, in quanto soggetti ad azione genica additiva, di dominanza o epistasi tra loci diversi (Pilla, 2005). I caratteri quantitativi, come ad esempio l'habitus vegetativo, la resistenza alle malattie e la resa, sono di grande importanza agronomica ed economica e quindi inseriti nei programmi di miglioramento genetico (Ceccarelli et al., 1980). Una specifica regione del cromosoma contenente i geni in grado di determinare una variazione fenotipica di un carattere quantitativo, viene denominata QTL (*Quantitative Trait Loci*) (Aguet et al., 2023). Al fine di individuare i QTL, ci si serve di tecniche statistiche di mappatura, quali:

1.2.2. Basi Genetiche Dell'Adattamento al Freddo e Della Fenologia Nell'orzo

La notevole variabilità osservata nell'orzo per habitus di crescita, fenologia e resistenza al freddo ha una base genetica complessa, nella quale interagiscono geni a forte effetto, QTL minori e fattori ambientali (Stockinger et al., 2021). I sistemi genetici maggiormente coinvolti nell'adattamento sono quelli legati alla vernalizzazione, alla sensibilità al fotoperiodo e alla risposta diretta alle basse temperature. Nel loro insieme, questi sistemi determinano per quanto tempo la pianta rimane in fase vegetativa, quando acquisisce la competenza riproduttiva e con quale intensità attiva i meccanismi di acclimatamento al freddo. La genetica dell'adattamento dell'orzo non va quindi interpretata come una somma di moduli indipendenti, ma come una rete integrata che regola il compromesso tra sopravvivenza invernale e sviluppo.

Tra i loci principali coinvolti in questo equilibrio, *FR-H1* e *FR-H2* rivestono un ruolo centrale. Il locus *FR-H1*, localizzato sul cromosoma 5H, co-segrega con *VRN-H1* ed è strettamente associato al controllo del requisito di vernalizzazione. *VRN-H1* è UN promotore della fioritura che codifica un fattore di trascrizione MADS-box di tipo AP1 nei cereali e promuove la transizione dalla fase vegetativa a quella riproduttiva (West et al., 1997). Nei genotipi invernali la sua espressione rimane inizialmente bassa e aumenta dopo un adeguato periodo di basse temperature; nei genotipi primaverili, invece, specifici assetti allelici ne consentono un'espressione più precoce o costitutiva, riducendo o annullando il fabbisogno di vernalizzazione (Trevaskis et al., 2007). Di conseguenza, *FR-H1/VRN-H1* non influenza soltanto la data di fioritura, ma anche la durata della finestra utile per l'acclimatamento al freddo. Il locus *FR-H2*, anch'esso mappato sul cromosoma 5H, coincide con un cluster di geni *CBF* (C-repeat Binding Factors), fattori di trascrizione AP2/DREB chiave nella risposta alle basse temperature. I geni *CBF* attivano a valle un ampio insieme di geni *COR* (cold responsive), coinvolti nella protezione delle membrane, nell'accumulo di osmoprotettori, nella stabilizzazione proteica e in altri processi essenziali per l'acquisizione della tolleranza al gelo. Diversi studi di mappaggio ed espressione hanno mostrato che specifici aplotipi del cluster *FR-H2* sono associati a differenti livelli di freezing tolerance (Francia et al., 2004; Skinner et al., 2006; Tondelli et al., 2011). La rilevanza di questo locus dipende quindi dal fatto che esso rappresenta una base genetica diretta e biologicamente plausibile della capacità acclimativa della pianta.

L'interazione tra *FR-H1* e *FR-H2* costituisce uno degli aspetti più interessanti della genetica dell'adattamento in orzo. A livello funzionale, i due loci controllano processi distinti ma strettamente connessi: *FR-H1/VRN-H1* regola prevalentemente vernalizzazione e fenologia, mentre

FR-H2/CBF governa la risposta diretta al freddo. Tuttavia, lavori hanno riportato evidenze che indicano che *VRN-H1* tende a ridurre o rimodulare l'espressione di alcuni geni *CBF*, collegando il soddisfacimento del requisito di vernalizzazione alla progressiva perdita della massima tolleranza al freddo (Stockinger et al., 2007). Questo modello spiega perché i genotipi invernali possano raggiungere elevati livelli di resistenza quando rimangono a lungo in fase vegetativa, mentre i genotipi primaverili, o quelli con espressione precoce di *VRN-H1*, risultino generalmente più vulnerabili agli eventi di gelo tardivo (Stockinger et al., 2007; Hemming et al., 2009; Cuesta-Marcos et al., 2015).

Il pathway della vernalizzazione comprende anche altri geni importanti, in particolare *VRN-H2* e *VRN-H3*. *VRN-H2* agisce come repressore della fioritura in condizioni di giorno lungo e contribuisce a mantenere la pianta in fase vegetativa finché il freddo non abbia soddisfatto il fabbisogno di vernalizzazione. *VRN-H3*, ortologo dei geni FT, integra invece i segnali di vernalizzazione e fotoperiodo e promuove la transizione fiorale in condizioni favorevoli. In questo contesto si inseriscono anche i geni del sistema PPD, che modulano la sensibilità alla lunghezza del giorno e influenzano la tempistica di levata e spigatura. Per questo motivo, l'effetto di *FR-H1* e *FR-H2* deve sempre essere interpretato alla luce del background genetico complessivo, nel quale agiscono anche vernalizzazione e fotoperiodo.

Negli ultimi anni, le nuove tecnologie genomiche hanno consentito di approfondire notevolmente la struttura del locus *FR-H2*, evidenziando non solo differenze nella composizione del cluster *CBF*, ma anche variazioni strutturali, duplicazioni, delezioni e differenze di copy number (Francia et al., 2016). Questo ha rafforzato l'ipotesi che la tolleranza al freddo non sia un carattere "on/off", ma il risultato quantitativo di differenti configurazioni alleliche e regolative del locus. In questo quadro, alcuni geni del cluster, tra cui *HvCBF2*, *HvCBF4* e *HvCBF14*, sono stati indicati come candidati particolarmente convincenti per spiegare parte della variabilità nella tolleranza al gelo, soprattutto negli aplotipi invernali associati a maggiore resistenza (Novillo et al., 2007). Dal punto di vista fisiologico, l'attivazione del sistema CBF-COR rappresenta un nodo centrale dell'acclimatamento al freddo (Caccialupi et al., 2023). Nei cereali autunno-vernini, questa risposta si attiva durante la fase vegetativa e comporta una profonda riorganizzazione del metabolismo, che consente alla pianta di acquisire tolleranza alle basse temperature. Inoltre, i geni *CBF* appartengono alla famiglia CBF/DREB1, implicata non solo nella risposta al freddo ma anche nella risposta alla disidratazione e, più in generale, agli stress abiotici. Ciò suggerisce l'esistenza di un parziale collegamento tra le basi genetiche della tolleranza al freddo e quelle della risposta alla siccità.

In questo contesto, i QTL di maggiore interesse per il presente lavoro sono proprio quelli associati alla tolleranza alle basse temperature sul cromosoma 5H, identificati studiando popolazioni derivate dall'incrocio Nure × Tremois (Francia et al., 2004). In tale materiale, il QTL distale associato a tolleranza al freddo e requisito di vernalizzazione è stato localizzato nella regione *VRN-H1/FR-H1*, mentre un secondo QTL prossimale, *FR-H2*, coincide con una regione coinvolta anche nell'accumulo di proteine COR, tra cui HvCOR14b e HvDHN5 (Ahres et al., 2020). Questi risultati hanno consolidato l'idea che *FR-H1* e *FR-H2* rappresentino due nodi fondamentali della sindrome adattativa dell'orzo ai climi freddi.

Nel complesso, le conoscenze oggi disponibili indicano che l'adattabilità dell'orzo alle basse temperature emerge dall'interazione tra due grandi assi regolativi: da un lato il controllo del tempo di sviluppo, mediato dai geni della vernalizzazione e del fotoperiodo; dall'altro la capacità effettiva della pianta di attivare meccanismi di protezione cellulare durante l'inverno, mediata in larga misura dal sistema CBF-COR. I loci *FR-H1* e *FR-H2* si collocano esattamente all'intersezione di questi due assi e, proprio per questo, costituiscono il fulcro del presente lavoro. Studiare il loro effetto in linee quasi isogeniche significa analizzare direttamente la base genetica del compromesso tra resistenza al freddo e adattamento fenologico.

2. Scopo Della Tesi

Nonostante i notevoli progressi nella comprensione della genetica della vernalizzazione e della risposta al freddo nell'orzo, rimangono ancora aspetti non del tutto chiariti. Gran parte delle conoscenze disponibili deriva infatti da studi di mappaggio, prove in condizioni controllate o analisi molecolari focalizzate su singoli geni e specifici stadi di sviluppo. Questi approcci hanno avuto un ruolo fondamentale nell'identificazione e nella caratterizzazione funzionale dei loci *FR-H1* e *FR-H2*, ma non rispondono completamente alla domanda agronomica centrale: in quale misura gli alleli di questi loci si traducono in un reale vantaggio adattativo quando il genotipo viene coltivato in ambienti differenti? Rimane quindi da colmare il divario tra conoscenza genetico-molecolare e validazione agronomica in condizioni di campo e in prove multi-ambiente. Questo limite è particolarmente evidente se si considera l'effetto del background genetico. Un locus come *FR-H2* può influenzare in modo marcato la tolleranza al freddo, ma il suo impatto finale su resa, fenologia e adattabilità complessiva dipende dal contesto genomico in cui è inserito. Allo stesso modo, modificazioni del locus *FR-H1/VRN-H1* possono alterare il requisito di vernalizzazione e la tempistica dello sviluppo, ma le conseguenze agronomiche di tali variazioni non sono necessariamente costanti nei diversi ambienti. Ne consegue che l'identificazione di un allele favorevole non è sufficiente: è necessario verificarne l'effetto in materiali geneticamente controllati e in condizioni pedoclimatiche contrastanti.

In questo contesto, le linee quasi isogeniche per QTL (QTL-NILs) rappresentano uno strumento sperimentale particolarmente potente. Poiché differiscono dal parentale ricorrente solo per una regione genomica limitata contenente il locus di interesse, esse consentono di attribuire con maggiore confidenza le differenze fenotipiche osservate proprio a quella specifica introgressione. Nei tratti di adattabilità, che sono per natura quantitativi e fortemente influenzati dall'interazione genotipo \times ambiente, l'uso delle NILs è particolarmente importante perché permette di "semplificare" l'effetto di un QTL e di valutarne il contributo reale su caratteri agronomici integrati quali data di spigatura, resa e peso di mille semi. In questo senso, le NILs non sono utili solo per confermare l'effetto di un QTL, ma anche per comprendere come specifici loci contribuiscano al compromesso tra resistenza invernale, precocità di sviluppo e performance finale del genotipo.

Affinché questo approccio sia realmente informativo, è però indispensabile una rigorosa validazione genetica del materiale. Le moderne piattaforme di genotipizzazione ad alta densità basate su array SNP consentono di verificare con precisione la presenza delle introgressioni target, di definire i confini delle regioni genomiche trasferite e di stimare il grado di recupero del background

ricorrente. Questo passaggio è essenziale, perché permette di confermare che le NILs siano effettivamente quasi isogeniche e di ridurre il rischio di attribuire a *FR-H1* o *FR-H2* effetti fenotipici che potrebbero invece dipendere da segmenti genomici residui non target. La validazione con array SNP rappresenta quindi una premessa metodologica fondamentale per interpretare correttamente i risultati agronomici.

Alla luce di queste considerazioni, il presente lavoro si propone di valutare l'adattabilità agronomica di due QTL-NILs reciproche di orzo e dei rispettivi parentali, Nure e Tremois, in una prova multi-ambiente, con l'obiettivo di chiarire il contributo dei loci *FR-H1* e *FR-H2* alla risposta del genotipo in differenti condizioni pedoclimatiche. In particolare, lo studio integra tre livelli di analisi: validazione genomica del materiale mediante array SNP, valutazione agronomica in ambienti contrastanti e interpretazione biologica dei risultati alla luce delle attuali conoscenze sui meccanismi di vernalizzazione e acclimatamento al freddo. Le linee utilizzate per questa prova sono state precedentemente testate e valutate per la loro resistenza al freddo (Caccialupi et al 2026, under revision), dimostrando ampia plasticità fenotipica. L'ipotesi di lavoro è che l'effetto dei loci di interesse non sia assoluto, ma dipenda sia dal background genetico sia dall'ambiente di coltivazione. In particolare, si ipotizza che l'introggressione dell'allele invernale di *FR-H2* in un background primaverile possa migliorare l'adattamento in ambienti più severi dal punto di vista del freddo, mentre l'introggressione dell'allele primaverile di *FR-H1* in un background genetico invernale possa anticipare lo sviluppo e ridurre il requisito di vernalizzazione, con possibili vantaggi in alcuni contesti ma anche con il rischio di penalizzare la resistenza invernale. In questa prospettiva, il confronto tra parentali e NILs reciproche costituisce un sistema particolarmente efficace per collegare la scala del locus con quella della prestazione agronomica e per verificare se l'adattabilità dell'orzo possa essere migliorata mediante introggressioni mirate in regioni genomiche di alto valore funzionale.

Nel complesso, la combinazione tra NILs, genotipizzazione ad alta densità e valutazione multi-ambiente costituisce un approccio particolarmente robusto per la validazione di tratti adattativi complessi. Tale impostazione consente non solo di approfondire il ruolo di *FR-H1* e *FR-H2* nella regolazione della fenologia e della tolleranza al freddo, ma anche di produrre indicazioni utili al breeding, mostrando in quali contesti specifici determinati assetti allelici possano risultare vantaggiosi per coniugare resistenza al freddo, corretta fenologia e stabilità produttiva..

Ai fini della prova, sono stati scelti areali con condizioni climatiche eterogenee e differenti fra loro, per valutare il diverso impatto dei QTL nelle varie condizioni di stress alle quali le colture sono

state sottoposte. I siti di sperimentazione scelti per la prova multiambientale in oggetto sono il Kazakistan (in due località, valutando i genotipi in ambienti freddi e/o caratterizzati da bassa piovosità), Italia (nelle località Castelfranco Emilia e Foggia, confrontando lo sviluppo delle coltivar e delle NILs in ambienti distinti, caratterizzati da un clima rispettivamente temperato sub-continentale e uno mediterraneo), e Turchia (testando i genotipi e valutandone lo sviluppo in un ambiente caratterizzato da clima continentale sub-arido, tipico dell'altopiano anatolico). La scelta di questi ambienti, così diversificati, ha evidenziato le differenze tra i genotipi oggetto di studio in termini di sviluppo e resa, consentendo di valutare in modo approfondito la stabilità fenotipica e l'adattabilità delle QTL-NILs in relazione a differenti condizioni climatiche e agronomiche.

3. Materiali e Metodi

3.1. Genotipi

I materiali valutati sono stati due linee parentali e due linee quasi isogeniche (QTL-NILs) sviluppate per isolare e studiare l'effetto delle regioni cromosomiche (QTLs) che controllano la resistenza al freddo (*FR-H2*) e la vernalizzazione (*FR-H1*). un carattere quantitativo, su un fondo genetico uniforme.

Le due linee parentali valutate sono state Nure e Tremois, genotipi largamente studiati per la resistenza al gelo e vernalizzazione. Nure [(Fior 40 x Alpha2) x Baraka] è una cultivar invernale italiana distica sviluppata presso l'Istituto Sperimentale per la Cerealicoltura, Fiorenzuola d'Arda (PC). Nure è una varietà zootecnica caratterizzata da elevata produttività, alto peso ettolitrico e di mille semi, buona tolleranza ad allettamento, oidio e mosaico giallo. Nure è una varietà che richiede la vernalizzazione per fiorire ed è resistente alle basse temperature. Tremois [(Dram x Aramir) x Berar] è una varietà da malto francese distica caratterizzata da elevate rese. Tremois non richiede la vernalizzazione per fiorire ed è suscettibile alle basse temperature.

Le due QTL-NILs oggetto di studio sono state sviluppate partendo dalla popolazione di linee doppio aploidi (double haploid DH) derivanti dall'incrocio Nure x Tremois specificamente progettati per analizzare il controllo genetico della tolleranza al gelo (Francia et al 2004). Tra le 136 linee DH della popolazione Nure x Tremois, due sono state selezionate come parentali "donatori" dei QTL oggetto di studio: NT64 e NT92. Queste linee che hanno contribuito rispettivamente con l'allele Nure a *FR-H2* e l'allele Tremois a *FR-H1* (Figura 1).

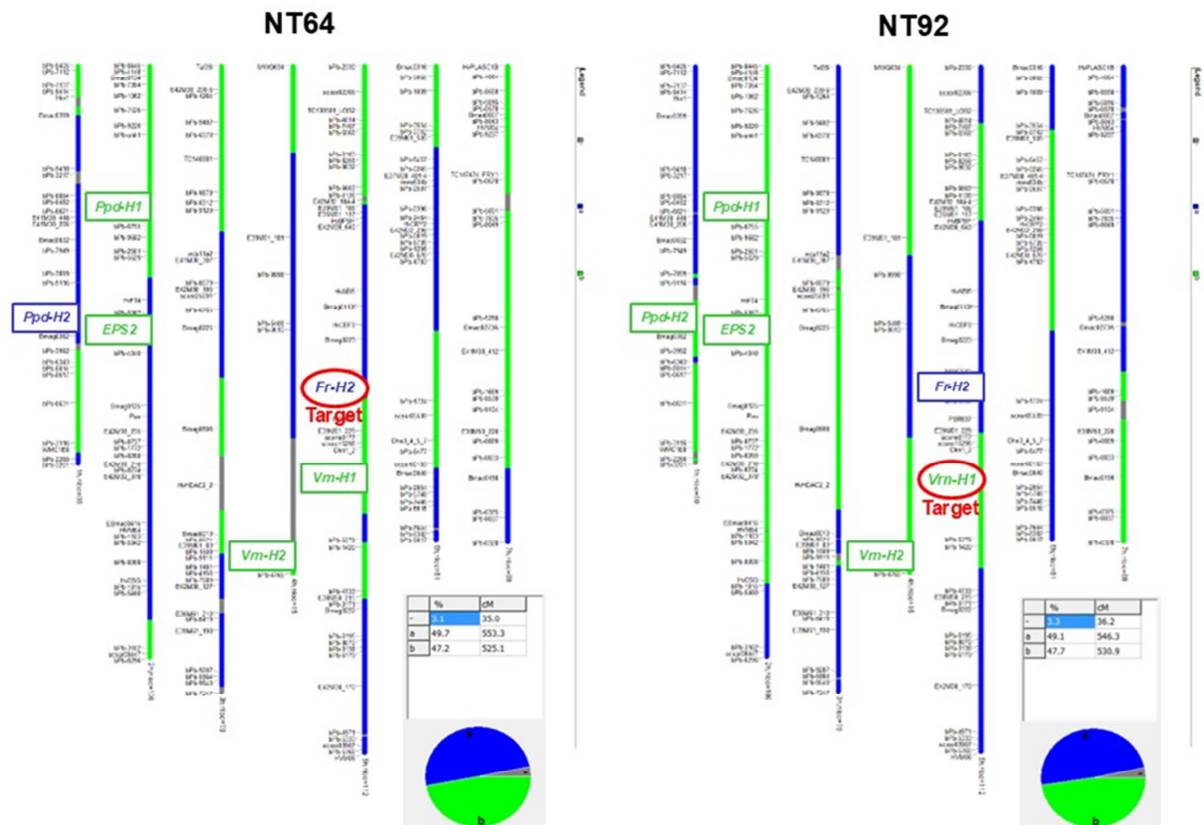


Figura 1. Stato allelico delle due linee DH selezionate come parentali donatori portatori di alleli alternativi ai due QTLs (ovvero, aplotipo *FR-H2* 69 *fr-h1* o *fr-h2-FR-H1*) dove: NT-64 (47,9% Nure, 47,2% Tremois), NT-92 (49,1% di Nure, 47,7% di Tremois) (secondo Francia et al., 2004). Nei genotipi grafici, i segmenti blu indicano le regioni genomiche derivate da Nure, mentre i segmenti verdi quelle regioni genomiche derivate da Tremois.

Nello sviluppo delle QTL-NILs, i parentali Nure e Tremois sono stati poi utilizzati come "ricorrenti" in un programma di reincrocio. Durante ogni ciclo di selezione, il seme BCnF1 ottenuto è stato seminato in campo per ottenere un minimo di 60 piante distanziate, che sono state successivamente testate per il loro stato allelico a *FR-H1* e *FR-H2*. Partendo da campioni di tessuto fogliare, si è proceduto ad estrarre il DNA genomico, e due marcatori codominanti basati su PCR – *HvCBF3* e *HvBM5* (Francia et al., 2007) – sono stati utilizzati per monitorare lo stato allelico dei segmenti introgressi *FR-H2/CBF* e *FR-H1/VRN-H1*.

Le varianti alleliche *FR-1H/VRN-H1* sono state designate seguendo la nomenclatura precedentemente adottata in letteratura (Hemming et al. 2009; Rizza et al. 2016), con Tremois che porta l'allele *Vrn-H1-7* e Nure che porta *vrn-H1* (5200). Per il locus *FR-H2* (cluster *HvCBF*) abbiamo adottato *HvCbf* per la variante Nure associata alla tolleranza al gelo e invece *Hvcbf* per la variante Tremois associata alla suscettibilità. Le due linee QTL-NILs sono quindi denominate *FRI-*

Tr/Nure e *FR2-Nu/Tremois*, dove l'allele introgresso dei donatori (Nu o Tr) è scritto in corsivo. Nel caso di *FR2-Nu/Tremois*, sono state effettuate cinque generazioni di backcross, seguite da più cicli di autoimpollinazione per ottenere i semi BC5S4 e BC5S5 utilizzati nel presente studio (Figura 2). Analogamente, per *FR1-Tr/Nure*, sono state derivate due linee fino alla quarta generazione di backcross, seguite da più cicli di autoimpollinazione per ottenere semi BC4S3 e BC4S4.

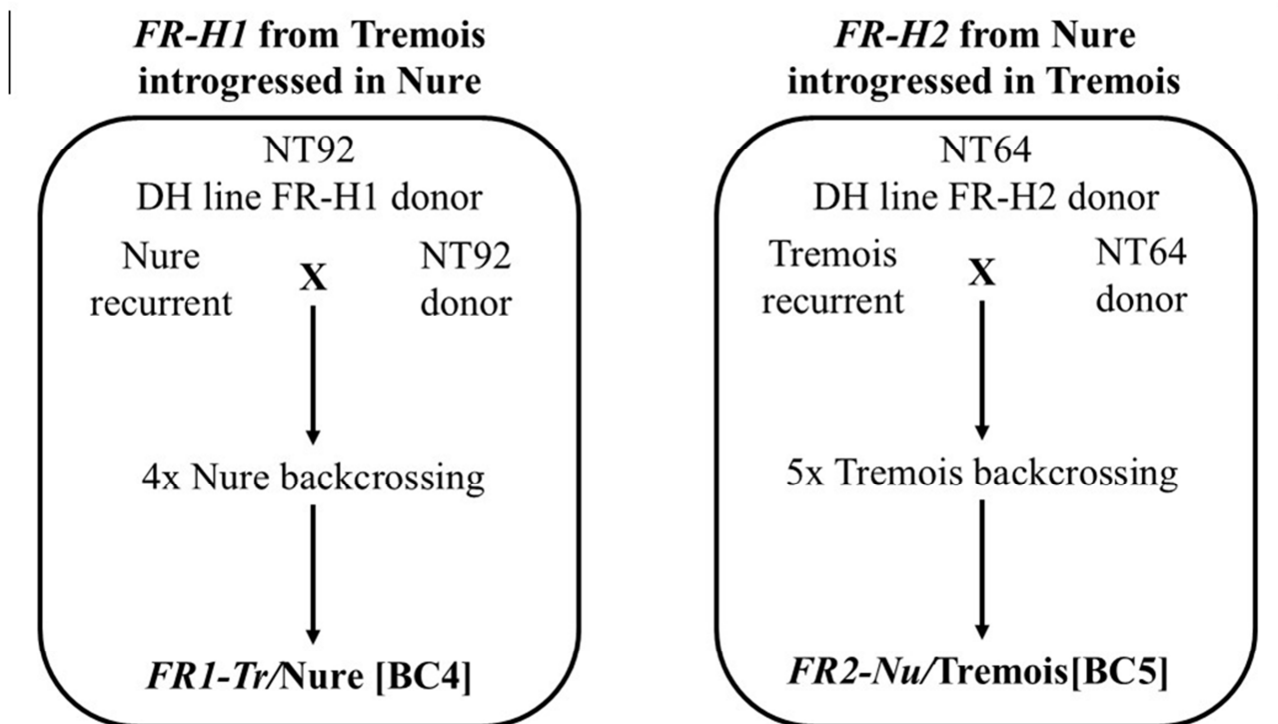


Figura 2. Schema di lavoro che illustra lo sviluppo di due linee QTL-NIL di orzo progettate per isolare gli effetti dei principali loci di tolleranza al gelo *FR-H1/VRN-H1* e *FR-H2/CBF*. Riquadro di sinistra: Sviluppo di *FR1-Tr/Nure* mediante introgressione dell'allele primaverile *Vrn-H1-7* nel patrimonio genetico invernale di Nure ,attraverso successivi reincri e selezione assistita da marcatori. Riquadro di destra: Sviluppo di *FR2-Nu/Tremois* mediante l'introgressione dell'allele invernale *FR-H2/CBF* di Nure nella cultivar primaverile Tremois.

Nello schema di backcrossing non è stata applicata alcuna selezione per altri loci rilevanti per i tratti di vernalizzazione, e acclimatamento alle basse temperature come: *ICE1*, *FR-H3*, *VRN-H2*, *VRN-H3*, *PPD-H1* e *PPD-H2*. Nella generazione BC3F1 è stata effettuata una fase di verifica dello stato genotipico di tali loci utilizzando un set di SSR disponibile per la mappa Nure × Tremois e seguendo la stessa metodologia descritta in Francia et al., 2004.

3.2. Estrazione DNA

Per convalidare l'introggressione degli alleli target e stimare la percentuale del genoma parentale ricorrente nei QTL-NIL, è stata eseguita la genotipizzazione utilizzando una piattaforma microarray ad alta densità basata su variazioni a singolo nucleotide (SNP - Single Nucleotide Polymorphism).

Per l'estrazione del DNA, dieci semi di Nure, Tremois, i due donatori NT92, NT64, *FRI-Tr/Nure* e *FR2-Nu/Tremois* sono stati seminati in vassoi di polistirolo (dimensioni: 522 × 330 × 50 mm), riempiti con torba commerciale neutra sterilizzata (composizione: 23% carbonio organico, 0,5% azoto organico, densità apparente secca 214 kg m⁻³; Dueemme S.r.l., Reggio Emilia, Italia), in condizioni di serra controllate. Le due linee *FRI-Tr/Nure* e *FR2-Nu/Tremois* sono state valutate rispettivamente alle generazioni di reincrocio BC₄ e BC₅. A partire da plantule di 10-12 giorni, sono stati raccolti tessuti fogliari freschi per l'estrazione del DNA utilizzando il metodo CTAB modificato (Stein et al., 2001). Per ciascun campione sono stati utilizzati circa 300 mg di foglie, finemente tagliate, sottoposte a macinazione meccanica. La macinazione è stata effettuata manualmente con pestello direttamente in provette da 1,5–2 mL in presenza di una piccola aliquota di tampone CTAB. Dopo aggiunta del tampone CTAB, i campioni sono stati incubati a 65°C per 30–60 minuti, al fine di favorire la lisi cellulare e la denaturazione delle proteine. Il tampone CTAB era composto da 2% CTAB, 200 mM Tris-HCl pH 8,0, 20 mM EDTA, 1,4 M NaCl e 1% PVP; immediatamente prima dell'uso veniva aggiunto β-mercaptoetanolo. Al termine dell'incubazione, una quota del lisato è stata trasferita in una nuova provetta e sottoposta a deproteinizzazione mediante aggiunta di cloroformio:alcol isoamilico (24:1), seguita da inversione delicata per 15 minuti e centrifugazione a 10.000 g per 15 minuti a 10°C. La fase acquosa superiore, contenente gli acidi nucleici, è stata quindi recuperata con attenzione evitando l'interfaccia. Per eliminare la contaminazione da RNA, al surnatante è stata aggiunta RNasi A, seguita da incubazione a 37°C per 15–60 minuti. Il DNA è stato successivamente precipitato mediante aggiunta di 560 µL di isopropanolo a temperatura ambiente, miscelando delicatamente per inversione, e centrifugato a 10.000 g per 10 minuti a 4°C. Il pellet ottenuto è stato sottoposto a due lavaggi consecutivi: il primo con 1 mL di Wash solution 1 fredda (76% etanolo, 200 mM sodio acetato anidro), con incubazione di 15 minuti a 4°C, e il secondo con 1 mL di Wash solution 2 (76% etanolo, 10 mM ammonium acetate), lasciata agire per 5 minuti. Dopo rimozione completa dei lavaggi, il pellet è stato asciugato sotto cappa fino a completa evaporazione dei residui liquidi e infine risospeso in 100 µL di acqua bidistillata sterile. Dopo l'estrazione, la resa di DNA per campione variava da 200 a 600 ng/µL, mentre l'assorbanza Nanodrop a 260 nm e 280 nm è stata utilizzata per valutare la purezza: solo i campioni con rapporti maggiori o uguali a 2,0 sono stati generalmente accettati come "DNA puro"

per la genotipizzazione. I campioni di DNA estratti sono stati diluiti a una concentrazione di 50 ng/ μ L per campione come richiesto dall'azienda.

3.3. Genotipizzazione

In orzo l'array standard attuale è il 50K Illumina Infinium iSelect barley array, che ha sostituito le tecnologie precedenti offrendo una copertura genomica completa (Bayern et al., 2017). Per questo studio è stato utilizzato l'array SNP Illumina Infinium iSelect 15K per orzo (TraitGenetics GmbH, Gatersleben, Germania), che contiene 5.774 SNPs dall'array Infinium 9K, 7.516 SNPs dall'array Infinium 50K e 501 SNPs gene-specifici dalla letteratura, per un totale di 13.791 marcatori valutabili dal sequenziamento tramite cattura dell'esoma di un'ampia gamma di germoplasma di orzo europeo (Bayer et al., 2017). La posizione fisica di ciascun SNP è stata assegnata in base al genoma di riferimento di Morex V3 (Mascher et al., 2021).

La posizione cromosomica e le dimensioni dei segmenti introgressi sono state dedotte confrontando i pattern aploipici dei NILs con quelli dei parentali ricorrenti e donatori. Gli SNPs con clustering scadente o con genotype calls mancanti, segnalati come "SNP falliti" nel file di output fornito da TraitGenetics, non sono stati considerati per la stima dell'introggressione. Gli alleli marcatori condivisi tra il NIL e il parentale donatore, ma diversi da quelli del parentale ricorrente, sono stati utilizzati per definire i confini delle due introgressioni che ospitano *FR-H1* e *FR-H2*. I loci monomorfici situati all'interno di questi confini, sono stati considerati appartenenti al segmento introgresso. È noto che l'introggressione effettiva potrebbe essere maggiore di quanto stimato, soprattutto nelle regioni con bassa densità di marcatori o elevata similarità di sequenza tra genitori donatori e ricorrenti. Inoltre, sono stati valutati gli alleli di geni chiave coinvolti nell'acclimatazione al freddo, nella vernalizzazione, nella tolleranza al gelo e nel periodo di fioritura, al fine di fornire un quadro completo delle basi genetiche dell'adattamento ambientale nell'orzo.

Tabella 1. Elenco dei principali geni candidati coinvolti nella regolazione dell'abito di crescita e della risposta al freddo nell'orzo. Per ciascun locus sono riportati il cromosoma di appartenenza, il nome del gene, il prodotto genico annotato, l'identificativo secondo il riferimento Morex V3 e le coordinate fisiche di inizio e fine (bp). La tabella include geni associati al controllo dello sviluppo (*FR-H1*, *VRN-H2*, *VRN-H3*, *PPD-H1*, *PPD-H2*, *CEN*, *TOC1*, *CCA1*), geni implicati nell'acclimatazione al freddo (*ICE1* e cluster *CBF* in corrispondenza di *FR-H2*) ed effettori downstream della risposta al freddo (*HvCOR14b*, *HvDHN5*, e *FR-H3* con i suoi tre geni *UDP*, *TM4SF*, *LTI01*). Per i geni non presenti o non annotati nel genoma di riferimento Morex V3, tale condizione è indicata in tabella.

Locus	Chr	Nome del gene	Prodotto del gene	Morex V3 ID (annotazione)	Morex V3 Posizione di inizio (bp)	Morex V3 Posizione di fine (bp)
Growth habit genes						
<i>FR-H1</i>	5H	<i>VRN-H1</i>	<i>MADS Box - Apetala-1-like protein</i>	HORVU.MOREX.r3.5HG0511210	528147816	528157990
<i>VRN-H2</i>	4H	<i>ZCCT-Ha</i> <i>ZCCT-Hb</i>	<i>ZCCT-H protein</i>	Assente in Morex		
<i>VRN-H3</i>	7H	<i>HvFT1</i>	<i>FLOWERING LOCUS T-like protein 1</i>	HORVU.MOREX.r3.7HG0653910	42284165	42285781
<i>PPD-H1</i>	2H	<i>HvPRR37</i>	<i>Pseudo-response regulator (PRR)</i>	HORVU.MOREX.r3.2HG0107710	25876427	25880400
<i>PPD-H2</i>	1H	<i>HvFT3</i>	<i>FLOWERING LOCUS T-like protein 3</i>	HORVU.MOREX.r3.1HG0077240	477767568	477768985
<i>CEN</i>	2H	<i>HvCEN</i>	<i>CENTRORADIALIS homolog protein</i>	HORVU.MOREX.r3.2HG0166090	460537768	460538770
<i>TOC1</i>	6H	<i>HvTOC1</i>	<i>Timing of cab expression 1</i>	HORVU.MOREX.r3.6HG0595250	368100872	368103754
<i>CCA1</i>	7H	<i>HvCCA1</i>	<i>Circadian clock associated 1</i>	HORVU.MOREX.r3.7HG0699010	374177271	374192102
Cold-acclimation genes						
<i>ICE1</i>	3H	<i>ICE1</i>	<i>Inducer of CBF expression</i>	HORVU.MOREX.r3.3HG0312340	580426677	580429732
<i>FR-H2</i>	5H	<i>HvCBF9</i>	<i>Dehydration-responsive element-binding proteins 9</i>	HORVU.MOREX.r3.5HG0497530	495010168	495011297
		<i>HvCBF4</i>	<i>Dehydration-responsive element-binding proteins 4</i>	HORVU.MOREX.r3.5HG0497560	495099157	495100082
		<i>HvCBF2</i>	<i>Dehydration-responsive element-binding proteins 2</i>	HORVU.MOREX.r3.5HG0497570	495114238	495115160
		<i>HvCBF14</i>	<i>Dehydration-responsive element-binding proteins 14</i>	HORVU.MOREX.r3.5HG0497590	495525477	495526121
		<i>HvCBF15A</i>	<i>Dehydration-responsive element-binding proteins 15A</i>	HORVU.MOREX.r3.5HG0497610	495669695	495671141
		<i>HvCBF12</i>	<i>Dehydration-responsive element-binding proteins 12</i>	HORVU.MOREX.r3.5HG0497620	495710510	495711244
		<i>HvCBF16</i>	<i>Dehydration-responsive element-binding proteins 16</i>	HORVU.MOREX.r3.5HG0497640	495820175	495820858
		<i>HvCBF3</i>	<i>Dehydration-responsive element-binding proteins 3</i>	HORVU.MOREX.r3.5HG0497660	495864860	495865968
		<i>HvCBF10A</i>	<i>Dehydration-responsive element-binding proteins 10A</i>	HORVU.MOREX.r3.5HG0497670	495882074	495882799
		<i>HvCBF6</i>	<i>Dehydration-responsive element-binding proteins 6</i>	HORVU.MOREX.r3.5HG0497680	495947431	495948398
		<i>HvCBF10B</i>	<i>Dehydration-responsive element-binding proteins 10B</i>	Assente in Morex		
		<i>HvCBF13</i>	<i>Dehydration-responsive element-binding proteins 13</i>	Assente in Morex		
		<i>Effettore</i>	2H	<i>COR14b</i>	<i>Cold-responsive protein</i>	HORVU.MOREX.r3.2HG0191600
<i>Effettore</i>	6H	<i>DHN5</i>	<i>Dehydrin 5</i>	HORVU.MOREX.r3.6HG0622710	534228956	534231085
<i>FR-H3</i>	1H	<i>UDP</i>	<i>UDP-Glycosyltransferase/glycogen phosphorylase</i>	HORVU.MOREX.r3.1HG0013180	32533051	32537212
		<i>TM4SF</i>	<i>Tetraspanin</i>	HORVU.MOREX.r3.1HG0013220	32549488	32553080
		<i>LT101</i>	<i>Low temperature-induced protein lt 101.2</i>	HORVU.MOREX.r3.1HG0013270	32694670	32695191

3.4. Prova Agronomica Multi-Ambiente

I genotipi oggetto di studio sono stati valutati in ambienti pedoclimatici eterogenei, caratterizzati da differenti condizioni di coltivazione, al fine di analizzare l'adattabilità delle QTL-NILs in relazione alla resistenza al gelo e alla siccità. A tale scopo sono stati considerati i principali caratteri agronomici e produttivi, tra cui la resa, il peso di 1000 semi e il peso ettolitrico. Per interpretare in maniera più accurata la risposta delle piante alle diverse condizioni climatiche e agli stress abiotici, è stata inoltre rilevata la data di spigatura, espressa come numero di giorni calcolati a partire da una data convenzionale comune, fissata al 1° aprile.

Questo lavoro è parte di un'attività di ricerca più ampia. L'attività sperimentale è stata articolata in due fasi. In una prima fase è stata condotta una prova preliminare, con lo scopo di effettuare una valutazione agronomica iniziale delle linee in due ambienti differenti, uno in Emilia Romagna (Italia) e uno nel nordest dell'Ohio (Stati Uniti) (Caccialupi et al, 2026). Sulla base dei risultati ottenuti è stata realizzata la prova multi-ambiente propriamente detta, mediante semina dei genotipi in più località, al fine di valutarne il comportamento in contesti climatici differenti e di evidenziare eventuali interazioni tra genotipo e ambiente (Figura 3). Le località selezionate per questa prova presentano caratteristiche climatiche peculiari, tali da renderle particolarmente adatte allo studio dell'adattabilità dell'orzo in condizioni ambientali contrastanti.

Multi-environment Trials 2024/2025

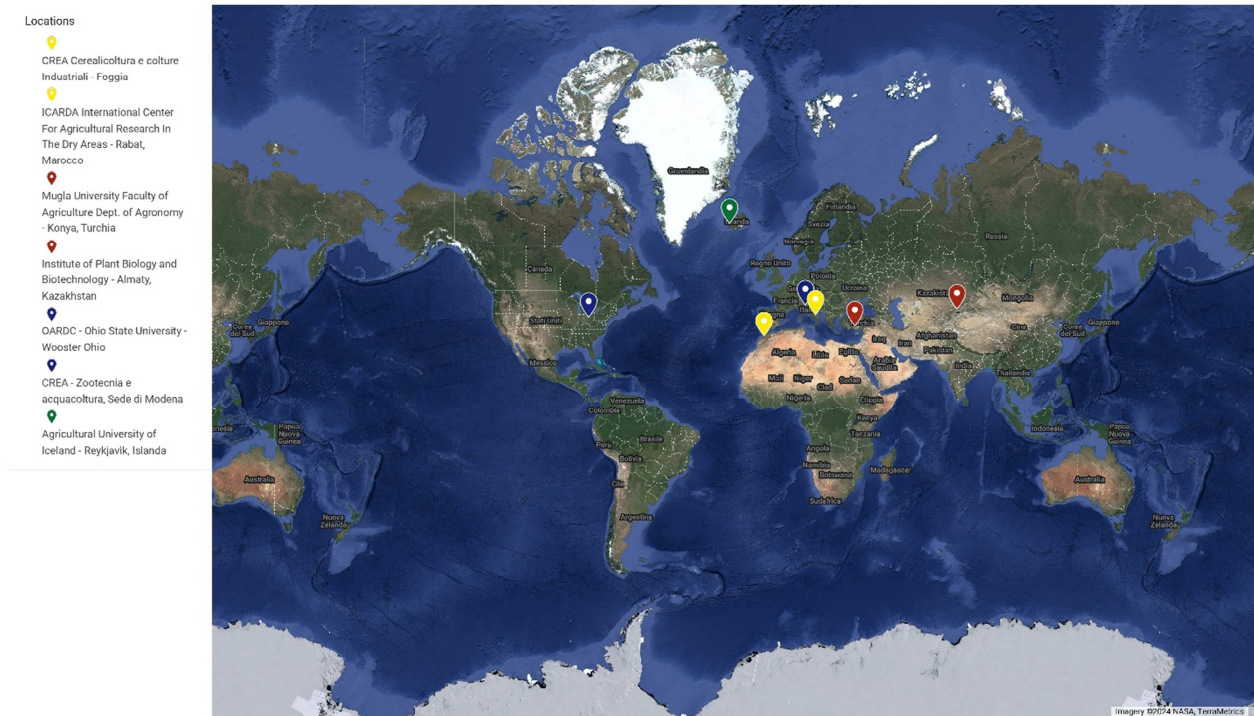


Figura 3. Localizzazione dei siti sperimentali inclusi nella prova multi-ambiente 2024/2025. I diversi colori identificano le principali tipologie climatiche dei siti di prova: verde, clima subpolare oceanico (Islanda); blu, clima continentale; giallo, clima mediterraneo; rosso, ambienti caratterizzati dalla combinazione di basse temperature e limitata disponibilità idrica. La distribuzione geografica dei siti è stata selezionata per valutare l’adattabilità delle linee in condizioni pedoclimatiche fortemente diversificate. Per questo lavoro sono state selezionate le due località in Italia (Tenuta Beccastecca di Castelfranco Emilia e (CREA Cerealicoltura e Colture Industriali di Foggia), le due località del Kazakistan (KRIAPG e KAES) e la località in Turchia (Provincia di Konya).

La sperimentazione è stata impostata secondo un disegno a blocchi randomizzati, con tre repliche per ciascun genotipo. Gli appezzamenti sperimentali sono stati suddivisi in parcelle di 3,25 m². L’impiego del disegno a blocchi randomizzati ha consentito di controllare la variabilità dovuta a fattori ambientali non controllabili, raggruppando unità sperimentali omogenee all’interno di ciascun blocco e migliorando così l’accuratezza del confronto tra i genotipi.

Le località valutate in questo lavoro sono state:

- Kazakhstan, presso l'Institute of Plant Biology and Biotechnology di Almaty, la prova è stata svolta in due località distinte: KRIAPG (43°14'48.1"N, 76°42'04.3"E; 773 m s.l.m.) e KAES (42°28'56.5"N, 69°37'34.7"E; 591 m s.l.m.). La prima località (KRIAPG), più settentrionale, è caratterizzata da condizioni più rigide e da una maggiore esposizione a masse d'aria fredda provenienti dalla Russia, mentre la seconda (KAES) presenta un clima relativamente più mite, pur mantenendo una marcata limitazione idrica. Entrambi i siti risultano pertanto idonei per la valutazione della risposta dei genotipi a condizioni di freddo e siccità.
- Italia, infine, la prova è stata condotta in due località. La prima località definita Nord Italia è situata presso il CREA – Zootecnia e Acquacoltura, sede di Modena, Tenuta Beccastecca di Castelfranco Emilia, in un'area a clima temperato continentale, con inverni freddi e umidi, estati calde e afose e frequenti episodi di gelate tardive. La seconda località, definita Sud Italia, è rappresentata dal CREA Cerealicoltura e Colture Industriali di Foggia (41°27'37.4"N, 15°30'04.7"E) ed è caratterizzata da clima mediterraneo con influenze continentali, estati calde e aride e precipitazioni annue più limitate rispetto all'Italia settentrionale.
- Turchia, la sperimentazione è stata effettuata a Konya (37.8757°N, 32.4748°E), area situata sull'altopiano anatolico e caratterizzata da clima continentale sub-arido, con estati calde e secche, inverni freddi e precipitazioni relativamente scarse, concentrate soprattutto nei mesi autunno-vernini. Anche questo ambiente rappresenta un contesto particolarmente informativo per lo studio dell'adattabilità dell'orzo.

Nel complesso, la scelta di ambienti sperimentali così diversificati ha consentito di valutare in maniera approfondita la stabilità fenotipica e l'adattabilità delle QTL-NILs in relazione a differenti condizioni climatiche e agronomiche.

3.5. *Analisi Statistica*

I dati agronomici sono stati analizzati mediante analisi della varianza a due vie (ANOVA), e le medie dei valori relativi ai diversi trattamenti sono state confrontate con il test post hoc di Tukey. Le elaborazioni statistiche sono state effettuate utilizzando il software GenStat, 17th edition (VSN International, Hemel Hempstead, UK).

4. Risultati

4.1. Genotipizzazione

Le due linee testate in questo studio, *FR1-Tr/Nure* e *FR2-Nu/Tremois*, sono state valutate rispettivamente alle generazioni di reincrocio BC₄ e BC₅. Sulla base dei risultati di genotipizzazione dell'array 15k, la percentuale del genoma parentale ricorrente è stata stimata rispettivamente al 96,88% e al 98,44%. Inoltre, per definire i segmenti introgressi nei NIL, le posizioni fisiche dei marcatori SNP che fiancheggiano i loci adattativi chiave, sono state determinate utilizzando il genoma di riferimento Morex V3.

Come riportato nella tabella 2, la distribuzione dei marcatori nelle regioni *FR-H2* e *FR-H1* ha evidenziato una copertura molto diversa tra i due loci. Nella QTL-NIL *FR2-Nu/Tremois* l'introggressione di *FR-H2* sul cromosoma 5H comprende il cluster dei fattori di trascrizione *CBF*, inclusi i più studiati *HvCBF2*, *HvCBF4*, *HvCBF9* e *HvCBF14*. Nel presente studio, la regione è stata delimitata dagli SNP polimorfici SCRI_RS_189093 e JHI-Hv50k-2016-322552, localizzati rispettivamente nelle posizioni 494.941.747 bp e 503.072.452 bp. La dimensione dell'introggressione ha coperto una distanza fisica di circa 8,13 Mb, comprendendo 131 marcatori dell'array 15k, di cui 50 polimorfici tra i genotipi parentali. La copertura di questo locus non è uniforme, All'interno di *FR-H2*, la distribuzione dei marcatori non è uniforme. Alcuni geni del cluster presentano una copertura relativamente limitata ma comunque presente, come *HvCBF9* e *HvCBF4* con 6 marcatori, *HvCBF3* con 4 marcatori, *HvCBF10A* con 3 marcatori e *HvCBF6* con 2 marcatori. Nella porzione terminale della regione, comprendente *HvCBF10B* e *HvCBF13*, sono stati identificati 2 marcatori in un intervallo di 209.228 bp. Al contrario, per diversi geni annotati nel cluster, tra cui *HvCBF2*, *HvCBF14*, *HvCBF15A*, *HvCBF12* e *HvCBF16*, non sono stati rilevati marcatori interni sulla base dell'annotazione Morex V3. Diversamente dal cluster *FR-H2*, il locus *FR-H1* corrispondente a *VRN-H1* risulta confinato in una regione genomica relativamente ridotta. Nella QTL-NIL *FR1-Tr/Nure* la regione *FR-H1/VRN-H1* è risultata delimitata dagli SNP polimorfici JHI-Hv50k-2016-335857 e Chr_5_599331920, localizzati rispettivamente nelle posizioni 527.793.505 bp e 528.159.681 bp. Nel locus *FR-H1* (*VRN-H1*), la regione introgressa si estendeva per circa 0,37 Mb e includeva 22 marcatori, sei dei quali erano polimorfici.

Tabella 2. Delimitazione fisica delle regioni *FR-H2* e *FR-H1* sul cromosoma 5H dell'orzo, con dettaglio dei geni del cluster *CBF* e del gene *VRN-H1*. Per ciascun locus sono riportati il marcatore iniziale e finale che definiscono l'intervallo genomico, le rispettive coordinate fisiche (bp) secondo il riferimento Morex V3, la lunghezza della regione considerata e il numero di marcatori presenti al

suo interno. Per alcuni geni del cluster *CBF* non sono stati identificati marcatori all'interno della posizione annotata nel genoma di riferimento.

Locus	Nome del gene	Marcatore iniziare	Posizione (bp)	Marcatore finale	Posizione (bp)	Lunghezza (bp)	Numero di marcatori nella regione
<i>FR-H2</i>	<i>CBF gene cluster</i>	JHI-Hv50k-2016-322552	494941747	JHI-Hv50k-2016-322552	503072452	8130705	131
<i>CBF9</i>	<i>HvCBF9</i>	SCRI_RS_189093	494941747	JHI-Hv50k-2016-320209	495011448	69701	6
<i>CBF4</i>	<i>HvCBF4</i>	TGBA15K-TG0386	495099739	BOPA2_12_30850 TGBA15K-TG0255	495100065	326	6
<i>CBF2</i>	<i>HvCBF2</i>						
<i>CBF14</i>	<i>HvCBF14</i>						
<i>CBF15A</i>	<i>HvCBF15A</i>	Nessun marcatore all'interno della posizione secondo l'annotazione Morex V3					
<i>CBF12</i>	<i>HvCBF12</i>						
<i>CBF16</i>	<i>HvCBF16</i>						
<i>CBF3</i>	<i>HvCBF3</i>	Chr_5_560570288	495865036	TGBA15K-TG0381	495865513	477	4
<i>CBF10A</i>	<i>HvCBF10A</i>	BOPA2_12_30845 TGBA15K-TG0359	495882133	Chr_5_560588191	495882963	830	3
<i>CBF6</i>	<i>HvCBF6</i>	BOPA2_12_30852	495947520	TGBA15K-TG0256	495947520	0	2
	<i>Regione intergenica</i>	JHI-Hv50k-2016-320510	496211141	AVRIG09401	502849621	6638480	91
<i>CBF10B</i>	<i>HvCBF10B</i>	JHI-Hv50k-2016-322510	502863224	JHI-Hv50k-2016-322552	503072452	209228	2
<i>CBF13</i>	<i>HvCBF13</i>						
<i>FR-H1</i>	<i>VRN-H1</i>	JHI-Hv50k-2016-335857	527793505	Chr_5_599331920	528159681	366176	22

Come riportato in Tabella 3, i dati di genotipizzazione sono stati utilizzati anche per verificare la presenza di alleli parentali in altri loci coinvolti nella resistenza al gelo/vernalizzazione, come *VRN-H2*, *VRN-H3*, *PPD-H1*, *PPD-H2*, *CEN*, *ICE1*, *COR14b*, *DHN5* e *FR-H3*, localizzati al di fuori dei segmenti introgressi. Il confronto degli aplotipi della linea DH del donatore con quelli dei NIL ha mostrato che gli alleli indesiderati presenti nelle linee DH parentali sono stati completamente eliminati dopo quattro e cinque generazioni di reincrocio rispettivamente in *FRI-Tr/Nure* e *FR2-Nu/Tremois*. Non sono stati osservate introgressioni non desiderate ai loci osservati.

Tabella 3. Composizione allelica dei due QTL-NIL, due linee parentali NT a confronto con i genitori ricorrenti Nure e Tremois, basata sulla genotipizzazione di orzo 15k Illumina Infinium iSelect (TraitGenetics GmbH, Gatersleben, Germania). Per Nure e Tremois la nomenclatura degli alleli è quella riportata in letteratura, per le linee NT e QTL gli alleli sono descritti solo come allele Nure o allele Tremois per facilitare il confronto. Sulla base delle combinazioni alleliche *VRN-H1/VRN-H2* e della loro interazione epistatica (Yasuda et al., 1993), sia *FRI-Tr/Nure* che *FR2-Nu/Tremois* sono stati classificati come genotipi di habitus di crescita primaverile. *FRI-Tr/Nure* ha come combinazione allelica l'allele primaverile in *VRN-H1* e l'allele invernale/funzionale in *vrn-H2*, mentre *FR2-Nu/Tremois* ha come combinazione allelica l'allele primaverile di *VRN-H1* e l'allele primaverile/deleto di *VRN-H2*.

Genotipo	Locus target		Locus acclimatamento				Locus habitus di crescita				Habitus di crescita
	<i>FR-H2</i>	<i>FR-H1</i>	<i>FR-H3</i>	<i>ICE1</i>	<i>HvCOR14b</i>	<i>HvDHN5</i>	<i>VRN-H2</i>	<i>VRN-H3</i>	<i>PPD-Hs</i>	<i>HvCEN</i>	
<i>FRI-Tr/Nure</i>	Nure	Tremois	Nure	Nure	Nure	Nure	Nure	Nure	Stessi alleli	Nure	Primaverile
<i>FR2-Nu/Tremois</i>	Nure	Tremois	Tremois	Tremois	Tremois	Tremois	Tremois	Tremois		Tremois	Primaverile
Nure	Nure	Nure	Nure	Nure	Nure	Nure	Nure	Nure		Nure	Invernale
Tremois	Tremois	Tremois	Tremois	Tremois	Tremois	Tremois	Tremois	Tremois		Tremois	Primaverile
NT92	Nure	Tremois	Nure	Nure	Tremois	Nure	Nure	Nure		Nure	Primaverile
NT64	Nure	Tremois	Nure	Tremois	Tremois	Tremois	Nure	Tremois		Tremois	Primaverile

Questo approccio definiva la regione minima coperta con sicurezza dai polimorfismi diagnostici, la dimensione effettiva dell'introggressione potrebbe estendersi oltre questi limiti, in particolare nelle regioni con bassa densità di marcatori. Pertanto, questa stima rappresenta un'approssimazione conservativa del blocco aplotipico introgresso.

4.2. Risultati Prova Agronomica Multi-Ambiente

I risultati sono stati analizzati considerando tre livelli di osservazione: effetto del genotipo, effetto dell'ambiente ed interazione genotipo × ambiente, sulla base dei parametri resa, peso di 1000 semi e data di spigatura (DtH, espressa come giorni trascorsi dal 1° aprile). Per tutti i caratteri considerati, gli effetti esaminati sono risultati significativi ($P < 0,001$).

Come riportato in tabella 4, dal punto di vista genotipico, sono emerse differenze marcate tra i quattro materiali in studio. La NIL *FRI-Tr/Nure* ha mostrato le performance migliori, con la resa più elevata (5,14 t/ha) e il maggiore peso di 1000 semi (49,06 g), accompagnati da una spigatura relativamente precoce (30 giorni). La NIL *FR2-Nu/Tremois* ha invece evidenziato il comportamento meno favorevole, presentando la resa più bassa (3,85 t/ha), il minor peso di 1000 semi (38,07 g) e la spigatura più tardiva (35 giorni). I due parentali hanno mostrato valori intermedi per resa, con Nure pari a 4,11 t/ha e Tremois a 4,15 t/ha. Tuttavia, Nure si è distinta per un peso di 1000 semi superiore (44,04 g) e per una spigatura più precoce (29 giorni) rispetto a Tremois, che ha invece mostrato semi più leggeri (39,42 g) e una spigatura più tardiva (34 giorni).

Tabella 4. Effetto del genotipo su resa (t/ha), Peso 1000 semi (g) e data di spigatura dal primo di aprile dei genotipi oggetto di studio, ovvero la varietà di orzo invernale Nure, quella primaverile Tremois, nonché le linee quasi isogeniche di orzo *FRI-Tr/Nure* (derivante dall'introggressione dell'allele primaverile *Vrn-H1-7* nel patrimonio genetico di Nure) e *FR2-Nu/Tremois* (ottenuta dall'introggressione dell'allele invernale *FR-H2/CBF* di Nure nella cultivar Tremois). I valori

riportati rappresentano le medie stimate per ciascun genotipo. La data di spigatura è espressa come numero di giorni trascorsi dal 1° aprile. Lettere diverse all'interno della stessa colonna indicano differenze statisticamente significative tra i genotipi, mentre la presenza della stessa lettera indica assenza di differenze significative. In basso sono riportati i livelli di significatività dell'effetto del genotipo per ciascun carattere ($P < 0,001$).

Genotipo	Resa (t/ha)	Peso 1000 semi (g)	Data di spigatura (1/4)
<i>FR1-Tr/Nure</i>	5.14 a	49.06 a	30 c
<i>FR2-Nu/Tremois</i>	3.85 c	38.07 c	35 a
Nure	4.11 b	44.04 b	29 c
Tremois	4.15 b	39.42 c	34 b
	<.001	<.001	<.001

Considerando l'effetto dell'ambiente (Tabella 5), la resa è risultata massima in Sud Italia (5,68 t/ha) e in Turchia (5,51 t/ha), mentre i valori più bassi sono stati osservati in KRIAPG, Kazakistan (2,78 t/ha). Nel nord Italia, la resa media è stata di 3.71 t/ha, inferiore rispetto alla media della località (~5 t/ha). Il motivo è dovuto ad una grandinata durante la fase di maturazione della cariosside che ha causato la rottura delle spighe e allettamenti. Il peso di 1000 semi è stato più elevato in Nord Italia (46,67 g) e in Turchia (45,70 g), mentre i valori inferiori sono stati registrati in KAES (37,61 g) e in Sud Italia (38,54 g). La data di spigatura ha mostrato una forte differenziazione tra ambienti: l'ambiente più precoce è risultato il Sud Italia (8 giorni), mentre il più tardivo è stato KRIAPG (53 giorni), a conferma di una marcata influenza delle condizioni ambientali sul ciclo colturale.

Tabella 5. Effetto dell'ambiente su resa (t/ha), Peso 1000 semi (g) e data di spigatura dal primo di aprile nelle diverse località della prova multi-ambiente. I valori riportati rappresentano le medie stimate per ciascuna località. La data di spigatura è espressa come numero di giorni trascorsi dal 1° aprile. Lettere diverse all'interno della stessa colonna indicano differenze statisticamente significative tra le località, mentre la presenza della stessa lettera indica assenza di differenze significative. In basso sono riportati i livelli di significatività dell'effetto della località per ciascun carattere ($P < 0,001$).

Località	Resa (t/ha)	Peso 1000 semi (g)	Data di spigatura (1/4)
Nord Italia	3.71 b	46.67 a	30 d
Sud Italia	5.68 a	38.54 c	8 e
KRIAPG - Kazakistan	2.78 c	44.72 b	53 a
KAES - Kazakistan	3.89 b	37.61 c	36 b
Turchia	5.51 a	45.7 ab	35 c
	<.001	<.001	<.001

Come riportato nella tabella 6, l'analisi dell'interazione genotipo×ambiente ha evidenziato che la risposta dei genotipi variava sensibilmente in funzione del sito sperimentale.

In Nord Italia, tutti i genotipi hanno mostrato rese comprese tra 3,36 e 4,15 t/ha, con *FR2-Nu/Tremois* come materiale più produttivo (4,15 t/ha). Il valore del peso 1000 semi più elevato è stato osservato in *FRI-Tr/Nure* (52,7 g) e *Nure* (50,7 g), mentre *FR2-Nu/Tremois* (44.67 g) e *Tremois* (38.67 g) hanno avuto riempimenti meno elevati. In termini di data di spigatura, *Nure* è risultata la più precoce (27 giorni), mentre *FRI-Tr/Nure* (30 giorni), *FR2-Nu/Tremois* (31 giorni) e *Tremois* (32 giorni) sono risultate più tardive.

In Sud Italia sono state osservate le rese più elevate dell'intera sperimentazione, con tutti i genotipi al di sopra di 5,3 t/ha. In particolare, *FRI-Tr/Nure* ha raggiunto 6,05 t/ha, rappresentando uno dei migliori risultati complessivi. I valori del peso 1000 semi sono stati inferiori rispetto ai valori misurati nel Nord Italia, ma con una tendenza analoga: *Nure* e *FRI-Tr/Nure* hanno avuto un riempimento della cariosside superiore a *FR2-Nu/Tremois* e *Tremois*. In questo ambiente la spigatura è stata fortemente anticipata per tutti i materiali, con valori compresi tra 5 e 12 giorni. Tutti i genotipi, infatti, spigano nel mese di Aprile: il più precoce è risultato il genotipo *FRI-Tr/Nure* che spiga nella prima settimana di Aprile (5 giorni), seguito dai genotipi *Tremois* e *Nure* che spigano entro la prima decade del mese (rispettivamente dopo 7 e 8 giorni la data di riferimento dell'1/4), mentre il meno precoce al Sud è stata la linea *FR2-Nu/Tremois*, che ha avuto data di spigatura posticipata di 12 giorni rispetto l'1/4.

Nelle due località in Kazakistan le piante hanno mostrato valori diversi, fortemente influenzati dal diverso clima. Nel sito di KRIAPG caratterizzato da inverni più rigidi sono state registrate le rese medie più basse della sperimentazione. Anche in questo caso *FRI-Tr/Nure* è risultato il materiale più produttivo (3,34 t/ha), seguito da *Nure* (3,21 t/ha), mentre *FR2-Nu/Tremois* e *Tremois* hanno

mostrato i valori più bassi. Nonostante la ridotta produttività, i pesi di 1000 semi sono rimasti elevati per *FRI-Tr/Nure* (53,5 g) e *Nure* (50,0 g). In queste condizioni ambientali, la spigatura si è verificata tardivamente rispetto agli altri luoghi presi in esame, con valori compresi tra 51 e 54 giorni. Tutti i genotipi hanno spigato infatti nel mese di Maggio, almeno 51 giorni dopo la data di riferimento. *Nure* ha spigato spigatura 51 giorni dopo il 1° Aprile, seguito da *FRI-Tr/Nure* 52 giorni dopo, mentre *Tremois* e *FR2-Nu/Tremois* 54 giorni dopo. Nel sito di KAES caratterizzato da temperature più miti ma condizioni siccitose durante l'inverno. La variabilità tra genotipi è stata molto marcata; il genotipo *FR2-Nu/Tremois* è quello caratterizzato da resa minore, (2,59 t/ha), seguito dalla cultivar invernale *Nure* (3,19 T/ha), da quella primaverile *Tremois* (4,18 T/ha) e infine, il genotipo più produttivo, *FRI-Tr/Nure*, che ha avuto la resa maggiore (5,6 t/ha). In termini di riempimento della cariosside, *Nure* ha registrato il peso di 1000 semi più basso dell'intera prova (28,6 g), mentre la gli altri genotipi hanno avuto valori maggiori. La spigatura è avvenuta più tardivamente rispetto ai siti italiani con *Nure* e *FRI-Tr/Nure* che hanno spigato dopo 30 e 31 giorni rispetto al primo di aprile e *FR2-Nu/ Tremois* e *Tremois* 42 e 40 giorni rispettivamente.

Infine, in Turchia tutti i genotipi hanno mostrato rese elevate, comprese tra 4,92 e 6,84 t ha⁻¹. Il miglior risultato dell'intera sperimentazione è stato ottenuto da *FRI-Tr/Nure*, con una resa di 6,84 t/ha, associata anche a un elevato peso di 1000 semi (51,4 g). La spigatura in Turchia, è avvenuta in Maggio per tutti i genotipi: il più precoce è stato *Nure* (30 giorni dopo il primo aprile), seguita da *FRI-Tr/Nure* (31 giorni dopo), *Tremois* e *FR2-Nu/Tremois* (38 giorni dopo).

Nel complesso, i risultati indicano che *FRI-Tr/Nure* è stato il genotipo più stabile e performante nella maggior parte degli ambienti, combinando elevata resa, buon peso di 1000 semi e spigatura generalmente non tardiva. Al contrario, *FR2-Nu/Tremois* ha mostrato una maggiore sensibilità ambientale e prestazioni mediamente inferiori, soprattutto nei siti kazaki. Gli ambienti del Sud Italia e della Turchia sono risultati i più favorevoli alla produttività, mentre i siti del Kazakistan, in particolare KRIAPG, hanno rappresentato le condizioni più limitanti.

Tabella 6. Interazione genotipo × ambiente resa (t/ha), Peso 1000 semi (g) e data di spigatura dal primo di aprile nelle linee quasi isogeniche (*FRI-Tr/Nure* e *FR2-Nu/Tremois*) e nelle cultivar parentali (*Nure* e *Tremois*) valutate nei diversi siti della prova multi-ambiente. I valori riportati rappresentano le medie stimate per ciascuna combinazione località × genotipo. La data di spigatura è espressa come numero di giorni trascorsi dal 1° aprile. Lettere diverse all'interno della stessa colonna indicano differenze statisticamente significative tra le combinazioni località × genotipo, mentre la presenza della stessa lettera indica assenza di differenze significative. In basso sono riportati i livelli di significatività dell'interazione genotipo × ambiente per ciascun carattere (P < 0,001).

Località	Genotipo	Resa (t/ha)	Peso 1000 semi (g)	Data di spigatura (1/4)
Nord Italia	<i>FR1-Tr/Nure</i>	3.88 ef	52.67 ab	30 i
	<i>FR2-Nu/Tremois</i>	4.15 e	44.67 de	31 h
	Nure	3.36 fg	50.67 abc	27 j
	Tremois	3.46 fg	38.67 fgh	32 g
Sud Italia	<i>FR1-Tr/Nure</i>	6.05 b	45.67 d	5 m
	<i>FR2-Nu/Tremois</i>	5.39 cd	33.53 i	12 k
	Nure	5.86 bc	41.83 ef	8 l
	Tremois	5.45 bcd	33.13 i	7 l
KRIAPG Kazakistan	<i>FR1-Tr/Nure</i>	3.34 fg	53.50 a	52 b
	<i>FR2-Nu/Tremois</i>	2.17 h	36.21 ghi	54 a
	Nure	3.21 g	50.03 bc	51 c
	Tremois	2.38 h	39.13 fg	54 a
KAES Kazakistan	<i>FR1-Tr/Nure</i>	5.60 bc	42.06 ef	30 i
	<i>FR2-Nu/Tremois</i>	2.59 h	35.70 hi	42 d
	Nure	3.19 g	28.60 j	31 h
	Tremois	4.18 e	44.08 de	40 e
Turchia	<i>FR1-Tr/Nure</i>	6.84 a	51.40 abc	31 h
	<i>FR2-Nu/Tremois</i>	4.98 d	40.25 f	38 f
	Nure	4.92 d	49.05 c	30 i
	Tremois	5.31 cd	42.10 ef	38 f
		<.001	<.001	<.001

5. Discussione

Lo scopo di questo lavoro è stato quello di valutare il comportamento agronomico e l'adattamento delle varietà di orzo Nure (invernale) e Tremois (primaverile), insieme a due linee quasi isogeniche (QTL-NILs), in diversi ambienti di coltivazione. In particolare, sono state analizzate una linea con background genetico Tremois contenente l'allele invernale di *FR-H2* introgresso da Nure e una linea con background genetico Nure contenente l'allele primaverile di *FR-H1/VRN-H1* introgresso da Tremois, così da isolare l'effetto di questi loci in due contesti genetici differenti. Questi due QTL rivestono un ruolo centrale nell'adattamento dell'orzo ai climi temperati, poiché *FR-H1* coincide con *VRN-H1*, uno dei principali determinanti della risposta alla vernalizzazione (Fernández-Calleja et al., 2021), mentre *FR-H2* coincide con un cluster di fattori di trascrizione C-Repeat Binding Factor o *CBF* coinvolti nell'acclimatazione al freddo e nella tolleranza al gelo (Francia et al., 2007).

I risultati ottenuti confermano che la risposta agronomica dei materiali valutati non può essere interpretata considerando separatamente genotipo e ambiente, ma deve essere letta come espressione della loro interazione. In particolare l'interazione è la medesima riscontrata in letteratura; i risultati ottenuti suggeriscono infatti che le date di spigatura e di maturazione del seme sono significativamente correlate alla resa in granella in regioni specifiche e possono avere indici di correlazione opposti in risposta alle condizioni ambientali; inoltre, le accessioni di diversa origine genetica variano nella loro capacità di mostrare risposte plastiche dipendenti dall'ambiente. Infine, la variazione spaziale è risultata più importante della variazione temporale nelle interazioni del genotipo con l'ambiente (Turuspekov et al., 2013). I caratteri considerati, quali resa peso di 1000 semi e data di spigatura, gli effetti di genotipo, ambiente e interazione genotipo × ambiente sono infatti risultati altamente significativi ($P < 0,001$): questo risultato è coerente con quanto riportato in letteratura per l'orzo, dove le prove multi-ambiente sono considerate strumenti particolarmente efficaci per identificare le basi genetiche dell'adattamento e della stabilità produttiva, soprattutto in scenari climatici eterogenei o soggetti a stress multipli (Tondelli et al., 2014). Il genotipo è stato determinante nell'adattamento ambientale delle piante, specialmente laddove le condizioni ambientali si sono dimostrate variabili e particolarmente avverse. La resa e la sua vulnerabilità nei confronti dell'ambiente sono stati i parametri che più hanno marcato queste differenze, in termini adattativi, tra i genotipi oggetto di sperimentazione. E' stato quindi cruciale testare i genotipi in ambienti eterogenei, anche molto differenti tra loro e con caratteristiche spesso estreme: è il caso del sito sperimentale del Kazakistan settentrionale (KRIAPG), dove la scarsa disponibilità di acqua è stata accompagnata da condizioni di basse temperature, con numerose fluttuazioni delle stesse;

questa particolare condizione ambientale, definita “inverno rigido”, ha fortemente compromesso la resa di tutti i genotipi testati, probabilmente a causa di una grave riduzione delle attività enzimatiche accompagnate dalla disintegrazione della membrana, che ha portato a una crescita stentata, oltre a compromettere la resa; questa particolare condizione climatica ha determinato stress abiotico da basse temperature e carenza di acqua, molto importante in quanto la risposta adattativa alle basse temperature da parte della coltura è correlata con quella di risposta allo stress idrico (Caccialupi et al., 2023).

In generale, la cultivar invernale Nure, insieme alla NIL che presenta l’allele primaverile *Vrn-H1-7* nel suo patrimonio genetico invernale (*FRI-Tr/Nure*), sono quelle che meglio hanno performato in termini di resa media nei vari ambienti oggetto di sperimentazione. La cultivar primaverile Tremois e la NIL denominata *FR2-Nu/Tremois*, hanno entrambe conseguito rese accettabili o basse in tutti i siti sperimentali; tuttavia, la resa della NIL è stata leggermente inferiore alla cultivar primaverile, nonché mediamente inferiore rispetto agli altri genotipi studiati. La linea *FRI-Tr/Nure* è risultata il materiale più performante dell’intera sperimentazione, con la resa media più elevata (5,14 t/ha), il maggiore peso di 1000 semi (49,06 g) oltre ad una spigatura relativamente precoce (30 giorni dal 1° aprile). Al contrario, *FR2-Nu/Tremois* ha mostrato il comportamento meno favorevole, con la resa media più bassa (3,85 t/ha), il minor peso di 1000 semi (38,07 g) e la spigatura più tardiva (35 giorni). I parentali Nure e Tremois hanno mostrato rese medie simili (4,11 e 4,15 t/ha, rispettivamente), ma Nure si è distinta per semi più pesanti (44,04 g contro 39,42 g) e per una spigatura più precoce (29 contro 34 giorni). Nel complesso, questi dati indicano che il background genetico invernale di Nure conferisce una maggiore robustezza agronomica, mentre quello primaverile di Tremois risulta più vulnerabile, in particolare quando le condizioni ambientali diventano particolarmente restrittive. Nure ha mostrato un comportamento coerente con quello atteso per una cultivar ad habitus invernale, dotata quindi di buona stabilità produttiva e di una fenologia generalmente più precoce rispetto a Tremois. In tutti gli ambienti considerati, la cultivar invernale ha mantenuto rese pari o superiori a 3 t/ha, raggiungendo valori elevati in Sud Italia e Turchia, conservando inoltre una buona tenuta anche nei siti con le condizioni di crescita più difficili, come KRIAPG. Questo andamento è compatibile con il ruolo noto di *VRN-H1* nella regolazione della vernalizzazione e della transizione riproduttiva, nonché con l’importanza dei geni nell’adattamento dell’orzo ai diversi contesti pedoclimatici (Fernández-Calleja et al., 2021). Al contrario, Tremois ha espresso un comportamento più tipico di un materiale primaverile: le performance di questo genotipo infatti sono state accettabili o buone negli ambienti caldi, ma non altrettanto soddisfacenti nei siti di sperimentazione caratterizzati da una minore stabilità climatica

e/o da basse temperature. Specialmente nei due siti sperimentali Kazaki, questa varietà ha conseguito rese poco soddisfacenti, dati in contrapposizione con la tendenza a coltivare varietà di orzo primaverili in quasi tutte le principali regioni di questo paese, poiché esso è caratterizzato da inverni lunghi e freddi accompagnate da estati spesso aride (Genievskaia et al., 2018). In questo senso, i dati ottenuti da questa sperimentazione confermano che la precocità intrinseca del germoplasma primaverile non coincide necessariamente con una migliore adattabilità generale, ma può risultare vantaggiosa solo in specifici contesti, soprattutto quando essa consente di evitare stress terminali (Shavrukov et al., 2017). La rigidificazione della membrana può essere la prima reazione alla percezione delle basse temperature nelle piante e la ridotta fluidità della stessa è associata a una maggiore inducibilità alle basse temperature, questo a causa dell'azione di numerosi geni (Miquel et al., 1993). Dalla letteratura, emerge che quattro geni espressi in modo differenziato che codificano omologhi di FAD in *Arabidopsis*, mostrano valori di FPKM più elevati in Nure rispetto alla cultivar sensibile Tremois, suggerendo che un contenuto più elevato di acidi grassi insaturi dopo lo shock da congelamento può contribuire alla maggiore tolleranza al congelamento nella cultivar invernale (Wang et al., 2016). Ciò è coerente con studi precedenti secondo i quali le piante accumulano preferenzialmente acidi grassi polinsaturi a basse temperature, e che il loro aumento genetico potrebbe migliorare la tolleranza al freddo. Anche in altre coltivazioni, come le cultivar di riso resistenti al gelo, è stato registrato un contenuto maggiore di acidi grassi insaturi rispetto a quelle sensibili (Kodama et al., 1994). Inoltre, considerando l'importanza del cromosoma 5H dell'orzo, come riportato in precedenza, per la via di segnalazione *CBF* responsiva al freddo, la differenza di espressione degli *HvCBF* tra Nure e Tremois potrebbe essere in parte correlata alla variazione del numero di copie del gene e quindi alla diversa risposta alle condizioni climatiche. Ad esempio, sono state trovate più copie di *HvCBF4* in Nure rispetto a una singola copia in Tremois (Wang et al., 2016).

L'aspetto più interessante emerso dalla prova riguarda il diverso effetto delle due introgressioni considerate. In particolare, la NIL *FRI-Tr/Nure*, è quella che ha determinato il vantaggio agronomico più netto: oltre ad avere le migliori medie complessive, questa linea è risultata la più produttiva nella maggior parte degli ambienti considerati: 6,05 t/ha in Sud Italia, 5,60 t/ha in KAES, 3,34 t/ha in KRIAPG e soprattutto 6,84 t/ha in Turchia, che rappresenta il valore più elevato dell'intera sperimentazione. A ciò si associa un peso di 1000 semi sempre elevato, ad esempio 52,7 g in Nord Italia, 53,5 g in KRIAPG e 51,4 g in Turchia, insieme a una spigatura mai eccessivamente tardiva e, nei contesti mediterranei, chiaramente anticipata. In Sud Italia, ad esempio, *FRI-Tr/Nure* è stato il genotipo più precoce, con spigatura dopo soli 5 giorni dal 1° aprile. Questo

comportamento suggerisce che, nel background genetico di Nure, la sostituzione del locus *FR-H1/VRN-H1* con l'allele primaverile di Tremois abbia ridotto il vincolo di vernalizzazione senza compromettere in modo sostanziale la capacità adattativa complessiva del materiale. Dal punto di vista biologico, il risultato è plausibile: *VRN-H1* è uno dei principali regolatori della fenologia in orzo e la sua variabilità allelica ha effetti marcati non solo sulla data di spigatura, ma anche sulla resa e sulla sua interazione con l'ambiente. E' già stato descritto un importante effetto QTL \times ambiente a livello di *VRN-H1* per quanto concerne la resa nella popolazione Nure \times Tremois, con contributi diversi dell'allele invernale o primaverile a seconda delle condizioni di semina e dell'ambiente considerato (Tondelli et al., 2014; Fernández-Calleja et al., 2021). I risultati ottenuti si inseriscono bene in questo quadro ed evidenziano che, in un background invernale robusto, l'introggressione dell'allele primaverile può tradursi in una combinazione favorevole di precocità, buon riempimento della granella e stabilità produttiva. Il vantaggio di *FRI-Tr/Nure* è apparso particolarmente evidente negli ambienti più caldi e siccitosi, come Sud Italia e Turchia. In tali condizioni, l'anticipo della spigatura può essere interpretato come un possibile meccanismo di drought escape, cioè di evitamento degli stress terminali attraverso l'accorciamento del ciclo e l'anticipazione delle fasi riproduttive più sensibili. Questa interpretazione è coerente sia con la fisiologia generale delle colture cerealicole, sia con la letteratura sull'orzo, nella quale l'ottimizzazione della fenologia è considerata un elemento chiave dell'adattamento della coltura ai climi mediterranei e agli scenari soggetti a caldo e siccità di fine ciclo (Shavrukov et al., 2017; Fernández-Calleja et al., 2021). È rilevante, tuttavia, che il vantaggio di *FRI-Tr/Nure* non si sia limitato ai soli ambienti caldi: anche a KRIAPG, che ha rappresentato l'ambiente più severo dell'intera prova, la linea ha registrato la resa più alta, nonché uno dei pesi di 1000 semi più elevati. Questo suggerisce che il background invernale di Nure continui a fornire una base adattativa importante, capace di compensare, almeno in parte, la perdita del requisito di vernalizzazione.

Diverso è invece il quadro emerso per *FR2-Nu/Tremois*, dove l'introggressione non ha determinato un miglioramento netto e stabile delle prestazioni agronomiche. La NIL ha infatti mostrato la resa media più bassa e il minor peso di 1000 semi dell'intera prova; inoltre, negli ambienti più ostici, la linea ha espresso le performance peggiori, con resa di 2,59 t/ha in KAES, valori bassi anche in KRIAPG. L'unica eccezione relativa è il Nord Italia, dove *FR2-Nu/Tremois* ha raggiunto 4,15 t/ha, risultando il genotipo più produttivo del sito, ma senza accompagnare questo risultato ad un riempimento della granella paragonabile a quello di Nure o *FRI-Tr/Nure*. Nel complesso, quindi, il comportamento di *FR2-Nu/Tremois* è rimasto molto vicino a quello del parentale primaverile, segnalando che la sola introggressione dell'allele invernale *FR-H2* in un background primaverile non

è sufficiente a trasferire pienamente il vantaggio adattativo tipico dei materiali invernali. Questo risultato è molto interessante anche alla luce della letteratura: *FR-H2* è infatti un major QTL per la tolleranza al gelo e coincide con un cluster di geni *HvCBF*, la cui struttura e funzione sono state descritte in dettaglio nel materiale Nure × Tremois (Francia et al., 2007; Pasquariello et al., 2014). Inoltre, è noto che i livelli di espressione dei geni *CBF* presenti a *FR-H2* dipendono non solo dall'allele stesso, ma anche dagli alleli presenti a *FR-H1/VRN-H1*: Stockinger et al. (2007) hanno mostrato che il locus *VRN-H1/FR-H1* influenza l'accumulo dei trascritti *Cbf* nel cluster *FR-H2* e che i genotipi portatori dell'allele invernale *vrn-H1* mostrano livelli più elevati di espressione dei *CBF* rispetto ai genotipi con allele primaverile *Vrn-H1*. In altre parole, i risultati ottenuti dalla prova multiambientale rafforzano l'ipotesi che l'effetto di *FR-H2* sia fortemente contestuale e dipendente dalla rete genetica in cui è inserito. Nel background primaverile di Tremois, che mantiene un assetto fenologico diverso da quello di Nure, il contributo del cluster *CBF* potrebbe non essere sufficiente a spostare in modo sostanziale il fenotipo verso una migliore adattabilità complessiva.

La comparazione delle due NIL consente quindi di trarre una considerazione generale di notevole importanza: nel materiale studiato e negli ambienti considerati, la modulazione della fenologia e del requisito di vernalizzazione ha avuto un impatto agronomico più evidente rispetto alla sola introgressione di un locus associato alla risposta al freddo. Questo non significa che *FR-H1* sia più rilevante di *FR-H2* in termini assoluti, ma che l'effetto di un allele favorevole è dipendente dal contesto genetico e ambientale nel quale viene espresso. Tale interpretazione è coerente con studi su NIL di orzo che hanno mostrato come la sostituzione di alleli primaverili a *VRN-H1* produca effetti molto forti sulla tolleranza al freddo e sulla transizione vegetativo-riproduttiva, mentre la sostituzione a *VRN-H2* può avere effetti più limitati quando il resto del background genetico non è coerente con un assetto invernale (Cuesta-Marcos et al., 2015). In questo senso, i dati mostrano chiaramente che il background genetico non costituisce un semplice contenitore neutro, ma partecipa attivamente alla definizione del fenotipo finale, tanto che la cultivar primaverile Tremois e la NIL portante la sua base genetica, si adattano meno alle basse temperature.

Anche l'effetto dell'ambiente è stato notevolmente marcato. Le condizioni più favorevoli alla produttività sono state osservate in Sud Italia e in Turchia, mentre il sito più limitante è risultato KRIAPG, in Kazakistan, con una resa media di soli 2,78 t/ha. La spigatura è stata estremamente precoce in Sud Italia (8 giorni dal 1° aprile) e molto tardiva a KRIAPG (53 giorni), evidenziando come il ciclo fenologico sia stato fortemente modellato dalle condizioni climatiche locali. Il clima ha inciso negativamente sullo sviluppo anche attraverso eventi atmosferici estremi, oggi sempre più

frequenti e peculiari del clima in cambiamento: è il caso del sito sperimentale Nord Italia, dove il sopraggiungere di un violento temporale accompagnato da grandine e vento nel mese di Maggio, ha causato danni meccanici alle piante (allettamento), e danni alle spighe, colpendo le cariossidi in fase di riempimento; questo evento estremo ha compromesso notevolmente la prova nel sito in oggetto, soprattutto in termini di resa in granella e peso delle cariossidi delle piante testate in questo ambiente che era, potenzialmente, il più produttivo della sperimentazione. Questo quadro è particolarmente rilevante in relazione ai concetti di stabilità, vulnerabilità e capacità adattativa dei sistemi agrari, oggi centrali nel contesto del cambiamento climatico (Urruty et al., 2016).

Anche il fotoperiodo, che varia con l'altitudine e la latitudine, può avere influito sullo sviluppo dei genotipi: i fotoperiodi a giorno lungo infatti aumentano l'accumulo del trascritto di *VRN-1* (co-segregante con *FR-1*) mentre i fotoperiodi a giorno corto lo ritardano. In condizioni di giornate lunghe, le piante ad habitus di crescita primaverile mostrano un accumulo dei trascritti di *VRN-1* e un repentino inizio della transizione alla fase riproduttiva (Dubcovsky et al., 2006).

Nel loro insieme quindi, questi risultati assumono un significato ancora più rilevante se collocati nello scenario attuale di crescente instabilità climatica. In sistemi agricoli esposti a perturbazioni ambientali frequenti, la capacità di mantenere una resa soddisfacente in condizioni contrastanti diventa un criterio di selezione fondamentale. In questo quadro, *FRI-Tr/Nure* emerge come il genotipo più promettente, poiché combina elevata produttività, buon riempimento della granella e plasticità fenologica. Al contrario, *FR2-Nu/Tremois* evidenzia che il miglioramento della tolleranza o dell'adattamento non può essere perseguito efficacemente mediante il solo trasferimento di un singolo segmento genomico, ma che occorre considerare il resto dell'architettura genetica del materiale ricevente. L'insieme delle evidenze suggerisce dunque che, per il breeding dell'orzo in ambienti mediterranei o comunque soggetti a stress terminali, l'ottimizzazione della fenologia in un background robusto possa rappresentare una strategia più efficace del solo trasferimento di loci di tolleranza al freddo. Questa conclusione è in linea con il rilievo attribuito in letteratura ai concetti di stabilità, adattabilità e rischio produttivo nell'orzo coltivato in ambienti variabili (Urruty et al., 2016; Macholdt et al., 2020).

Saranno necessari ulteriori studi che verificheranno l'incidenza di altri parametri ambientali che possano influire sulla resa delle colture; ad esempio, il grado di compattazione del suolo, che può avere correlazioni con la temperatura: un aumento del grado di compattazione infatti, determina minori fluttuazioni di temperatura giornaliera, con maggior resistenza alla penetrazione delle radici,

che si approfondiscono meno rimanendo superficiali e risentendo così maggiormente della scarsità idrica, qualora essa sia un fattore limitante (Lipiec et al., 1991) . Anche le pratiche e le cure colturali possono contribuire significativamente ad ottenere rese maggiori e più stabili: è stato dimostrato che i sistemi di coltivazione con maggiore diversità colturale, che sfruttano ad esempio l'apporto di paglia, sovescio e fertilizzanti azotati minerali, determinano una minore vulnerabilità produttiva, specie nell'orzo invernale (Macholdt et al., 2020). Studi più approfonditi saranno necessari per verificare se l'introggressione degli alleli nei due patrimoni genetici, oltre a modificarne i parametri quantitativi, incida anche su quelli qualitativi, come il contenuto di amido e di proteine. Questo aspetto è determinante in ottica prettamente economica, in quanto la resistenza agli stress abiotici e biotici è un attributo essenziale per il successo varietale, che, unitamente alle ottime proprietà di utilizzo finale, consentono di ottenere un prezzo maggiorato una volta sul mercato. La resa è quindi il fattore determinante e maggiormente preso in considerazione per valutare il successo di una coltura, il quale è sempre prima frutto di un adattamento da parte della stessa, nonché dipendente da molti parametri climatici e ambientali che interagiscono tra loro (e che stanno sempre più variando a causa del cambiamento climatico). Questa considerazione si inserisce nell'ambito della prova in oggetto determinando che la valutazione finale delle NIL testate deve tener conto di altri parametri, valutabili con studi ulteriori, come scritto in precedenza. E' altresì vero che i genotipi oggetto di studio, in particolar modo le NIL, hanno performato in modo ottimale negli ambienti caldi e siccitosi, e questo può essere determinante in ottica futura, proprio a fronte del cambiamento climatico.

In conclusione, la prova multi-ambiente ha dimostrato che l'adattamento dell'orzo a condizioni pedoclimatiche contrastanti è il risultato dell'interazione tra geni della vernalizzazione, geni coinvolti nell'acclimatazione al freddo e background genetico complessivo. Tra i materiali saggiati, *FR1-Tr/Nure* è risultata la linea più interessante per combinazione di resa, precocità e stabilità, mentre la NIL *FR2-Nu/Tremois* ha confermato che l'introggressione del solo locus *FR-H2/CBF* nel background primaverile di Tremois non è sufficiente a ricreare il vantaggio adattativo tipico dei materiali invernali. I dati ottenuti supportano l'ipotesi che, almeno nel germoplasma qui studiato, la regolazione della fenologia e del requisito di vernalizzazione abbia avuto un impatto più diretto sull'adattamento agronomico rispetto alla sola introggressione di un fattore di tolleranza al freddo. Ulteriori approfondimenti fisiologici e molecolari potranno chiarire meglio in che misura tali loci contribuiscano anche alla qualità della granella e alla stabilità produttiva in scenari climatici futuri.

6. Bibliografia

Abebe TD, Abate A, Leon J (2023) Genetic diversity within landraces of barley (*Hordeum vulgare* L.) and its implications on germplasm collection and utilization. *Genet Resour Crop Evol* 70:1–14.

Aguet, F., Alasoo, K., Li, Y. I., Battle, A., Im, H. K., Montgomery, S. B., & Lappalainen, T. (2023). Molecular quantitative trait loci. *Nature Reviews Methods Primers*, 3(1), 4.

Ahres, M., Gierczik, K., Boldizsár, Á., Vítámvás, P., & Galiba, G. (2020). Temperature and light-quality-dependent regulation of freezing tolerance in barley. *Plants*, 9(1), 83.

Allel, D., Ben-Amar, A., Badri, M., & Abdelly, C. (2016). Salt tolerance in barley originating from harsh environment of North Africa. *Australian Journal of Crop Science*, 10(4), 438-451.

Alpi, A., & Buiatti, M. (1972). Alcuni dati sul controllo genetico dei caratteri qualitativi e quantitativi del garofano (*Dianthus caryophyllus*). *Rivista di ortoflorofrutticoltura italiana*, 119-130.

Amasino R.(2004). Vernalization, Competence, and the Epigenetic Memory of Winter. *Plant Cell*, 16, 2553–2559.

Amirante P. (2014), “Lezioni di macchine ed impianti per la conservazione estrazione e trasformazione dei prodotti alimentari”, www.researchgate.net paolo amirante.

Arduini, I., Mariotti, M., & Ercoli, L. (2007). Influenza della varietà e dell’epoca di semina sulla traslocazione della sostanza secca in *Hordeum vulgare* var. *distichum* L. In *Il contributo della ricerca agronomica all’innovazione dei sistemi colturali mediterranei* (pp. 65-66). Dip. Agronomia Catania.

Baldoni R. & Giardini L. (1989). *Coltivazioni erbacee* (seconda ed.). Bologna, Italy: Pàtron Editore.

Baldoni, R., & Giardini, L. (2000). *Coltivazioni erbacee: Cereali e proteaginose* ([3a ed.]). Pàtron Editore.

- Bayer, M. M., Rapazote-Flores, P., Ganal, M., Hedley, P. E., Macaulay, M., Plieske, J., ... & Waugh, R. (2017). Development and evaluation of a barley 50k iSelect SNP array. *Frontiers in plant science*, 8, 1792.
- Bekele, B., Alemayehu, F., & Lakew, B. (2005). Food barley in Ethiopia.
- Beier, S., Himmelbach, A., Colmsee, C., Zhang, X. Q., Barrero, R. A., Zhang, Q., et al. (2017). Construction of a map-based reference genome sequence for barley, *Hordeum vulgare* L. *Sci. Data* 4, 170044.
- Blandino, M., Righetti, L., Meloni, R., Gozzi, M., Donna, M., Dall'Asta, C., & Sardella, C. (2022). Confronto produttivo, reologico, nutrizionale e sanitario di cereali minori a confronto con il frumento tenero. In *Atti del XII Convegno AISTEC: "Cereali e Scienza: resilienza, sostenibilità e innovazione"* (pp. 160-164). AISTEC.
- Bonari, E., & Macchia, M. (1980). Cultivar autunnali e primaverili di orzo ed epoca di semina. *Sementi Elette*, 26.
- Bonciarelli F. & U. (2001) *Coltivazioni erbacee* (seconda ed.). Bologna, Italy: Edagricole
- Borghi, B., Canzi, L., Rossi, L., & Facchini, U. (1984). Raccolta anticipata di frumento tenero e di orzo ed essiccazione con energia solare. *Informatore Agrario*, 40.
- Brockman DA, Chen X, Gallaher DD. 2013. Consumption of a high β -glucan barley flour improves glucose control and fatty liver and increases muscle acylcarnitines in the Zucker diabetic fatty rat. *European Journal of Clinical Nutrition* 52:1743-1753.
- Bushnell W.R., Hazen B.E., Pritsch C. (2003). Histology and physiology of Fusarium head blight Fusarium head blight of wheat and barley (pp. 44-83).
- Caccialupi, G., Milc, J., Caradonia, F., Nasar, M. F., & Francia, E. (2023). The Triticeae *CBF* gene cluster—To frost resistance and beyond. *Cells*, 12(22), 2606.

Cammarano, D., Ceccarelli, S., Grando, S., Romagosa, I., Benbelkacem, A., Akar, T., ... & Ronga, D. (2019). The impact of climate change on barley yield in the Mediterranean basin. *European Journal of Agronomy*, 106, 1-11. Ceccarelli, S., Lorenzetti, F., Rosellini, D. & Veronesi, F., 1980. *Genetica Agraria*. 2011 a cura di Bologna: Pàtron.

Cha, J.-K.; O'Connor, K.; Alahmad, S.; Lee, J.-H.; Dinglasan, E.; Park, H.; Lee, S.-M.; Hirsz, D.; Kwon, S.-W.; Kwon, Y.; et al. (2022). Speed Vernalization to Accelerate Generation Advance in Winter Cereal Crops. *Mol. Plant*, 15, 1300–1309.

Close, T. J., Bhat, P. R., Lonardi, S., Wu, Y., Rostoks, N., Ramsay, L., et al. (2009). Development and implementation of high-throughput SNP genotyping in barley. *BMC Genomics* 10:582.

Cuevas, J.C.; López-Cobollo, R.; Alcázar, R.; Zarza, X.; Koncz, C.; Altabella, T.; Salinas, J.; Tiburcio, A.F.; Ferrando, A. (2008) . Putrescine is involved in Arabidopsis freezing tolerance and cold acclimation by regulating abscisic acid levels in response to low temperature. *Plant Physiol.*, 148, 1094–1105.

Dhillon, T.; Pearce, S.P.; Stockinger, E.J.; Distelfeld, A.; Li, C.; Knox, A.K.; Vashegyi, I.; Vágújfalvi, A.; Galiba, G.; Dubcovsky, J. (2010). Regulation of Freezing Tolerance and Flowering in Temperate Cereals: The VRN-1 Connection. *Plant Physiol*, 153, 1846–1858.

Dido AA, Krishna MSR, Assefa E, Degefu DT, Singh BJK, Tesfaye K (2022). Genetic diversity, population structure and relationship of Ethiopian barley (*Hordeum vulgare L.*) landraces as revealed by SSR markers. *J Genet* 101(1):9

Distelfeld, A., Li, C., Dubcovsky, J., (2009). Regulation of flowering in temperate cereals. *Current Opinion in Plant Biology, Genome Studies and Molecular Genetics* 12, 178–184.

Dockter, C., & Hansson, M. (2015). Improving barley culm robustness for secured crop yield in a changing climate. *Journal of experimental botany*, 66(12), 3499-3509.

Fang, Y., Zhang, X., & Xue, D. (2019). Genetic analysis and molecular breeding applications of malting quality QTLs in barley. *Frontiers in Genetics*, 10, 352.

- Fatemi, F., Kianersi, F., Pour-Aboughadareh, A., Poczai, P., & Jadidi, O. (2022). Overview of Identified Genomic Regions Associated with Various Agronomic and Physiological Traits in Barley under Abiotic Stresses. *Applied Sciences*, 12(10), 5189.
- Fernández-Calleja, M.; Casas, A.M.; Igartua, E. (2021). Major Flowering Time Genes of Barley: Allelic Diversity, Effects, and Comparison with Wheat. *Theor. Appl. Genet*, 134, 1867–1897.
- Fetch Jr, T. G., Steffenson, B. J., & Nevo, E. (2003). Diversity and sources of multiple disease resistance in *Hordeum spontaneum*. *Plant Disease*, 87(12), 1439-1448.
- Francia, E.; Rizza, F.; Cattivelli, L.; Stanca, A.M.; Galiba, G.; Tóth, B.; Hayes, P.M.; Skinner, J.S.; Pecchioni, N. (2004). Two Loci on Chromosome 5H Determine Low-Temperature Tolerance in a ‘Nure’ (Winter) × ‘Tremois’ (Spring) Barley Map. *Theor. Appl. Genet*, 108, 670–680.
- Francia, E., Morcia, C., Pasquariello, M., Mazzamurro, V., Milc, J. A., Rizza, F., ... & Pecchioni, N. (2016). Copy number variation at the *HvCBF4–HvCBF2* genomic segment is a major component of frost resistance in barley. *Plant Molecular Biology*, 92(1), 161-175.
- Frisch, M., & Melchinger, A. E. (2005). Selection theory for marker-assisted backcrossing. *Genetics*, 170(2), 909-917.
- Ganal, M. W., Altmann, T., & Röder, M. S. (2009). SNP identification in crop plants. *Current opinion in plant biology*, 12(2), 211-217.
- Genievskaya, Y., Almerekova, S., Sariev, B., Chudinov, V., Tokhetova, L., Sereda, G. & Turuspekov, Y. (2018). Marker-trait associations in two-rowed spring barley accessions from Kazakhstan and the USA. *PLoS one*, 13(10), e0205421.
- Gerbeau, P.; Amodeo, G.; Henzler, T.; Santoni, V.; Ripoche, P.; Maurel, C. (2002). The water permeability of Arabidopsis plasma membrane is regulated by divalent cations and pH. *Plant*, 30, 71–81.
- Giardini L., Baldoni R., *Coltivazioni erbacee: cereali e proteaginose*, Bologna, Ed. Patron, 2002.

Gilmour, S.J.; Sebolt, A.M.; Salazar, M.P.; Everard, J.D.; Thomashow, M.F. (2000). Overexpression of the Arabidopsis CBF3 transcriptional activator mimics multiple biochemical changes associated with cold acclimation. *Plant Physiol*, 124, 1854–1865.

Giraldo, P.; Benavente, E.; Manzano-Agugliaro, F.; Gimenez, E. Tendenze della ricerca mondiale su grano e orzo: un'analisi comparativa bibliometrica. *Agronomy* 2019 , 9 , 352.

Girin, T., David, LC, Chardin, C., Sibout, R., Krapp, A., Ferrario-Méry, S., et al. (2014). *Brachypodium*: un promettente polo di interazione tra specie modello e cereali. *J. Exp. Bot.* 65, 5683–5696.

Grausgruber, H., Bointner, H., Tumpold, R., Ruckebauer, P., & Fischbeck, G. (2002). Genetic improvement of agronomic and qualitative traits of spring barley. *Plant Breeding*, 121(5), 411-416.

Greenup, A. G., Sasani, S., Oliver, S. N., Walford, S. A., Millar, A. A., & Trevaskis, B. (2011). Transcriptome analysis of the vernalization response in barley (*Hordeum vulgare*) seedlings. *PLoS One*, 6(3), e17900.

Hayes, P.M.; Blake, T.; Chen, T.H.H.; Tragoonrung, S.; Chen, F.; Pan, A.; Liu, B (1993). Quantitative Trait Loci on Barley (*Hordeum Vulgare L.*) Chromosome 7 Associated with Components of Winter hardiness. *Genome*, 36, 66–71.

Hedden P . (2003). I geni della Rivoluzione Verde. *Tendenze nella genetica*19,5–9

Högy, P., Poll, C., Marhan, S., Kandeler, E., & Fangmeier, A. (2013). Impacts of temperature increase and change in precipitation pattern on crop yield and yield quality of barley. *Food chemistry*, 136(3-4), 1470-1477.

Huntingford, C., Hugo Lambert, F., Gash, J. H., Taylor, C. M., & Challinor, A. J. (2005). Aspects of climate change prediction relevant to crop productivity. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360(1463), 1999-2009.

J.M., R. & D., H., (1998). *Marker-assisted selection: new tools and strategies*, s.l.: Elsevier Science.

Kalberer, S. R., Wisniewski, M., & Arora, R. (2006). Deacclimation and reacclimation of cold-hardy plants: current understanding and emerging concepts. *Plant Science*, 171(1), 3-16.

Karunaratne, S. D., Han, Y., Zhang, X. Q., & Li, C. (2020). Advances in understanding the molecular mechanisms and potential genetic improvement for nitrogen use efficiency in barley. *Agronomy*, 10(5), 662.

Kim, D. H., Doyle, M. R., Sung, S., & Amasino, R. M. (2009). Vernalization: winter and the timing of flowering in plants. *Annual Review of Cell and Developmental*, 25, 277-299.

Kobza, J., & Edwards, G. E. (1987). Influences of leaf temperature on photosynthetic carbon metabolism in wheat. *Plant physiology*, 83(1), 69-74.

Kodama, H., Hamada, T., Horiguchi, G., Nishimura, M., e Iba, K. (1994). Miglioramento genetico della tolleranza al freddo mediante l'espressione di un gene per la desaturasi degli acidi grassi ω -3 del cloroplasto nel tabacco transgenico. *Plant Physiol* . 105, 601–605.

Komatsuda, T., Maxim, P., Senthil, N., & Mano, Y. (2004). High-density AFLP map of nonbrittle rachis 1 (*btr1*) and 2 (*btr2*) genes in barley (*Hordeum vulgare L.*). *Theoretical and Applied Genetics*, 109(5), 986-995.

Köster, M., Appiah, M., Hoffmann, M. P., Abdulai, I., Schulman, A. H., Maurer, A., ... & Rötter, R. P. (2026). Projected shifts in climate and spring barley yields under future (*CMIP6*) scenarios across eight environmental zones in Europe. *Agricultural and Forest Meteorology*, 378, 111024.

Kosová, K., Nešporová, T., Vítámvás, P., Vítámvás, J., Klíma, M., Ovesná, J., & Prášil, I. T. (2025). How to survive mild winters: Cold acclimation, deacclimation, and reacclimation in winter wheat and barley. *Plant Physiology and Biochemistry*, 109541.

Kumar, S., Banks, TW e Cloutier, S. (2012). Scoperta di SNP tramite sequenziamento di nuova generazione e sue applicazioni. *Int. J. Plant Genomics* 2012:831460.

Kurepin, L. V., Dahal, K. P., Savitch, L. V., Singh, J., Bode, R., Ivanov, A. G., ... & Hüner, N. P. (2013). Role of *CBFs* as integrators of chloroplast redox, phytochrome and plant hormone signaling during cold acclimation. *International journal of molecular sciences*, 14(6), 12729-12763.

Lipiec, J., Tarkiewicz, S., & Kossowski, J. (1991). Soil physical properties and growth of spring barley as related to the degree of compactness of two soils. *Soil and Tillage Research*, 19(2-3), 307-317.

Lorenzetti, F. et al., (2018). *Miglioramento genetico delle piante*. A cura di Milano: Edagricole.

Lü, B., Wu, J., Fu, D., (2015). Constructing the barley model for genetic transformation in Triticeae. *Journal of Integrative Agriculture* 14, 453–468.

Macholdt, J., Styczen, M. E., Macdonald, A., Piepho, H. P., & Honermeier, B. (2020). Long-term analysis from a cropping system perspective: yield stability, environmental adaptability, and production risk of winter barley. *European Journal of Agronomy*, 117, 126056.

Maho, A., Mero, G., & Maho, F. (2022). Changes in the agro-technique cultivation of barley as an adaptation to climate change. *Ecological Questions*, 33(4), 41-50.

Mallett, J. (2016). *Gli ingredienti della birra: il malto: La guida pratica dal campo al birrificio*. Edizioni LSWR.

Mareri, L. (2018). Basi genetiche della tolleranza al freddo in orzo (*Hordeum vulgare L.*).

Mason, A. S. (2014). SSR genotyping. In *Plant genotyping: methods and protocols* (pp. 77-89). New York, NY: Springer New York.

Meng, G., Rasmussen, S. K., Christensen, C. S., Fan, W., & Torp, A. M. (2023). Molecular breeding of barley for quality traits and resilience to climate change. *Frontiers in Genetics*, 13, 1039996.

Miralles, D. J., Abeledo, L. G., Prado, S. A., Chenu, K., Serrago, R. A., & Savin, R. (2021). Barley. In *Crop physiology case histories for major crops* (pp. 164-195). Academic Press.

Mittal, S. (2022). Wheat and barley production trends and research priorities: a global perspective. In *New horizons in wheat and barley research: global trends, breeding and quality enhancement* (pp. 3-18). Singapore: Springer Singapore.

Muehlbauer, G.J.; Feuillet, C. (2009) *Genetics and Genomics of the Triticeae*; Springer US: New York, NY, USA; ISBN 978-0-387-77488-6.

Munns, R., James, R. e Lauchli, A. (2006). Approcci per aumentare la tolleranza al sale del grano e di altri cereali. *J. Exp. Bot.* 57, 1025–1043.

Muñoz-Amatriaín, M., Cuesta-Marcos, A., Hayes, P. M., & Muehlbauer, G. J. (2014). Barley genetic variation: implications for crop improvement. *Briefings in functional genomics*, 13(4), 341-350.

Muñoz-Amatriaín, M.; Hernandez, J.; Herb, D.; Baenziger, P.S.; Bochard, A.M.; Capettini, F.; Casas, A.; Cuesta-Marcos, A.; Einfeldt, C.; Fisk, S.; et al. (2020). Perspectives on Low Temperature Tolerance and Vernalization Sensitivity in Barley: Prospects for Facultative Growth Habit. *Front. Plant Sci.*, 11, 585927.

Novillo, F., Medina, J., & Salinas, J. (2007). Arabidopsis CBF1 and CBF3 have a different function than CBF2 in cold acclimation and define different gene classes in the CBF regulon. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(52), 21002-21007.

Ochagavía, H., Kiss, T., Karsai, I., Casas, A. M., & Igartua, E. (2022). Responses of barley to high ambient temperature are modulated by vernalization. *Frontiers in Plant Science*, 12, 776982.

Panfili G., Fratianni A., Di Cristo T., Marconi E. (2008). Tocol and β -glucan levels in barley varieties and in pearling by-products, *Food Chemistry*, 107, pp 84-01

Pilla, F. (2015). Ricerca e impiego di associazioni tra loci SNP e caratteri quantitativi e qualitativi della produzione di latte negli ovini e nei caprini. *Georgofili: quaderni: V*, 2015, 85-94.

- Rapacz, M., Ergon, Å., Höglind, M., Jørgensen, M., Jurczyk, B., Østrem, L., ... & Tronsmo, A. M. (2014). Overwintering of herbaceous plants in a changing climate. Still more questions than answers. *Plant Science*, 225, 34-44.
- Rasheed, A., Feng, Q., Adil, M. F., Ahsan, M., Han, Z., Zeng, F., & Shamsi, I. H. (2022). Comparative study on the physio-biochemical responses of spring and winter barley genotypes under vernalized and greenhouse conditions. *Agronomy*, 12(2), 339.
- Rivington Mike, Jabloun Mohamed, Matthews Keith, Wardell-Johnson Doug, Miller Dave (2022). Barley Responses to Climate Change – Report. The James Hutton Institute .
- Saffirio, L. (1977). Razioni e salari in natura nell'antico Egitto: Considerazioni dietetiche e socio economiche. *Aegyptus*, 57(1/4), 14-78.
- Samarah, N. H. (2005). Effects of drought stress on growth and yield of barley. *Agronomy for sustainable development*, 25(1), 145-149.
- Sato, K. (2020). History and future perspectives of barley genomics. *DNA research*, 27(4), dsaa023.
- Seydel, C.; Kitashova, A.; Fürtauer, L.; Nägele, T (2022). Temperature-induced dynamics of plant carbohydrate metabolism. *Physiol. Plant.*, 174, e13602.
- Shavrukov, Y., Kurishbayev, A., Jatayev, S., Shvidchenko, V., Zotova, L., Koekemoer, F. & Langridge, P. (2017). Early flowering as a drought escape mechanism in plants: how can it aid wheat production? *Frontiers in plant science*, 8, 1950.
- Shcherban, A.B.; Strygina, K.V.; Salina, E.A. (2015). *VRN-1* Gene- Associated Prerequisites of Spring Growth Habit in Wild Tetraploid Wheat *T. Dicoccoides* and the Diploid A Genome Species. *BMC Plant Biol*, 15, 94.
- Shi, Y., Ding, Y., & Yang, S. (2015). Cold signal transduction and its interplay with phytohormones during cold acclimation. *Plant and Cell Physiology*, 56(1), 7-15.

- Shewry, P. R., & Kreis, M. (1992). Tissue-specific gene expression in the developing barley seed. *Barley genetics*, 6, 725-735.
- Siebenhandl, S., Grausgruber, H., Pellegrini, N., Del Rio, D., Fogliano, V., Pernice, R., & Berghofer, E. (2007). Phytochemical profile of main antioxidants in different fractions of purple and blue wheat, and black barley. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(21), 8541-8547.
- Sreenivasulu, N., Graner, A., & Wobus, U. (2008). Barley genomics: an overview. *International journal of plant genomics*, 2008(1), 486258.
- Stachurska, J., Sadura-Berg, I., & Rys, M. (2025). When Warm Breaks Cold: Understanding Deacclimations and Reacclimations Cycles as a Key to Winter Crop Resilience. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(22), 11080.
- Stein, N., & Muehlbauer, G. J. (Eds.). (2018). *The barley genome*. Cham, Switzerland: Springer.
- Suzuki, N.; Mittler, R. Reactive oxygen species and temperature stresses: A delicate balance between signaling and destruction. *Physiol. Plant.* 2006, 126, 45–51.
- Stockinger, E.J.; Gilmour, S.J.; Thomashow, M.F.(1997). *Arabidopsis thaliana CBF1* Encodes an AP2 Domain-Containing Transcriptional Activator That Binds to the C-Repeat/DRE, a Cis-Acting DNA Regulatory Element That Stimulates Transcription in Response to LowTemperature and Water Deficit. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1997, 94, 1035–1040.
- Stockinger, E. J. (2021). The breeding of winter-hardy malting barley. *Plants*, 10(7), 1415.
- Sung, S., & Amasino, R. M. (2004). Vernalization and epigenetics: how plants remember winter. *Current opinion in plant biology*, 7(1), 4-10.
- Swamy, B. M., Vikram, P., Dixit, S., Ahmed, H. U., & Kumar, A. (2011). Meta-analysis of grain yield QTL identified during agricultural drought in grasses showed consensus. *BMC genomics*, 12(1), 319.
- Szűcs, P.; Skinner, J.S.; Karsai, I.; Cuesta-Marcos, A.; Haggard, K.G.; Corey, A.E.; Chen, T.H.H.; Hayes, M.P. (2007). Validation of the *VRN-H2/VRN-H1* Epistatic Model in Barley Reveals That

Intron Length Variation in *VRN-H1* May Account for a Continuum of Vernalization Sensitivity. *Mol. Genet. Genom.*, 277, 249–261.

Thomashow, M. F. (2010). Molecular basis of plant cold acclimation: insights gained from studying the CBF cold response pathway. *Plant physiology*, 154(2), 571-577.

Trevaskis, B.; Hemming, M.N.; Peacock, W.J.; Dennis, E.S. (2006). *HvVRN2* Responds to Daylength, Whereas *HvVRN1* Is Regulated by Vernalization and Developmental Status. *Plant Physiol.* 140, 1397–1405.

Trevaskis, B.; Hemming, M.N.; Dennis, E.S.; Peacock, W.J (2007). The Molecular Basis of Vernalization-Induced Flowering in Cereals. *Trends Plant Sci.*, 12, 352–357.

Trischuk, R. G., Schilling, B. S., Low, N. H., Gray, G. R., & Gusta, L. V. (2014). Cold acclimation, de-acclimation and re-acclimation of spring canola, winter canola and winter wheat: The role of carbohydrates, cold-induced stress proteins and vernalization. *Environmental and Experimental Botany*, 106, 156-163.

Tondelli, A.; Francia, E.; Barabaschi, D.; Pasquariello, M.; Pecchioni, N. (2011). Inside the *CBF* Locus in Poaceae. *Plant Sci.* 180, 39–45.

Tondelli, A., Delbono, S., Badeck, F., Biselli, C., & Rizza, F. (2017). Innovazione e sostenibilità nella coltivazione dell'orzo. *Georgofili: atti dell'Accademia dei Georgofili: Serie VIII, Vol. 12, Tomo II, 2015, 243-251.*

Turuspekov, Y., Sariev, B., Chudinov, V., Sereda, G., Tokhetova, L., Ortaev, A. & Abugalieva, S. (2013). Genotype× environment interaction patterns for grain yield of spring barley in different regions of Kazakhstan. *Russian Journal of Genetics*, 49(2), 196-205.

Urruty, N., Tailliez-Lefebvre, D., & Huyghe, C. (2016). Stability, robustness, vulnerability and resilience of agricultural systems. A review: N. Urruty et al. *Agronomy for sustainable development*, 36(1), 15.

Váňová, M., Palík, S., Hajšlová, J., & Burešová, I. (2006). Grain quality and yield of spring barley in field trials under variable growing conditions. *Plant soil environ*, 52(5), 211-219.

Von Wettstein, D. (2007). From analysis of mutants to genetic engineering. *Annu. Rev. Plant Biol.* 58, 1–19.

Vyse, K.; Pagter, M.; Zuther, E.; Hinch, D.K. (2019). Deacclimation after cold acclimation- A crucial, but widely neglected part of plant winter survival. *J. Exp. Bot.* 70, 4595–4604.

West, A. G., Shore, P., & Sharrocks, A. D. (1997). DNA binding by MADS-box transcription factors: a molecular mechanism for differential DNA bending. *Molecular and cellular biology*, 17(5), 2876-2887.

Wójcik-Jagła, M., Daszkowska-Golec, A., Fiust, A., Kopeć, P. & Rapacz, M (2021). Identificazione delle basi genetiche della risposta alla disacclimatazione nell'orzo invernale. *interno J.Mol. Sci.* 22 , 1057.

Wójcik-Jagła, M., & Rapacz, M. (2023). Freezing tolerance and tolerance to de-acclimation of European accessions of winter and facultative barley. *Scientific Reports*, 13(1), 19931.

Wych, R. D., & Rasmusson, D. C. (1983). Genetic improvement in malting barley cultivars since 1920. *Crop Science*, 23(6), 1037-1040.

Wu, Y., Li, X., Zhang, J., Zhao, H., Tan, S., Xu, W., ... & Pi, E. (2022). ERF subfamily transcription factors and their function in plant responses to abiotic stresses. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1042084.

Yau, S. K., Nimah, M., & Farran, M. (2011). Early sowing and irrigation to increase barley yields and water use efficiency in Mediterranean conditions. *Agricultural water management*, 98(12), 1776-1781.

Yawson, D.O., Adu, M.O. & Armah, F.A. (2020). Impacts of climate change and mitigation policies on malt barley supplies and associated virtual water flows in the UK. *Sci Rep* 10, 376.

Yoshida M., Kawada N., Tohnooka T. (2005). Effect of row type, flowering type and several other spike characters on resistance to Fusarium head blight in barley. *Euphytica*, 141(3), 217-227.

Zhang, X., Shabala, S., Koutoulis, A., Shabala, L., & Zhou, M. (2017). Meta-analysis of major QTL for abiotic stress tolerance in barley and implications for barley breeding. *Planta*, 245(2), 283-295.

Zhou, M. X. (2009). Barley production and consumption. In *Genetics and improvement of barley malt quality* (pp. 1-17). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.