

Linee guida per il mantenimento delle popolazioni evolutive da parte degli agricoltori

approccio teorico-metodologico di coltivazione in ambienti diversificati

Salvatore Ceccarelli e Stefania Grando

Indice

1. Perché le popolazioni evolutive?	3
2. Cosa sono le popolazioni evolutive?.....	4
2.1 Definizioni	4
<i>Miscugli</i>	5
<i>Popolazioni</i>	6
2.2 Riconoscimenti internazionali.....	9
3. L’adattamento delle popolazioni evolutive.....	10
4. Selezione entro le popolazioni evolutive	11
5. Quanto velocemente una popolazione evolutiva si adatta?.....	13
6. Come coltivare le popolazioni evolutive	13
7. Conclusioni	14
Riferimenti bibliografici	16

1. Perché le popolazioni evolutive?

La biodiversità in generale e l'agrobiodiversità in particolare è di fondamentale importanza per l'uomo per diversi motivi: aumenta la resilienza ai cambiamenti climatici aumentando la stabilità dei processi ecosistemici [1], apporta benefici alla salute attraverso la diversità alimentare [2], è importante per la sicurezza alimentare [3] e stabilizza le rese [4].

Nonostante queste evidenze scientifiche, la biodiversità in generale, e quella delle colture in particolare, si riduce continuamente e il miglioramento genetico è considerato essere una delle cause [5]. Ciò a causa della filosofia predominante rispetto a due concetti fondamentali, vale a dire *l'ampio adattamento*, definito come la capacità di una varietà di produrre bene in molte località, e la *stabilità*, definita come la costanza delle rese nel corso del tempo [6 - 8]. Infatti, nonostante la biologia evolutiva abbia dimostrato che le piante adattate localmente si comportano meglio [9] e dimostrano una fitness media superiore del 45% rispetto a quelle introdotte [10], la selezione per l'adattamento specifico è stata un'eccezione piuttosto che la regola nel miglioramento genetico delle piante e solo pochi studi ne hanno misurato l'impatto [11].

Il miglioramento genetico delle piante ha seguito i cambiamenti che si sono verificati nei sistemi alimentari globali i quali si sono concentrati su un numero sempre più ridotto di colture [12], seguendo la preferenza dei mercati per l'uniformità e la standardizzazione [13], diventando così uno dei principali fattori trainanti del cambiamento climatico, del cambiamento dell'uso del suolo e della perdita di biodiversità [14]. In altre parole, sono i requisiti della coltivazione industriale, dell'allevamento animale e dei processi di trasformazione (e in una certa misura della domanda dei consumatori) che determinano gli obiettivi del miglioramento genetico piuttosto che il valore nutritivo, il gusto, la migliore resistenza allo stress o l'adattamento alle condizioni naturali [15]. Non c'è da meravigliarsi quindi se l'agricoltura globale sia diventata più vulnerabile ai cambiamenti climatici [16].

Uno degli effetti dei cambiamenti climatici sull'agricoltura è una diminuita resilienza, come recentemente suggerito per il frumento in Europa [17]. Gli autori di questa ricerca sostengono che per promuovere la resilienza climatica di una coltura è necessario coltivare “un insieme di varietà con risposte diverse a condizioni meteorologiche critiche”. Questo approccio, che utilizza l'agro-biodiversità sotto forma di eterogeneità delle colture per raggiungere la sicurezza alimentare, ha già dimostrato la sua efficacia nel ridurre l'oidio nell'orzo [18] e il brusone nel riso aumentandone così la resa [19].

Per far fronte agli effetti complessi e combinati di sfide come l'aumento della popolazione umana, la sicurezza alimentare, e la salute umana, è necessario riconsiderare il ruolo della diversità nel miglioramento genetico delle piante. Una strategia, che si è dimostrata efficiente nel massimizzare la risposta alla selezione e contemporaneamente nell'aumentare diversità, è stata la selezione decentralizzata, definita come selezione nell'ambiente o negli ambienti target [20, 21]. Dando rilevanza all'adattamento specifico, la selezione decentralizzata differisce dal miglioramento genetico centralizzato perché adatta le colture a ciascun ambiente target attraverso varietà diverse, ciascuna adattata localmente fornendo così una interpretazione positiva dell'interazione genotipo x ambiente (GEI).

L'interazione genotipo x ambiente può essere definita come il fenomeno per cui lo stesso genotipo dà fenotipi diversi a seconda di E, dove E può essere un luogo fisico (L), un dato anno (Y), una combinazione di luoghi e anni (YL), un tipo di gestione agronomica (M) o un ambiente sociale (S) e le loro varie combinazioni, non necessariamente fattoriali [21].

La selezione decentralizzata riconosce l'importanza di mantenere la distinzione tra l'interazione genotipo x località (GL) e l'interazione genotipo x anno (GY), come già raccomandato più di 50 anni fa [22, 23]. Suddividendo la popolazione degli ambienti target in sottogruppi, ciascuno caratterizzato dalla ripetibilità dell'interazione GL, è possibile sfruttare le interazioni genotipo x ambiente. In questo modo, infatti, viene minimizzata la componente della varianza dovuta a GEI, e quindi viene massimizzata sia l'ereditabilità che, di conseguenza, la risposta alla selezione come dimostrato dalla teoria della selezione [24]. Tuttavia, in letteratura, raramente viene fatta una distinzione tra GL e GY [25]. Questo è un peccato perché GY è in gran parte imprevedibile mentre GL può, in una certa misura, essere ripetibile, e quindi prevedibile. Inoltre, la selezione decentralizzata può fare un uso positivo dell'interazione GL selezionando per un adattamento specifico, mentre la soluzione per ridurre GY è rappresentata da varietà capaci di assorbire le fluttuazioni imprevedibili dell'ambiente, le quali stanno aumentando in frequenza e durata come conseguenza del cambiamento climatico [26, 27]. La capacità di assorbire le fluttuazioni ambientali (buffering) può essere ottenuta coltivando popolazioni eterogenee, che combinano sia il buffering individuale che quello tipico delle popolazioni. Mentre il buffering individuale è una proprietà di genotipi specifici, e in particolare degli eterozigoti, il buffering delle popolazioni deriva dalle interazioni tra i diversi genotipi all'interno di una popolazione, al di là del buffering individuale di genotipi specifici; le popolazioni eterogenee hanno quindi il vantaggio di combinare sia il buffering individuale che quello delle popolazioni [22, 23].

Le popolazioni evolutive non sono quindi altro che le popolazioni eterogenee che più di 50 anni fa erano già considerate la soluzione ideale per far fronte alle variazioni meteorologiche a breve termine all'interno della stessa stagione colturale, variazioni che stanno diventando sempre più familiari agli agricoltori e che sono responsabili di circa un terzo della variabilità delle rese con un massimo del 51% nel caso del grano in Europa occidentale [28]. È interessante notare come il termine “eterogeneo” utilizzato allora, sia ricomparso nel nuovo Regolamento Europeo di Agricoltura Biologica, che consentirà la commercializzazione di semi di “Materiali Eterogenea Biologici”.

2. Cosa sono le popolazioni evolutive?

La prima ricerca su miscugli e popolazioni risale a quasi un secolo fa [29]. Nel corso del tempo sono stati utilizzati diversi termini, come bulks, popolazioni evolutive, popolazioni, composite crosses e miscugli. La differenza tra questi termini è stata recentemente chiarita [18] e la principale differenza è tra bulks, popolazioni evolutive, popolazioni, composite crosses da una parte e miscugli dall'altra.

2.1 Definizioni

Miscugli

Un miscuglio si ottiene mescolando una certa quantità (in genere lo stesso numero) di semi di diverse varietà della coltura in questione (figura 1, a sinistra).

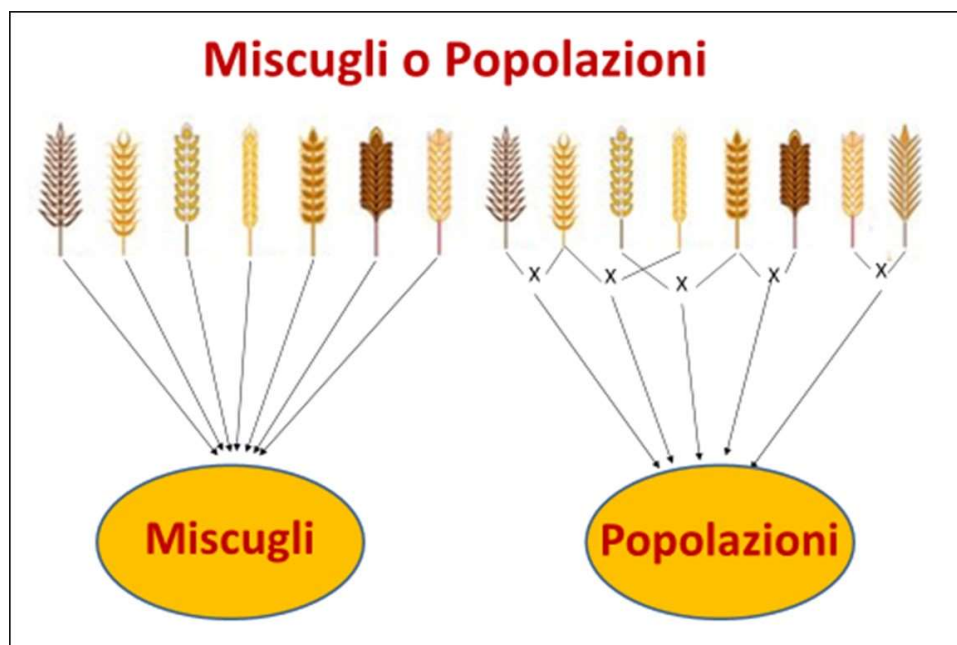


Figura 1. La differenza tra un miscuglio e una popolazione: un miscuglio si ottiene mescolando semi di diverse varietà mentre una popolazione si ottiene mescolando i semi ottenuti incrociando tra di loro diverse varietà. Un miscuglio può essere statico o dinamico [30].

Un miscuglio può essere statico o dinamico: un miscuglio statico si costituisce mescolando un determinato numero di semi di ciascun componente all'inizio di ogni stagione in modo che la composizione del miscuglio non cambi nel tempo. Sono statici perché, sebbene tali miscugli siano geneticamente più complessi delle monocolture e possano quindi essere soggetti a selezione naturale, non catturano gli effetti della selezione naturale che si verificano nel campo favorendo alcuni componenti e sfavorendone altri. Un miscuglio dinamico è invece un miscuglio in cui parte del seme prodotto in un determinato anno viene utilizzato come seme per la coltura successiva, catturando così sia gli effetti della selezione naturale che quelli degli incroci naturali.

Una descrizione ancora più dettagliata della differenza tra miscugli statici e dinamici si può trovare anche in Piano e Ceccarelli (1974) [31] e Ceccarelli (2021) [32].

Un noto esempio di miscuglio statico è il miscuglio, in questo caso di due specie diverse, orzo e frumento, noto come *hanfets* e comune in alcune zone dell'Etiopia e dell'Eritrea. Gli agricoltori di solito mescolano il 60-65% di frumento, che accestisce meno dell'orzo, e il 35-40% di orzo che accestisce molto di più. Uno dei motivi per cui gli agricoltori coltivano il miscuglio è la necessità di stabilizzare i raccolti da un anno all'altro perché l'orzo è più resistente alla siccità del frumento, mentre il frumento è più produttivo dell'orzo negli anni piovosi. Pertanto, non è opportuno far evolvere il miscuglio perché, ad esempio, dopo un anno secco la composizione del miscuglio verrà modificata a favore dell'orzo: se parte del seme raccolto viene seminato l'anno successivo e la stagione risulta essere più piovosa dell'anno

precedente, la quantità di frumento rimasta nel miscuglio sarà inferiore al quella ottimale per sfruttare appieno la stagione favorevole [30].

Una ricerca condotta in Eritrea per tre anni ha confermato che gli *hanfets* producono più della varietà di frumento usata nel miscuglio e sono più stabili del frumento e dell'orzo coltivati in purezza [33].

In queste linee guida useremo i termini popolazioni e miscugli, intendendo per questi ultimi i miscugli dinamici.

Prima di lasciare l'argomento bisogna precisare che l'evoluzione dei miscugli dinamici dipende molto dal sistema riproduttivo della specie. Nelle specie autogame, se il miscuglio iniziale è composto da varietà ciascuna delle quali geneticamente uniforme, il potenziale evolutivo dipenderà esclusivamente dalla percentuale (generalmente modesta) di incrocio naturale e conseguente segregazione e ricombinazione. Nel caso del frumento, se si mescolano vecchie varietà che probabilmente non sono geneticamente tanto uniformi quanto le varietà moderne, la velocità di evoluzione potrebbe essere maggiore. La differenza diventa notevole se si mescolano varietà di specie a impollinazione incrociata come il mais o lo zucchini, e ancora più notevole se il miscuglio viene costituito partendo da ibridi F_1 . Infatti, nel primo caso, il seme che si raccoglierà sul miscuglio alla fine del primo anno di coltivazione è già di fatto seme di una popolazione perché derivante soprattutto da incrocio (il seme è tutto frutto di incrocio in specie caratterizzate da fenomeni di auto-sterilità). Se si mescolano ibridi F_1 , all'effetto dell'impollinazione incrociata nel generare diversità su cui può agire la selezione naturale, si somma quello della segregazione e della ricombinazione con il risultato di ottenere una popolazione che ha un maggiore potenziale evolutivo.

Popolazioni

Una popolazione si ottiene mescolando il seme ottenuto incrociando in tutte le combinazioni possibili un certo numero di varietà (figura 1, a destra). Ogni anno, la popolazione viene propagata utilizzando il seme prodotto l'anno prima. Le popolazioni sono state chiamate *bulks*, *Composite Cross*, *Composites* o popolazioni evolutive. Quest'ultimo termine ci dice che queste popolazioni, a causa degli incroci naturali, della segregazione, della ricombinazione e della selezione naturale, si evolvono, adattandosi sempre meglio all'ambiente (fisico e agronomico) in cui vengono coltivate [30].

La distinzione tra miscugli e popolazioni è importante perché:

- a) I miscugli statici non evolvono;
- b) I miscugli dinamici evolvono, ma non così velocemente come le popolazioni a causa della loro composizione genetica iniziale (miscugli di varietà più o meno uniformi) e, come abbiamo visto sopra, in funzione del sistema riproduttivo della specie;
- c) Le popolazioni evolvono più velocemente dei miscugli dinamici perché partono da materiale altamente eterogeneo (popolazioni segreganti derivate da incroci).

Questi aspetti verranno ulteriormente chiariti nella sezione che segue.

3. La scienza dei miscugli e delle popolazioni evolutive

Una vasta gamma di ricerche genetiche, ecologiche ed evolutive, nell'arco di molti decenni, ha dimostrato che riportare diversità negli agrosistemi per promuovere i servizi ecosistemici è un approccio utile per ridurre l'impatto ambientale, mantenendo e persino aumentando le rese [34].

Questa mole di ricerche è stata passata recentemente in rassegna [30], e ha dimostrato che:

1. *Popolazioni e miscugli sono in grado di adattare la loro fenologia* (epoca di fioritura e di maturazione) alla località in cui vengono coltivati, come dimostrato nel caso del riso [22] e del frumento [35];
2. *La selezione naturale favorisce le piante alte*. Questo era noto fin dagli esperimenti di Hockett et al. (1983) [36] ed è stato confermato recentemente nel frumento tenero [37, 38]. La maggiore altezza delle popolazioni evolutive e dei miscugli ha generato delle critiche al miglioramento genetico evolutivo perché rappresenta una evoluzione nella direzione opposta alla riduzione dell'altezza delle piante, che è stato uno dei principali obiettivi del miglioramento genetico moderno delle piante [39]. Bisogna precisare che questo aumento dell'altezza non è comunque eccessivo e che negli esperimenti condotti in Italia [38] si è tradotto in un'altezza che mentre da una parte era superiore a quella delle varietà moderne, dall'altra era inferiore a quella dei cosiddetti "grani antichi". Inoltre la critica che si fa a questo aspetto delle popolazioni evolutive e dei miscugli sembra ignorare che in agricoltura biologica una coltura relativamente alta può essere vantaggiosa ([37] per la sua capacità di sopprimere lo sviluppo delle infestanti. Questo vantaggio è infatti riportato dai diversi agricoltori italiani che attualmente coltivano queste popolazioni evolutive come colture commerciali e potrebbe essere uno dei motivi per cui molti agricoltori hanno deciso di coltivarle.
3. *Popolazioni e miscugli evolvono diventando sempre più produttivi*. Questo fu dimostrato fin dai primi lavori di Suneson, l'agronomo americano che ha usato per primo il termine miglioramento genetico evolutivo [40], successivamente da Rasmusson [41], da Piano e Ceccarelli nell'orzo [31], e più recentemente in Italia sia nell'orzo [42] che nel frumento tenero [38]. È interessante notare come tutti questi lavori siano stati condotti su specie autogame come frumento e orzo, le quali, a causa della prevalente autofecondazione, hanno una limitata capacità di segregazione e ricombinazione e quindi di evoluzione rispetto alle specie allogame. Un esperimento classico condotto nel 1987 [43] ha inoltre dimostrato che non solo le popolazioni evolvono verso una maggiore resa più rapidamente dei miscugli ma che la massima risposta alla selezione si ottiene quando le popolazioni vengono coltivate sotto l'azione della selezione direzionale sempre nello stesso ambiente, indicando che questo è il modo più efficiente per sfruttare il potenziale evolutivo delle popolazioni evolutive. Si noti che "stesso ambiente" non significa "stessa località", perché località diverse possono essere caratterizzate dalle stesse pressioni selettive. L'esperimento condotto in Italia sul frumento [38] conferma quanto trovato in precedenza [43]: quando le popolazioni si spostano dall'ambiente in cui si sono evolute per diversi anni, acquisendo un vantaggio produttivo nei confronti di una varietà di riferimento, e vengono coltivate in un ambiente diverso, perdono in parte o del tutto quel vantaggio. Dal punto di vista della gestione delle popolazioni questo suggerisce che quando si produce il seme di una popolazione evolutiva o di un miscuglio ogni anno in una località diversa, la soluzione stabilizzante può diventare più importante della selezione direzionale riducendo così gli effetti cumulativi della selezione [44]. La differenza tra selezione stabilizzante e selezione

direzionale è molto probabilmente la causa per cui, nello studio citato prima [38], sono stati ottenuti risultati diversi nelle due regioni, Sicilia e Toscana, in cui la popolazione si era evoluta più a lungo. Infatti mentre in Sicilia, negli anni di coltivazione della popolazione evolutiva, vi è stata una chiara tendenza verso una diminuzione della piovosità e un aumento della temperatura, in Toscana, la piovosità è stata più variabile che in Sicilia con una modesta tendenza all'aumento della temperatura. In altre parole, la selezione direzionale potrebbe essere stata superiore a quella stabilizzante in Sicilia mentre il contrario si è probabilmente verificato in Toscana. Se questa interpretazione fosse corretta, la variabilità meteorologica tra le stagioni colturali, comportando una selezione stabilizzante, dovrebbe favorire il mantenimento della diversità genetica di una popolazione.

4. *Le popolazioni, e in misura minore i miscugli, hanno una resa più stabile* rispetto alle varietà uniformi nel tempo, cioè da un anno all'altro, ma non nello spazio, cioè si adattano in modo specifico alla località in cui vengono coltivate. Alcuni dei lavori che hanno studiato l'evoluzione delle rese, hanno anche valutato la loro stabilità. Per esempio, è stato trovato che mentre una linea di orzo in selezione proveniente dal miglioramento genetico convenzionale, univa alla sua elevata produttività un'alta instabilità, una delle popolazioni evolutive accoppiava ad una produttività non statisticamente inferiore alla linea in selezione una elevata stabilità [42]. Analogamente, nel frumento, non soltanto in Italia [38], ma anche in Francia [45] and in Gran Bretagna [46], le popolazioni hanno confermato la loro caratteristica di essere più stabili delle linee uniformi. In un esperimento con l'orzo è stato dimostrato chiaramente che le popolazioni hanno una superiore stabilità temporale, cioè da un anno all'altro, nei confronti dei miscugli [47].
5. *Popolazioni e miscugli si evolvono, diventando sempre più resistenti alle malattie.* Questo è il vantaggio delle popolazioni evolutive e dei miscugli in cui le evidenze scientifiche sono le più numerose.
Una delle dimostrazioni meglio conosciute dei vantaggi delle popolazioni evolutive e dei miscugli, particolarmente nei confronti delle malattie è quello sui miscugli di orzo da malto [48]. Nell'allora Europa orientale miscugli di orzo da malto si diffusero rapidamente su oltre 10.000 ettari in Polonia e, in particolare, nella Germania orientale dove furono introdotti nel 1984. Ebbero successo, perché i miscugli erano state formulati appositamente per la resistenza all'oidio e la qualità del malto. Alla fine degli anni '80 i miscugli coprivano la quasi totalità della superficie coltivata a orzo da birra primaverile (oltre 300.000 ettari) con una riduzione dal 10% al 50% dell'incidenza della malattia, mentre l'uso di fungicidi si era ridotto a un solo trattamento su oltre 100.000 ettari. Non vi fu alcuna diminuzione della produzione mentre la qualità del malto era considerata soddisfacente. Con l'unificazione delle due Germanie, il progetto venne abbandonato a causa della preferenza dei maltifici dell'Europa occidentale per il malto ottenuto da singole varietà anche se trattato con fungicidi. Le prove che miscugli e popolazioni sono più resistenti alle malattie delle varietà uniformi coltivate in monocoltura spaziano da una rassegna di diverse specie, come il riso, le patate, la cassava, il fagiolo, il frumento, soia e cotone [49] a studi più approfonditi sui meccanismi che rendono miscugli e popolazioni più resistenti [50, 51, 52, 53].
6. *Popolazioni e miscugli controllano le erbe infestanti meglio delle varietà uniformi,* anche se le prove scientifiche su questo vantaggio sono ancora limitate.

Una recente meta-analisi di 91 studi con oltre 3600 osservazioni ha concluso che i miscugli sono una strategia praticabile per aumentare la diversità nei sistemi agricoli, aumentando la resa e la stabilità della resa, nonché la resistenza alle malattie [54].

Da tutti questi vantaggi dimostrati è possibile estrapolare che popolazioni e miscugli sono anche in grado di adattarsi lentamente ai cambiamenti climatici purché abbiano, e siano in grado di mantenere, una grande diversità genetica. Quindi il modo in cui sono gestiti dagli agricoltori è importante. È probabile che popolazioni e miscugli, con la loro capacità di evolversi in risposta a stress sia biotici che abiotici, siano la soluzione più rapida, economica e in evoluzione a un problema così complesso e in evoluzione come il cambiamento climatico, con l'ulteriore vantaggio di aumentare le rese come risultato di una combinazione di selezione naturale e artificiale [55, 56, 57].

La velocità di adattamento dipende anche dal tipo e dall'intensità di selezione.

Diversi studi di popolazioni naturali di piante e di animali hanno dimostrato gli effetti della selezione direzionale non solo su caratteri morfologici ma anche su caratteri riproduttivi [58]. Questi stessi studi hanno dimostrato che le fluttuazioni temporali nell'ampiezza e nella direzione della selezione direzionale sono comuni [44] e che l'entità della selezione direzionale è sufficiente per produrre rapidi cambiamenti macroevolutivi in molte popolazioni.

Si prevede che la selezione naturale direzionale aumenterà con la maggiore frequenza di anni siccitosi e con l'aumento delle temperature [59].

Nonostante tutti i potenziali benefici dei miscugli e delle popolazioni evolutive, per molti anni l'unico esempio di sfruttamento pratico è rimasto quello sui miscugli di orzo da malto descritto prima [48].

Il maggiore ostacolo a tradurre in pratica i vantaggi dei miscugli e delle popolazioni evolutive, ampiamente dimostrati dalla ricerca scientifica, sono stati molto probabilmente la legislazione sulle sementi, che in diversi paesi si basa sui principi della registrazione delle varietà e della certificazione delle sementi. Il seme può essere commercializzato solo se appartiene ad una varietà che è stata iscritta e il seme è stato certificato. Una varietà deve soddisfare i requisiti di distinzione, uniformità e stabilità (DUS) [60].

2.2 Riconoscimenti internazionali

L'Unione Europea, riconoscendo i vantaggi delle popolazioni evolutive e dei miscugli, negli ultimi 10 anni ha investito considerevolmente sulla ricerca sulla diversità in agricoltura, prima con il progetto “*Strategies for Organic and Low-Input Integrated Breeding and Management*” (SOLIBAM) dal 2010 al 2014, poi con il progetto “*Embedding Crop Diversity and Networking for Local High Quality Food Systems* (DIVERSIFOOD) dal 2015 al 2019, più recentemente con *Boosting Organic Seed and Plant Breeding across Europe* (LIVESEED), ed infine con la nuova strategia Europea “*Farm to Fork*”.

Nel 2014 la Commissione Europea, riconoscendo la contraddizione tra il finanziamento di progetti di ricerca per promuovere l'uso della diversità in agricoltura e le leggi sulle sementi che la ostacolano [30], ha emesso una “Decisione di attuazione” (<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/?uri=CELEX:32018D1519>) con cui è stata organizzata una “sperimentazione temporanea a livello di Unione” “al fine di valutare se la produzione, in

vista della commercializzazione e della commercializzazione, a determinate condizioni, di sementi provenienti da popolazioni appartenenti alle specie Avena, Grano, Orzo e Mais, possono costituire una migliore alternativa all'esclusione della commercializzazione di sementi non conformi ai requisiti.....". L'esperimento inizialmente previsto per il 31 dicembre 2018, è stato poi esteso al 28 febbraio 2021.

Inoltre, nel 2018, la Commissione Europea ha adottato un nuovo Regolamento {(UE) 2018/848}, che stabilisce nuove regole sui controlli della produzione biologica e sull'etichettatura dei prodotti biologici, e che rende disponibile per l'uso nella produzione biologica materiale riproduttivo vegetale che non appartiene a una varietà, ma appartiene piuttosto a un raggruppamento vegetale all'interno di un unico taxon botanico con un elevato livello di diversità genetica e fenotipica tra le singole unità riproduttive. Nel Regolamento tale materiale è definito come materiale eterogeneo biologico, che: a) presenta caratteristiche fenotipiche comuni; b) è caratterizzato da un'elevata diversità genetica e fenotipica tra le singole unità riproduttive, per cui il raggruppamento vegetale è rappresentato dal materiale nel suo insieme e non da un numero esiguo di unità; c) non è una varietà ai sensi dell'articolo 5, paragrafo 2, del regolamento (CE) n. 2100/94 del Consiglio (1); d) non è un miscuglio di varietà; ed e) è stato prodotto in conformità al presente regolamento.

Nel 2018, il Fondo Internazionale per lo Sviluppo Agricolo (IFAD), con sede a Roma, ha finanziato un progetto *"Using Agricultural Biodiversity and Farmers' Knowledge to Adapt Crops to Climate Change in Iran"* con il quale il miglioramento genetico evolutivo su frumento e orzo è stato avviato in Iran dal ONG internazionale CENESTA [61]. In seguito, l'IFAD ha finanziato nel 2018 un progetto quadriennale "Use of genetic diversity and Evolutionary Plant Breeding for Enhanced Farmer Resilience to Climate Change, Sostenibile produttività delle colture e nutrizione in condizioni di pioggia", implementato da Bioversity International e che coinvolge l'Uganda ed Etiopia in Africa, Giordania e Iran nel Vicino Oriente e Nepal e Bhutan nell'Estremo Oriente. Nell'ambito di questo progetto, popolazioni evolutive e miscugli di frumento, orzo, riso e fagioli vengono testati in diversi villaggi dei sei paesi con la partecipazione di agricoltori.

3. L'adattamento delle popolazioni evolutive

In un esperimento classico con una popolazione evolutiva di orzo in Canada [43], in parte descritto in precedenza, gli autori hanno concluso che "la massima risposta alla selezione si ottiene attesa quando il materiale viene coltivato sotto la pressione della selezione direzionale sempre nello stesso, indicando che questo è il modo più efficiente per sfruttare il potenziale evolutivo delle popolazioni evolutive.

L'esperimento dimostrava anche che spostando da un anno all'altro la popolazione tra due località, faceva sì che la popolazione non riuscisse ad adattarsi a nessuna delle due località così bene come la popolazione che veniva sempre coltivata nella stessa località.

Nella gestione delle popolazioni evolutive fatte da comunità di agricoltori. anziché da singoli, se la produzione di seme dovesse essere condivisa tra più agricoltori di un'area relativamente omogenea, questo dovrebbe risultare in un adattamento specifico medio agli ambienti rappresentati da quella comunità di agricoltori.

Dati ottenuti in Italia [38] lo dimostrano chiaramente: l'effetto positivo dell'evoluzione adattativa usando una varietà moderna, uniforme e quindi incapace di evolversi, come riferimento, è scomparso quando le popolazioni evolutive sono state coltivate in località dove non si erano evolute. Tuttavia, un presupposto implicito nelle conclusioni dell'esperimento condotto in Canada [43] è che in un singolo ambiente la pressione di selezione sia costante nel tempo: nel caso di condizioni ambientali variabili annualmente, come si è verificato nei primi anni di evoluzione in Toscana, o come può accadere spostando la popolazione evolutiva da una località all'altra, la selezione stabilizzante può diventare più importante della selezione direzionale riducendo così gli effetti cumulativi della selezione [44].

Distribuendo la stessa popolazione evolutiva con una grande diversità genetica in una serie di località che rappresentano la popolazione di ambienti target, possiamo aspettarci lo sviluppo di tante popolazioni distinte quanti sono i luoghi, dato che sono caratterizzati da diversi tipi di selezione direzionale. Questo è un modo economico di sfruttare le interazioni ripetibili GL con il beneficio di aumentare l'agrobiodiversità e la possibilità, come ricordato prima, di selezionare popolazioni migliorate o linee pure ognuna specificamente adattata al luogo in cui la popolazione si è evoluta o la selezione è condotta.

4. Selezione entro le popolazioni evolutive

Nel suo lavoro originale, Suneson [40] aveva già proposto di usare le popolazioni evolutive (ma la cosa è possibile anche con i miscugli) come fonte di diversità genetica da utilizzare per la selezione artificiale. Infatti, i risultati dimostrarono che dopo 20 anni di evoluzione, una delle 20 linee selezionate dalla popolazione evolutiva di orzo, produceva il 37% in più della migliore varietà in circolazione a quei tempi. Dopo 24 anni, le tre selezioni migliori producevano in media il 56% in più della migliore varietà in circolazione a quei tempi. Potrebbero sembrare tempi lunghi, ma il 37% in più dopo 24 anni e il 56% in più dopo 24 anni rappresentato risposte alla selezione simili o addirittura superiori a quelle comunemente riportate [24].

Nel caso del frumento tenero, la selezione all'interno di una popolazione evolutiva citata prima condusse ad una popolazione perché i semi di tutte le spighe selezionate anziché essere seminati in altrettante spighe-fila per poi, dopo ulteriori selezioni portare ad una varietà uniforme, vennero mescolate. Si ottenne così un miscuglio (per usare il termine corretto) selezionato, che, gestito come miscuglio dinamico diede origine ad una popolazione selezionata. A confronto con la popolazione originaria, la popolazione selezionata è risultata produrre significativamente di più, superando anche significativamente la varietà migliorata presente nell'esperimento [38].

Questi esperimenti forniscono un'importante prova sperimentale della capacità delle popolazioni di evolversi, confermando così i risultati di ricerche condotte in passato sulle popolazioni evolutive e sui miscugli dinamici, che hanno dimostrato che questi materiali evolvono e diventano più produttivi. Ha infatti fornito l'ulteriore prova che la selezione artificiale, nel nostro caso la selezione degli agricoltori all'interno di una popolazione, che si sta evolvendo nella loro azienda agricola, può accelerare l'evoluzione adattativa generando una popolazione evolutiva selezionata con una resa maggiore rispetto a quella che si è evoluta nella stessa località sotto il solo effetto della selezione naturale. La selezione dell'agricoltore è stata

anche efficace nel contrastare l'effetto della selezione naturale e nel ridurre l'altezza della pianta.

La selezione può essere condotta in molti modi diversi descritti in dettaglio altrove [30, 32] e riassunti nella figura 2.

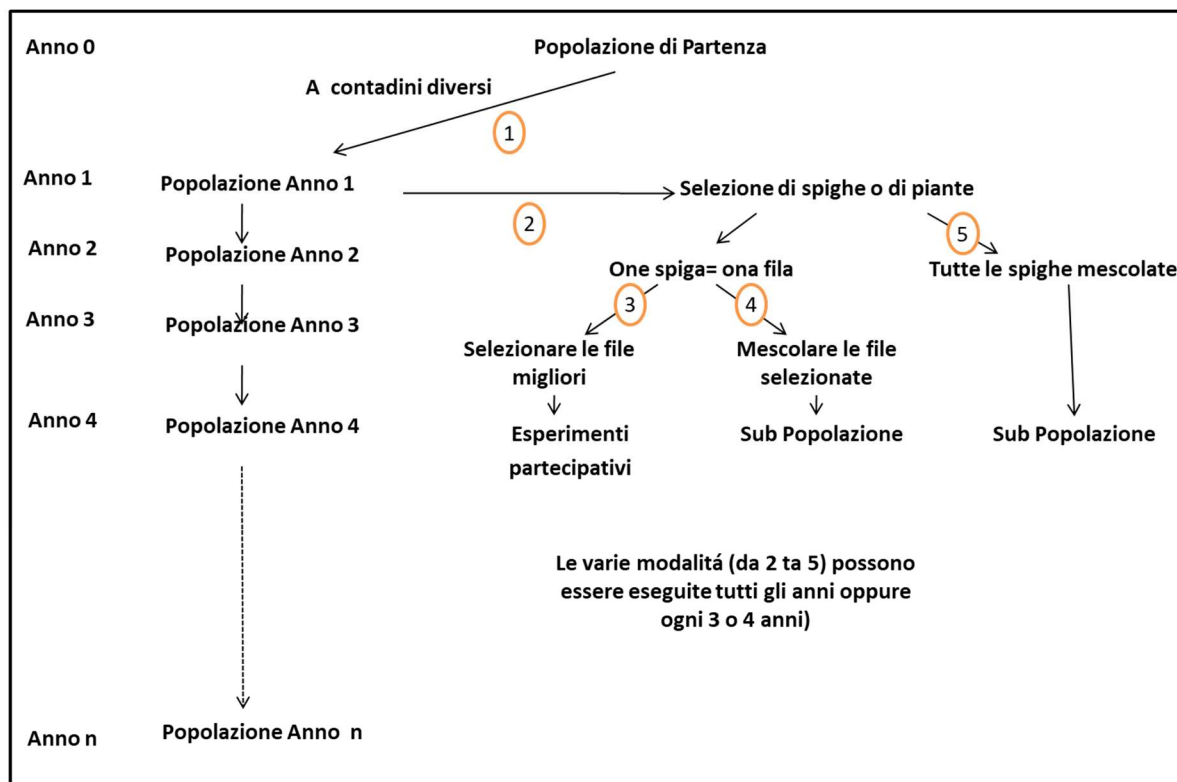


Figura 2. Selezione di spighe o di piante da una popolazione evolutiva in una coltura cerealicola (per i dettagli vedi testo) [30, 32].

Mentre la popolazione si evolve (a sinistra, nella figura), si possono selezionare singole spighe (2) che possono essere mescolate (o pannocchie o piante) mescolate (5) per costituire una sub-popolazione migliorata come descritto per il frumento [38] e per l'orzo [42].

Le spighe possono essere anche tenute separate, trebbiate e utilizzate per seminare spighe-fila, cioè il seme di una spiga viene seminato in una fila (3). Le file, organizzate in un opportuno disegno sperimentale, possono essere semplicemente moltiplicate e il seme ottenuto entrare a far parte di un programma di miglioramento genetico partecipativo [62]. A questo scopo si possono usare tutte le file o soltanto le migliori. In alternativa a (3), il seme raccolto sulle file migliori può essere mescolato e costituire una sub-popolazione (4). Nella costituzione di sub-popolazioni, il metodo (4) è atteso essere migliore di (5) perché in (4) la selezione si basa su famiglie (le spighe-fila) piuttosto che su individui (le spighe). La sub-popolazione (migliorata) potrebbe alla fine diventare gradualmente la coltura degli agricoltori. Tuttavia, è consigliabile mantenere un'area sufficientemente grande della popolazione di base che ha una base genetica molto più ampia e quindi un potenziale evolutivo più elevato.

5. Quanto velocemente una popolazione evolutiva si adatta?

Una domanda che gli agricoltori spesso si pongono riguarda i tempi dell'evoluzione. In teoria, la velocità dell'evoluzione divergente, cioè la velocità con cui una popolazione dà origine, evolvendosi in località diverse, a popolazioni che differiscono per una serie di caratteri dipende dalla diversità genetica presente nella popolazione iniziale per caratteri importanti per l'adattamento, l'ereditabilità di questi caratteri e l'ampiezza e la consistenza della selezione direzionale [58].

Non ci sono molti dati che consentono di rispondere a questa domanda. Nell'esperimento sull'orzo descritto prima [31], una popolazione evolutiva costituita con i semi ottenuti incrociando in tutte le combinazioni sei varietà (tra cui varietà locali, migliorate e introdotte), raggiunse una produzione che superava del 16% quella della migliore varietà parentale in appena quattro anni. Al contrario, una popolazione evolutiva costituita come la precedente ma con l'aggiunta delle sei varietà parentali, pur dimostrando di evolversi verso una maggiore produttività, rimase nello stesso periodo al di sotto della produzione della migliore varietà.

Nell'esperimento sul frumento tenero [38], risultati ottenuti durante il primo anno dell'esperimento, dopo che le popolazioni si erano già evolute in località diverse (Toscana e Sicilia) per quattro anni, suggeriscono che in qualche momento, durante i primi quattro anni di coltivazione, la popolazione coltivata in Sicilia, si è evoluta fino a dare una resa significativamente più alta sia della popolazione coltivata in Toscana, sia della popolazione selezionata dall'agricoltore: questo accadeva quando il confronto tra le diverse popolazioni veniva fatto in Sicilia. Quando il confronto veniva fatto in Toscana, le differenze non erano significative. Quindi la superiorità della popolazione selezionata dall'agricoltore che abbiamo discusso prima, deve essersi evoluta più tardi nel corso dell'esperimento. Allo stesso modo, all'inizio dell'esperimento, la popolazione che si era evoluta in Sicilia, era già più produttiva della varietà migliorata, ma, anche in questo caso, solo quando il confronto veniva fatto in Sicilia.

Contrariamente alla resa in granella, la divergenza per l'altezza della pianta era rilevabile solo in Toscana e solo nella popolazione evolutesi per selezione naturale, che era significativamente più alta della popolazione evolutesi in Sicilia e della popolazione toscana selezionata dall'agricoltore. Quest'ultima era probabilmente dovuta alla preferenza dell'agricoltore toscano per una pianta leggermente più bassa durante la loro selezione nel 2012., fornendo così una ulteriore dimostrazione della possibilità di combinare selezione naturale e artificiale.

6. Come coltivare le popolazioni evolutive

Una domanda spesso posta dagli agricoltori è: "come si coltivano le popolazioni evolutive e i miscugli?" e la risposta ovvia è "come qualsiasi altra varietà di quella particolare coltura".

Tuttavia, alcune delle caratteristiche tipiche delle popolazioni evolutive e dei miscugli, come la fioritura e la maturazione asincrone, pur avendo tutti i vantaggi descritti in precedenza, possono porre problemi al momento del raccolto, in particolare nel caso dei cereali, perché mentre si aspetta che le piante tardive maturino, le piante precoci possono disseminare. Mentre gli agricoltori con una lunga esperienza nella coltivazione di popolazioni evolutive di cereali non sembrano percepire questo come un problema, possiamo considerare il problema da due punti di vista. Se la raccolta viene fatta con la mietitrebbia, come spesso accade nella maggior

parte dei paesi sviluppati, e l'agricoltore si affida a dei terzisti, la raccolta è raramente tempestiva e spesso viene fatta più tardi del tempo ottimale. Questo causa perdite di resa dovute alla perdita di granella da parte delle piante precoci. Da un lato, questo rappresenta una selezione contro la tendenza a disseminare e quindi con il tempo le perdite di resa dovrebbero diminuire. D'altra parte, questo rappresenta anche la perdita di genotipi a maturazione precoce nella popolazione. Come dimostrato da alcuni esperimenti [63, 64] la selezione naturale nelle aree affette da siccità favorisce i genotipi precoci. Pertanto, nelle aree soggette a siccità, che probabilmente si espanderanno con il cambiamento climatico, può essere consigliabile ridurre la perdita dei genotipi a maturazione precoce nelle popolazioni seguendo uno dei metodi di selezione all'interno delle popolazioni evolutive e dei miscugli descritti nella sezione precedente.

Nel caso delle colture orticole, la maturazione scalare può diventare un vantaggio quando gli agricoltori vendono direttamente i loro prodotti nelle loro aziende o nei mercati locali. Infatti, nel caso di varietà uniformi, in particolare di colture orticole, gli agricoltori sono obbligati o a sviluppare strutture di stoccaggio o a vendere attraverso le organizzazioni della grande distribuzione con una conseguente perdita di profitto.

Un aspetto da considerare nel caso delle popolazioni evolutive e dei miscugli di colture cerealicole come il grano, l'orzo e il riso è la densità ottimale delle piante (cioè la densità di semina). Questo aspetto è ben noto nelle colture in cui le varietà sono costituite da piante geneticamente identiche e quindi hanno praticamente la stessa *fitness* (capacità riproduttiva). In questo caso, la resa aumenta con la densità delle piante fino a raggiungere un plateau. Questo perché a basse densità di semina (basso numero di piante per m²) non c'è competizione tra le piante, e la resa è limitata dal numero di piante per unità di superficie. Con l'aumento del numero di piante per unità di superficie, aumenta anche la competizione tra le piante con una corrispondente diminuzione della resa per pianta. Con l'aumento della densità delle piante si raggiunge un punto in cui c'è un equilibrio tra l'aumento del numero di piante/unità di superficie e la diminuzione della resa delle singole piante senza un ulteriore aumento della resa complessiva. Le popolazioni evolutive e i miscugli portano drastici cambiamenti nella dinamica delle interazioni pianta-pianta all'interno della coltura e quindi la questione della densità delle piante dovrebbe essere di particolare interesse perché influenza l'equilibrio tra le interazioni competitive e facilitanti. Tuttavia, l'effetto della densità delle piante è una questione complessa nel caso delle popolazioni evolutive e dei miscugli a causa del portafoglio sempre mutevole di genotipi che contengono.

In termini pratici, e nel caso delle popolazioni evolutive coltivate in Italia, gli agricoltori sono colpiti dalla loro elevata capacità di sopprimere le infestanti, che in alcuni casi è stata migliorata sostituendo la semina a file con la semina a spaglio, che può essere fatta meccanicamente con uno spandiconcime o con una seminatrice modificata.

7. Conclusioni

I risultati ottenuti da numerosi esperimenti sulle popolazioni evolutive e sui miscugli, inclusi quelli condotti in Italia, permettono di trarre le seguenti conclusioni di rilevanza per il miglioramento genetico delle piante: in primo luogo, le popolazioni evolutive rappresentano una risposta dinamica al cambiamento climatico, che è un obiettivo complesso sia per il

miglioramento genetico convenzionale che per quello molecolare perché 1) i cambiamenti di temperatura e precipitazioni possono variare da luogo a luogo; 2) il cambiamento climatico non riguarda solo la temperatura e le precipitazioni, ma questi cambiamenti influenzano la distribuzione e l'insorgenza di parassiti, e in particolare influenzano lo spettro degli insetti, delle malattie delle erbe infestanti [30]; 3) gli eventi meteorologici estremi possono influenzare le interazioni tra colture e parassiti in modo imprevedibile. Tutto questo indica che il cambiamento climatico è un problema estremamente complesso e in evoluzione, che richiede una soluzione in evoluzione [57]. Le popolazioni evolutive, con la loro capacità di evolvere in risposta a stress sia biotici che abiotici, a condizione che possiedano una sufficiente diversità genetica iniziale, è probabile che siano una soluzione rapida, conveniente e adattativa a un problema così complesso, con l'ulteriore vantaggio di aumentare le rese per l'effetto combinato della selezione naturale e artificiale; in secondo luogo, l'inclusione della valutazione partecipativa quando si testa il nuovo materiale genetico come le popolazioni evolutive rende più facile sviluppare innovazioni che hanno più probabilità di essere adottate; questo è un vantaggio importante considerando che la mancanza di adozione è stato uno dei principali problemi nel miglioramento genetico convenzionale [20].

Un ulteriore vantaggio delle popolazioni evolutive, che emerge da numerose ricerche, è la loro maggiore tolleranza alle malattie perché grazie alla loro diversità intrinseca non creano una stretta pressione di selezione favorendo l'evoluzione della resistenza. Questo li rende particolarmente adatti all'agricoltura biologica perché rappresentano una soluzione ecologica al controllo delle malattie [.

Una delle conseguenze della capacità delle popolazioni evolutive di adattarsi in modo relativamente rapido ai diversi ambienti è stata la rapida diffusione della popolazione evolutiva ICARDA di frumento tenero in quasi tutte le regioni d'Italia, dove singoli agricoltori, cooperative e associazioni hanno iniziato ad utilizzarlo direttamente per vendere la farina o utilizzarlo nei panifici locali, riscontrando invariabilmente un inaspettato successo commerciale. Tutto ciò è stato notevolmente facilitato dalla Decisione di esecuzione della Commissione del 18 marzo 2014 citata prima. Questa apertura ha permesso la registrazione ufficiale di queste popolazioni, creando l'opportunità per gli agricoltori di acquistare e vendere legalmente sementi di materiali eterogenei, ma soprattutto di diventare i produttori delle proprie sementi nel corso degli anni.

Riferimenti bibliografici

1. Loreau M, de Mazancourt C. 2013. Biodiversity and ecosystem stability: a synthesis of underlying mechanisms. *Ecology letters* 16: 106–115
2. Singh RK, Chang HW, Yan D, Lee KM, Ucmak D, Wong K, Abrouk M, Farahnik B, Nakamura M, Zhu TH, Bhutani T, Liao W, 2017. Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health. *Journal of Translational Medicine* 15(1):73
3. Zimmerer KS, de Haan S. 2017. Agrobiodiversity and a sustainable food future. *Nature Plants* 3: 17047
4. Renard D, Tilman D. 2019. National food production stabilized by crop diversity. *Nature* 571: 257 – 260
5. van der Wouw M, Kik C, van Hintum T, van Treuren R, Visser B. 2010. Genetic erosion in crops: concept, research results and challenges. *Plant Genetic resources: characterization and utilization* 8 (1): 1–15
6. Barah BC, Binswanger HP, Rana BS, Rao NGP. 1981. The use of risk aversion in plant breeding; Concept and application. *Euphytica* 30: 451–458.
7. Lin CS, Binns MR. 1988. A method of analysing cultivar x location x year experiments: A new stability parameter. *Theor. Appl. Genet.* 76 : 425–430.
8. Evans LT. 1993. *Crop Evolution, Adaptation and Yield*; Cambridge University Press: New York, NY, USA.
9. Leimu R, Fischer M. 2008. A Meta-Analysis of Local Adaptation in Plants. *PLoS ONE* 3 : e4010.
10. Hereford J. 2009. A Quantitative Survey of Local Adaptation and Fitness Trade-Offs. *Am. Nat.* 173: 579–588.
11. Kissing Kucek L, Dawson JC, Darby H, Mallory E, Davis M, Sorrells ME. 2021. Breeding wheat for weed-competitive ability: II—measuring gains from selection and local adaptation. *Euphytica* 217: 203.
12. Mulvany P. 2021. Sustaining agricultural biodiversity and heterogeneous seeds. In *Rethinking Food and Agriculture*. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition; Kassam, A., Kassam, L., Eds.; Woodhead Publishing: Swanston, Cambridge, UK. pp. 285–321.
13. Chaudhary P, Bhatta S, Aryal KP, Joshi BK. 2021. Threats, drivers and conservation imperative of agrobiodiversity. *J. Agric. Environ.* 21: 44–61.
14. Springmann M, Clark M, Mason-D'Croz D, Wiebe K, Bodirsky BL, Lassaletta L, de Vries W, Vermeulen SJ, Herrero M, Carlson KM, et al. 2018. Options for keeping the food system within environmental limits. *Nature* 562: 519–525.
15. Wolff F. 2003. Industrial Transformation and Agriculture: Agrobiodiversity Loss as Sustainability Problem. In *Governance for Industrial Transformation, Proceedings of the 2003 Berlin Conference on the Human Dimensions of Global Environmental Change*; Klaus J, Manfred B, Anna W, Eds.; Environmental Policy Research Centre: Berlin, Germany, 2004 pp. 338–355.
16. Ortiz-Bobea A, Ault TR, Carrillo CM, Chambers RG, Lobell DB. 2021. Anthropogenic climate change has slowed global agricultural productivity growth. *Nat. Clim. Chang.* 11: 306–312.
17. Kahiluoto H, Kaseva J, Balek J, Olesen JE, Ruiz-Ramos M, Gobin A, Kersebaum KC, Takáč J, Ruget F, Ferrise R, Bezak P, Capellades G. et al. 2019. Decline in climate resilience of European wheat. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 116 (1): 123–128
18. Wolfe MS, Ceccarelli S. 2020. The need to use more diversity in cereal cropping requires more descriptive precision. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 100: 4119–4123.

19. Zhu Y, Chen H, Fan J, Wang Y, Li Y, Chen J, Fan J-X, Yang S, Hu L, Leung H, Mew TW, Teng TW. et al. 2000. Genetic diversity and disease control in rice. *Nature* 406: 718–722.
20. Ceccarelli S. 2015. Efficiency of plant breeding. *Crop Science* 55: 87-97.
21. Ceccarelli S, Grando S, 2022. Return to agrobiodiversity: participatory plant breeding. *Diversity* 14:126 <https://doi.org/10.3390/d14020126>.
22. Allard RW, Hansche PE. 1964. Some parameters of population variability and their implications in plant breeding. *Advances in Agronomy* 16: 281–325.
23. Allard RW, Bradshaw AD. 1964. Implications of Genotype-Environmental Interactions in Applied Plant Breeding. *Crop Science* 4: 503–508.
24. Cobb JN, Juma RU, Biswas PS, Arbelaez JD, Rutkoski J, Atlin G, Hagen T, Quinn M, Ng EH. 2019. Enhancing the rate of genetic gain in public-sector plant breeding programs: Lessons from the breeder's equation. *Theoretical and Applied Genetics* 132: 627-645.
25. Arief VN, DeLacy IH, Basford KE. 2020. Design and analysis of multi-year field trials for annual crops. In (Kang, M.S. ed). *Quantitative genetics, genomics and plant breeding*. Wallingford, UK, pp 178–193
26. Baethgen WE. 2010. Climate Risk Management for Adaptation to Climate Variability and Change. *Crop Science* 50: S-70–S-76
27. Thornton PK, Ericksen PJ, Herrero M, Challinor AJ. 2014. Climate variability and vulnerability to climate change: a review. *Global Change Biology* 20: 3313–3328
28. Ray DK, Gerber JS, MacDonald GK, West PC. 2015. Climate variation explains a third of global crop yield variability. *Nature Communications* 6, 5989.
29. Harlan HV, Martini ML. 1929. A composite hybrid mixture. *J. American Society of Agronomy* 21: 487–490.
30. Ceccarelli S, Grando S. 2022. *Evolutionary Plant Breeding with an Introduction to Participatory Plant Breeding*, The Alliance of Bioversity International and CIAT, Rome pp 125 (in press).
31. Piano E, Ceccarelli S. 1978. Evolution of mixtures and bulk hybrid populations in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Genetica Agraria* 32: 195–210.
32. Ceccarelli S. 2021. *Produciamo i nostri semi. Manuale per accrescere la biodiversità e l'autonomia nella coltivazione delle piante alimentari*. Quaderni d'Ontignano. Libreria Editrice Fiorentina. pp 64.
33. Woldeamlak A, Grando S, Maatougui M, Ceccarelli S. 2008. Hanfets, a barley and wheat mixture in Eritrea: yield, stability and farmer preferences. *Field Crops Research* 109. 50–56.
34. Kremen C, Miles A. 2012. Ecosystem Services in Biologically Diversified versus Conventional Farming Systems: Benefits, Externalities, and Trade-Offs. *Ecology and Society* 17(4): 40.
35. Goldringer I, Prouin C, Rousset M, Galic N, Bonnin I. 2006. Rapid differentiation of experimental populations of wheat for heading time in response to local climatic conditions. *Annals of Botany*. 98: 805–817.
36. Hockett EA, Eslick RF, Qualset CO, Dubbs AL, Stewart VR. 1983. Effects of Natural Selection in Advanced Generations of Barley Composite Cross II. *Crop Science* 23: 752–756.
37. Knapp S, Döring TF, Jones HE, Snape J, Wingen LU, Wolfe MS, Leverington-Waite M, Griffiths S. 2020. Natural Selection Towards Wild-Type in Composite Cross Populations of Winter Wheat. *Frontiers in Plant Science* 10: 1757.
38. Bocci R, Bussi B, Petitti M, Franciolini R, Altavilla V, Galluzzi G, Di Luzio P, Migliorini P, Spagnolo S, Floriddia R, Li Rosi G, Petacciato M, Battezzato V, Albino A, Faggio G, Arcostanzo C, Ceccarelli S. 2020. Yield, yield stability and farmers' preferences of evolutionary populations of bread wheat: a dynamic solution to climate change. *European Journal of Agronomy* Volume 12: 126156.

39. Denison RF, Kiers ET, West SA. 2003. Darwinian Agriculture: When Can Humans Find Solutions Beyond the Reach of Natural Selection? *The Quarterly Review of Biology* 78: 148–168.
40. Suneson CA. 1956. An Evolutionary Plant Breeding Method. *Agronomy Journal* 48:188–191.
41. Rasmusson DC, Beard BH, Johnson FK. 1967. Effect of Natural Selection on Performance of a Barley Population. *Crop Science* 7: 543–543.
42. Raggi L, Ciancaleoni S, Torricelli R, Terzi V, Ceccarelli S, Negri V. 2017. Evolutionary breeding for sustainable agriculture: selection and multi-environment evaluation of barley populations and lines. *Field Crops Research* 204: 76–88.
43. Patel JD, Reinbergs E, Mather DE, Choo TM, Sterling JD 1987. Natural Selection in a Double-Haploid Mixture and a Composite Cross of Barley. *Crop Science* 27: 474–479.
44. Siepielski AM, Di Battista JD, Carlson SM. 2009. It's about time: the temporal dynamics of phenotypic selection in the wild. *Ecology Letters* 12 (11): 1261–1276.
45. Van Frank G, Rivière P, Pin S, Baltassat R, Berthelot J-F, Caizergues F, Dalmasso C, Gascuel J-S, Hyacinthe A, Mercier F, Montaz H, Ronot B, Goldringer I. 2020. Genetic Diversity and Stability of Performance of Wheat Population Varieties Developed by Participatory Breeding. *Sustainability* 12: 384.
46. Döring TF, Annicchiarico P, Clarke S, Haigh Z, Jones HE, Pearce H, Snape J, Zhang J, Wolfe MS, 2015. Comparative analysis of performance and stability among composite cross populations, variety mixtures and pure lines of winter wheat in organic and conventional cropping systems. *Field Crops Research* 183: 235–245.
47. Allard RW. 1961. Relationship Between Genetic Diversity and Consistency of Performance in Different Environments. *Crop Science* 1: 2: 127–133
48. Wolfe MS, Brändle U, Koller B, Limpert E, McDermott JM, Müller K, Schaffner D. 1992. Barley mildew in Europe: population biology and host resistance. *Euphytica* 63: 125–139.
49. Smithson JB, Lenné JM. 1996. Varietal mixtures: a viable strategy for sustainable productivity in subsistence agriculture. *Annals of Applied Biology* 128 (1): 127–158.
50. Finckh MR, Mundt CC. 1992. Stripe Rust, Yield, and Plant Competition in Wheat Cultivar Mixtures. *Phytopathology* 82, 905–913.
51. Finckh M, Gacek E, Goyeau H, Lannou C, Merz U, Mundt CC, Munk L, Nadziak J, Newton A, de Vallavieille-Pope C, Wolfe MS. 2000. Cereal variety and species mixtures in practice, with emphasis on disease resistance. *Agronomie* 20 (7): 813–837.
52. Finckh M, Wolfe M. 2006. Diversification strategies. In: Cooke B, Jones D, Kaye B. (eds) *The Epidemiology of Plant Diseases*. Springer, Dordrecht pp 269–307.
53. Mundt CC 2002. Use of multiline cultivars and cultivar mixtures for disease management. *Annual Review Phytopathology* 40: 381–410.
54. Reiss ER, Drinkwater LE. 2018. Cultivar mixtures: a meta-analysis of the effect of intraspecific diversity on crop yield. *Ecological Applications* 28: 62–77.
55. Ceccarelli S, Grando S, Maatougui M, Michael M, Slash M, Haghparast R, Rahmanian M, Taheri A, Al-Yassin A, Benbelkacem A, Labdi M, Mimoun M, Nachit M. 2010. Plant Breeding and Climate Changes. *Journal of Agricultural Science* 148(6): 627–638.
56. Murphy KM, Carter AH, Jones SS. 2013. Evolutionary Breeding and Climate Change. In: Kole C (eds) *Genomics and Breeding for Climate-Resilient Crops*. Springer, Berlin, Germany, pp 377–389.
57. Ceccarelli S, Grando S. 2020. Evolutionary plant breeding as a response to the complexity of climate change. *IScience* 23 (12): 101815.
58. Kingsolver JG, Hoekstra HE, Hoekstra JM, Berrigan D, Vignieri SN, Hill CE, Hoang A, Gibert P, Beerli P. 2001. The Strength of Phenotypic Selection in Natural Populations. *The American Naturalist* 157: 245–261.
59. Exposito-Alonso M, 500 Genomes Field Experiment Team, Burbano HA, Bossdorf O, Nielsen R, Weigel D. 2019. Natural selection on the *Arabidopsis thaliana* genome in present and future climates. *Nature* 573 (7772): 126–129.

60. Winge T. 2015. Seed Legislation in Europe and Crop Genetic Diversity. In: Lichtfouse E. (eds) Sustainable Agriculture Reviews. Sustainable Agriculture Reviews, vol 15. Springer, Cham. Switzerland.
61. Ceccarelli S, Grando S, Salimi M, Razawi K. 2022. Evolutionary Populations for Sustainable Food Security and Food Sovereignty. In (eds Y. Nishikawa and M. Pimbert) Seeds for Diversity and Inclusion. Agroecology and endogenous development. Springer Nature Switzerland AG Gewerbestrasse 11, 6330 Cham, Switzerland.
62. Ceccarelli S, Galiè A, Grando S. 2022. Participatory Plant Breeding in North Africa and the Near East: Nearly 25 years on. In Seeds that Give: Participatory Plant Breeding—Revisited (in press); Vernooij, R., Song, Y., Eds.; China Agricultural Press: Beijing, China.
63. Nevo E, Yong-Bi Fub, Pavlicek T, Khalifa S, Tavasi M, Beiles A. 2012. Evolution of wild cereals during 28 years of global warming in Israel. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109, 3412–3415
64. Vigouroux Y, Mariac C, De Mita S, Pham J-L, Gérard B, Kapran I, Sagnard F, Deu M, Chantreau J, Ali A, Ndjunga J, Luong V, Thuillet A-C, Saïdou A-Z, Bezançon G. 2011. Selection for Earlier Flowering Crop Associated with Climatic Variations in the Sahel. *PLoS ONE* 6(5), e19563.
65. Ceccarelli S, Grando S. 2020. Organic agriculture and evolutionary populations to merge mitigation and adaptation strategies to fight climate change. *South Sustainability*, 1(2), e002.