Η γενετική βελτίωση της Μηδικής (*Medicago sativa L.*): Σύγχρονες ποικιλίες, προβλήματα και προοπτικές

Χ. Κάρτας[1*], Ι. Γανόπουλος[2], Ε. Τάνη[3], Δ. Βλαχοστέργιος[4], Ε.Μ. Αβραάμ[1]
[1]Εργαστήριο Δασικών Βοσκοτόπων, Τμήμα Δασολογίας και Φυσικού Περιβάλλοντος, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, 54124 Θεσσαλονίκη
2Ινστιτούτο Γενετικής Βελτίωσης και Φυτογενετικών Πόρων, Ελληνικός Γεωργικός Οργανισμός – ΔΗΜΗΤΡΑ, 57001 Θέρμη, Θεσσαλονίκη
3Εργαστήριο Βελτίωσης Φυτών & Γεωργικού Πειραματισμού, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιερά Οδός 75, 11855, Αθήνα
4Ινστιτούτο Βιομηχανικών και Κτηνοτροφικών Φυτών, Ελληνικός Γεωργικός Οργανισμός – ΔΗΜΗΤΡΑ, Θεοφράστου 1, 41335 Λάρισα
*Email: chrikart@for.auth.gr

Περίληψη

Η μηδική (*Medicago sativa L.*) αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα κτηνοτροφικά φυτά σε παγκόσμιο επίπεδο, λόγω της υψηλής απόδοσης και θρεπτικής αξίας. Το είδος χρησιμοποιείται τόσο για την παραγωγή βιομάζας ως ζωοτροφή (σανός), όσο και ως βοσκήσιμη ύλη. Επιπλέον καλλιεργείται και για την παραγωγή φαρμακευτικών ουσιών. Η μηδική είναι το κυριότερο καλλιεργούμενο πολυετές χορτοδοτικό κτηνοτροφικό ψυχανθές στην Ελλάδα και καλύπτει περίπου το 80-85% των αρδευόμενων εκτάσεων που καλλιεργούνται με κτηνοτροφικά είδη. Για το λόγο αυτό υπάρχει ενδιαφέρον για τη βελτίωση του είδους και τη δημιουργία ποικιλιών με χαρακτηριστικά που ανταποκρίνονται στις απαιτήσεις της σύγχρονης γεωργίας και κτηνοτροφίας. Η βελτίωση της μηδικής που διεξάγεται στη χώρα μας βασίζεται σε μεθόδους φαινοτυπικής επιλογής. Τα κύρια αντικείμενα της βελτίωσης είναι η παραγωγή και η ποιότητα της βιομάζας ως ζωοτροφή ή βοσκήσιμη ύλη και η αντοχή σε αβιοτικές καταπονήσεις με κυριότερη αυτή της υδατικής καταπόνησης. Στην Ελλάδα κυριαρχούν οι ποικιλίες Υπάτη, Υλίκη και Δολίχη που έχουν δημιουργηθεί στη χώρα μας και εμφανίζουν προσαρμοστικότητα στα ιδιαίτερα εδαφοκλιματικά περιβάλλοντα της ακόμη και ως μη αρδευόμενες ή με μειωμένη άρδευση. Ωστόσο, οι απαιτήσεις για την ανάπτυξη νέων παραγωγικών ποικιλιών με υψηλή θρεπτική αξία και προσαρμοστικότητα σε εύρος περιβαλλόντων είναι αυξημένες λόγω της παρατηρούμενης κλιματικής μεταβλητότητας. Για την πραγματοποίηση του παραπάνω στόχου η αξιοποίηση σύγχρονων τεχνολογικών εργαλείων και βιοαναλυτικών μεθόδων στη γενετική βελτίωση της μηδικής θεωρείται απαραίτητη. Προκειμένου να διεξαχθούν αποτελεσματικά προγράμματα για τη βελτίωσή της, απαιτούνται νέες προσεγγίσεις που θα εστιάζουν πέρα από την αντοχή της σε αβιοτικές καταπονήσεις και στην αναγνώριση και αξιοποίηση επιγενετικών μηχανισμών (επιγενετική μνήμη),οι οποίοι θα συμβάλλουν στην αυξημένη προσαρμογή στις ολοένα μεταβαλλόμενες περιβαλλοντικές συνθήκες.

Λέξεις κλειδιά: μηδική, βελτίωση, αβιοτικές καταπονήσεις, επιγενετική μνήμη

Η μηδική

Η μηδική (*Medicago sativa* L.), που είναι γνωστή και ως πολυετές τριφύλλι, ανήκει στην οικογένεια των ψυχανθών (*Leguminosae*). Είναι ένα πολυετές είδος, με βιολογικό κύκλο εξαρτώμενο από το κλίμα που κυμαίνεται από 3 έως και 12 έτη (Bora and Sharma 2011).

Η μηδική προήλθε από τη Νοτιοδυτική Ασία και καλλιεργήθηκε για πρώτη φορά στο Ιράν. Σήμερα παρουσιάζει μια πολύ ευρεία γεωγραφική εξάπλωση σε όλες τις ηπείρους του πλανήτη, καθώς καταγράφεται σε 80 χώρες καλύπτοντας μία επιφάνεια 35.000.000 εκταρίων (Radovic, Sokolovic, and Markovic 2009). Η Βόρεια Αμερική είναι η μεγαλύτερη παραγωγός χώρα μηδικής ακολουθούμενη από την Ευρώπη. Στην Ελλάδα απαντώνται δύο υποείδη, που

είναι το *Medicago sativa L.* subsp. *sativa* και το *Medicago sativa L.* subsp. *falcata*. Το πρώτο συναντάται κατά κύριο λόγο στον ηπειρωτικό κορμό της χώρας και στα Ιόνια νησιά, ενώ το δεύτερο έχει αισθητή παρουσία σε όλη τη χώρα εκτός από το Νότιο Αιγαίο και τα Ιόνια νησιά με εξαίρεση την Κέρκυρα (Thanopoulos 2007).

Αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα κτηνοτροφικά φυτά σε παγκόσμιο επίπεδο, λόγω της υψηλής του απόδοσης στην παραγωγή σανού και βοσκήσιμης ύλης αλλά και της υψηλής θρεπτικής του αξίας (Claessens et al. 2021). Η υψηλή περιεκτικότητά της σε θρεπτικά στοιχεία όπως βιταμίνες, αμινοξέα, καροτενοειδή και μέταλλα, την καθιστούν είδος βασικής καλλιέργειας για την κάλυψη των αναγκών των αγροτικών ζώων, κυρίως των μηρυκαστικών (Hawkins and Yu 2018; El-Ramady et al. 2020; Mattioli et al. 2019). Όσον αφορά τον άνθρωπο, η μηδική παίζει σημαντικό ρόλο ως φαρμακευτικό φυτό, λόγω της περιεκτικότητάς της σε σαπωνίνες, οι οποίες φέρονται να έχουν αντιοξειδωτική, αντιική και ανοσοδιεγερτική δράση (Shi et al. 2014; Sen, Makkar and Becker 1998).

Σχετικά με τη χρήση της ως κτηνοτροφικό είδος, συμβάλει στη βελτίωση του ρυθμού ανάπτυξης των ζώων και της αναπαραγωγικής τους ικανότητας, ενισχύει την αξιοποίηση των ζωοτροφών και αναβαθμίζει την ποιότητα των ζωικών προϊόντων (Landers et al. 2008). Εξαιτίας της υψηλής προσαρμοστικής της ικανότητας, η μηδική, δύναται να αναπτυχθεί σε μεγάλη ποικιλία εδαφοκλιματικών συνθηκών. Όπως όλα τα ψυχανθή, συμμετέχει στην αζωτοδέσμευση, αναπτύσσοντας συμβιωτική σχέση με τα βακτήρια του γένους *Rhizobium* που της επιτρέπει να ανταποκρίνεται σε φτωχά σε άζωτο εδάφη, αλλά και στη βελτίωση της δομής των εν λόγω εδαφών (Quan et al. 2016) .

Όσον αφορά το γενετικό της υπόβαθρο, είναι ένα τετρασωμικό αυτοτετραπλοειδές είδος με 8 χρωμοσώματα (2n = 4x = 32) και μέγεθος γενώματος 800 – 1000 bp (Hawkins and Yu, 2018). Η γενετική βελτίωση της Μηδικής, αποτελεί σημαντική πρόκληση, καθώς εξαιτίας του σταυρογονιμοποιούμενου αναπαραγωγικού της συστήματος, εμφανίζει υψηλή ετεροζυγωτία. Το γεγονός αυτό αποκλείει μεθόδους βελτίωσης με τη χρήση καθαρών σειρών διότι οδηγούν σε ομοζυγωτικό εκφυλισμό και επίσης είναι δύσκολη η γενοτύπιση ατόμων εξαιτίας του πολύπλοκου γονιδιώματος (Hawkins & Yu, 2018).

Γενετική βελτίωση της μηδικής

Η πλειοψηφία των προγραμμάτων γενετικής βελτίωσης της Μηδικής εφαρμόζει είτε την μαζική επιλογή, είτε την επαναλαμβανόμενη φαινοτυπική επιλογή με στόχο την ανάπτυξη ποικιλιών βελτιωμένων αφενός ως προς την παραγωγή σανού ή/και βοσκήσιμης ύλης και αφετέρου ως προς την ανθεκτικότητα σε βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις (Acharya et al., 2020; Hawkins and Yu, 2018). Έχει παρατηρηθεί, πως η συνεχόμενη βόσκηση, μακροπρόθεσμα, εξαλείφει τα αποθέματα μη δομικών υδατανθράκων και αζώτου στο ριζικό σύστημα της Μηδικής (Smith et al. 2000), καθιστώντας την περισσότερο ευαίσθητη σε βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις (H. Wang et al. 2023).Το Ινστιτούτο Βιομηχανικών και Κτηνοτροφικών Φυτών έχει δημιουργήσει μια σειρά βελτιωμένων ποικιλιών που χαρακτηρίζονται από άριστη προσαρμοστικότητα στις συνθήκες της Ελληνικής υπαίθρου. Ανάμεσα τους ξεχωρίζουν οι ποικιλίες Υπάτη, Υλίκη και Δολίχη.

Τις περασμένες δεκαετίες, η βελτίωση της απόδοσης της μηδικής, επιτεύχθηκε αυξάνοντας την αντοχή των ατόμων της στις καταπονήσεις, τεχνική που αποφέρει καλά αποτελέσματα κυρίως όταν τα φυτά αναπτύσσονται σε συνθήκες καταπονήσεων (Lamb et al. 2006). Τελευταία, η ανάγκη ανάπτυξης νέων μεθόδων βελτίωσης, παράλληλα με την φαινοτυπική επιλογή, έχει αυξηθεί καθώς η σχετικά περιορισμένη πρόοδος με τη επιλογή, η μεγάλη διάρκεια του βελτιωτικού κύκλου και το υψηλό κόστος που την χαρακτηρίζουν, δεν ανταποκρίνονται στις σύγχρονες ανάγκες.

Η γονιδιωματική επιλογή αποτελεί μια νέα προσέγγιση για επιλογή ατόμων είτε από τον πειραματικό αγρό, είτε από το θερμοκήπιο, που συνδυάζει δεδομένα από τον φαινότυπο και

από τον γενότυπο ενός πληθυσμού (αλληλούχιση) και μέσω στατιστικού μοντέλου προβλέπει τη βελτιωτική αξία μιας μελλοντικής γενιάς ατόμων, συλλέγοντας γενετικές πληροφορίες με τη χρήση μοριακών δεικτών όπως για παράδειγμα SNPs (He et al. 2022).

Ο συνδυασμός της παραπάνω μεθόδου γενετικής βελτίωσης για τη μηδική με τη μελέτη και αξιοποίηση επιγενετικών μηχανισμών όπως η επιγενετική μνήμη σε καταπονήσεις, θα μπορούσε να δώσει θεαματικά αποτελέσματα στην δημιουργία σύγχρονων και ταχύτερων προγραμμάτων βελτίωσης. Κάθε άτομο κατόπιν της έκθεσής του σε συνθήκες καταπόνησης, δύναται να αναπτύξει επιγενετική μνήμη στις καταπονήσεις. Η διάρκεια της επιγενετικής μνήμης μπορεί να κυμανθεί εντός εύρους ημερών έως εβδομάδων, αλλά σε ορισμένες περιπτώσεις κληροδοτείται και στους απογόνους (Lämke and Bäurle, 2017, Dalakouras and Vlachostergios, 2021). Έτσι ένα άτομο ή/και οι απόγονοί του καθίστανται ικανοί να ανταπεξέλθουν αποτελεσματικότερα μελλοντικά στις εν λόγω καταπονήσεις ή/και να τις αποφύγουν εντελώς (Lämke and Bäurle 2017). Αυτό επιτυγχάνεται με την «αποθήκευση» γενετικών πληροφοριών σχετικών με την υφιστάμενη καταπόνηση και την απομνημόνευση και επανάληψη της απόκρισης με τον ίδιο τρόπο σε επακόλουθες καταπονήσεις (Lämke and Bäurle 2017; Stief et al. 2014).

Η απόκριση της μηδικής σε αβιοτικές καταπονήσεις, έχει μελετηθεί εκτενώς στα επίπεδα της φυσιολογίας, της γενετικής καθώς και σε μοριακό επίπεδο (Song et al. 2019). Απεναντίας, υπάρχουν πολύ περιορισμένες έρευνες όσων αφορά τις επιγενετικές λειτουργίες της μηδικής κάτω από συνθήκες αβιοτικών καταπονήσεων, μία από τις οποίες έδειξε αυξημένα επίπεδα μεθυλίωσης του DNA κατόπιν καταπόνησης από αλατότητα (Victor and Yaish 2016) και κάτω από συνθήκες υδατικής καταπόνησης (Ventouris et al. 2020).

Βιβλιογραφία

Acharya, J.P., Y. Lopez, B.T. Gouveia, I.B. Oliveira, M.F.R. Resende, P.R. Muñoz, andE.F. Rios. 2020. Breeding Alfalfa (Medicago Sativa l.) Adapted to Subtropical Agroecosystems. Agron J., 10(5): 742 - 755.

Blondon, F., D. M.S. Brown, and A. Kondorosi. 1994. Genome Size and Base Composition in Medicago Sativa and M.Truncatula Species. Genome., 37(2): 264–70.

Bora, K.S., and A. Sharma. 2011. Phytochemical and Pharmacological Potential of Medicago Sativa: A Review. Pharm. Biol., 49(2): 211–20.

Claessens, A., M. Bipfubusa, C. Chouinard-Michaud, A. Bertrand, G.F. Tremblay, Y. Castonguay, G. Bélanger, R. Berthiaume, and G. Allard. 2021. Genetic Selection for Nonstructural Carbohydrates and Its Impact on Other Nutritive Attributes of Alfalfa (Medicago Sativa) Forage. Plant Breed., 140(5): 933–43.

Dalakouras, A. and D. Vlachostergios. 2021 Epigenetic Aproaches to Crop Breeding: Current Status and Perspectives. JXB., 72(15): 5356-5371

El-Ramady, H., N. Abdalla, S. Kovacs, É. Domokos-Szabolcsy, N. Bákonyi, M. Fari, and C.M.Geilfus. 2020. Sustainable Biorefinery of Alfalfa (Medicago Sativa l.): A Review. EJBO 60(3): 621–639.

Elshire, R.J., J.C. Glaubitz, Q. Sun, J.A. Poland, K. Kawamoto, E.S. Buckler, and S.E. Mitchell. 2011. A Robust, Simple Genotyping-by-Sequencing (GBS) Approach for High Diversity Species. PLoS ONE., 6(5): 1–10.

Hawkins, C., and L. Xi Yu. 2018. Recent Progress in Alfalfa (Medicago Sativa L.) Genomics and Genomic Selection. Crop J., 6(6): 565–75.

He, X., F. Zhang, F. He, Y. Shen, L. Xi Yu, T. Zhang, and J. Kang. 2022. Accuracy of Genomic Selection for Alfalfa Biomass Yield in Two Full-Sib Populations. Front. Plant Sci., 13: 1–16.

Heffner, E.L., M.E. Sorrells, and J.L. Jannink. 2009. Genomic Selection for Crop Improvement. Crop Sci., 49(1): 1–12.

Lamb, Jo Ann F.S., C.C. Sheaffer, L.H. Rhodes, R. M. Sulc, D.J. Undersander, and E.C. Brummer. 2006. Five Decades of Alfalfa Cultivar Improvement: Impact on Forage Yield, Persistence, and Nutritive Value. Crop Sci., 46(2): 902–909.

Lämke, J., and I. Bäurle. 2017. Epigenetic and Chromatin-Based Mechanisms in Environmental Stress Adaptation and Stress Memory in Plants. Genome Biol., 18(1): 1–11.

Landers, K. L., R. W. Moore, P. Herrera, D. A. Landers, Z. R. Howard, J. L. McReynolds, J. A. Bryd, L. F. Kubena, D. J. Nisbet, and S. C. Ricke. 2008. Organ Weight and Serum Triglyceride Responses of Older (80 Week) Commercial Laying Hens Fed an Alfalfa Meal Molt Diet. Bioresour. Technol., 99(14): 6692–6696.

Mattioli, S., A.D. Bosco, C. Castellini, B. Falcinelli, V. Sileoni, O. Marconi, A.C. Mancinelli, E. Cotozzolo, and P. Benincasa. 2019. Effect of Heat- and Freeze-Drying Treatments on Phytochemical Content and Fatty Acid Profile of Alfalfa and Flax Sprouts. J. Sci. Food Agric., 99(8): 4029–4035.

Meuwissen, T. H.E., B. J. Hayes, and M. E. Goddard. 2001. Prediction of Total Genetic Value Using Genome-Wide Dense Marker Maps. Genetics., 157(4): 1819–1829.

Thanopoulos, R. 2007. The genus Medicago in Greece : 1. A review of species diversity, geographical distribution and ecological adaptation. Fl. Medit., 17, pp. 217–276.

Quan, W., X. Liu, H. Wang, and Z. Chan. 2016. Comparative Physiological and Transcriptional Analyses of Two Contrasting Drought Tolerant Alfalfa Varieties. Front. Plant Sci., 6: 1–16.

Radovic, J., D. Sokolovic, and J. Markovic. 2009. Alfalfa-Most Important Perennial Forage Legume in Animal Husbandry. Biotechnol. Anim. Husb., 25(5-6-1): 465–475.

Sen, S., H.P.S. Makkar, and K. Becker. 1998. Alfalfa Saponins and Their Implication in Animal Nutrition. J. Agric. Food Chem., 46(1): 131–140.

Shi, Y.H., J. Wang, R. Guo, C. Z. Wang, X. B. Yan, B. Xu, and D. Q. Zhang. 2014. Effects of Alfalfa Saponin Extract on Growth Performance and Some Antioxidant Indices of Weaned Piglets. Livest. Sci., 167(1): 257–262.

Smith, S.R., J.H. Bouton, A. Singh, and W.P. McCaughey. 2000. Development and Evaluation of Grazing-Tolerant Alfalfa Cultivars : A Review. Can. J. Plant Sci., 80(3): 503-512

Song, Y., J. Lv, Z. Ma, and W. Dong. 2019. The Mechanism of Alfalfa (Medicago Sativa L.) Response to Abiotic Stress. J. Plant Growth Regul., 89(3): 239–249.

Stief, A.,B. Krzysztof, J. Lämke, and I. 2014. Epigenetic Responses to Heat Stress at Different Time Scales and the Involvement of Small RNAs. Plant Signal. Behav., 9(10): e970430.

Ventouris, Y.E., E. Tani, E.V. Avramidou, E.M. Abraham, S.N. Chorianopoulou, D.N. Vlachostergios, G. Papadopoulos, and A. Kapazoglou. 2020. Recurrent Water Deficit and Epigenetic Memory in Medicago Sativa L. Varieties. J. Appl. Sci.,10(9): 3110-3125.

Victor, R, and M.W. Yaish. 2016. Salt Stress Alters DNA Methylation Levels in Alfalfa (Medicago Spp). Genet. Mol. Res., 15(1): 15018299.

Wang, H., B. Coulman, Y. Bai, B. Tarʹan, and B. Biligetu. 2023. Genetic Diversity and Local Adaption of Alfalfa Populations (Medicago Sativa L.) under Long-Term Grazing. Sci. Rep., 13(1): 1–19.

Wang, Z., K. Qingbo, D.K. Myoung,H.K. Sun.,Y.J. Chang, C.J. Jae, S.L. Haeng, W.S. Park, M.J. Ahn, H. Li, B. Xu, X. Deng, S.H. Lee, Y.P. Lim and S.S. Kwak2015. Transgenic Alfalfa Plants Expressing the Sweetpotato Orange Gene Exhibit Enhanced Abiotic Stress Tolerance. PLoS ONE., 10(5): 1–17.

Genetic breeding of Alfalfa (*Medicago sativa L.*): Modern cultivars, issues and perspectives

C. Kartas[1*]., I. Ganopoulos[2]., E. Tani[3]., D. Vlachostergios[4]., E.M. Abraham[1]
[1]Laboratory of Range Management, School of Forestry and Natural Environment, Aristotle University of Thessaloniki, 54121 Thessaloniki
[2]Institute of Plant Breeding and Genetic Resources, Hellenic Agricultural Organization – DEMETER, 57001 Thermi, Thessaloniki
[3]Laboratory of Plant Breeding and Biometry, School of Crop Science, Agricultural University of Athens, Iera Odos 75, 11855 Athens
[4]Institute of Industrial and Forage Crops, Hellenic Agricultural Organization – DEMETER, Theofrastou 1, 41335 Larissa
[*]Email: chrikart@for.auth.gr

Abstract

Alfalfa (*Medicago sativa L.*) is globally one of the most important forage species, on account of its high nutritive value for animal husbandry, biomass production and hay production. It is also used in life sciences to manufacture medical substances. Alfalfa is the most common perennial legume in Greece covering approximately 80-85% of fields where forage species are cultivated. Due to these characteristics, it is essential the breeding of Alfalfa aiming to create new cultivars with high response to current needs of agriculture. Breeding of alfalfa in our country is based on phenotypic selection and it's targeting to biomass production and quality improvement as well as response to abiotic stresses, emphasizing to drought stress. The most common genotypes of alfalfa which have been developed in Greece are Ipati, Iliki and Dolichi and can be cultivated under reduced irrigation in different climate conditions. Nevertheless, it is more than necessary the characterization of new genotypes for high tolerance under conditions of climate change. To achieve this point, new technological tools shall be used in breeding of alfalfa such as bioanalytical methods of improvement. New approaches should be developed focusing not only on abiotic stress but also on epigenetic memory. This is a mechanism that can contribute to increased adaptation to changing environmental conditions.

Keywords: alfalfa, breeding, abiotic stress, epigenetic memory