



**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**  
**AGRICULTURAL UNIVERSITY OF ATHENS**

**ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ**  
**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ ΦΥΤΩΝ & ΓΕΩΡΓΙΚΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΣΜΟΥ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**  
**ΚΑΙΝΟΤΟΜΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗΝ ΑΕΙΦΟΡΙΚΗ ΓΕΩΡΓΙΑ,**  
**ΣΤΗ ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΦΥΤΩΝ & ΣΤΗΝ ΑΓΡΟΜΕΤΕΩΡΟΛΟΓΙΑ**

**Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία**

Προσδιορισμός της γενετικής παραλλακτικότητας σε διάφορα είδη οροβάγχης μέσω της HRM (High Resolution Melting) τεχνικής και άλλων μοριακών τεχνικών με σκοπό τη βελτίωση αντιμετώπισης του ολοπαράσιτου

**Ιωάννα Γ. Φώτου**

Επιβλέπουσα καθηγήτρια:  
Τάνη Ελένη, Επίκουρη Καθηγήτρια ΓΠΑ

**ΑΘΗΝΑ, 2023**

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ ΦΥΤΩΝ & ΓΕΩΡΓΙΚΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΣΜΟΥ**

**Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία**

Προσδιορισμός της γενετικής παραλλακτικότητας σε διάφορα είδη Οροβάγχης μέσω της HRM (High Resolution Melting) τεχνικής και άλλων μοριακών τεχνικών με σκοπό τη βελτίωση αντιμετώπισης του ολοπαρασίτου

Identification of genetic diversity in various species of *Orobanche* through High Resolution Melting (HRM) technique and other molecular techniques for improving holoparasite management

**Ιωάννα Γ. Φώτου**

Εξεταστική Επιτροπή:

Τάνη Ελένη, Επίκουρη Καθηγήτρια ΓΠΑ (Επιβλέπουσα)  
Καπάζογλου Αλίκη, Κύρια Ερευνήτρια ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ  
Μπεμπέλη Πηνελόπη, Καθηγήτρια ΓΠΑ

## Προσδιορισμός της γενετικής παραλλακτικότητας σε διάφορα είδη Οροβάγχης μέσω της HRM (High Resolution Melting) τεχνικής και άλλων μοριακών τεχνικών με σκοπό τη βελτίωση αντιμετώπισης του ολοπαρασίτου

ΠΜΣ Καινοτόμες Εφαρμογές στην Αειφορική Γεωργία, στη Βελτίωση Φυτών & στην Αγρομετεωρολογία  
Τμήμα Φυτικής Παραγωγής  
Εργαστήριο Βελτίωσης Φυτών & Γεωργικού Πειραματισμού

### Περίληψη

Η οροβάγχη είναι ένα ολοπαρασιτικό ζιζάνιο που συναντάται σε πολλές περιοχές του κόσμου, κυρίως όμως στην περιοχή της μεσογείου και της μέσης ανατολής. Η μελέτη του ζιζανίου αυτού είναι υψηλής σημασίας λόγω της μεγάλης οικονομικής ζημιάς που μπορεί να προκαλέσει στις καλλιέργειες που παρασιτεί και της δυνατότητας του να παραμείνει στο έδαφος για δεκαετίες σε μορφή σπόρων. Αφού φυτρώσει, η αντιμετώπιση της θεωρείται ιδιαίτερα δύσκολη, έως και αδύνατη. Όχι όλα τα είδη οροβάγχης είναι το ίδιο μολυσματικά. Λαμβάνοντας υπόψιν ότι η αναγνώριση των ειδών οροβάγχης είναι εξαιρετικά δύσκολη βασισμένοι μόνο στο φαινότυπο θα πρέπει να ληφθούν δραστικά μέτρα για την ταχεία αναγνώριση του είδους οροβάγχης, την αποτροπή μόλυνσης μελλοντικών καλλιεργειών, και τον γενικό περιορισμό της εξάπλωσης της. Ο σκοπός της δικής μας μελέτης ήταν να καταφέρουμε να ταυτοποιήσουμε τρία είδη οροβάγχης *O.cumana*, *O.ramosa*, και *O.aegyptiaca*, μέσω της τεχνικής τήξης υψηλής ανάλυσης (HRM) από δείγματα φυτικού ιστού. Η τεχνική HRM παρέχει μια ταχεία και οικονομικά αποδοτική μέθοδο για ταυτοποίηση, καθώς δεν απαιτεί αλληλούχιση των δειγμάτων ή εξειδικευμένο εξοπλισμό και μπορεί να αναγνωρίσει διαφορετικά είδη με μεγάλη ακρίβεια. Στη συγκεκριμένη μελέτη, χρησιμοποιήθηκαν εκκίνητες βασισμένοι σε τρεις γονιδιακές περιοχές, *trnL*, *rbcL*, (γονίδια πλαστιδίου) και *ITS* (γονίδιο πυρήνα). Λόγω της μεγάλης ευαισθησίας της μεθόδου HRM οι εκκίνητες σχεδιάστηκαν ώστε να μην έχουν μήκος μεγαλύτερο από 100 bp και να μην περιέχουν μεγάλες ποσότητες SNP πολυμορφισμού. Τα είδη *O.ramosa*, *O.cumana* και *O.aegyptiaca* διαφοροποιήθηκαν επιτυχώς μεταξύ τους αφού τα αποτελέσματα της ανάλυσης HRM μας παρουσίασαν διαφορετικά προφίλ τήξης για κάθε εκκίνητη. Τα αποτελέσματα της έρευνας αυτής σε συνδυασμό με άλλες μεθόδους και έρευνες μπορούν να συμβάλλουν στη δημιουργία αποτελεσματικών στρατηγικών για την πρόληψη των καλλιεργειών από πιθανούς εχθρούς καθώς επίσης και στην κατανόηση της εξελικτικής βιολογίας του παρασίτου.

**Επιστημονική περιοχή:** Γενετική Βελτίωση Φυτών

**Λέξεις κλειδιά:** Οροβάγχη, HRM, ολοπαρασίτο, ζιζάνιο, *trnL*, *rbcL*, *ITS*

# Identification of genetic diversity in various species of *Orobanche* through High Resolution Melting (HRM) technique and other molecular techniques for improving holoparasite management

*MSc Innovative Applications in Sustainable Agriculture, Plant Breeding, & Agrometeorology*  
*Department of Crop Production*  
*Laboratory of Plant Breeding & Biometry*

## Abstract

*Orobanche* is a holoparasitic weed found in many regions of the world, but mainly in the Mediterranean and Middle Eastern regions. Studying this weed is of great importance due to the significant economic damage it can cause to the crops it parasitizes and its ability to remain in the soil for decades in the form of seeds. Once it germinates, dealing with it is considered particularly challenging, if not impossible. Not all species of *Orobanche* are equally harmful. Given that identifying *Orobanche* species is extremely difficult based solely on phenotype, drastic measures need to be taken for rapid species recognition, prevention of future crop infestations, and overall containment. The purpose of our study was to successfully identify three *Orobanche* species—*O. cumana*, *O. ramosa*, and *O. aegyptiaca*—using High-Resolution Melting (HRM) analysis on plant tissue samples. HRM is a rapid and cost-effective method for identification that does not require sequencing of the sample or specialized equipment and can achieve high precision in distinguishing different species. In this particular study, primers based on three genetic regions, *trnL*, *rbcL* (plastid genes), and *ITS* (nuclear gene), were used. Due to the high sensitivity of the HRM method, the primers were designed to be no longer than 100 *bp* and to contain minimal quantities of SNP polymorphism. *O. ramosa*, *O. cumana*, and *O. aegyptiaca* were successfully differentiated from each other as the HRM analysis results presented distinct melting profiles for each primer. The results of this research, combined with other methods and studies, can contribute to the development of effective strategies for preventing crop infestations by potential threats and enhancing our understanding of the parasite's evolutionary biology.

**Scientific Area:** Plant Breeding

**Key words:** *Orobanche*, HRM, holoparasite, parasitic weed, *trnL*, *rbcL*, *ITS*

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στην καθηγήτρια και επιβλέπουσα μου, Επίκουρη Καθηγήτρια Ελένη Τάνη, για την πολύτιμη βοήθεια και την καθοδήγηση της σε όλα τα στάδια αυτής της εργασίας. Καθώς επίσης και για την εμπιστοσύνη, το ενδιαφέρον και τη συνεχή υποστήριξη που έδειξε, κάνοντας δυνατή την ολοκλήρωση της συγκεκριμένης εργασίας.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Ερευνήτρια του ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ, Δρ Αλίκη Καπάζογλου, όπως και την Καθηγήτρια Πηνελόπη Μπεμπέλη, για την βοήθεια τους και για την συμμετοχή τους στην τριμελή εξεταστική επιτροπή της παρούσας μελέτης, καθώς επίσης και τα μέλη του εργαστηρίου κ. Αναστάσιο Κατσιλέρο, Μαρία Γκούφα, και Ευαγγελία Σίμου.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω την διδάκτορα Μαρία Γερακάρη για την οργάνωση και την απaráμιλλη βοήθειά της στην μελέτη αυτή καθώς και την διδάκτορα Έφη Σαρρή.

Τέλος, θα ήθελα να πω ένα μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένεια μου, στους φίλους μου, και σε άλλα αγαπημένα μου πρόσωπα που με στήριξαν και μου συμπαραστάθηκαν όλα τα χρόνια των ακαδημαϊκών μου σπουδών.

## ΔΗΛΩΣΗ ΕΡΓΟΥ

Η κάτωθι υπογεγραμμένη, Φώτου Ιωάννα δηλώνω ότι το κείμενο της μελέτης αποτελεί δικό μου, μη υποβοηθούμενο πόνημα. Υποβάλλεται σε μερική εκπλήρωση των απαιτήσεων για την απόκτηση του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης στην «Καινοτόμες Εφαρμογές στην Αειφορική Γεωργία, στη Βελτίωση Φυτών και στην Αγρομετεωρολογία» του Τμήματος Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής, του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Δεν έχει υποβληθεί ποτέ πριν για οιοδήποτε λόγο ή για εξέταση σε οποιοδήποτε άλλο πανεπιστήμιο ή εκπαιδευτικό ίδρυμα της χώρας ή του εξωτερικού. Με την άδειά μου, η παρούσα εργασία ελέγχθηκε από την Εξεταστική Επιτροπή μέσα από λογισμικό ανίχνευσης λογοκλοπής που διαθέτει το ΓΠΑ και διασταυρώθηκε η εγκυρότητα και η πρωτοτυπία της.

**Φώτου Ιωάννα**

**Αθήνα, 22/9/2023**

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

<b>1.</b>	<b>Ο αντίκτυπος ζιζανίων στα καλλιεργούμενα είδη: Φύση και επιπτώσεις τους....</b>	<b>9</b>
1.1.	Πώς τα ζιζάνια ανταγωνίζονται τα καλλιεργούμενα είδη για πόρους;.....	10
1.2.	Ποιες είναι οι αρνητικές επιπτώσεις των ζιζανίων στα καλλιεργούμενα είδη; .....	11
<b>2.</b>	<b>Παρασιτικά ζιζάνια: Τι είναι, γιατί μπορούν να διακριθούν από τα ζιζάνια.....</b>	<b>13</b>
2.1.	Εισαγωγή στα παρασιτικά ζιζάνια .....	13
2.2.	Κύκλος ζωής παρασιτικών ζιζανίων .....	14
2.3.	Τύποι παρασιτικών ζιζανίων με βάση τον τρόπο προσκόλλησής τους.....	15
2.4.	Οικονομικός αντίκτυπος των παρασιτικών ζιζανίων .....	16
2.5.	Έλεγχος και διαχείριση παρασιτικών ζιζανίων .....	17
<b>3.</b>	<b><i>Orobanche</i> .....</b>	<b>19</b>
3.1.	Κατανομή και οικότοπος της Οροβάγχης .....	20
3.2.	Που συναντάμε την οροβάγχη .....	21
3.2.1.	Είδη Οροβάγχης.....	25
3.3.	Φυτά ξενιστές της Οροβάγχης .....	27
3.4.	Οικονομική ζημία που προκαλείται από την <i>Orobanche</i> .....	27
3.5.	Συμπέρασμα και μελλοντικές κατευθύνσεις .....	28
3.6.	Φαινοτυπική διάκριση των <i>Orobanche</i> .....	29
3.6.1.	Τι είναι η <i>Orobanche</i> , γιατί είναι σημαντικό να μελετηθεί η φαινοτυπική διάκριση; .	29
3.6.2.	Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά της <i>Orobanche</i> .....	30
3.6.3.	Τεχνικές που χρησιμοποιούνται για τη φαινοτυπική διάκριση της <i>Orobanche</i> .....	31
3.7.	Μορφολογία Οροβάγχης και βιολογικός κύκλος.....	32
3.8.	Βλάστηση σπόρων .....	35
3.8.1.	Σπόροι και τράπεζα σπόρων.....	36
3.9.	Αντιμετώπιση παρασιτικών ζιζανίων .....	40
3.9.1.	Βιολογικός έλεγχος .....	41
3.9.2.	Φυσικά προϊόντα.....	43
3.9.3.	Στριγκολακτόνες .....	45
3.10.	Βελτίωση στην αντιμετώπιση του προβλήματος .....	47
3.10.1.	Δημιουργία νέων εμπορικών υβριδίων/ποικιλιών με ανθεκτικότητα .....	47
3.10.2.	Χρήση μοριακών εργαλείων για το διαχωρισμό των φυλών .....	48
3.10.3.	Ταχεία εφαρμογή των μέτρων ελέγχου των προσβολών.....	48

<b>4.</b>	<b>Μέθοδοι ταυτοποίησης των διαφόρων φυλών Οροβάγχης.....</b>	<b>50</b>
4.1.	Μορφολογικά χαρακτηριστικά για την ταυτοποίηση της Οροβάγχης.....	50
4.2.	Μοριακές τεχνικές για την ταυτοποίηση της Οροβάγχης.....	50
4.3.	Τεχνικές χημικής ανάλυσης για την ταυτοποίηση της Οροβάγχης.....	51
4.4.	Βιολογικές τεχνικές για την ταυτοποίηση της Οροβάγχης.....	52
4.5.	Τεχνολογίες για την ταυτοποίηση της Οροβάγχης .....	53
<b>5.</b>	<b>Τήξη υψηλής ανάλυσης (HRM).....</b>	<b>55</b>
5.1.	Το HRM για τον εντοπισμό μολυσματικών φυλών της Οροβάγχης;.....	56
5.2.	Ποια είναι τα πλεονεκτήματα της χρήσης HRM .....	56
5.3.	Ποιοι είναι οι περιορισμοί του HRM στον εντοπισμό μολυσματικών φυλών Οροβάγχης; .....	58
5.4.	Ποιες προκλήσεις συνδέονται με τη χρήση HRM? .....	58
<b>6.</b>	<b>ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....</b>	<b>61</b>
6.1.	Φυτικό υλικό .....	61
6.2.	Διαδικασία λειοτρίβησης φυτικού ιστού .....	62
6.3.	Απομόνωση DNA .....	63
6.4.	Προσδιορισμός ποιότητας εξαγόμενου DNA .....	63
6.5.	Σχεδιασμός εκκινητών .....	64
6.6.	Ανάλυση τεχνικής HRM .....	66
6.7.	Προετοιμασία plate για HRM .....	68
<b>7.</b>	<b>ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....</b>	<b>69</b>
7.1.	Διαχωρισμός ειδών.....	69
<b>8.</b>	<b>ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....</b>	<b>73</b>
<b>9.</b>	<b>Βιβλιογραφία .....</b>	<b>77</b>



## 1. Ο αντίκτυπος των ζιζανίων στα καλλιεργούμενα είδη: Φύση και επιπτώσεις τους

Ως ζιζάνια ορίζονται τα ανεπιθύμητα φυτά που αναπτύσσονται σε περιοχές όπου δεν προβλέπεται να αναπτύσσονται. Έχουν διάφορα χαρακτηριστικά που καθιστούν δύσκολο τον έλεγχό τους, όπως η ταχεία ανάπτυξη και ο γρήγορος ρυθμός βελτίωσης, η προσαρμοστικότητα σε διαφορετικά περιβάλλοντα και η ικανότητα να ανταγωνίζονται άλλα φυτά για πόρους. Η κατανόηση της φύσης των ζιζανίων είναι ζωτικής σημασίας για την ανάπτυξη αποτελεσματικών στρατηγικών για τη διαχείρισή τους στους καλλιεργούμενους αγρούς.

Τα ζιζάνια μπορούν να ταξινομηθούν σε τρεις κύριες κατηγορίες: αγρωστώδη, ρείκια και πλατύφυλλα ζιζάνια (Singh *et al.*, 2022). Ενώ ορισμένα ζιζάνια μπορεί να έχουν ευεργετικές ιδιότητες, όπως φαρμακευτικές χρήσεις, τα περισσότερα θεωρούνται ενοχλητικά και μπορούν να προκαλέσουν σημαντικά προβλήματα στη γεωργία και το περιβάλλον (*Weed Physiology*, 2018). Συνεπώς, είναι σημαντικό να γίνουν κατανοητές οι αρνητικές επιπτώσεις των ζιζανίων και τη σημασία της διαχείρισης των ζιζανίων. Τα ζιζάνια μπορούν να έχουν σημαντικές αρνητικές επιπτώσεις στη γεωργία και το περιβάλλον. Τα ζιζάνια ανταγωνίζονται τις καλλιέργειες για πόρους, οδηγώντας σε μειωμένες αποδόσεις των καλλιεργειών και μειωμένη κερδοφορία για τους γεωργούς (Howard & Harley, 1997). Επιπλέον μπορούν να φιλοξενήσουν παράσιτα και ασθένειες που μπορούν να προκαλέσουν περαιτέρω ζημιές στις καλλιέργειες και μπορούν επίσης να μολύνουν τις καλλιέργειες με τους σπόρους και τα υπολείμματά τους (Mahaut *et al.*, 2020). Τα ζιζάνια μπορούν επίσης να έχουν αρνητικές επιπτώσεις στο περιβάλλον, όπως η αλλοίωση των οικοσυστημάτων και η μείωση της βιοποικιλότητας (Varanasi *et al.*, 2016). Συνεπώς, η αποτελεσματική διαχείριση των ζιζανίων είναι ζωτικής σημασίας για τη διατήρηση υγιών γεωργικών συστημάτων και τη διατήρηση του περιβάλλοντος.

Η διαχείριση των ζιζανίων περιλαμβάνει ένα συνδυασμό καλλιεργητικών, μηχανικών και χημικών μεθόδων ελέγχου. Οι καλλιεργητικές μέθοδοι ελέγχου περιλαμβάνουν πρακτικές όπως η αμειψισπορά και η εξυγίανση, οι οποίες αποσκοπούν στην πρόληψη της ανάπτυξης και της εγκατάστασης ζιζανίων (Fischer & Miles, 1973). Οι μέθοδοι μηχανικού ελέγχου περιλαμβάνουν τη φυσική απομάκρυνση των ζιζανίων, όπως με βοτάνισμα με το χέρι ή με κούρεμα (Radosevich, 1987). Οι μέθοδοι χημικού ελέγχου περιλαμβάνουν τη χρήση ζιζανιοκτόνων για την εξόντωση των ζιζανίων, αλλά οι μέθοδοι αυτές μπορεί να έχουν αρνητικές επιπτώσεις στο περιβάλλον και πρέπει να χρησιμοποιούνται προσεκτικά (Patterson, 1995). Συνολικά, η αποτελεσματική διαχείριση των

ζιζανίων είναι απαραίτητη για τη διατήρηση υγιών γεωργικών συστημάτων και τη διατήρηση του περιβάλλοντος.

### **1.1. Πώς τα ζιζάνια ανταγωνίζονται τα καλλιεργούμενα είδη για πόρους;**

Τα ζιζάνια ανταγωνίζονται τα καλλιεργούμενα είδη για βασικούς πόρους όπως το φως, το νερό και τα θρεπτικά συστατικά (Fischer & Miles, 1973). Η έρευνα έχει εντοπίσει μια ποικιλία παραγόντων που επηρεάζουν την επιτυχία του ανταγωνισμού ζιζανίων-καλλιέργειας, συμπεριλαμβανομένων βιολογικών, περιβαλλοντικών και εγγύτητας παραγόντων (Radosevich, 1987). Οι περιβαλλοντικές συνθήκες, όπως η θερμοκρασία, το φως και η διαθεσιμότητα νερού και θρεπτικών συστατικών, μπορούν να επηρεάσουν την ανταγωνιστικότητα των ειδών ζιζανίων και τον επακόλουθο αντίκτυπο στη μείωση της απόδοσης των καλλιεργειών (Patterson, 1995). Ο προσανατολισμός των καλλιεργειών είναι μια μη χημική μέθοδος διαχείρισης των ζιζανίων, η οποία μπορεί να χρησιμοποιήσει ισομεγέθη ή ορθογώνια σχήματα φύτευσης για τη μείωση της πυκνότητας των ζιζανίων (Fischer & Miles, 1973). Το χωρικό μοτίβο των καλλιεργούμενων φυτών και των ζιζανίων παίζει επίσης σημαντικό ρόλο στον ανταγωνισμό τους για πόρους (Fischer & Miles, 1973), με παράγοντες εγγύτητας που περιλαμβάνουν την πυκνότητα των φυτών, την αναλογία των ειδών και τη χωρική διάταξη μεταξύ των ατόμων (Radosevich, 1987). Διαφορετικά είδη ζιζανίων παρουσιάζουν διαφορετικά επίπεδα ανταγωνιστικότητας για βασικούς παράγοντες ανάπτυξης (Aldrich, 1987) και η υπόθεση της περιόδου διατήρησης χωρίς ζιζάνια μπορεί να βοηθήσει στην κατανόηση του ανταγωνισμού μεταξύ ορεινών καλλιεργειών και ζιζανίων (Patterson, 1995). Η παρεμβολή ζιζανίων είναι γνωστό ότι αποτελεί σημαντικό παράγοντα που επηρεάζει την απόδοση των μαύρων σπόρων, με τη μείωση της απόδοσης σε κόκκους και λάδι να συνοδεύεται από ταυτόχρονη μείωση της πρόσληψης N, P και K στους κόκκους και τους ιστούς των μαύρων σπόρων (Fischer & Miles, 1973). Επιπλέον, οι διεργασίες κάτω από το έδαφος, όπως ο ανταγωνισμός για τους εδαφικούς πόρους, είναι βασικοί παράγοντες που καθορίζουν τη δομή των φυτοκοινοτήτων και η χρήση υψηλών ποσοστών σποράς και στενών αποστάσεων μεταξύ των γραμμών μπορεί να προκαλέσει σημαντική μείωση του πολλαπλασιασμού των ζιζανίων στις καλλιέργειες (Fischer & Miles, 1973). Όλοι οι περιβαλλοντικοί παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των φυτών μπορούν να επηρεάσουν την ικανότητα των ζιζανίων και των καλλιεργειών να εκμεταλλεύονται τους περιβαλλοντικούς πόρους (Patterson, 1995) και θεωρητικά στοχαστικά μοντέλα διερευνούν τον ανταγωνισμό μεταξύ καλλιεργούμενων φυτών και ζιζανίων που

βρίσκονται τυχαία στον ίδιο αγρό (Fischer & Miles, 1973). Ως εκ τούτου, οι μελέτες του ανταγωνισμού ζιζανίων και καλλιεργειών μπορούν να προβλέψουν τις απώλειες αποδόσεων από την παρουσία ζιζανίων και να καθορίσουν τα βέλτιστα επίπεδα ή περιόδους καταπολέμησης των ζιζανίων (Radosevich, 1987).

## **1.2. Ποιες είναι οι αρνητικές επιπτώσεις των ζιζανίων στα καλλιεργούμενα είδη;**

Τα ζιζάνια έχουν τη δυνατότητα να προκαλέσουν καταστροφές στα καλλιεργούμενα είδη, οδηγώντας σε μείωση της απόδοσης και βλάβη στη λειτουργία του οικοσυστήματος (Suckling & Sforza, 2014). Ο αρνητικός αντίκτυπος των ζιζανίων στα καλλιεργούμενα είδη μπορεί να λάβει πολλές μορφές, συμπεριλαμβανομένης της μεταβολής των προτύπων διατροφής και της πρόκλησης φυσικών και βιοχημικών αλλαγών (Patterson *et al.*, 1999). Η κλιματική αλλαγή θα επηρεάσει επίσης το σθένος, την ανθεκτικότητα και τη γεωργική επίδραση των ζιζανίων (Patterson *et al.*, 1999). Η αύξηση των ατμοσφαιρικών συγκεντρώσεων CO<sub>2</sub>, για παράδειγμα, μπορεί να ευνοήσει τα είδη C3 σε σύγκριση με τα είδη C4 (Patterson *et al.*, 1999). Αυτό θα μπορούσε να οδηγήσει σε μετατόπιση των ανταγωνιστικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ ζιζανίων και καλλιεργούμενων ειδών, με αποτέλεσμα τη μείωση των αποδόσεων των καλλιεργειών. Τα ζιζάνια συνιστούν επίσης κίνδυνο λόγω της αυτοδιαιωσιζόμενης και αυτοδιασπώμενης φύσης τους (Suckling & Sforza, 2014). Η προτίμηση ενός υιοθετημένου ξενιστή (π.χ. ένα αυτοφύες είδος ή ένα καλλιεργούμενο είδος στο εισαγόμενο περιβάλλον) έναντι του αρχικού ξενιστή μπορεί να οδηγήσει σε φυλλόπτωση ή θήρευση των σπόρων, μειώνοντας την απόδοση (Suckling & Sforza, 2014). Σε ορισμένες περιπτώσεις, τα είδη ζιζανίων μπορούν επίσης να χρησιμεύσουν ως εναλλακτικοί ξενιστές για τους φυτοπαρασιτικούς νηματώδεις, επηρεάζοντας αρνητικά τα καλλιεργούμενα είδη που στοχεύουν στην καταστολή τους με διάφορες στρατηγικές διαχείρισης (Thomas *et al.*, 2005). Αυτό οφείλεται στην εξειδικευμένη διατροφική συμπεριφορά των νηματωδών, η οποία καθορίζεται από το επίπεδο εξειδίκευσης του ξενιστή που απαιτείται για την επιτυχή διατροφή του παρασίτου (Thomas *et al.*, 2005). Σε γενικές γραμμές, οι πιο εξειδικευμένες προσαρμογές διατροφής συνδέονται με μεγαλύτερες ζημιές στις καλλιέργειες, πιο ποικίλες επιλογές διαχείρισης των νηματωδών και μεγαλύτερες αρνητικές επιπτώσεις από τα ζιζάνια (Thomas *et al.*, 2005). Οι προκλήσεις που θέτουν τα παράσιτα, συμπεριλαμβανομένων των ζιζανίων, στη γεωργία θα αυξηθούν πιθανότατα στο μέλλον (Patterson *et al.*, 1999). Ως εκ τούτου, είναι σημαντικό να υιοθετηθούν στρατηγικές ολοκληρωμένης διαχείρισης επιβλαβών οργανισμών

(IPM) για την ελαχιστοποίηση των αρνητικών επιπτώσεων των ζιζανίων στα καλλιεργούμενα είδη (Thomas *et al.*, 2005).

## 2. Παρασιτικά ζιζάνια: Τι είναι και γιατί μπορούν να διακριθούν από τα ζιζάνια

### 2.1. Εισαγωγή στα παρασιτικά ζιζάνια

Τα παρασιτικά ζιζάνια είναι ένα είδος φυτού που βασίζεται σε ένα φυτό ξενιστή για την επιβίωση και την ανάπτυξή του. Σε αντίθεση με τα τυπικά ζιζάνια, τα οποία αναπτύσσονται ανεξάρτητα και ανταγωνίζονται με άλλα φυτά για πόρους, τα παρασιτικά ζιζάνια προσκολλώνται σε άλλα φυτά και αντλούν θρεπτικά συστατικά και νερό από αυτά. Τα παρασιτικά ζιζάνια διαθέτουν εξειδικευμένες δομές που ονομάζονται haustoria, οι οποίες τους επιτρέπουν να διεισδύουν στους ιστούς του φυτού-ξενιστή και να δημιουργούν μια σύνδεση για την πρόσληψη θρεπτικών συστατικών (Smith & Waters, 2012). Τα φυτά αυτά μπορούν να προκαλέσουν σημαντικές ζημιές στις καλλιέργειες, οδηγώντας σε μειωμένες αποδόσεις και οικονομικές απώλειες (Fernández-Aparicio *et al.*, 2020).

Μερικά παραδείγματα παρασιτικών ζιζανίων είναι η *Striga sp.*, η *Orobanche sp.* και η *Cuscuta sp.* (Smith & Waters, 2012). Η *Striga*, γνωστή και ως μαγισσούλα, είναι ένα ιδιαίτερα καταστροφικό παρασιτικό ζιζάνιο που προσβάλλει ένα ευρύ φάσμα καλλιεργειών, όπως ο αραβόσιτος, το σόργο και το ρύζι (Parker, 2012). Η *Orobanche*, είναι ένα άλλο παρασιτικό ζιζάνιο που μπορεί να προκαλέσει σημαντικές ζημιές σε καλλιέργειες όπως η τομάτα και ο ηλιάνθος (Dor & Goldwasser, 2022). Το γένος *Cuscuta sp.* ή *dodder*, είναι ένα παρασιτικό ζιζάνιο που προσβάλλει διάφορες καλλιέργειες πλατύφυλλων (Brittanica, 2023). Είναι σημαντικό να κατανοήσουμε τα χαρακτηριστικά και τη συμπεριφορά αυτών των παρασιτικών ζιζανίων προκειμένου να διαχειριστούμε αποτελεσματικά τις επιπτώσεις τους στις καλλιέργειες και να αποτρέψουμε τις οικονομικές απώλειες (Fernández-Aparicio *et al.*, 2020).

Η σημασία της κατανόησης των παρασιτικών ζιζανίων έγκειται στη δυνατότητά τους να προκαλούν σημαντικές ζημιές στις καλλιέργειες και να μειώνουν τις αποδόσεις. Τα παρασιτικά ζιζάνια μπορούν να προκαλέσουν στρες ξηρασίας και καχεκτική ανάπτυξη στα φυτά ξενιστές, οδηγώντας σε μειωμένη παραγωγικότητα των καλλιεργειών (Brittanica, 2023). Επιπλέον, τα παρασιτικά ζιζάνια μπορεί να είναι δύσκολο να ελεγχθούν λόγω της γενετικής και φυσιολογικής σύνδεσής τους με τους ξενιστές τους (Smith & Waters, 2012). Ως εκ τούτου, είναι ζωτικής σημασίας για τους γεωργούς και τους ερευνητές να γνωρίζουν τα χαρακτηριστικά των παρασιτικών ζιζανίων και να αναπτύξουν αποτελεσματικές στρατηγικές για τη διαχείρισή τους (Dor & Goldwasser, 2022). Συνολικά, η κατανόηση των παρασιτικών ζιζανίων είναι απαραίτητη

για τη διατήρηση της υγιούς φυτικής παραγωγής και την πρόληψη των οικονομικών απωλειών στη γεωργία (Parker, 2012).

## 2.2. Κύκλος ζωής παρασιτικών ζιζανίων

Τα παρασιτικά ζιζάνια διαφέρουν από άλλα είδη ζιζανίων λόγω του μοναδικού κύκλου ζωής τους. Ο κύκλος ζωής των παρασιτικών ζιζανίων μπορεί να χωριστεί σε τρία στάδια: βλάστηση και προσκόλληση, διεισδυση και εγκατάσταση και ανάπτυξη και βελτίωση (Brun *et al.*, 2020). Στο πρώτο στάδιο, τα παρασιτικά ζιζάνια αντιλαμβάνονται το φυτό ξενιστή τους μέσω χημικών σημάτων και προσκολλώνται στον ξενιστή (Fernández-Aparicio, Reboud, *et al.*, 2016). Μόλις προσκολληθεί, το παρασιτικό ζιζάνιο διεισδύει στον ιστό του φυτού ξενιστή χρησιμοποιώντας εξειδικευμένες δομές που ονομάζονται haustoria, οι οποίες του επιτρέπουν να αποσπά θρεπτικά συστατικά και νερό από τον ξενιστή (Scott & Freckleton, 2022). Στο τελικό στάδιο, το παρασιτικό ζιζάνιο αναπτύσσεται και αναπαράγεται, παράγοντας συχνά μεγάλες ποσότητες σπόρων που μπορούν να εξαπλωθούν σε άλλα φυτά ξενιστές (Beck, 2023; Lanini, 2010).

Επειδή τα παρασιτικά ζιζάνια βασίζονται σε άλλα φυτά για την επιβίωσή τους, μπορούν να προκαλέσουν σημαντικές ζημιές στις καλλιέργειες και σε άλλη βλάστηση. Ο έλεγχος των παρασιτικών ζιζανίων μπορεί να είναι δύσκολος, καθώς υπάρχουν λίγες πηγές ανθεκτικότητας των καλλιεργειών και οι μέθοδοι ελέγχου μπορεί να είναι δύσκολο να εφαρμοστούν (Fernández-Aparicio *et al.*, 2020). Τα παρασιτικά ζιζάνια των ριζών είναι ιδιαίτερα επιζήμια για τις ετήσιες καλλιέργειες και μπορούν να μειώσουν σημαντικά τη συγκομιδή των καλλιεργειών (Fernández-Aparicio *et al.*, 2020; Rubiales *et al.*, 2018). Σε χώρες όπου οι αγρότες είναι φτωχοί και δεν μπορούν να αγοράσουν ακριβούς σπόρους, τα παρασιτικά ζιζάνια μπορεί να έχουν σημαντικό αντίκτυπο στην επισιτιστική ασφάλεια (Smith & Waters, 2012).

Παρά τις προκλήσεις που θέτουν τα παρασιτικά ζιζάνια, οι ερευνητές προσπαθούν να κατανοήσουν καλύτερα τον κύκλο ζωής τους και να αναπτύξουν αποτελεσματικές μεθόδους ελέγχου. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι τα παρασιτικά ζιζάνια χρησιμοποιούν μόρια που κωδικοποιούνται από τον ξενιστή για να ενεργοποιήσουν διάφορα στάδια της ανάπτυξης του παρασίτου, υπογραμμίζοντας τη σημασία των παραγόντων του ξενιστή στην ανάπτυξη του παρασίτου (Yoder & Scholes, 2010). Επιπλέον, έρευνες έχουν δείξει ότι τα παρασιτικά φυτά διαθέτουν μηχανισμούς αναγνώρισης της παρουσίας γειτονικών φυτών, οι οποίοι μπορούν να τα

βοηθήσουν να εξασφαλίσουν την επιβίωση και την βελτίωσή τους (Brittanica, 2023). Με την κατανόηση του κύκλου ζωής και της συμπεριφοράς των παρασιτικών ζιζανίων, οι ερευνητές μπορούν να αναπτύξουν πιο αποτελεσματικές στρατηγικές για τον έλεγχο της εξάπλωσής τους και την ελαχιστοποίηση των επιπτώσεών τους στις καλλιέργειες και άλλη βλάστηση.

### 2.3. Τύποι παρασιτικών ζιζανίων με βάση τον τρόπο προσκόλλησής τους

Τα παρασιτικά ζιζάνια μπορούν να κατηγοριοποιηθούν με βάση τον τρόπο προσκόλλησής τους στο φυτό ξενιστή. Τα παράσιτα των ριζών είναι ένας τύπος παρασιτικού ζιζανίου που προσκολλώνται στις ρίζες του φυτού ξενιστή τους και αντλούν τα θρεπτικά τους συστατικά από αυτές. Αυτά τα παράσιτα είναι εξειδικευμένα στη διατροφή και χρησιμοποιούν ειδικά όργανα που ονομάζονται *haustoria* για να διεισδύσουν στις ρίζες του φυτού ξενιστή και να αποσπάσουν θρεπτικά συστατικά (Fernández-Aparicio, Reboud, *et al.*, 2016). Παραδείγματα παρασίτων των ριζών είναι τα *Orobanche* και *Phelipanche*, τα οποία είναι μέλη της οικογένειας *Orobanchaceae*, και η *Striga*, η οποία αποτελεί σημαντικό παράσιτο καλλιεργειών όπως το σόργο και ο αραβόσιτος (ECHOcommunity). Τα παράσιτα των ριζών μπορούν να προκαλέσουν σημαντικές ζημιές στις καλλιέργειες και αποτελούν μείζονα ανησυχία για τους αγρότες.

Τα παράσιτα στελέχους είναι ένας άλλος τύπος παρασιτικού ζιζανίου που προσκολλώνται στο στέλεχος του φυτού ξενιστή τους και αντλούν θρεπτικά συστατικά από αυτό. Παραδείγματα παρασίτων στελέχους περιλαμβάνουν το *Cuscuta*, κοινώς γνωστό ως ξερόχορτο, το οποίο δεν έχει ρίζες ή φύλλα και αντ' αυτού αναγνωρίζεται από τους κίτρινους ή πορτοκαλί μίσχους του που έχουν μια χορδή, που μοιάζει με τρίχες (Beck, 2023). Το *Cuscuta* είναι ένα ολικό παράσιτο βλαστών που αντλεί όλα τα θρεπτικά συστατικά του από το φυτό ξενιστή. Άλλα παραδείγματα βλαστοπαρασίτων είναι η *Rafflesia* και η οικογένεια *Hydnoraceae*, τα οποία θεωρούνται ολοπαρασίτα, καθώς δεν έχουν χλωροφύλλη και εξαρτώνται πλήρως από το φυτό ξενιστή τους για την επιβίωσή τους (Smith & Waters, 2012).

Τα παράσιτα των φύλλων είναι ένας λιγότερο συνηθισμένος τύπος παρασιτικών ζιζανίων που προσκολλώνται στα φύλλα του φυτού-ξενιστή τους και αντλούν θρεπτικά συστατικά από αυτά. Παραδείγματα παρασίτων φύλλων περιλαμβάνουν το είδος *Orobanche ramosa*, το οποίο είναι ένα προαιρετικό παράσιτο που μπορεί να προσκολληθεί τόσο στις ρίζες όσο και στα φύλλα του φυτού-ξενιστή του (Parker, 2012). Ένα άλλο παράδειγμα είναι το είδος *Cuscuta campestris*, το οποίο είναι ένα μερικό παράσιτο των φύλλων που αντλεί μέρος των θρεπτικών συστατικών του

από τα φύλλα του φυτού-ξενιστή (Fernández-Aparicio *et al.*, 2020). Παρόλο που τα παράσιτα των φύλλων είναι λιγότερο συχνά από τα παράσιτα των ριζών και των βλαστών, εξακολουθούν να προκαλούν ζημιές στις καλλιέργειες και σε άλλα φυτά.

#### **2.4. Οικονομικός αντίκτυπος των παρασιτικών ζιζανίων**

Τα παρασιτικά ζιζάνια έχουν σημαντικό οικονομικό αντίκτυπο λόγω της ικανότητάς τους να προκαλούν απώλειες στις καλλιέργειες και να μειώνουν την απόδοση. Οι αγρότες στις αναπτυσσόμενες χώρες είναι ιδιαίτερα ευάλωτοι στις καταστροφικές συνέπειες των παρασιτικών ζιζανίων, οι οποίες μπορούν να οδηγήσουν σε σημαντικές μειώσεις των αποδόσεων των καλλιεργειών (Smith & Waters, 2012). Η μόλυνση από ορισμένα ημιπαρασιτικά ζιζάνια, όπως η *Striga*, μπορεί να προκαλέσει μείωση της βιομάζας της καλλιέργειας μεγαλύτερη από τη βιομάζα που συσσωρεύεται από το παράσιτο, με αποτέλεσμα την ολική αποτυχία της καλλιέργειας και μέσες απώλειες 10 έως 40% (Fernández-Aparicio *et al.*, 2020; Parker, 2012). Αυτό μπορεί να έχει σημαντικό αντίκτυπο στα μέσα διαβίωσης των γεωργών και των οικογενειών τους, καθώς και στην τοπική οικονομία.

Το κόστος της καταπολέμησης των παρασιτικών ζιζανίων μπορεί επίσης να είναι σημαντικό. Υπάρχουν λίγες πηγές ανθεκτικότητας των καλλιεργειών και ο έλεγχος των παρασιτικών ζιζανίων μπορεί να είναι δύσκολος λόγω της δυσκολίας εφαρμογής μεθόδων ελέγχου (Fernández-Aparicio *et al.*, 2020). Η μειωμένη χρήση ζιζανιοκτόνων και η διατήρηση της παραγωγικότητας των καλλιεργειών απαιτούν επανασχεδιασμό του ελέγχου των ζιζανίων και άλλων δαπανών εισροών, όπως σπόροι και λιπάσματα (Colbach *et al.*, 2020; Lingenfelter, 2023). Τα παρασιτικά ζιζάνια επηρεάζουν δυσανάλογα τη γεωργία διαβίωσης στις αναπτυσσόμενες χώρες, επιδεινώνοντας την επισιτιστική ανασφάλεια και επιδεινώνοντας τη φτώχεια (Scott & Freckleton, 2022). Η έλλειψη καθιερωμένων μεθόδων καταπολέμησης και οι ζημιές που προκαλούν τα παρασιτικά ζιζάνια σε σημαντικές γεωργικές καλλιέργειες παγκοσμίως έχουν ως αποτέλεσμα μεγάλες οικονομικές απώλειες (Khawar, 2017; Scott & Freckleton, 2022).

Ο αντίκτυπος των παρασιτικών ζιζανίων στην επισιτιστική ασφάλεια αποτελεί μείζονα ανησυχία. Τα παρασιτικά ζιζάνια προκαλούν στρες ξηρασίας και καχεξία στις καλλιέργειες, επηρεάζοντας τα σιτηρά όπως το σόργο και ο αραβόσιτος (ECHOcommunity). Η μείωση των αποδόσεων των καλλιεργειών λόγω των παρασιτικών ζιζανίων μπορεί να οδηγήσει σε έλλειψη τροφίμων και υποσιτισμό, ιδίως στις αναπτυσσόμενες χώρες όπου επικρατεί η γεωργία διαβίωσης.



Έχει διαπιστωθεί ότι η χωρική και χρονική διαφοροποίηση των καλλιεργειών έχει σημαντική επίδραση στη μείωση της πυκνότητας των παρασιτικών ζιζανίων (Scott & Freckleton, 2022). Ως εκ τούτου, είναι ζωτικής σημασίας η ανάπτυξη αποτελεσματικών και βιώσιμων μεθόδων για τον έλεγχο των παρασιτικών ζιζανίων για τη διασφάλιση της επισιτιστικής ασφάλειας και της βιώσιμης γεωργίας.

## 2.5. Έλεγχος και διαχείριση παρασιτικών ζιζανίων

Τα παρασιτικά ζιζάνια είναι ένας μοναδικός τύπος ζιζανίων που διαφέρουν από τα άλλα ζιζάνια ως προς την ικανότητά τους να διεισδύουν στις ρίζες των φυτών ξενιστών και να αντλούν θρεπτικά συστατικά και νερό από αυτά. Αυτό τα καθιστά ιδιαίτερα δύσκολη την καταπολέμηση και τη διαχείρισή τους, καθώς μπορούν να προκαλέσουν σημαντικές ζημιές στις καλλιέργειες και να οδηγήσουν σε σημαντικές οικονομικές απώλειες (Dor & Goldwasser, 2022). Οι μέθοδοι βιολογικής καταπολέμησης έχουν αποδειχθεί αποτελεσματικές στην καταστολή των ριζοπαρασιτικών ζιζανίων σε ετήσιες καλλιέργειες (Sauerborn *et al.*, 2007). Πρόκειται για τη χρήση φυσικών εχθρών, όπως έντομα και μύκητες, για τον έλεγχο της ανάπτυξης και της εξάπλωσης των παρασιτικών ζιζανίων. Ωστόσο, η επιτυχία των μεθόδων βιολογικής καταπολέμησης μπορεί να περιοριστεί από τη διαθεσιμότητα και την εξειδίκευση των φυσικών εχθρών.

Οι μέθοδοι χημικής καταπολέμησης είναι μια άλλη προσέγγιση που χρησιμοποιείται για τη διαχείριση των παρασιτικών ζιζανίων. Ο πιο επιτυχημένος χημικός έλεγχος ενός παρασιτικού ζιζανίου έχει επιτευχθεί με το *imazapic*, ένα ζιζανιοκτόνο που είναι επιλεκτικό για το φυτό ξενιστή και δεν βλάπτει το παρασιτικό ζιζάνιο (Okazawa 2022). Ωστόσο, η χρήση ζιζανιοκτόνων μπορεί να έχει αρνητικές περιβαλλοντικές επιπτώσεις και η ανάπτυξη ζιζανιοκτόνων ανθεκτικών στα ζιζανιοκτόνα παρασιτικών ζιζανίων μπορεί να περιορίσει την αποτελεσματικότητά τους. Οι στρατηγικές ολοκληρωμένης διαχείρισης παρασίτων (ΟΠΜ), οι οποίες συνδυάζουν διαφορετικές μεθόδους ελέγχου, μπορούν να είναι αποτελεσματικές στη διαχείριση των παρασιτικών ζιζανίων (IPM, 2022). Οι καλλιεργητικές πρακτικές, όπως η αμειψισπορά και η χρήση ανθεκτικών ποικιλιών καλλιεργειών, μπορούν επίσης να βοηθήσουν στην πρόληψη της ανάπτυξης και εξάπλωσης των παρασιτικών ζιζανίων (Smith & Waters, 2012).

Ο αποτελεσματικός έλεγχος και η διαχείριση των παρασιτικών ζιζανίων απαιτεί μια ολοκληρωμένη κατανόηση της βιολογίας και της οικολογίας τους. Η παρακολούθηση και ο

εντοπισμός των παρασίτων είναι ένα σημαντικό πρώτο βήμα σε κάθε στρατηγική καταπολέμησης αυτών (Frank *et al.*, 2022). Επιπλέον, τα ζιζάνια και τα αγρωστώδη μπορεί να φιλοξενούν τόσο παράσιτα όσο και ωφέλιμα έντομα, οπότε είναι σημαντικό να εξεταστούν οι πιθανές επιπτώσεις των πρακτικών διαχείρισης των ζιζανίων στους συνολικούς πληθυσμούς των παρασίτων (Frank *et al.*, 2022). Με τη συνεχή έρευνα και ανάπτυξη, μπορούν να καθιερωθούν νέες επιστημονικά τεκμηριωμένες στρατηγικές ελέγχου για την αποτελεσματική διαχείριση και τον έλεγχο των παρασιτικών ζιζανίων σε γεωργικά περιβάλλοντα (Okazawa 2022).

### 3. *Orobanche*

Το γένος *Orobanche*, κοινώς γνωστό ως *οροβάγγη*, είναι ένα γένος παρασιτικών φυτών που μολύνουν τις ρίζες διαφόρων καλλιεργειών και άλλων φυτών. Είναι ριζο-ολοπαράσιτο, που σημαίνει ότι εξαρτάται πλήρως από το φυτό ξενιστή για τις διατροφικές του απαιτήσεις και μπορεί να προκαλέσει σοβαρές ζημιές στο φυτό ξενιστή (Fernández-Aparicio, Flores, *et al.*, 2016). Το γένος *Orobanche* συναντάται συχνότερα στη Μέση Ανατολή και έχει ευρύ φάσμα ξενιστών, συμπεριλαμβανομένων πολλών οικονομικά σημαντικών καλλιεργειών (Wikipedia, 2023). Ένα από τα πιο μολυσματικά είδη *Orobanche* είναι το *Orobanche ramosa*, γνωστό και ως σκουπόχορτο κάνναβης, το οποίο μπορεί να προκαλέσει σημαντικές απώλειες εάν αφεθεί ανεξέλεγκτο (Britannica, 2023).

Η μελέτη της *Orobanche* είναι σημαντική λόγω της οικονομικής ζημίας που μπορεί να προκαλέσει στις καλλιέργειες. Μετά τη μόλυνση, η *Orobanche* μπορεί να προκαλέσει ορατές ζημιές στα φυτά ξενιστές, συμπεριλαμβανομένης της μάρανσης, της μείωσης των συστάδων, της πτώσης των ανθέων και της σοβαρής απώλειας απόδοσης (Negewo *et al.*, 2022). Πρόκειται για ένα σοβαρό παράσιτο των ριζών που απειλεί το εισόδημα των γεωργών και μπορεί να έχει καταστροφικές συνέπειες στις καλλιέργειες (Habimana *et al.*, 2014). Για παράδειγμα, το *Orobanche crenata* προσβάλλει τα ψυχανθή, περιπλέκοντας την ένταξή τους στα συστήματα καλλιέργειας κατά μήκος της περιοχής της Μεσογείου και της Δυτικής Ασίας (Fernández-Aparicio, Flores, *et al.*, 2016).

Η ιστορία της *Orobanche* χρονολογείται από την αρχαιότητα, με αναφορές στο παρασιτικό φυτό να συναντώνται στην ελληνική και ρωμαϊκή γραμματεία (Britannica, 2023). Ωστόσο, μόλις τον 20ό αιώνα διεξήχθησαν σημαντικές έρευνες σχετικά με το *Orobanche* και τις επιπτώσεις του στις καλλιέργειες. Σήμερα, είναι σημαντικό να συνεχιστεί η μελέτη της *Orobanche* για την ανάπτυξη αποτελεσματικών μέτρων ελέγχου και την αποτροπή περαιτέρω ζημιών στις καλλιέργειες (Cartry *et al.*, 2021). Με την κατανόηση της βιολογίας και της οικολογίας της *Orobanche*, οι ερευνητές μπορούν να αναπτύξουν βιώσιμες στρατηγικές διαχείρισης που μειώνουν τη χρήση επιβλαβών χημικών ουσιών και προάγουν την ανάπτυξη υγιών καλλιεργειών (Eizenberg *et al.*, 2002).

### 3.1. Κατανομή και οικότοπος της Οροβάγχης

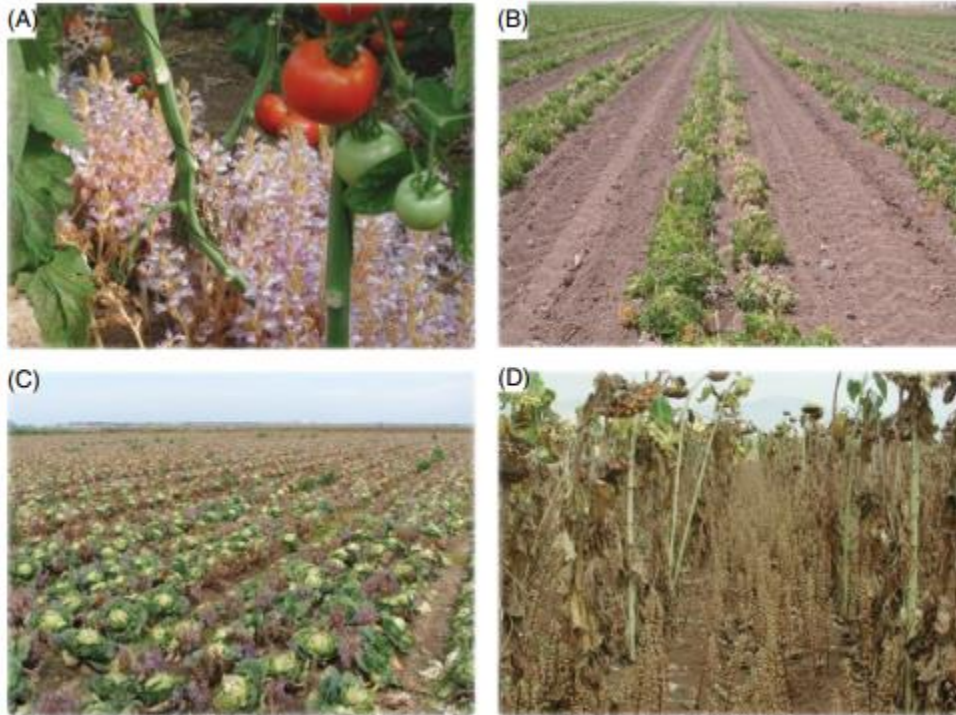
Η *Orobanchae* είναι ένα παρασιτικό φυτό που συναντάται σε διάφορες περιοχές σε όλο τον κόσμο. Αυτό το παράσιτο είναι πιο κοινό στη Μέση Ανατολή, αλλά μπορεί επίσης να βρεθεί στην Ευρώπη, την Αφρική και την Ασία (Lu Zhang *et al.*, 2022). Η *Orobanchae* έχει ευρύ φάσμα ξενιστών, παρασιτώντας πολλές οικονομικά σημαντικές καλλιέργειες, όπως τα όσπρια, τα λαχανικά και οι καλλιέργειες αγρού (Eizenberg *et al.*, 2002; Science.gov, 2023). Μεταξύ αυτών, το *Orobanchae crenata* αποτελεί σημαντική απειλή για τα ψυχανθή στην περιοχή της Μεσογείου και της Δυτικής Ασίας (Fernández-Aparicio, Flores, *et al.*, 2016). Η *Orobanchae ramosa*, είναι ένα άλλο επιβλαβές παράσιτο που μπορεί να προκαλέσει σημαντικές απώλειες εάν δεν ελεγχθεί (Britannica, 2023). Οι οικονομικές ζημιές που προκαλεί η *Orobanchae* την καθιστούν άξια μελέτης για την ανάπτυξη αποτελεσματικών στρατηγικών διαχείρισης.

Η *Orobanchae* προτιμά να αναπτύσσεται σε περιοχές με μεσογειακό κλίμα, όπου τα καλοκαίρια είναι ξηρά και ζεστά και οι χειμώνες ήπιοι και υγροί (Wikipedia, 2023). Συνήθως συναντάται σε εδάφη με χαμηλή περιεκτικότητα σε θρεπτικά συστατικά και οργανική ουσία (Science.gov, 2023). Ο προτιμώμενος βίοτοπος της *Orobanchae* περιλαμβάνει χωράφια, βοσκοτόπια και άλλες γεωργικές εκτάσεις όπου καλλιεργούνται τα φυτά ξενιστές του (Wikipedia, 2023). Ωστόσο, η κατανομή της *Orobanchae* επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, όπως η κλιματική αλλαγή, οι αλλαγές στη χρήση γης και η εισαγωγή νέων φυτών ξενιστών (Lu Zhang *et al.*, 2022). Η κατανόηση αυτών των παραγόντων είναι ζωτικής σημασίας για την ανάπτυξη αποτελεσματικών στρατηγικών διαχείρισης της *Orobanchae*.

Η *Orobanchae* αποτελεί σοβαρή απειλή για τη φυτική παραγωγή, προκαλώντας σημαντική οικονομική ζημία στους αγρότες. Είναι ένα υποχρεωτικό παράσιτο που μολύνει το ριζικό σύστημα των φυτών-ξενιστών του, οδηγώντας σε μείωση της απόδοσης και της ποιότητας (Eizenberg *et al.*, 2002). Τα ζιζάνια *Broomrape*, συμπεριλαμβανομένων των ειδών *Orobanchae* και *Phelipanche*, διαθέτουν ακραία ανταγωνιστική ικανότητα έναντι των καλλιεργειών, γεγονός που καθιστά δύσκολο τον έλεγχό τους (Fernández-Aparicio, Flores, *et al.*, 2016). Ο μακροπρόθεσμος αντίκτυπος της *Orobanchae* στη φυτική παραγωγή μπορεί να είναι καταστροφικός, απειλώντας το εισόδημα των αγροτών (Habimana *et al.*, 2014). Ως εκ τούτου, η μελέτη της *Orobanchae* και η ανάπτυξη αποτελεσματικών στρατηγικών διαχείρισης είναι ζωτικής σημασίας για τη διασφάλιση της βιώσιμης παραγωγής καλλιεργειών και της επισιτιστικής ασφάλειας.

### 3.2. Που συναντάμε την οροβάγχη

Τα *Phelipanche* και *Orobanchae*, έχουν αναγνωρισθεί ως αιτιολογικοί παράγοντες σημαντικών απωλειών σε σημαντικές γεωργικές παραγωγές (βλ. Εικόνα 3.1). Σύμφωνα με τον Parker (2009) και σχετικές πηγές, επτά είδη ζιζανίων θεωρούνται σημαντικά στην Ευρώπη και τη Βόρεια Αφρική λόγω της σοβαρότητας και της κατανομής τους.



Εικόνα 3.1: *Phelipanche aegyptiaca* που παρασιτεί: (Α) Σε τομάτες που καλλιεργούνται σε θερμοκήπιο- (Β) ανοιχτό χωράφι τομάτες και (Γ) λάχανο. (Δ) *Orobanchae cumana* που παρασιτεί στον ηλιάνθο. (Vurro et al., 2017)

Τα είδη αυτά περιλαμβάνουν τα *P. ramosa*, *P. aegyptiaca*, *O. crenata*, *O. cumana*, *O. foetida*, *O. cernua* και *O. minor*. Παρ' όλα αυτά, είναι εύλογο ότι ορισμένα έθνη ενδέχεται να υποτιμούν τον επιπολασμό και την εξάπλωση των παρασιτικών ζιζανίων λόγω ανεπαρκών ερευνών που διεξάγονται σε καλλιέργειες μικρότερης σημασίας ή λόγω του ότι οι γεωργοί επιλέγουν να εγκαταλείψουν καλλιέργειες ευαίσθητες στη μόλυνση στις πληγείσες περιοχές, παρακάμπτοντας έτσι την απειλή της παρασιτικής μόλυνσης. Το *Phelipanche ramosa* δείχνει προτίμηση στην παρασιτοποίηση καλλιεργειών *Solanaceae*, όπως η τομάτα, η πατάτα και ο καπνός, αν και παρασιτεί επίσης σε μικρότερο βαθμό μια ποικιλία άλλων καλλιεργειών. Η ελαιοκράμβη, το λάχανο και η κάνναβη παρουσιάζουν σήμερα αυξανόμενες προσβολές.

Σύμφωνα με τον Parker (1994), το 1986, περίπου 15.000 εκτάρια καλλιεργειών τομάτας στην Ελλάδα πιστεύεται ότι είχαν προσβληθεί από την προσβολή, που αντιστοιχούσε περίπου στο

30% της συνολικής έκτασης. Η προσβολή είχε ως αποτέλεσμα μια μέση απώλεια απόδοσης της τάξης του 25%. Το *Phelipanche ramosa* έχει καταγραφεί σε διάφορες χώρες πέραν της αυτόχθονης περιοχής του γύρω από τη Μεσόγειο. Το *Phelipanche aegyptiaca* έχει εύρος ξενιστών συγκρίσιμο με εκείνο του *P. ramosa*, αν και με σχετικά πιο ανατολική κατανομή. Η γεωγραφική κατανομή του φαινομένου αυτού περιλαμβάνει διάφορες περιοχές της Ευρώπης, συμπεριλαμβανομένης της Ελλάδας, της Τουρκίας και της περιοχής της Μαύρης Θάλασσας, καθώς και διάφορες μεσογειακές χώρες, όπως η Συρία, ο Λίβανος, το Ισραήλ και η Αίγυπτος. Οι κύριες καλλιέργειες που επηρεάζονται περιλαμβάνουν την οικογένεια *Solanaceae*, την ελαιοκράμβη, τον ηλίανθο, το ρεβίθι και τον βίκο. Η συχνότητα των προσβολών στα Cucurbitaceae από το συγκεκριμένο είδος είναι υψηλότερη σε σύγκριση με εκείνη του *P. ramosa*. Ο οικονομικός αντίκτυπος της *Orobanchae crenata* είναι σημαντικότερος στο φασόλι faba. Σύμφωνα με την αξιολόγηση του Sauerborn (1991), η εκτιμώμενη προσβεβλημένη έκταση στο Μαρόκο, την Πορτογαλία, την Ισπανία και τη Συρία ήταν περίπου 180.000 εκτάρια, που αντιστοιχεί στο 50-70% της συνολικής καλλιεργούμενης γης στις χώρες αυτές. Επιπλέον, αναφέρθηκαν απώλειες απόδοσης 33% στην Αίγυπτο, 50-100% στη Μάλτα και 30-70% στην Τουρκία. Το *Orobanchae crenata* είναι γνωστό ότι προκαλεί σημαντικές μολύνσεις στα ψυχανθή σε πολλές χώρες που βρίσκονται στη λεκάνη της Μεσογείου. Σε ολόκληρη τη Μεσόγειο και τη Δυτική Ασία, εκτιμάται ότι περισσότερα από 4 εκατομμύρια εκτάρια ψυχανθών απειλούνται από το *Orobanchae crenata* και άλλα είδη *Orobanchae*.

Τα μπιζέλια, οι φακές, τα ρεβίθια, ο μαϊντανός και τα καρότα είναι μεταξύ των καλλιεργειών που επηρεάζονται σοβαρά. Το *Orobanchae cumanana* αποτελεί σημαντικό βιολογικό εμπόδιο για την καλλιέργεια ηλίανθου, με ιδιαίτερη επικράτηση σε περιοχές όπως η Ρωσία, η Ουκρανία, η Μολδαβία, η Ρουμανία, η Τουρκία, η Βουλγαρία, η Ισπανία, το Ισραήλ και η Ουγγαρία. Ωστόσο, έχει επίσης παρατηρηθεί σε περιοχές όπως η Συρία, η Αίγυπτος και κατά μήκος της ακτογραμμής της Βόρειας Αφρικής. Σύμφωνα με μια μελέτη που διεξήχθη από τους García-Torres *et al.* το 1991, εκτιμήθηκε ότι περισσότερα από 40.000 εκτάρια επηρεάστηκαν στην Ισπανία, με αποτέλεσμα να εγκαταλειφθεί τοπικά η καλλιέργεια ηλίανθου λόγω του εν λόγω προβλήματος. Στην Ελλάδα, συνολικά 10.000 εκτάρια καλλιέργειας ηλίανθου επηρεάστηκαν από μέτριες έως σοβαρές προσβολές, με αποτέλεσμα τη μείωση της απόδοσης κατά περίπου 60%. Ομοίως, στην Τουρκία, παρά την εφαρμογή ανθεκτικών ποικιλιών, πάνω από το 50% της καλλιεργούμενης έκτασης παρουσίασε μέτριες προσβολές. Σύμφωνα με την έρευνα του Sauerborn (1991), υπήρξε μείωση 37% στην έκταση καλλιέργειας ηλίανθου στην πρώτην Γιουγκοσλαβία πριν

από την εφαρμογή ανθεκτικών ποικιλιών. Εκτεταμένες έρευνες έχουν διεξαχθεί σχετικά με το *Orobanche cumana* στον ηλίανθο με στόχο την βελτίωση ανθεκτικών ή ανεκτικών ποικιλιών, οδηγώντας σε προσωρινό μετριασμό του προβλήματος. Η εμφάνιση ιδιαίτερα παθογόνων στελεχών του παρασίτου που είναι ικανά να υπερνικήσουν την ανθεκτικότητα υπογραμμίζει την ανάγκη για συνεχείς προσπάθειες επιλογής και βελτίωσης. Το *Orobanche foetida* έχει καταγραφεί εδώ και αρκετά χρόνια στη δυτική περιοχή της Βόρειας Αφρικής και της Νότιας Ευρώπης. Ωστόσο, η εμφάνισή του ως αξιοσημείωτο ζήτημα σε καλλιέργειες όπως η φάβα *faba*, το ρεβίθι και ο βίκος στην Τυνησία έχει αναφερθεί μόλις πρόσφατα. Η επικράτηση του φαινομένου αυτού στα γειτονικά έθνη που βρίσκονται κατά μήκος της δυτικής περιοχής της Μεσογείου προκαλεί ανησυχία, δεδομένου ότι επί του παρόντος περιορίζεται σε μη καλλιεργούμενους ξενιστές. Το *Orobanche cernua* εμφανίζει υψηλό βαθμό εξειδίκευσης ως προς τους ξενιστές, παρασιτώντας κυρίως μέλη της οικογένειας *Solanaceae*, συμπεριλαμβανομένων ενδεικτικά της τομάτας, του καπνού, της πιπεριάς και της μελιτζάνας. Η κατανομή του αντικειμένου περιλαμβάνει περιοχές που εκτείνονται από τη νότια και ανατολική Ευρώπη και τη βόρεια Αφρική, καθώς και επεκτείνονται στην Ασία και την Αυστραλία. Το *Orobanche cernua*, ένα παρασιτικό φυτικό είδος, έχει παρατηρηθεί ότι παρασιτεί σε καλλιέργειες καπνού και τομάτας σε διάφορες περιοχές, όπως το Πακιστάν, η Ινδία, το Νεπάλ, το Ιράν, η Αραβική Χερσόνησος και η Αίγυπτος. Σύμφωνα με τον Parker (1994), οι καλλιέργειες καπνού μπορεί να παρουσιάσουν απώλειες απόδοσης που κυμαίνονται από 25% έως 50%, οι οποίες εξαρτώνται από τη σοβαρότητα και τη διάρκεια της προσβολής, καθώς και από την παρουσία εδαφικής υγρασίας. Σε σύγκριση με άλλα είδη Οροβάγχης, το *Orobanche minor* παρουσιάζει ένα σχετικά μικρό πρόβλημα. Οι κύριες καλλιέργειες που επηρεάζονται από το φαινόμενο αυτό είναι το τριφύλλι και η μηδική, αν και σε μέτριο βαθμό. Το είδος παρουσιάζει ευρύ φάσμα εξάπλωσης στο μεγαλύτερο μέρος της Ευρώπης, με εξαίρεση τη Σκανδιναβία, καθώς και στην περιοχή της Μέσης Ανατολής. Επιπλέον, μπορεί να βρεθεί κατά μήκος της δυτικής ακτογραμμής της Βόρειας Αφρικής. Η παραγωγή των καλλιεργειών είναι ευαίσθητη σε μεταβολές ως απόκριση στην υπερθέρμανση του πλανήτη, σε αλλαγές στο κοινωνικοοικονομικό τοπίο και σε πολιτικούς παράγοντες. Η παγκόσμια εξάπλωση της Οροβάγχης μπορεί να επηρεαστεί, με ιδιαίτερη έμφαση στην ευρωπαϊκή περιοχή. Η παραγωγή καλλιεργειών από έναν ξενιστή υπόκειται σε απρόβλεπτες εξελίξεις στον κοινωνικοοικονομικό τομέα. Μεταβολές στις αμειψισπορές ως απάντηση στην υπερθέρμανση του πλανήτη, αυξημένο κόστος της εισαγόμενης σόγιας ή μειωμένη χρήση λιπασμάτων λόγω περιβαλλοντικών

κανονισμών θα μπορούσαν ενδεχομένως να υποκινήσουν την αύξηση της παραγωγής ψυχανθών στη Δυτική Ευρώπη. Αυτό, σε συνδυασμό με ένα θερμότερο κλίμα, μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένη πιθανότητα εγκατάστασης του *O. crenata*, όπως σημειώνουν οι Grenz & Sauerborn (2007) (Grenz & Sauerborn, 2007). Η ευρωπαϊκή παραγωγή βιοκαυσίμων σημείωσε σημαντική άνοδο, με στόχο την επίτευξη μείωσης της συνολικής κατανάλωσης καυσίμων στην Ευρώπη κατά 25% έως το 2030. Η ελαιοκράμβη και ο ηλιάνθος είναι σημαντικές καλλιέργειες για την παραγωγή βιοκαυσίμων. Είναι εύλογο να υποθέσουμε ότι η επέκταση της καλλιέργειας αυτών των καλλιεργειών θα μπορούσε ενδεχομένως να αυξήσει τον κίνδυνο εξάπλωσης των προσβολών από Οροβάγγη σε νέες περιοχές, όπως σημείωσε η Ευρωπαϊκή Κοινότητα το 2006.

Το εν δυνάμει ζήτημα που εξετάζεται αφορά την εμφάνιση πρόσθετων καλλιεργειών ξενιστών της Οροβάγγης στις βόρειες περιοχές της Ευρώπης, η οποία μπορεί να αποδοθεί σε μεταβολές των παγκόσμιων κλιματικών προτύπων. Αυτό θα μπορούσε να έχει ως αποτέλεσμα την εκτόπιση συμβατικών καλλιεργειών μη ξενιστών υπέρ καλλιεργειών ξενιστών, όπως η ελαιοκράμβη, ο ηλιάνθος ή τα ψυχανθή. Η προαναφερθείσα τάση μπορεί να οδηγήσει σε πολλαπλασιασμό της Οροβάγγης και σε αύξηση της δεξαμενής σπόρων σε περιοχές που δεν επηρεάζονται επί του παρόντος. Η πιθανή εισαγωγή νέων ειδών Οροβάγγης σε περιοχές που επί του παρόντος δεν έχουν προσβληθεί, είναι πιθανό να σχετίζεται με την εισαγωγή νέων ξενιστών ή την παρουσία ζιζανίων-ξενιστών. Οι Prider et. al. (2012) ανέφεραν μια αξιοσημείωτη περίπτωση εγκατάστασης του είδους *Broomrape* σε μη προσβεβλημένες περιοχές και τα αντίστοιχα μέτρα εξάλειψης που ελήφθησαν στην Αυστραλία. Η αρχική τεκμηρίωση του *Phelipanche mutelii* στη Νότια Αυστραλία χρονολογείται από το 1992. Η σημασία των έγκαιρων επεμβάσεων μετά την αρχική ανίχνευση αναδεικνύεται από τη μοντελοποίηση προσομοίωσης, καθώς τα χωράφια που παρουσιάζουν προσβολή κατά το πρώτο έτος ασκούν σημαντικό αντίκτυπο στη διάρκεια του προγράμματος εξάλειψης. Σύμφωνα με τους Prider et al. (2012), προβλέπεται ότι η πλήρης εξάλειψη του ζιζανίου μπορεί να επιτευχθεί σε χρονικό διάστημα 38-62 ετών. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με την εφαρμογή αποτελεσματικών μέτρων ελέγχου και περιορισμού για τη διασφάλιση χαμηλού αριθμού επαναλαμβανόμενων αγρών. Το *Dodder* είναι ένα παρασιτικό φυτό που παρουσιάζει μη ειδικό χαρακτήρα στην επιλογή ξενιστών. Έχει παρατηρηθεί ότι προσβάλλει ένα ευρύ φάσμα ειδών ξενιστών, συμπεριλαμβανομένων διαφόρων καλλιεργούμενων φυτών και δικοτυλήδων ζιζανίων. Ωστόσο, δεν επιδεικνύει παρασιτική συμπεριφορά προς αγρωστώδη ή μονοκοτυλήδων ζιζάνια, όπως αναφέρθηκε από τους Dawson et al. το 1994. Ομοίως, μια και μόνο



καλλιέργεια έχει τη δυνατότητα να λειτουργήσει ως ξενιστής για πολλά είδη του δάκου. Τα δύο πιο επιβλαβή είδη του ξερολιθίου ως ζιζάνια στην Ευρώπη είναι το *Cuscuta campestris* και το *Cuscuta epithymum*. Σύμφωνα με τους Holm *et al.* (1997), το *Cuscuta campestris* έχει βρεθεί να παρασιτεί σε τουλάχιστον 25 καλλιέργειες σε 55 χώρες, ενώ το *C. epithymum* έχει παρατηρηθεί να παρασιτεί σε 25 καλλιέργειες σε 13 χώρες. Οι καλλιέργειες που προσβάλλονται κατά κύριο λόγο από το *C. campestris* περιλαμβάνουν τα *Medicago sativa* L. (μηδική), *Trifolium spp.* (τριφύλλι), *Vicia faba* L. (φασόλι), *Beta vulgaris* L. (τεύτλα) και *Daucus carota* L. (καρότα) (Parker & Riches, 1993, Dawson *et al.*, 1994, Kroschel, 2001). Το *Cuscuta epithymum* είναι ζιζάνιο σημαντικής οικονομικής σημασίας, ιδιαίτερα στο τριφύλλι. Άλλα είδη όπως το *C. epilinum* στο *Linum usitatissimum* L. (λινάρι) και το *C. gronovii* στο *Vaccinium macrocarpon* Aiton (κράνα), *Vitis* και *Citrus spp.* είναι λιγότερο επικίνδυνα και έχουν στενότερη εξάπλωση (Parker & Riches, 1993; Kroschel, 2001). Η σοβαρή προσβολή από *Cuscuta* μπορεί να οδηγήσει σε ολική απώλεια της απόδοσης της καλλιέργειας. Το *C. campestris* αναγνωρίστηκε ως ένα ιδιαίτερα προβληματικό ζιζάνιο σε καλλιέργειες αγρού κατά την εποχή της Σοβιετικής Ένωσης, με τη μονοκαλλιέργεια ζαχαρότευτλων να πλήττεται ιδιαίτερα, με ποσοστά προσβολής που έφταναν το 80% σε ορισμένες περιοχές. Η παρουσία του *C. campestris* σε χωράφια ζαχαρότευτλων στη Σλοβακία είχε ως αποτέλεσμα σημαντική μείωση τόσο του βάρους των τεύτλων όσο και της περιεκτικότητας σε ζάχαρη, με μειώσεις έως και 40% και 15%, αντίστοιχα. Οι Konieczka *et al.* (2009) ανέφεραν σημαντικές μειώσεις της απόδοσης σε καλλιέργειες όπως η φακή, το ρεβίθι, η τομάτα και η μηδική λόγω της σοβαρότητας της προσβολής από τσίλι.

### 3.2.1. Είδη Οροβάγχης

Η *Orobanch* είναι ένα μεγάλο γένος φυτών που αποτελείται από περισσότερα από 200 είδη, και το 30-35% αυτών βρίσκονται στην Ιβηρική Χερσόνησο και τις Βαlearίδες Νήσους (Plaza *et al.*, 2004). Σύμφωνα με τον Foley (2001), υπάρχουν 32 τάξεις *Orobanch*. Ωστόσο, οι μορφολογικές μελέτες διαφορετικών ερευνητών ανέφεραν ότι υπάρχουν 34 τάξεις *Orobanch* (Plaza *et al.*, 2004). Οι Román *et al.* μελέτησαν τους σπόρους 33 ειδών *Orobanch* από την Ιβηρική Χερσόνησο και τις Βαlearίδες Νήσους, και αναγνώρισαν τον τύπο III, ο οποίος περιλαμβάνει μόνο τρία είδη από την ενότητα *Orobanch* : *O. cumana*, *O. densiflora* και *O. santolinae* (Román *et al.*, 2003). Τα τρία είδη, παρά το γεγονός ότι έχουν τον ίδιο τύπο σπόρου, είναι γενετικά διαφορετικά, όπως αποδεικνύεται από το δενδρόγραμμα που δείχνει ότι δεν είναι

συγκεντρωμένα μεταξύ τους, παρά το γεγονός ότι δύο από αυτά ανήκουν στο ίδιο γένος (Plaza *et al.*, 2004). Επιπλέον, τα τρία αυτά είδη έχουν ένα κοκκώδες-ρουγουλώδες εσωτερικό τοίχωμα στο εξωτερικό περικλινές τοίχωμά τους, το οποίο άλλοι συγγραφείς δεν είχαν παρατηρήσει προηγουμένως (Plaza *et al.*, 2004).

Η *Orobanche crenata* είναι ένα είδος που παρασιτεί κυρίως σε καλλιέργειες ψυχανθών, συμπεριλαμβανομένων της φάβας και της φακής. Είναι γνωστό για τα χαρακτηριστικά λοβωτά φύλλα και τα μοβ άνθη του. Το *Orobanche crenata* απειλεί σημαντικά την παραγωγή ψυχανθών σε διάφορες περιοχές, προκαλώντας σοβαρές απώλειες στην απόδοση. Οι μελέτες έχουν επικεντρωθεί στην κατανόηση της εξειδίκευσης του ξενιστή του και στην ανάπτυξη στρατηγικών διαχείρισης για τον έλεγχο της εξάπλωσής του. Το *Orobanche cumana* είναι ένα εξειδικευμένο παράσιτο που προσβάλλει κυρίως τις καλλιέργειες ηλίανθου. Έχει στενό εύρος ξενιστών, παρασιτεί κυρίως ηλίανθους και λίγα συγγενικά είδη φυτών. Το *Orobanche cumana* αποτελεί πρωταρχικό πρόβλημα για την καλλιέργεια ηλίανθου, προκαλώντας σημαντικές οικονομικές απώλειες. Η έρευνα έχει επικεντρωθεί στην κατανόηση της γενετικής ποικιλομορφίας του, της εξειδίκευσης του ξενιστή και στην ανάπτυξη ανθεκτικών ποικιλιών ηλίανθου. Το *Orobanche minor* είναι ένα ευρέως διαδεδομένο είδος που παρασιτεί σε καλλιέργειες πλατύφυλλων, συμπεριλαμβανομένων των ντοματών, του καπνού και της πατάτας. Είναι γνωστό για το μικρό του μέγεθος και τα κιτρινωπά άνθη του. Το *Orobanche minor* αποτελεί σημαντική απειλή για την παραγωγικότητα των καλλιεργειών και έχει μελετηθεί εκτενώς η βιολογία, η οικολογία και οι στρατηγικές διαχείρισής του. Το *Orobanche aegyptiaca* είναι ένα διαβόητο είδος που παρασιτεί σε ένα ευρύ φάσμα καλλιεργειών, συμπεριλαμβανομένων των ντοματών, των πατατών και του καπνού. Είναι εξαιρετικά ευπροσάρμοστο και αποτελεί σημαντική πρόκληση για τη γεωργία. Οι μελέτες έχουν επικεντρωθεί στις μεθόδους καταπολέμησής του, συμπεριλαμβανομένων χημικών, βιολογικών και καλλιεργητικών προσεγγίσεων, για τον μετριασμό των επιπτώσεών του στην παραγωγή καλλιεργειών. Το *Orobanche ramosa* είναι ένα είδος που παρασιτεί σε διάφορες καλλιέργειες, συμπεριλαμβανομένων των ντοματών, των πατατών και των μελιτζανών. Το χαρακτηρίζουν η διακλαδισμένη ταξιανθία και τα μοβ άνθη του. Το *Orobanche ramosa* έχει μελετηθεί εκτενώς όσον αφορά τη βιολογία του, την εξειδίκευση του ξενιστή και τις στρατηγικές διαχείρισης. Η έρευνα έχει επικεντρωθεί στην ανάπτυξη ανθεκτικών ποικιλιών καλλιεργειών, στην κατανόηση της γενετικής βάσης της ανθεκτικότητας και στη διερεύνηση οικολογικών προσεγγίσεων για την καταπολέμησή της.

### **3.3. Φυτά ξενιστές της Οροβάγχης**

Η *Orobanche* αποτελεί σοβαρή απειλή για τις καλλιέργειες και μπορεί να προκαλέσει σημαντική οικονομική ζημία στους γεωργούς (Park *et al.*, 2007). Το φυτό αυτό είναι ριζο-ολοπαρασιτικό φυτό, πράγμα που σημαίνει ότι βασίζεται εξ ολοκλήρου στο φυτό-ξενιστή για την επιβίωσή του (Plaza *et al.*, 2004). Είναι σημαντικό να προσδιοριστούν τα φυτά ξενιστές της *Orobanche*, προκειμένου να αναπτυχθούν αποτελεσματικά μέτρα καταπολέμησης.

Ορισμένες από τις πιο ευαίσθητες καλλιέργειες στην *Orobanche* είναι τα λαχανικά και οι καλλιέργειες αγρού, συμπεριλαμβανομένων των τοματών, των ηλίανθων και των ψυχανθών όπως τα φασόλια και ο αρακάς (Eizenberg *et al.*, 2002). Οι καλλιέργειες αυτές εκτιμώνται ιδιαίτερα από τους αγρότες και αποτελούν σημαντική πηγή τροφίμων για πολλούς ανθρώπους. Όταν μολυνθούν από την *Orobanche*, οι καλλιέργειες αυτές μπορεί να υποστούν σοβαρές ζημιές, οδηγώντας σε σημαντικές οικονομικές απώλειες (Habimana *et al.*, 2014). Ο αντίκτυπος της *Orobanche* στις καλλιέργειες αυτές μπορεί να είναι μακροχρόνιος, επηρεάζοντας τα μέσα διαβίωσης των αγροτών και των κοινοτήτων τους (Habimana *et al.*, 2014).

Οι παράγοντες που επηρεάζουν τα φυτά ξενιστές της *Orobanche* περιλαμβάνουν τον τύπο του εδάφους, τα επίπεδα υγρασίας και τις πρακτικές αμειψισποράς (Wikipedia, 2023). Οι καλλιέργειες παγίδευσης, οι οποίες φυτεύονται ειδικά για να προσελκύσουν το *Orobanche*, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως μέτρο ελέγχου για τον περιορισμό της εξάπλωσης του παρασίτου (Negewo *et al.*, 2022). Ωστόσο, είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι το *Orobanche* έχει ευρύ φάσμα ξενιστών και μπορεί να μολύνει πολλές οικονομικά σημαντικές καλλιέργειες (Wikipedia, 2023). Ως εκ τούτου, απαιτείται περαιτέρω έρευνα για τον προσδιορισμό αποτελεσματικών μέτρων ελέγχου και την ανάπτυξη στρατηγικών για τον μετριασμό της οικονομικής ζημίας που προκαλεί η *Orobanche* στις καλλιέργειες (Fernández-Aparicio, Flores, *et al.*, 2016; Lu Zhang *et al.*, 2022).

### **3.4. Οικονομική ζημία που προκαλείται από την *Orobanche***

Η *Orobanche* είναι ένα παρασιτικό φυτό που προσβάλλει ένα ευρύ φάσμα καλλιεργειών, προκαλώντας σημαντικές οικονομικές ζημιές. Οι επιζήμιες επιπτώσεις του παρασιτισμού της *Orobanche* στην απόδοση των καλλιεργειών μπορεί να φτάσουν έως και το 100%, ανάλογα με τη σοβαρότητα της μόλυνσης και την αλληλεπίδραση μεταξύ Οροβάγχης και καλλιέργειας (Fernández-Aparicio, Flores, *et al.*, 2016). Αυτό το παρασιτικό φυτό αποτελεί τρομερή απειλή για την παραγωγή πολλών καλλιεργειών στην Ευρώπη, την Αφρική και την Ασία (Lu Zhang *et al.*,

2022). Η οικονομική ζημία που προκαλείται από την προσβολή από *Orobanchae* είναι σημαντική, καθιστώντας την ένα σημαντικό πεδίο μελέτης τόσο για τους ερευνητές όσο και για τους αγρότες.

Ο οικονομικός αντίκτυπος της προσβολής από *Orobanchae* είναι σημαντικός, καθώς μπορεί να οδηγήσει σε μειωμένες αποδόσεις καλλιεργειών, ακόμη και σε πλήρη αποτυχία της καλλιέργειας. Εκτός από τις άμεσες απώλειες των καλλιεργειών, το κόστος της καταπολέμησης της προσβολής από *Orobanchae* μπορεί επίσης να είναι σημαντικό (Habimana *et al.*, 2014). Αυτό το παρασιτικό φυτό απειλεί τα μέσα διαβίωσης των αγροτών με τις καταστροφικές επιπτώσεις του στις καλλιέργειες (Habimana *et al.*, 2014). Ως εκ τούτου, είναι ζωτικής σημασίας η κατανόηση του φυτού ως παράσιτου και η ανάπτυξη αποτελεσματικών στρατηγικών για τον έλεγχο της προσβολής από το *Orobanchae*.

Οι στρατηγικές για τον έλεγχο της προσβολής από *Orobanchae* περιλαμβάνουν τη χρήση ανθεκτικών ποικιλιών καλλιεργειών, την αμειψισπορά και την εφαρμογή ζιζανιοκτόνων (Fernández-Aparicio, Flores, *et al.*, 2016). Ωστόσο, οι στρατηγικές αυτές μπορεί να είναι δαπανηρές και όχι πάντα αποτελεσματικές. Οι ερευνητές διερευνούν νέες προσεγγίσεις για τον έλεγχο της *Orobanchae*, όπως η χρήση βιολογικών παραγόντων ελέγχου και η ανάπτυξη ανθεκτικών υποκειμένων (Wikipedia, 2023). Με την ανάπτυξη αποτελεσματικών στρατηγικών για τον έλεγχο της προσβολής από το *Orobanchae*, οι γεωργοί μπορούν να μειώσουν την οικονομική ζημία που προκαλεί αυτό το παρασιτικό φυτό και να βελτιώσουν τις αποδόσεις των καλλιεργειών.

### **3.5. Συμπέρασμα και μελλοντικές κατευθύνσεις**

Οι μελλοντικές ερευνητικές κατευθύνσεις για τον έλεγχο της *Orobanchae* περιλαμβάνουν την ανάπτυξη νέων μεθόδων για την έγκαιρη ανίχνευση και πρόληψη των προσβολών, καθώς και τον εντοπισμό και τη χρήση των φυσικών εχθρών του φυτού (Fernández-Aparicio, Flores, *et al.*, 2016; Lu Zhang *et al.*, 2022). Επιπλέον, η έρευνα σχετικά με τους γενετικούς και μοριακούς μηχανισμούς του παρασιτισμού της *Orobanchae* μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη νέων στρατηγικών ελέγχου, όπως η γενετική τροποποίηση των φυτών ξενιστών ώστε να γίνουν ανθεκτικά στην *Orobanchae* (Fernández-Aparicio, Flores, *et al.*, 2016). Επιπλέον, η διερεύνηση του ρόλου των φυτικών ορμονών, όπως οι στρυγολακτόνες, στον παρασιτισμό της *Orobanchae* μπορεί να προσφέρει πληροφορίες για τον κύκλο ζωής του φυτού και πιθανούς στόχους για τον έλεγχο (Science.gov, 2023).

Συμπερασματικά, η *Orobanch*e αποτελεί σοβαρή απειλή για τη γεωργία, προκαλώντας σημαντικές οικονομικές ζημιές στις καλλιέργειες. Η μελέτη αυτού του παρασιτικού φυτού είναι ζωτικής σημασίας για την ανάπτυξη αποτελεσματικών στρατηγικών ελέγχου και τη μείωση των επιπτώσεων στα μέσα διαβίωσης των γεωργών. Οι μελλοντικές ερευνητικές κατευθύνσεις για τον έλεγχο της *Orobanch*e περιλαμβάνουν την έγκαιρη ανίχνευση και πρόληψη, τον εντοπισμό φυσικών εχθρών, τη γενετική τροποποίηση των φυτών ξενιστών και τη διερεύνηση των φυτικών ορμονών. Με τη συνέχιση της μελέτης της *Orobanch*e, μπορούμε να προστατεύσουμε καλύτερα τις καλλιέργειές μας και να εξασφαλίσουμε την επισιτιστική ασφάλεια για τις μελλοντικές γενιές.

### **3.6. Φαινοτυπική διάκριση των *Orobanch*e**

#### **3.6.1. Τι είναι η *Orobanch*e και γιατί είναι σημαντικό να μελετηθεί η φαινοτυπική της διάκριση;**

Το *Orobanch*e είναι ένα παρασιτικό φυτό που αποτελεί σημαντική απειλή για τη γεωργία παγκοσμίως. Το φυτό προσκολλάται στις ρίζες των φυτών ξενιστών και απορροφά θρεπτικά συστατικά, προκαλώντας απώλειες στην απόδοση καλλιεργειών όπως τα ψυχανθή τροφίμων και οι ηλιάνθοι (Belay *et al.*, 2020; Cochavi *et al.*, 2017; Le Ru *et al.*, 2021). Λόγω του αντίκτυπού του στην παραγωγή καλλιεργειών, υπάρχει ανάγκη μελέτης της βιολογίας της *Orobanch*e για την ανάπτυξη αποτελεσματικών στρατηγικών διαχείρισης. Η φαινοτυπική διάκριση, η οποία περιλαμβάνει τον προσδιορισμό και τη σύγκριση των φυσικών χαρακτηριστικών των διαφόρων ειδών *Orobanch*e, αποτελεί ουσιαστική πτυχή της κατανόησης της βιολογίας της *Orobanch*e (Buschmann *et al.*, 2005; Fernández-Aparicio *et al.*, 2009).

Η φαινοτυπική διάκριση είναι ζωτικής σημασίας για την κατανόηση της βιολογίας της *Orobanch*e, διότι βοηθά στον προσδιορισμό των απαιτήσεων εξειδίκευσης των διαφόρων ειδών. Αυτό, με τη σειρά του, μπορεί να βοηθήσει στην ανάπτυξη στοχευμένων στρατηγικών διαχείρισης για κάθε είδος (Abang *et al.*, 2007; Cochavi *et al.*, 2017). Για παράδειγμα, ο αριθμός των κονδύλων στις ρίζες του ηλιάνθου που έχουν εμβολιαστεί με *Orobanch*e μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διάκριση μεταξύ ευπαθών και ανθεκτικών γονότυπων ηλιάνθου (Cartry *et al.*, 2021; Habimana *et al.*, 2014; Le Ru *et al.*, 2021). Επιπλέον, η φαινοτυπική διάκριση μπορεί να βοηθήσει στον εντοπισμό γονιδιωματικών πολυμορφισμών μεταξύ μορφολογικά διαφορετικών ειδών *Orobanch*e (Benharrat *et al.*, 2002).

Η σημασία της φαινοτυπικής διάκρισης για την κατανόηση της βιολογίας της *Orobanche* έγκειται στη δυνατότητα συμβολής της στην ανάπτυξη αποτελεσματικών στρατηγικών διαχείρισης. Με τον προσδιορισμό των ειδικών χαρακτηριστικών και απαιτήσεων των διαφόρων ειδών Οροβάγχης, οι ερευνητές μπορούν να αναπτύξουν στοχευμένες προσεγγίσεις διαχείρισης που είναι πιο αποτελεσματικές και λιγότερο επιβλαβείς για το περιβάλλον (Cvejić *et al.*, 2020). Ως εκ τούτου, η συνεχής έρευνα για τη φαινοτυπική διάκριση της *Orobanche* είναι απαραίτητη για την καταπολέμηση της απειλής που αποτελεί για την παγκόσμια γεωργία.

### **3.6.2. Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά της *Orobanche***

Η *Orobanche* είναι ένα ριζο-ολοπαρασιτικό φυτό που προσβάλλει ένα ευρύ φάσμα ειδών ξενιστών, συμπεριλαμβανομένων πολλών κοινώς καλλιεργούμενων καλλιεργειών (C. J. Thorogood *et al.*, 2009). Ένα από τα βασικά φαινοτυπικά χαρακτηριστικά της *Orobanche* είναι τα μορφολογικά του χαρακτηριστικά. Το *Orobanche* είναι ένα μη φωτοσυνθετικό φυτό και στερείται χλωροφύλλης, γεγονός που το καθιστά εξαρτημένο από τον ξενιστή του για θρεπτικά συστατικά (Negewo *et al.*, 2022). Επιπλέον, το *Orobanche* έχει μια μοναδική δομή που του επιτρέπει να διεισδύει στις ρίζες του ξενιστή και να δημιουργεί σύνδεση με το αγγειακό σύστημα του ξενιστή (C. J. Thorogood *et al.*, 2009). Αυτά τα μορφολογικά χαρακτηριστικά επιτρέπουν στο *Orobanche* να αναπτύσσεται και να αναπαράγεται εις βάρος του ξενιστή του.

Ένα άλλο σημαντικό φαινοτυπικό χαρακτηριστικό της *Orobanche* είναι τα φυσιολογικά χαρακτηριστικά του. Μελέτες έχουν δείξει ότι μη καταστροφικές τεχνικές παρακολούθησης, όπως ο μπλε-πράσινος φθορισμός και η θερμική απεικόνιση, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανίχνευση φυσιολογικών διαταραχών στα φυτά που προκαλούνται από τον παρασιτισμό της *Orobanche* (Ortiz-Bustos *et al.*, 2017). Επιπλέον, το *Orobanche* έχει διαφορετικές φυλές με διαφορετικά φυσιολογικά χαρακτηριστικά, τα οποία μπορούν να επηρεάσουν την ικανότητά του να παρασιτεί ορισμένα είδη ξενιστών (Akkose Baytar *et al.*, 2021). Η κατανόηση αυτών των φυσιολογικών χαρακτηριστικών είναι ζωτικής σημασίας για την ανάπτυξη αποτελεσματικών στρατηγικών για τον έλεγχο της εξάπλωσης της *Orobanche*.

Τα γενετικά χαρακτηριστικά παίζουν επίσης σημαντικό ρόλο στη φαινοτυπική διάκριση της *Orobanche*. Η γενετική ποικιλομορφία μεταξύ των πληθυσμών *Orobanche* είναι υψηλή λόγω του συστήματος ζευγαρώματος και της εξειδίκευσης των ξενιστών τους (Cartry *et al.*, 2021). Επιπλέον, μελέτες έχουν εντοπίσει συγκεκριμένα γονίδια, όπως το γονίδιο Pg, που συνδέονται με

την ανθεκτικότητα έναντι της *Orobanche* (Calderón-González *et al.*, 2019). Η ανάπτυξη γενετικής ανθεκτικότητας στο *Orobanche* αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη προσέγγιση για τον έλεγχο αυτού του παρασιτικού φυτού (Akkose Baytar *et al.*, 2021). Η κατανόηση των γενετικών χαρακτηριστικών της *Orobanche* μπορεί να βοηθήσει στην ανάπτυξη αποτελεσματικών στρατηγικών ελέγχου και στην εκμετάλλευση των γενετικών πόρων.

### **3.6.3. Τεχνικές που χρησιμοποιούνται για τη φαινοτυπική διάκριση της *Orobanche***

Η φαινοτυπική διάκριση της *Orobanche*, ενός παρασιτικού φυτού που προσβάλλει διάφορες καλλιέργειες, μπορεί να επιτευχθεί με τη χρήση διαφόρων τεχνικών. Τεχνικές απεικόνισης, όπως η τρισδιάστατη απεικόνιση, έχει αποδειχθεί ότι μπορούν να διακρίνουν μεταξύ των μολυσμένων από την *Orobanche* φυτών και των υγιών φυτών (Le Ru *et al.*, 2021). Επιπλέον, η υπερφασματική απεικόνιση έχει χρησιμοποιηθεί για τον εντοπισμό των πιο φυσιολογικά ευαίσθητων κυματοσειρών σε ολόκληρο το φάσμα, ακόμη και παρουσία υψηλών επιπέδων θορύβου, γεγονός που μπορεί να βοηθήσει στη διάκριση μεταξύ των ειδών *Orobanche* (Cochavi *et al.*, 2017). Αυτές οι τεχνικές απεικόνισης είναι μη καταστροφικές και μπορούν να παρέχουν πολύτιμες πληροφορίες για την έγκαιρη ανίχνευση και διαχείριση των προσβολών από *Orobanche*.

Μοριακές τεχνικές, όπως το τυχαία ενισχυμένο πολυμορφικό DNA (RAPD) και η PCR της δια-μικρής επανάληψης αλληλουχίας (ISSR), έχουν αναπτυχθεί για την ανίχνευση και την ταυτοποίηση ειδών *Orobanche* από παρτίδες σπόρων εδάφους και καλλιεργειών (Abedi *et al.*, 2014; Rolland *et al.*, 2016). Οι τεχνικές αυτές ήταν χρήσιμες για τη διάκριση μεταξύ ειδών και πληθυσμών *Orobanche*, παρέχοντας πολύτιμες πληροφορίες για την ανάπτυξη μεθόδων ελέγχου. Επιπλέον, οι μοριακές τεχνικές έχουν χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση και τον χαρακτηρισμό της γενετικής παραλλακτικότητας και της γενετικής ομοιότητας στους πληθυσμούς της *Orobanche crenata*, γεγονός που μπορεί να βοηθήσει στη διαχείριση του ζιζανίου μέσω της βελτίωσης ανθεκτικότητας (Abdalla *et al.*, 2020; Belay *et al.*, 2020).

Βιοχημικές τεχνικές, όπως η χρώση με διοξική φλουορεσκεΐνη (FDA), έχουν διερευνηθεί ως δυναμικοί δείκτες βιωσιμότητας για τους σπόρους *Orobanche* και *Phelipanche* (C J Thorogood *et al.*, 2009). Οι τεχνικές αυτές μπορούν να παράσχουν πολύτιμες πληροφορίες σχετικά με τη βιωσιμότητα των σπόρων και να βοηθήσουν στην ανάπτυξη μεθόδων ελέγχου. Επιπλέον, έχουν χρησιμοποιηθεί συμβατικές μέθοδοι βελτίωσης φυτών για τον εντοπισμό ανθεκτικών γονιδίων και

την ανάπτυξη υβριδίων ανθεκτικών στην Οροβάγγη (Cvejić *et al.*, 2020; Le Ru *et al.*, 2021). Συμπερασματικά, η χρήση διαφόρων τεχνικών, συμπεριλαμβανομένων απεικονιστικών, μοριακών και βιοχημικών μεθόδων, μπορεί να βοηθήσει στη φαινοτυπική διάκριση της *Orobanche*, παρέχοντας πολύτιμες πληροφορίες για την ανάπτυξη μεθόδων ελέγχου και στρατηγικών διαχείρισης.

### 3.7. Μορφολογία Οροβάγγης και βιολογικός κύκλος

Τα φυτά *Orobanche* έχουν υπόγειους ή μερικώς υπόγειους βλαστούς γνωστούς ως ριζώματα. Αυτοί οι μίσχοι στερούνται χλωροφύλλης και έχουν σαρκώδη υφή. Είναι γενικά υπόγειοι και στερούνται χλωροφύλλης, καθιστώντας το φυτό ανίκανο για ανεξάρτητη φωτοσύνθεση. Το στέλεχος είναι συνήθως σωληνοειδές και επιμήκες, επιτρέποντάς του να διεισδύει στο έδαφος και να δημιουργεί συνδέσεις με το ριζικό σύστημα του φυτού ξενιστή. Ο μίσχος της *Orobanche* ποικίλλει σε μέγεθος και μπορεί να κυμαίνεται από μερικά εκατοστά έως αρκετά εκατοστά σε μήκος, ανάλογα με το είδος και τις περιβαλλοντικές συνθήκες.

Τα ριζώματα φέρουν φύλλα που μοιάζουν με λέπια και τυχαίες ρίζες που διευκολύνουν την προσκόλληση στο φυτό ξενιστή. Τα φύλλα της *Orobanche* περιορίζονται σε μικρές, λεπιδοειδείς δομές. Τα φύλλα αυτά χρησιμεύουν κυρίως ως προστατευτικά καλύμματα και δεν παίζουν σημαντικό ρόλο στη φωτοσύνθεση, είναι συχνά άχρωμα ή ωχρά λόγω της έλλειψης χλωροφύλλης. Η πρωταρχική λειτουργία αυτών των φύλλων είναι να προστατεύουν το στέλεχος και να βοηθούν στη διατήρηση του νερού. Αν και δεν συμβάλλουν σημαντικά στη φωτοσύνθεση, είναι απαραίτητα για την επιβίωση της *Orobanche*, καθώς εμποδίζουν την υπερβολική απώλεια νερού μέσω της διαπνοής.

Τα άνθη της *Orobanche* είναι εντυπωσιακά και συχνά ζωηρά σε χρώμα, που κυμαίνεται από λευκό και κίτρινο έως ροζ, μοβ ή κόκκινο. Τα άνθη διατάσσονται σε πυκνές ακραίες αιχμές ή συστάδες και βρίσκονται στην κορυφή του βλαστού. Κάθε άνθος έχει αμφίπλευρη συμμετρία, τυπική για τα περισσότερα ανθοφόρα φυτά και αποτελείται από μια σωληνοειδή στεφάνη με τετράλοβο στόμιο. Τα άνθη έχουν διάφορα ανθικά μέρη, όπως σέπαλα, πέταλα, στήμονες και στύλους. Τα σέπαλα είναι η εξωτερική σπείρα των ανθικών μερών και προστατεύουν τον αναπτυσσόμενο ανθοφόρο οφθαλμό. Στην *Orobanche*, τα σέπαλα είναι συχνά πράσινα ή μοιάζουν με φύλλα, ενώ τα πέταλα είναι τα πολύχρωμα και συχνά εμφανή μέρη του άνθους. Προσελκύουν τους επικονιαστές με τα χρώματα, τα σχήματα και τις ανταμοιβές τους σε νέκταρ. Ο αριθμός, το



σχήμα και το χρώμα των πετάλων μπορεί να διαφέρει μεταξύ των ειδών *Orobanche*. Οι στήμονες είναι τα αρσενικά αναπαραγωγικά όργανα του άνθους, που αποτελούνται από ένα νήμα και έναν ανθήρα. Οι ανθήρες παράγουν γύρη, η οποία περιέχει τους αρσενικούς γαμέτες που είναι απαραίτητοι για τη γονιμοποίηση ενώ τα θηλυκά αναπαραγωγικά όργανα του άνθους είναι οι στύλοι, που αποτελούνται από το στίγμα, τον ύπερο και την ωοθήκη. Το στίγμα είναι η δεκτική επιφάνεια για τη γύρη, ενώ ο ύπερος συνδέει το στίγμα με την ωοθήκη. Η ωοθήκη περιέχει τα ωάρια, τους θηλυκούς γαμέτες που αναπτύσσονται σε σπόρους μετά τη γονιμοποίηση.

Η στεφάνη υποστηρίζεται συνήθως από έναν πράσινο κάλυκα και τα άνθη παράγουν άφθονες ποσότητες γύρης. Τα φυτά *Orobanche* αναπτύσσουν τυχαίες ρίζες που αναδύονται από το στέλεχος κοντά στο σημείο πρόσδεσης στο φυτό ξενιστή. Αυτές οι εξειδικευμένες ρίζες διεισδύουν στο ριζικό σύστημα του ξενιστή, δημιουργώντας μια σύνδεση για την εξαγωγή νερού και θρεπτικών συστατικών. Η *Orobanche* έχει ένα τροποποιημένο ριζικό σύστημα με εξειδικευμένες δομές που ονομάζονται μυκήλια. Τα μυκήλια είναι ζωτικής σημασίας για τον παρασιτικό τρόπο ζωής της, καθώς διεισδύουν στους ριζικούς ιστούς του φυτού ξενιστή και δημιουργούν συνδέσεις για την πρόσληψη θρεπτικών ουσιών και νερού. Τα μυκήλια είναι τροποποιημένες ρίζες που σχηματίζουν μια αγγειακή σύνδεση μεταξύ της *Orobanche* και του ξενιστή, επιτρέποντας τη μετακίνηση πόρων από τον ξενιστή στο παράσιτο.

Τα μυκήλια της *Orobanche* εμφανίζουν εξειδικευμένη δομή που διευκολύνει την προσκόλλησή τους στους ιστούς της ρίζας του ξενιστή. Διαθέτουν έναν κώνο, μια διογκωμένη περιοχή στη βάση του μυκηλίου, η οποία επιτρέπει τη διείσδυση στα κύτταρα της ρίζας του ξενιστή. Μόλις αυτά προσκολληθούν επιτυχώς στον ξενιστή, τα φυτά *Orobanche* μπορούν να εξάγουν νερό, θρεπτικά συστατικά και υδατάνθρακες από το αγγειακό σύστημα του φυτού ξενιστή.

Συμπερασματικά, η μορφολογία της *Orobanche* παρουσιάζει διάφορες προσαρμογές που διευκολύνουν τον παρασιτικό τρόπο ζωής της. Το στέλεχος επιτρέπει να διεισδύει στο έδαφος και να δημιουργεί συνδέσεις με το ριζικό σύστημα του φυτού ξενιστή. Τα φύλλα που μοιάζουν με λέπια προστατεύουν το στέλεχος και βοηθούν στη διατήρηση του νερού. Τα εντυπωσιακά άνθη προσελκύουν επικονιαστές για την βελτίωσή τους. Τέλος, τα εξειδικευμένα μυκήλια επιτρέπουν στην *Orobanche* να δημιουργήσει μια παρασιτική σχέση με το φυτό ξενιστή, αποσπώντας θρεπτικά συστατικά και νερό για την επιβίωση και την ανάπτυξή του.

Η κατανόηση της μορφολογίας και του βιολογικού κύκλου της *Orobanchae* είναι απαραίτητη για την αποτελεσματική διαχείριση αυτού του παρασιτικού φυτικού γένους. Ο εξειδικευμένος βλαστός, τα μειωμένα φύλλα, τα επιδεικτικά άνθη και οι τυχαίες ρίζες είναι βασικά μορφολογικά χαρακτηριστικά που διευκολύνουν τον παρασιτικό τρόπο ζωής του. Κατανοώντας τα διάφορα στάδια του κύκλου ζωής της *Orobanchae*, από τη βλάστηση των σπόρων έως την παραγωγή σπόρων, οι ερευνητές και οι αγρότες μπορούν να αναπτύξουν στοχευμένες στρατηγικές για τον έλεγχο και τον μετριασμό των αρνητικών επιπτώσεων της *Orobanchae* στην παραγωγή καλλιεργειών.

Τα φυτά *Orobanchae* παρουσιάζουν έναν μοναδικό βιολογικό κύκλο που περιλαμβάνει διάφορα στάδια, από τη βλάστηση έως την παραγωγή σπόρων. Η κατανόηση αυτού του κύκλου ζωής είναι ζωτικής σημασίας για την αποτελεσματική διαχείριση των προσβολών από *Orobanchae*. Οι σπόροι της *Orobanchae* είναι μικροσκοπικές, σκονισμένες δομές που διαθέτουν μια αξιοσημείωτη ικανότητα μακροχρόνιου λήθαργου. Η βλάστηση των σπόρων απαιτεί συνήθως την παρουσία χημικών ενδείξεων από τις ρίζες του φυτού ξενιστή. Αυτά τα ερεθίσματα ενεργοποιούν τη διαδικασία βλάστησης σπάζοντας τον λήθαργο των σπόρων και ξεκινώντας την ανάπτυξη της *Orobanchae*. Μόλις συμβεί η βλάστηση, τα *Orobanchae* αναπτύσσουν το μυκήλιο το οποίο επιμηκώνεται και έρχεται σε επαφή με το ριζικό σύστημα του φυτού ξενιστή. Δημιουργεί μια σύνδεση, επιτρέποντας τη μεταφορά νερού, θρεπτικών συστατικών και υδατανθράκων από τον ξενιστή στο φυτό. Με συνεχή παροχή θρεπτικών ουσιών, το φυτό της *Orobanchae* αναπτύσσεται γρήγορα, αναπτύσσοντας ένα ισχυρό στέλεχος και πρόσθετες τυχαίες ρίζες. Σχηματίζει ένα δίκτυο αγγειακών συνδέσεων με το φυτό ξενιστή, διευκολύνοντας τη μεταφορά πόρων. Κατά τη διάρκεια αυτού του σταδίου, η *Orobanchae* ανακατευθύνει το μεγαλύτερο μέρος των πόρων του φυτού ξενιστή για να υποστηρίξει τη δική της ανάπτυξη και βελτίωση. Καθώς το φυτό *Orobanchae* ωριμάζει, παράγει τελικές ταξιανθίες που φέρουν πολυάριθμα άνθη. Τα άνθη αυτά υφίστανται επικονίαση, είτε μέσω αυτογονιμοποίησης είτε μέσω εντόμων-φορέων. Μετά τη γονιμοποίηση, τα άνθη εξελίσσονται σε κάψουλες καρπών που περιέχουν πολυάριθμους μικρούς σπόρους. Οι κάψουλες αυτές τελικά σπάνε, διασκορπίζοντας τους σπόρους στο περιβάλλον έδαφος. Οι σπόροι των *Orobanchae* έχουν μια αξιοσημείωτη ικανότητα να παραμένουν αδρανείς στο έδαφος για μεγάλα χρονικά διαστήματα, με ορισμένα είδη να διατηρούν τη βιωσιμότητά τους για αρκετές δεκαετίες. Η μακροζωία των σπόρων *Orobanchae* στο έδαφος συμβάλλει στην επιμονή των προσβολών και στην πιθανότητα μακροχρόνιας επαναμόλυνσης.

### 3.8. Βλάστηση σπόρων

Η βλάστηση των σπόρων της *Orobanche* είναι ένα κρίσιμο στάδιο στον κύκλο ζωής της, καθώς σηματοδοτεί την έναρξη της παρασιτικής σχέσης του με ένα φυτό-ξενιστή. Οι μηχανισμοί βλάστησης των σπόρων *Orobanche* επηρεάζονται από διάφορους παράγοντες.

Οι μηχανισμοί βλάστησης περιλαμβάνουν τα διεγερτικά της βλάστησης. Οι σπόροι *Orobanche* χρειάζονται συγκεκριμένες χημικές ενώσεις γνωστές ως διεγερτικά βλάστησης ή στρυγολακτόνες για να σπάσουν τον λήθαργο των σπόρων και να ξεκινήσει η βλάστηση. Αυτά τα διεγερτικά βλάστησης απελευθερώνονται από τις ρίζες των φυτών ξενιστών. Όταν οι σπόροι *Orobanche* έρχονται σε επαφή με αυτά τα διεγερτικά, προκαλούν φυσιολογικές και βιοχημικές αλλαγές στο εσωτερικό του σπόρου, οδηγώντας στη βλάστηση.

Η επαρκής διαθεσιμότητα νερού είναι απαραίτητη για τη βλάστηση των σπόρων της *Orobanche*. Η πρόσληψη νερού από τους σπόρους ξεκινά μεταβολικές διεργασίες και επανυδάτωση των κυτταρικών συστατικών, επιτρέποντας την ανάπτυξη των σποροφύτων. Οι φυτοορμόνες, όπως το αβισικό οξύ (ABA) και οι γιββερελλίνες (GA), παίζουν ρόλο στη ρύθμιση της βλάστησης των σπόρων *Orobanche*. Το ABA αναστέλλει το φύτρωμα, ενώ οι GAs προάγουν το φύτρωμα. Η ισορροπία μεταξύ αυτών των ορμονών επηρεάζει την απόκριση της βλάστησης.

Η συγκέντρωση των διεγερτικών για τη βλάστηση που απελευθερώνονται από τα φυτά ξενιστές επηρεάζει τη βλάστηση των σπόρων της *Orobanche*. Για την αποτελεσματική βλάστηση απαιτούνται βέλτιστες συγκεντρώσεις διεγερτικών ουσιών, ενώ υψηλές συγκεντρώσεις μπορούν να την αναστείλουν. Τα διάφορα είδη *Orobanche* παρουσιάζουν διαφορετικό βαθμό εξειδίκευσης έναντι των φυτών ξενιστών. Οι σπόροι *Orobanche* συγκεκριμένων ειδών μπορεί να απαιτούν συγκεκριμένα διεγερτικά βλάστησης που απελευθερώνονται από τα συμβατά φυτά ξενιστές τους για την επιτυχή βλάστηση.

Οι περιβαλλοντικές συνθήκες, όπως η θερμοκρασία, το φως και η υγρασία, επηρεάζουν τη βλάστηση των σπόρων *Orobanche*. Κάθε είδος *Orobanche* έχει το δικό του βέλτιστο εύρος συνθηκών θερμοκρασίας και φωτισμού για τη βλάστηση. Η διαθεσιμότητα υγρασίας επηρεάζει επίσης τη βλάστηση των σπόρων, με τους σπόρους να απαιτούν επαρκή επίπεδα υγρασίας για την επιτυχή βλάστηση. Ορισμένοι σπόροι *Orobanche* διαθέτουν εγγενείς μηχανισμούς λήθαργου που εμποδίζουν την άμεση βλάστηση ακόμη και παρουσία διεγερτικών για τη βλάστηση. Ο λήθαργος μπορεί να οφείλεται σε παράγοντες όπως το σκληρό περίβλημα των σπόρων ή σε φυσιολογικούς αναστολείς. Τεχνικές εκβλάστησης, όπως μηχανική εκβλάστηση ή χημικές επεξεργασίες, μπορούν

να χρησιμοποιηθούν για να σπάσουν τον λήθαργο των σπόρων και να ενισχύσουν τη βλάστηση. Οι μικροοργανισμοί του εδάφους, συμπεριλαμβανομένων των βακτηρίων και των μυκήτων, μπορούν να επηρεάσουν τη βλάστηση των σπόρων της *Orobanchae*. Ορισμένα μικροβιακά είδη στη ριζόσφαιρα μπορούν είτε να προωθήσουν είτε να αναστείλουν τη βλάστηση επηρεάζοντας τη διαθεσιμότητα των διεγερτικών της βλάστησης ή παράγοντας ανασταλτικές ενώσεις.

Η κατανόηση των μηχανισμών βλάστησης και των παραγόντων που επηρεάζουν τη βλάστηση στο *Orobanchae* είναι ζωτικής σημασίας για την ανάπτυξη αποτελεσματικών στρατηγικών διαχείρισης. Με τη χειραγώγηση των συγκεντρώσεων των διεγερτικών της βλάστησης, τη χρησιμοποίηση της εξειδίκευσης του ξενιστή, τη βελτιστοποίηση των περιβαλλοντικών συνθηκών και τη διερεύνηση τεχνικών διακοπής του λήθαργου των σπόρων, μπορεί να είναι δυνατός ο έλεγχος ή η αναστολή της βλάστησης της *Orobanchae* και των επακόλουθων προσβολών.

### **3.8.1. Σπόροι και τράπεζα σπόρων**

Τα *Orobanchaceae*, τα οποία είναι υποχρεωτικά παράσιτα, διαθέτουν σπόρους με μικρό μέγεθος, που κυμαίνονται μεταξύ 0,2-2 mm. Η ποικιλομορφία της μικρομορφολογίας της επιφάνειας των σπόρων είναι ιδιαίτερα έντονη, ιδίως εντός των γενών που έχουν οικονομική σημασία. Η βέλτιστη απεικόνιση της μορφολογίας της επιφάνειας των σπόρων επιτυγχάνεται με τη χρήση ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης. Η χρήση της φωτομικροσκοπίας αποτελεί επίσης ένα βιώσιμο μέσο διερεύνησης. Τυπικά, το περίβλημα των σπόρων έχει σκούρα και αδιαφανή εμφάνιση. Ωστόσο, μέσω της διαδικασίας λεύκανσης, ορισμένα επιφανειακά χαρακτηριστικά γίνονται πιο ευδιάκριτα. Συγκεκριμένα, τα περιγράμματα και τα ανοίγματα των επιδερμικών κυττάρων του μανδύα γίνονται πιο ορατά. Ο αυτοφθορισμός των λιγνιτικών εξωτερικών κυτταρικών τοιχωμάτων μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εξέταση των σπόρων μέσω μικροσκοπίας φθορισμού. Η προαναφερθείσα τεχνική πλεονεκτεί ιδιαίτερα στον εντοπισμό υπόγειων σπόρων που έχουν υποστεί μεταβολές στη φυσική τους εμφάνιση και στο χρωματισμό τους, αλλά έχουν διατηρήσει την υφή και τη βιωσιμότητα του περιβλήματος των σπόρων. Κάθε μία από αυτές τις τεχνικές παρέχει δεδομένα σχετικά με τις διαστάσεις των σπόρων και τη διάταξη της εξωτερικής κυτταρικής τους στιβάδας, καθώς και τη διαμόρφωση των παχύνσεων και των ανοιγμάτων στα πλευρικά και εσωτερικά εφαπτόμενα κυτταρικά τοιχώματα του μανδύα των σπόρων.

Η επιφανειακή μορφολογία των σπόρων έχει σημαντική ταξινομική και διαγνωστική αξία. Είναι σημαντικό να επιδεικνύεται σύνεση κατά την ερμηνεία των παρατηρήσεων, ιδίως εκείνων που λαμβάνονται μέσω SEM. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι σε πολλά γένη, το εξωτερικό εφαιπτόμενο τοίχωμα των πλήρως ανεπτυγμένων σπόρων είναι εξαιρετικά λεπτό και μπορεί είτε να αποσυντεθεί και να εξαφανιστεί είτε να τσαλακωθεί και να κολλήσει στα εσωτερικά τοιχώματα. Αυτό μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα το τυπικό μοτίβο των εσωτερικών τοιχωμάτων αυτών των κυττάρων να είναι είτε εκτεθειμένο είτε κρυμμένο. Ο βαθμός των αλλοιώσεων που παρατηρούνται στο εξωτερικό τοίχωμα είναι ενδεικτικός της ωριμότητας και του επιπέδου ξήρανσης των σπόρων και μπορεί επίσης να επηρεαστεί από τις συνθήκες στις οποίες αποθηκεύτηκαν. Οι σπόροι που έχουν συγκομιστεί πρόσφατα διαθέτουν συνήθως ένα άθικτο εξωτερικό στρώμα, ενώ οι αποξηραμένοι σπόροι τείνουν να μην έχουν αυτό το χαρακτηριστικό. Η διαμόρφωση του περιβλήματος των σπόρων μπορεί να χρησιμεύσει ως πολύτιμο εργαλείο για την αξιολόγηση των εδαφικών τραπεζών σπόρων. Ωστόσο, λόγω της εγγενούς ποικιλομορφίας στη μορφολογία των σπόρων, συμπεριλαμβανομένου του σχήματος, του μεγέθους και του στολισμού, ακόμη και εντός μιας κάψουλας, μια οριστική μορφολογική αξιολόγηση θα πρέπει να βασίζεται σε μια συλλογή σπόρων και όχι σε έναν μοναχικό σπόρο. Η ανάλυση DNA μπορεί να οδηγήσει σε ακριβέστερη διαγνωστική ταυτοποίηση μεμονωμένων σπόρων, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που υπάρχουν στο έδαφος. Η οικογένεια *Orobanchaceae* παρουσιάζει ένα ευρύ φάσμα μορφολογικών χαρακτηριστικών, συμπεριλαμβανομένου ενός ευρέος φάσματος σχημάτων και επιφανειακών χαρακτηριστικών. Τα μορφολογικά χαρακτηριστικά, και συγκεκριμένα η χάραξη των σπόρων, παίζουν καθοριστικό ρόλο στην εξακρίβωση της μεθόδου διασποράς. Οι σπόροι μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε διακριτούς οικολογικούς τύπους με βάση τον φορέα τους, οι οποίοι περιλαμβάνουν τη διασπορά με το νερό (*Epifagus*), τη διασπορά με τη γούνα των ζώων (*Phacellanthus*), τη διέλευση από το πεπτικό σύστημα των ζώων (*Conopholis*), τη διασπορά με τον άνεμο (*Aeginetia*) και τη διασπορά με τον άνεμο και το νερό (*Boschniakia*).

Η τράπεζα σπόρων της *Orobanche*, παίζει καθοριστικό ρόλο στον κύκλο ζωής και την επιμονή αυτού του παρασιτικού φυτού. Η τράπεζα σπόρων αναφέρεται στη συλλογή βιώσιμων σπόρων που υπάρχουν στο έδαφος, οι οποίοι μπορούν να παραμείνουν αδρανείς για παρατεταμένες περιόδους μέχρι να εμφανιστούν κατάλληλες συνθήκες για βλάστηση. Η κατανόηση της δυναμικής της τράπεζας σπόρων της *Orobanche* είναι απαραίτητη για την

ανάπτυξη αποτελεσματικών στρατηγικών διαχείρισης για τον έλεγχο της εξάπλωσης αυτού του παρασιτικού ζιζανίου.

Η ανθεκτικότητα των σπόρων είναι ένα αξιοσημείωτο χαρακτηριστικό της *Orobanche*, καθώς η τράπεζα σπόρων της μπορεί να παραμείνει στο έδαφος για πολλά χρόνια, επιτρέποντας στο ζιζάνιο να αναγεννηθεί παρά τις προσπάθειες εξάλειψής του. Σύμφωνα με τους Gurney et. al. (2007), η έρευνα έχει δείξει ότι οι σπόροι της *Orobanche* μπορούν να διατηρήσουν τη βιωσιμότητά τους στο έδαφος για παρατεταμένες περιόδους, οι οποίες μπορεί να κυμαίνονται από μερικά χρόνια έως πολλές δεκαετίες, ανάλογα με τις περιβαλλοντικές συνθήκες και τα εμπλεκόμενα είδη. Η επίμονη φύση των σπόρων *Orobanche* στο έδαφος αποτελεί σημαντικό παράγοντα για την ανθεκτικότητα και τη διαρκή επιβίωση αυτού του παρασιτικού φυτού.

Ο λήθαργος των σπόρων αναφέρεται στη διαδικασία μέσω της οποίας οι σπόροι αναβάλλουν τη βλάστησή τους, παρά τις ευνοϊκές συνθήκες. Οι σπόροι της *Orobanche* εμφανίζουν ποικίλους μηχανισμούς λήθαργου που συμβάλλουν στην παρατεταμένη παραμονή τους στο έδαφος. Η φυσική αδιαπερατότητα του περιβλήματος των σπόρων είναι ένας διαδεδομένος μηχανισμός λήθαργου που παρατηρείται στο *Orobanche*. Η αδιαπέραστη φύση του περιβλήματος των σπόρων εμποδίζει την απορρόφηση νερού και παρεμποδίζει τη διαδικασία βλάστησης. Επιπλέον, οι σπόροι της *Orobanche* παρουσιάζουν φυσιολογικό λήθαργο, ένα φαινόμενο κατά το οποίο η βλάστηση παρεμποδίζεται από εσωτερικούς παράγοντες, όπως αναφέρθηκε από τους Kruk et al. (2018). Οι μηχανισμοί λήθαργου διατηρούν τον λήθαργο των σπόρων *Orobanche* έως ότου υπάρξουν ευνοϊκές συνθήκες για τη βλάστηση.

Η βλάστηση των σπόρων *Orobanche* επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, οι οποίοι επηρεάζουν τη δυναμική της τράπεζας σπόρων. Η ύπαρξη εξιδρωμάτων του φυτού ξενιστή ή εξιδρωμάτων της ρίζας είναι ένα κομβικό στοιχείο. Η διαδικασία βλάστησης των σπόρων *Orobanche* μπορεί να ενεργοποιηθεί με την ανίχνευση συγκεκριμένων χημικών ουσιών που απελευθερώνονται από τις ρίζες των αντίστοιχων φυτών ξενιστών. Σύμφωνα με τους Pérez-de-Luque et. al. (2017), η εισαγωγή εξιδρωμάτων από το φυτό ξενιστή πυροδοτεί μια σειρά φυσιολογικών και βιοχημικών μεταβολών στους σπόρους, με τελικό αποτέλεσμα τη βλάστηση και την επακόλουθη προσκόλληση στο ριζικό σύστημα του ξενιστή. Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες επηρεάζουν τη βλάστηση των σπόρων της *Orobanche*, συμπεριλαμβανομένης της θερμοκρασίας, του φωτός και της εδαφικής υγρασίας (Pérez-de-Luque et al., 2017).

Η κατανόηση της δυναμικής της τράπεζας σπόρων της *Orobanch*e έχει σημαντικές προεκτάσεις για τη διαχείρισή του. Το διαρκές χαρακτηριστικό της τράπεζας σπόρων επιβάλλει την εφαρμογή παρατεταμένων προσεγγίσεων για τη διαχείριση και την αναστολή της διάδοσης αυτού του επιβλαβούς φυτού. Οι προσπάθειες εξάλειψης περιλαμβάνουν όχι μόνο την εμφανή βλάστηση αλλά και την εξάντληση της δεξαμενής σπόρων στο έδαφος. Είναι απαραίτητη μια ολοκληρωμένη προσέγγιση που ενσωματώνει μεθόδους πολιτιστικής, χημικής και βιολογικής καταπολέμησης.

Η εφαρμογή καλλιεργητικών πρακτικών, όπως η εναλλαγή καλλιεργειών, η αγρανάπαυση και η συγκαλλιέργεια, διαταράσσουν τον κύκλο ζωής της *Orobanch*e και μειώνουν την τράπεζα σπόρων. Οι αγρότες μπορούν να μειώσουν τη συσσώρευση σπόρων *Orobanch*e στο έδαφος με την ενσωμάτωση καλλιεργειών που δεν είναι ξενιστές ή με την εφαρμογή κατάλληλων μέτρων υγιεινής. Οι τεχνικές χημικής καταπολέμησης, όπως τα ζιζανιοκτόνα, είναι αποτελεσματικές στη μείωση της τράπεζας σπόρων. Ωστόσο, η χρήση τους θα πρέπει να γίνεται με διακριτικότητα, ώστε να περιορίζονται τυχόν δυσμενείς οικολογικές επιπτώσεις. Σύμφωνα με τους Vurro et. al. (2017), είναι δυνατόν οι βιολογικοί παράγοντες καταπολέμησης, συμπεριλαμβανομένων συγκεκριμένων μυκήτων και βακτηρίων, να αναστέλλουν αποτελεσματικά τη βλάστηση των σπόρων της *Orobanch*e και στη συνέχεια να μειώνουν την τράπεζα σπόρων (Vurro et al., 2017).

Επιπλέον, είναι επιτακτική ανάγκη να εκτελούνται άμεσα και με ακρίβεια τα μέτρα καταπολέμησης για την αναστολή της αποκατάστασης της τράπεζας σπόρων. Ο έγκαιρος εντοπισμός και η εξάλειψη των φυτών που έχουν μολυνθεί από *Orobanch*e πριν από την ωρίμανση των σπόρων μπορεί να μετριάσει αποτελεσματικά την εισαγωγή άλλων σπόρων στο έδαφος. Η κατάλληλη απόρριψη του φυτικού υλικού που έχει προσβληθεί είναι επιτακτική ανάγκη προκειμένου να παρεμποδιστεί η διάδοση των σπόρων *Orobanch*e σε ανεξερεύνητες περιοχές.

Περιβαλλοντικοί παράγοντες, όπως η θερμοκρασία, η υγρασία του εδάφους και η διαθεσιμότητα οξυγόνου, μπορούν να επηρεάσουν τη βιωσιμότητα και τη φθορά των σπόρων. Οι ποικίλες αντιδράσεις στα περιβαλλοντικά ερεθίσματα μπορούν να επηρεάσουν τη βλάστηση και την επιβίωση των σπόρων *Orobanch*e. Η βλάστηση και η βιωσιμότητα των σπόρων *Orobanch*e υπόκεινται στην επίδραση των επιπέδων υγρασίας του εδάφους. Η βέλτιστη βλάστηση αυτών των σπόρων παρατηρείται κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες υγρασίας. Η θήρευση των σπόρων μπορεί να επηρεάσει τη βιωσιμότητα και την αποσύνθεση των σπόρων *Orobanch*e. Αρκετές μελέτες έχουν τεκμηριώσει τον αντίκτυπο των αρπακτικών των σπόρων, συμπεριλαμβανομένων

των εντόμων και των τρωκτικών, στη μείωση της πυκνότητας της τράπεζας σπόρων μέσω της κατανάλωσης των σπόρων *Orobanche*. Η θήρευση σπόρων μπορεί να μειώσει την τράπεζα σπόρων και να εμποδίσει την επιτυχή εγκατάσταση των φυτών *Orobanche*.

Η κατανόηση του μεγέθους και της κινητικής των τραπεζών σπόρων της *Orobanche* και των καθοριστικών παραγόντων που επηρεάζουν τη βιωσιμότητα και τη φθορά των σπόρων με την πάροδο του χρόνου προσφέρει πολύτιμες προοπτικές για τη δυναμική των πληθυσμών και τις εύλογες προσεγγίσεις διαχείρισης αυτής της παρασιτικής χλωρίδας. Μπορούν να εφαρμοστούν αποτελεσματικές στρατηγικές διαχείρισης για την αντιμετώπιση της τράπεζας σπόρων, λαμβάνοντας υπόψη διάφορους παράγοντες που επηρεάζουν τη μακροβιότητα των σπόρων, τη φθορά και τη δυνατότητα βλάστησης. Η διεξαγωγή πρόσθετης έρευνας σχετικά με τους ακριβείς μηχανισμούς που διέπουν την αποσύνθεση των σπόρων και τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των σπόρων *Orobanche* και της μικροβιακής κοινότητας του εδάφους θα βοηθούσε στην ανάπτυξη εστιασμένων στρατηγικών διαχείρισης για τον αποτελεσματικό έλεγχο των προσβολών *Orobanche* (Mesquita *et al.*, 2019).

Συμπερασματικά, μια βιώσιμη τράπεζα σπόρων της *Orobanche* στο έδαφος χρησιμεύει ως δεξαμενή που διευκολύνει τον πολλαπλασιασμό και την εξάπλωση αυτού του παρασιτικού φυτού. Η αποτελεσματική διαχείριση της τράπεζας σπόρων αμφισβητείται από τη μακροπρόθεσμη βιωσιμότητά της και την παρουσία διαφόρων μηχανισμών λήθαργου. Είναι επιτακτική ανάγκη να κατανοηθούν οι μεταβλητές που επηρεάζουν τη βλάστηση των σπόρων της *Orobanche* και να εκτελεστούν ολοκληρωμένες μεθοδολογίες ελέγχου που αφορούν την παρατηρήσιμη χλωρίδα και την αποθήκη σπόρων για την αποτελεσματική διαχείριση και πρόληψη των προσβολών της *Orobanche*.

### **3.9. Αντιμετώπιση παρασιτικών ζιζανίων**

Στη βιβλιογραφία έχουν προταθεί πολλές προσεγγίσεις για τον έλεγχο των παρασιτικών ζιζανίων (Parker & Riches, 1993- Kroschel, 2001- Aly, 2007- Joel *et al.*, 2007- Sauerborn *et al.*, 2007- Eizenberg *et al.*, 2012). Χημικές μέθοδοι, όπως ζιζανιοκτόνα και συστήματα υποστήριξης αποφάσεων, διεγερτικά και αναστολείς της βλάστησης των σπόρων- καλλιεργητικές μέθοδοι, όπως η αμειψισπορά, οι καλλιέργειες παγίδευσης και παγίδευσης, η αγρανάπαυση, η λίπανση, ο χρόνος φύτευσης και η μεταφύτευση- φυσικές μέθοδοι, όπως η ηλιοθεραπεία και η καύση- μηχανικές μέθοδοι, όπως το τράβηγμα με το χέρι- βιολογικές μέθοδοι, όπως μύκητες και έντομα,



και γενετικές και βιοτεχνολογικές μέθοδοι. Ορισμένες μέθοδοι καταπολέμησης εμφανίζουν χαμηλή αποτελεσματικότητα, που σχετίζονται κυρίως με τον κύκλο ζωής των παρασίτων και τη βιωσιμότητα των σπόρων, ή εφαρμόζονται μόνο σε περιορισμένες περιπτώσεις λόγω ειδικών προϋποθέσεων, όπως ειδικά συστήματα άρδευσης ή οικολογικές ανησυχίες. Κατά συνέπεια, απαιτείται περισσότερη έρευνα για τη βελτίωση της αποτελεσματικότητάς τους. Η αποτελεσματικότητα της καταπολέμησης της Οροβάγχης μπορεί να βελτιωθεί με τη χρήση μιας ολοκληρωμένης προσέγγισης που ενσωματώνει τεχνολογία αιχμής και βιοτεχνολογίες. Η προσέγγιση αυτή περιλαμβάνει χημικό έλεγχο, διάγνωση, ανθεκτικές ποικιλίες, μεθοδολογίες μοντελοποίησης και γεωγραφικά συστήματα πληροφοριών (GIS). Σύμφωνα με τους Eisenberg et. al. (2011) και Rodenburg et. al. (2011), ολοκληρωμένες πρωτοβουλίες έχουν δρομολογηθεί στο Κέντρο Ρυζιού και στα Εθνικά Συστήματα Γεωργικής Έρευνας (NARS) του Μπενίν και της Τανζανίας, καθώς και στο Ισραήλ. Η τελευταία προσπάθεια εξετάζει το *P. aegyptiaca* ως μοντέλο για το σύστημα ξενιστή-παρασίτου στις τομάτες και τα καρότα. Η παρούσα μελέτη εξετάζει τόσο τη βασική βιολογία της *Orobanche* όσο και τα πρακτικά μέτρα διαχείρισης. Για παράδειγμα, περιλαμβάνει τη δημιουργία ενός συστήματος υποστήριξης αποφάσεων για την επιτυχή διαχείριση των ζιζανιοκτόνων με βάση το φαινολογικό μοντέλο του *P. aegyptiaca*. Περιλαμβάνονται επίσης η ανίχνευση και η μέτρηση της τράπεζας σπόρων Οροβάγχης στο έδαφος, ο προσδιορισμός της χωρικής κατανομής Οροβάγχης σε μολυσμένες περιοχές με τη χρήση του GIS ως εργαλείου, η απολύμανση του εδάφους και η εφαρμογή αποτελεσματικής τεχνικής καταπολέμησης για την ελαχιστοποίηση της τράπεζας σπόρων σε έντονα μολυσμένα εδάφη. Επιπλέον, το έργο περιλαμβάνει τη φυτοϋγειονομική εξυγίανση και τη διασφάλιση ότι τα γεωργικά μηχανήματα, ο εξοπλισμός και το κομπόστ είναι απαλλαγμένα από το broomrape. Ασχολείται επίσης με φυσιολογικά ζητήματα ξενιστή-παρασίτου, τη βελτιστοποίηση της δράσης των ζιζανιοκτόνων στα φυτά και το έδαφος και την τηλεπισκόπηση των μολυσμένων φυτών από την *Orobanche*.

### **3.9.1. Βιολογικός έλεγχος**

Σημαντική έμφαση έχει δοθεί στη διερεύνηση της πιθανής χρήσης εντόμων και μυκητολογικών παθογόνων. Αρκετά είδη εντόμων έχουν παρατηρηθεί στην Οροβάγχη, αλλά τα περισσότερα από αυτά διαθέτουν ευρύ φάσμα ξενιστών και προκαλούν αμελητέα βλάβη στα παρασιτικά ζιζάνια. Το *Phytomyza orobanchia* (Kalt.) (*Diptera: Agromyzidae*) είναι το μόνο είδος

που βρέθηκε να έχει ειδικότητα ξενιστή, με την ικανότητα να προσβάλλει πάνω από 20 είδη (Chai *et al.*, 2015). Τα θηλυκά φυτά έχουν την ικανότητα να γεννούν έως και 200 αυγά μέσα στους οφθαλμούς, τα άνθη ή τους μίσχους κατά τη διάρκεια ενός κύκλου ζωής 30-35 ημερών. Είναι δυνατόν να ολοκληρώσουν έως και τρεις γενιές μέσα σε μία μόνο περίοδο. Οι προνύμφες υποβάλλονται σε διαδικασίες ανάπτυξης και διατροφής μέσα στις κάψουλες των σπόρων των αντίστοιχων ξενιστών τους. Η έκταση της προσβολής από το *P. orobanchia* μπορεί να ποικίλλει ανάλογα με την τοποθεσία και το είδος του φυτού ξενιστή, ενώ ορισμένες μελέτες αναφέρουν ποσοστά προσβολής έως και 95% των καψουλών των σπόρων (Černý *et al.*, 2022). Κατά συνέπεια, το *P. orobanchia* παρουσίασε σημαντικές δυνατότητες επηρεασμού της παραγωγής σπόρων παρασιτικών ζιζανίων και αποτέλεσε αντικείμενο εκτεταμένης έρευνας. Παρόλα αυτά, παρά την επίτευξη μείωσης των σπόρων σε ποσοστό άνω του 90%, οι φυσικοί πληθυσμοί του *P. orobanchia* από μόνοι τους δεν έφτασαν σε επαρκές επίπεδο για να μειώσουν αποτελεσματικά τον πληθυσμό της Οροβάγχης σε σημείο που να μην υπάρχουν οικονομικές απώλειες. Τα πληθυσμιακά δυναμικά μοντέλα που ανέπτυξαν οι Smith και Webb το 1996 σχετικά με το σύστημα *Striga-Smicronyx* δείχνουν ότι το *P. orobanchia* έχει τη δυνατότητα να μειώσει την προσβολή από *Orobanche* κατά 50%, υπό την προϋπόθεση ότι οι μύγες καταναλώνουν τουλάχιστον το 70-80% των παραγόμενων σπόρων. Η αποτελεσματικότητα του *P. orobanchia* μπορεί να παρεμποδιστεί από διάφορους παράγοντες, όπως η καλλιέργεια του εδάφους, ιδίως το βαθύ όργωμα, οι εφαρμογές φυτοφαρμάκων που αποσκοπούν στην καταπολέμηση των παρασίτων των καλλιεργειών κατά τις περιόδους πτήσης του ωφέλιμου εντόμου και η ύπαρξη αυτοφυών παρασιτοειδών που επηρεάζουν αρνητικά τα επίπεδα του πληθυσμού τους (Černý *et al.*, 2022).

Η σύντομη διάρκεια ζωής τους, η εκτεταμένη παραγωγή σπόρων και η πιθανή βλάβη του ξενιστή από τα φυτά που δεν έχουν βλαστήσει αποκλείουν το ενδεχόμενο να θεωρηθούν βέλτιστοι οργανισμοί για βιολογικό έλεγχο με τη μεσολάβηση εντόμων. Η εισαγωγή απελευθερωμένων μυγών μπορεί να χρησιμεύσει ως κρίσιμο στοιχείο μιας ολοκληρωμένης προσέγγισης για την πρόληψη της εξάπλωσης και της προσβολής από την Οροβάγχη, κυρίως όταν εφαρμόζεται σε συνδυασμό με άλλα στοιχεία διαχείρισης. Υπάρχει ένα πλήθος μυκήτων και βακτηρίων που έχουν αναγνωριστεί ως αιτιολογικοί παράγοντες μόλυνσεων από Οροβάγχη. Η διατύπωση του προϊόντος F προέκυψε από τις αρχικές προσπάθειες στην πρώην Σοβιετική Ένωση. Το προϊόν αυτό χρησιμοποιήθηκε κυρίως για τη διαφύλαξη του *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai (καρπούζι) (Chai *et al.*, 2015).

Η ταυτοποίηση σχεδόν 30 γενών μυκήτων και βακτηρίων με διαφορετικούς βαθμούς παθογένειας προς τα σπαθόχορτα επιτεύχθηκε μέσω μιας σειράς διαδοχικών ερευνών, όπως ανέφεραν οι Sauerborn *et al.* (2007). Τα είδη *Fusarium* παρουσίασαν τον υψηλότερο βαθμό προβολής, ενώ παρατηρήθηκαν επίσης και άλλα είδη όπως *Alternaria alternata* (Fries) Kessler, *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. και *Rhizoctonia solani* Kuhn. Το *Fusarium oxysporum* Schlecht έχει ταυτοποιηθεί ως το κυρίαρχο είδος μεταξύ των διαφόρων ειδών *Fusarium* που αναφέρθηκαν ότι συνδέονται με την Οροβάγχη. Οι εδαφογενείς μύκητες, όπως το *Fusarium*, παρουσιάζουν διάφορα πλεονεκτικά χαρακτηριστικά, καθιστώντας τους μια επιτακτική επιλογή για τη στρατηγική βιοφαρμάκων. Είναι γνωστό ότι η Οροβάγχη ευδοκίμει σε περιοχές επιρρεπείς στην ξηρασία και τη θερμική καταπόνηση. Ωστόσο, το έδαφος παρέχει ένα ορισμένο επίπεδο προστασίας για τα φυτά αυτά έναντι αυτών των περιβαλλοντικών παραγόντων. Επιπλέον, τα σωματίδια αυτά ευνοούν τη βιομηχανική παραγωγή μεγάλης κλίμακας και τα *formae speciales* του *F. oxysporum* παρουσιάζουν υψηλό βαθμό εξειδίκευσης ως προς τον ξενιστή, ελαχιστοποιώντας έτσι το ενδεχόμενο επιπτώσεων σε μη στόχους. Η χρήση εδαφογενών παραγόντων βιοελέγχου θα μπορούσε δυνητικά να εξαλείψει το παρασιτικό ζιζάνιο κατά τα αρχικά στάδια ανάπτυξής του, καθώς οι περισσότερες ζημιές που προκαλούνται στις καλλιέργειες ξενιστών διαρρέουν ενώ το ζιζάνιο παραμένει υπόγειο (Awere *et al.*, 2021). Για τον έλεγχο αυτών των παθογόνων έχουν πειραματιστεί διάφοροι πολλαπλασιαστές, όπως κονίδια, χλαμυδοσπόρια ή κατακερματισμένα μυκήλια, καθώς και διαφορετικές μέθοδοι εφαρμογής, όπως εφαρμογή στο έδαφος, εδαφοβροχή, άρδευση και εφαρμογή στο φύλλωμα, και ζωντανές συνθέσεις, όπως κοκκώδη, αλγινικά σφαιρίδια και υγρό εναιώρημα. Σε πολλές περιπτώσεις, έχει παρατηρηθεί ότι κάθε αναπτυξιακή φάση της Οροβάγχης παρουσιάζει ευπάθεια στην επίθεση παθογόνων. Οι μύκητες μπορούν να μολύνουν διάφορα μέρη των φυτών, όπως σπόρους, βλαστικούς σωλήνες, κονδύλους και βλαστούς εντός του εδάφους, οδηγώντας σε μειωμένη παρασιτική δραστηριότητα και αυξημένη παραγωγικότητα της καλλιέργειας.

### **3.9.2. Φυσικά προϊόντα**

Η αποτελεσματική διαχείριση των παρασιτικών ζιζανίων θα μπορούσε να επιτευχθεί με την πρόληψη της βλάστησης των σπόρων και της προσκόλλησης στον ξενιστή, δεδομένου του κύκλου ζωής αυτών των οργανισμών. Ενώσεις φυσικής προέλευσης που έχουν την ικανότητα να παρεμποδίζουν τη βλάστηση των σπόρων, να περιορίζουν την επιμήκυνση των βλαστικών

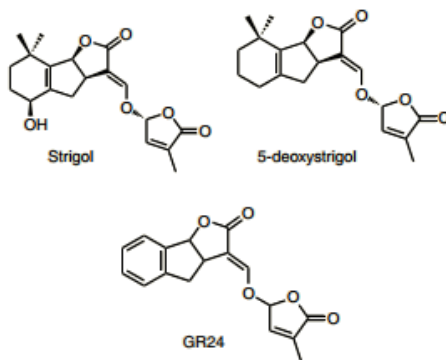
σωλήνων ή να εμποδίζουν την ανάπτυξη των κονδύλων έχουν τη δυνατότητα να χρησιμεύσουν ως ελκυστικά και οικολογικά ορθά μέσα για την επίτευξη του επιθυμητού αποτελέσματος. Οι ζωντανοί οργανισμοί μπορούν να παράγουν ένα τεράστιο φάσμα φυσικών ενώσεων που παρουσιάζουν παραλλαγές στη χημική τους δομή, τη βιολογική τους δραστηριότητα, το μηχανισμό δράσης, την ειδικότητα και τις περιβαλλοντικές τους επιπτώσεις. Οι φαρμακευτικές εφαρμογές των εν λόγω ενώσεων έχουν ερευνηθεί εκτενώς (Vurro, 2017). Ωστόσο, πρέπει να καταβληθούν περισσότερες προσπάθειες για την αξιολόγηση και την κατανόηση της δυναμικής χρησιμότητάς τους στην προστασία των φυτών. Επί του παρόντος, μόνο ένα πενήντο 11% των παγκόσμιων πωλήσεων γεωργικών φαρμάκων περιλαμβάνει είτε φυσικά προϊόντα είτε ενώσεις που μπορούν να αποδοθούν σε βιοδραστικά φυσικά προϊόντα. Οι περισσότερες από τις εν λόγω ενώσεις είναι πιθανό να μην έχουν ακόμη ανακαλυφθεί και να υποβληθούν σε χημική και βιολογική ταυτοποίηση. Ενώ υπάρχει επείγουσα ανάγκη για ενώσεις που διαθέτουν νέους τρόπους δράσης και μοριακές θέσεις-στόχους, τα φυσικά προϊόντα μπορεί να μην είναι ιδανικά για ζιζανιοκτόνο χρήση λόγω των περίπλοκων δομών τους που είναι ασύμφορη η παραγωγή τους ή λόγω της δυσμενούς απώλειας δραστηριότητας που προκύπτει από τις απαραίτητες δομικές τροποποιήσεις που αποσκοπούν στη βελτίωση των φυσικοχημικών ιδιοτήτων τους. Επιπλέον, είναι επιτακτική ανάγκη οι χρησιμοποιούμενοι παράγοντες να παρουσιάζουν επαρκή αποτελεσματικότητα έναντι των επιδιωκόμενων ειδών, να διαθέτουν υψηλό βαθμό ασφάλειας και βιολογικής εκλεκτικότητας, να συμμορφώνονται με τυποποιημένα πρωτόκολλα διατύπωσης και σύνθεσης και να είναι επιδεκτικοί σε εύκολες και ταχείες τεχνικές παραγωγής, συμπεριλαμβανομένων ενδεικτικά της σύνθεσης, της εκχύλισης και της ζύμωσης. Η αξιοσημείωτη ικανότητα του *bialaphos* και του *glufosinate* υποδηλώνει ότι τα μικρόβια του εδάφους και τα παθογόνα των φυτών αποτελούν πολλά υποσχόμενες δεξαμενές νέων φυτοτοξινών. Η ικανότητα των μικροβίων να παράγουν σημαντικές ποσότητες τοξινών μέσω εκτεταμένης ζύμωσης τα καθιστά ένα ευνοϊκό σύστημα για γεωργικούς σκοπούς. Ακόμα και με τις σημαντικές δυνατότητες αυτού του τομέα έρευνας, υπήρξε μόνο ένας περιορισμένος αριθμός προσπαθειών για τη διερεύνηση νέων ενώσεων που προέρχονται από φυσικές πηγές για τη διαχείριση παρασιτικών φυτών. Αρκετές προσπάθειες αναλήφθηκαν με τη χρήση φυσικών ενώσεων που παράγονται από μυκητοπαθογόνα των φυτών, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που παράγονται από παρασιτικά παθογόνα ζιζανίων (π.χ. *Fusarium spp.*) και μυκοφυτοκτόνα με δυνατότητες.

Σύμφωνα με τους Vurro et. al. (2007), διάφορες τοξίνες βρέθηκαν αποτελεσματικές στην αναστολή της βλάστησης των σπόρων των *S. hermonthica*, *P. ramosa* και *C. campestris*, με ποσοστό πλήρους αναστολής 100% που παρατηρήθηκε στις δοκιμές (Vurro, 2017).

### 3.9.3. Στριγκολακτόνες

Η αλληλεπίδραση μεταξύ του ξενιστή και των παρασίτων της ρίζας ξεκινά με την έκλυση δευτερογενών μεταβολιτών, γνωστών και ως διεγερτικών της βλάστησης, από τις ρίζες του ξενιστή. Αυτά τα διεγερτικά πυροδοτούν τη βλάστηση των σπόρων του παρασίτου, όπως απεικονίστηκε προηγουμένως. Οι Cook et. al. (1966, 1972) σύμφωνα με τους Vurro et. al. (2007) παρουσίασαν αρχικά την ουσία αυτών των χημικών σημάτων απομονώνοντας τη στριγκόλη από τις ρίζες του *Gossypium hirsutum* L. (βαμβάκι). Αυτό το μη ξενιστής φυτό διεγείρει σημαντικά τη βλάστηση των σπόρων της *Striga*. Οι Siame et al. (1993) απέδειξαν ότι η strigol είναι το κύριο διεγερτικό της βλάστησης που παράγεται από πολλούς εμπορικά σημαντικούς ξενιστές *Striga* (Vurro, 2017).

Σύμφωνα με τους Vurro et. al. (2007) οι Yasuda et. al. (2003) εντόπισαν επίσης στριγκολακτόνες στα εκκρίματα ριζών διαφόρων δημητριακών και δικοτυλήδων φυτών. Διάφορα διεγερτικά βλάστησης για το *Orobanche* και το *Striga* spp. που εμπίπτουν στη χημική κατηγορία των στριγκολακτόνων (SLs) (Εικόνα 3.2) έχουν ανακαλυφθεί στα εκκρίματα ρίζας τόσο των ξενιστών όσο και των μη ξενιστών τους (Vurro, 2017)



Εικόνα 3.2: Δομές στριγκόλης και 5-δεοξυστριγκόλης και του συνθετικού αναλόγου GR24.

Η απομόνωση και ο δομικός προσδιορισμός των SLs, οι οποίες ήταν προηγουμένως δύσκολο να ληφθούν λόγω των ιχνοστοιχείων τους ή της χημικής αστάθειάς τους, κατέστη δυνατή χάρη στις πρόσφατες εξελίξεις στον καθαρισμό, τις αναλυτικές μεθόδους και τις φασματοσκοπικές

τεχνικές. Η παραγωγή και η απελευθέρωση SLs στη ριζόσφαιρα από όλα τα εξεταζόμενα αγγειόσπερμα υποδηλώνουν ότι οι γειτονικοί οργανισμοί κοντά στις ρίζες των φυτών εκτίθενται σταθερά σε SLs, υπογραμμίζοντας τον κρίσιμο ρόλο των SLs στη διευκόλυνση της χημικής επικοινωνίας μεταξύ των φυτών που παράγουν SLs και άλλων οργανισμών στη ριζόσφαιρα. Τα βρυόφυτα έχουν αποδείξει την ικανότητα να παράγουν SLs ως παράγοντες σήματος που ρυθμίζουν αναπτυξιακές και οικοφυσιολογικές διεργασίες. Αυτό έχει οδηγήσει τους ερευνητές να προτείνουν ότι τα SLs μοιάζουν με μόρια που ανιχνεύουν το κουόρουμ και χρησιμοποιούνται από βακτήρια για διακυτταρική επικοινωνία (Okazawa *et al.*, 2021). Το θεμελιώδες δομικό στοιχείο των φυσικών SLs είναι μια τρικυκλική λακτόνη (τμήμα ABC) που συνδέεται με μια ομάδα βουτενολίδης (δακτύλιος D) μέσω μιας γέφυρας αιθέρα ενολών. Η γέφυρα θεωρείται κρίσιμη δομή για τη διέγερση της βλαστικής δραστηριότητας και είναι παρούσα σε όλες τις φυσικές SLs.

Επιπλέον, οι μεταβολές στη μοριακή δομή άλλων συστατικών επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα και τη διάρκεια ζωής του μορίου. Τα φυσικά σφινγολιπίδια (SL) περιλαμβάνουν συνήθως τρεις έως πέντε ασύμμετρους άνθρακες, με αποτέλεσμα τέσσερα έως 16 στερεοϊσομερή. Αυτά τα στερεοϊσομερή μπορούν να συζευχθούν με διάφορα βιομόρια, όπως σάκχαρα, αμινοξέα ή ομάδες ακετυλίου. Σύμφωνα με τους Zwanenburg *et al.* (2009), τα αποτελέσματα δείχνουν ότι τα φυτά μπορούν να παράγουν όλα τα στερεοϊσομερή. Ωστόσο, έχουν ταυτοποιηθεί μόνο αυτά που παράγονται σε σημαντικές ποσότητες ή συσσωρεύονται. Τα φυτά πιθανώς συνθέτουν πάνω από 100 SLs, τα οποία περιλαμβάνουν τόσο συζυγή όσο και στερεοϊσομερή. Ο προσδιορισμός των ενεργών κέντρων των SLs είναι ζωτικής σημασίας για την κατανόηση των βιολογικών χαρακτηριστικών αυτών των ουσιών. Αξίζει να σημειωθεί ότι οι SLs παρουσιάζουν διπλή λειτουργία, καθώς όχι μόνο χρησιμεύουν ως διεγερτικά βλαστικής ανάπτυξης για τα παρασιτικά ριζικά φυτά, αλλά και ως υπεύθυνες ενώσεις για την επαγωγή της βλαστικής ανάπτυξης των σπορίων και της διακλάδωσης των υφών σε αφιδωτούς μυκορριζικούς (AM) μύκητες, όπως αναφέρθηκε από τους Akiyama *et al.* (2005). Έρευνες σύμφωνα με τους Vurro *et al.* (2007), έχουν δείξει ότι οι SLs λειτουργούν ως φυτοορμόνες που εμποδίζουν τη διακλάδωση των βλαστών (Gomez-Roldan *et al.*, 2008; Umehara *et al.*, 2008) και ρυθμίζουν την ανάπτυξη των ριζών και των ριζικών τριχών (Vurro, 2017).

### **3.10. Βελτίωση στην αντιμετώπιση του προβλήματος**

Η συμβολή της βελτίωσης στην αντιμετώπιση του προβλήματος της *Orobanch* ήταν σημαντική τα τελευταία χρόνια. Οι προσπάθειες έχουν επικεντρωθεί σε διάφορες στρατηγικές, συμπεριλαμβανομένης της δημιουργίας νέων εμπορικών υβριδίων και ποικιλιών με ανθεκτικότητα στα ολοπαράσιτα, καθώς και της χρήσης μοριακών εργαλείων για γρήγορο και αξιόπιστο διαχωρισμό των φυλών για την άμεση ταυτοποίηση των πιο μολυσματικών φυλών από άλλες λιγότερο μολυσματικές φυλές στον αγρό. Αυτές οι εξελίξεις διευκόλυναν την ταχεία εφαρμογή μέτρων ελέγχου της μόλυνσης, Παρακάτω αναφέρεται η συμβολή αυτών των προσεγγίσεων στην αντιμετώπιση του προβλήματος της *Orobanch*, υπογραμμίζοντας το ρόλο της βελτίωσης στην καταπολέμηση αυτού του παρασιτικού φυτού.

#### **3.10.1. Δημιουργία νέων εμπορικών υβριδίων/ποικιλιών με ανθεκτικότητα**

Οι σύγχρονες βελτιωτικές προσεγγίσεις έχουν διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στη διευκόλυνση της δημιουργίας νέων εμπορικών υβριδίων και ποικιλιών που παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στην *Orobanch*. Οι βελτιωτές έχουν αναπτύξει ποικιλίες που παρουσιάζουν αυξημένη ανθεκτικότητα μέσω συμβατικών μεθόδων βελτίωσης, σύμφωνα με τις οποίες επιλέγονται επιλεκτικά γονικές σειρές που διαθέτουν χαρακτηριστικά ανθεκτικότητας και στη συνέχεια διασταυρώνονται με άλλες γονικές σειρές (Tokasi *et al.*, 2014). Η αξιοποίηση αυτών των ποικιλιών που παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στις προσβολές από *Orobanch* αποτελεί μια βιώσιμη και αποτελεσματική προσέγγιση για τη διαχείριση των προσβολών αυτών (Amri *et al.*, 2021).

Για την παραγωγή ανθεκτικών υβριδίων, είναι επιτακτική ανάγκη να εντοπιστούν αρχικά οι πιθανοί μηχανισμοί ανθεκτικότητας και στη συνέχεια να ενσωματωθούν στη διαδικασία βελτίωσης. Οι πιθανοί μηχανισμοί που διέπουν αυτές τις διαδικασίες μπορεί να περιλαμβάνουν φυσικά εμπόδια, μοριακά συστήματα άμυνας ή τροποποιημένα φυσιολογικά χαρακτηριστικά που εμποδίζουν την ικανότητα της Οροβάγχης να εγκατασταθεί και να επιδείξει παρασιτική συμπεριφορά προς άλλους οργανισμούς. Η ολοκληρωμένη κατανόηση της γενετικής βάσης της ανθεκτικότητας δίνει τη δυνατότητα στους βελτιωτές να ενισχύουν επιλεκτικά συγκεκριμένα χαρακτηριστικά και να αυξάνουν την ανθεκτικότητα σε εμπορικές ποικιλίες.

Η ανάπτυξη υβριδίων και ποικιλιών ανθεκτικών στην *Orobanch* έχει επηρεάσει σημαντικά την εμπορική γεωργική παραγωγή, παρέχοντας στους γεωργούς πρακτικές επιλογές για τον έλεγχο της *Orobanch*. Αυτό είχε ως αποτέλεσμα τη δημιουργία σημαντικών εσόδων. Η

χρησιμοποίηση ανθεκτικών ποικιλιών έχει παρατηρηθεί ότι ενισχύει τη γεωργική παραγωγικότητα, μειώνει την εξάρτηση από χημικά φυτοφάρμακα και μετριάξει την απώλεια αποδόσεων που αποδίδεται στις προσβολές από *Orobanche*. Στις σύγχρονες στρατηγικές αντιμετώπισης των επιβλαβών οργανισμών, η ενσωμάτωση ανθεκτικών υβριδίων και ποικιλιών αποτελεί θεμελιώδες στοιχείο για την καταπολέμηση των προσβολών από την *Orobanche*.

### **3.10.2. Χρήση μοριακών εργαλείων για το διαχωρισμό των φυλών**

Η κατηγοριοποίηση των πληθυσμών της *Orobanche* με βάση τις αντίστοιχες φυλές τους έχει αλλάξει σημαντικά με την εφαρμογή μοριακών τεχνικών, όπως οι δείκτες DNA. Η αξιοποίηση συγκεκριμένων γενετικών προφίλ επιτρέπει την ταχεία και αξιόπιστη διαφοροποίηση διαφορετικών φυλών μέσω της ανάπτυξης των εν λόγω δεικτών. Μέσω της διεξαγωγής ανάλυσης γενετικής ποικιλότητας των πληθυσμών *Orobanche*, οι βελτιωτές και οι ερευνητές μπορούν να εντοπίσουν αποτελεσματικά τις ιδιαίτερα μολυσματικές φυλές του φυτικού είδους που παρουσιάζουν μεγαλύτερο κίνδυνο και στη συνέχεια να εφαρμόσουν κατάλληλα μέτρα ελέγχου (Zeybekoğlu *et al.*, 2019).

Η χρήση μοριακών δεικτών στις εργασίες βελτίωσης μπορεί να διευκολύνει την απλούστευση της επιλογής με τη βοήθεια δεικτών (MAS). Η αξιοποίηση της επιλογής με τη βοήθεια δεικτών (MAS) επιτρέπει στους γεωργούς να ελέγχουν αποτελεσματικά και με ακρίβεια μεγάλους πληθυσμούς για γονίδια που παρέχουν ανθεκτικότητα. Η αξιοποίηση μοριακών προφίλ διευκολύνει την επιλογή φυτών με τα επιθυμητά χαρακτηριστικά ανθεκτικότητας, επιταχύνοντας την ανάπτυξη ποικιλιών ανθεκτικών στην *Orobanche*. (Tadele & Yohannis, 2018).

Εάν οι φυλές της οροβάγχης μπορούν να διαχωριστούν με γρήγορο και αποτελεσματικό τρόπο, οι γεωργοί μπορούν να εφαρμόσουν στοχευμένα μέτρα καταπολέμησης κατά συγκεκριμένων φυλών. Η εφαρμογή της συγκεκριμένης προσέγγισης ενισχύει την αποτελεσματικότητα των μεθοδολογιών ελέγχου, ενώ ταυτόχρονα βελτιστοποιεί τη χρήση των προσβάσιμων πόρων, μειώνοντας τελικά τις δυσμενείς επιπτώσεις της *Orobanche* στη γεωργική παραγωγικότητα (Chai *et al.*, 2015).

### **3.10.3. Ταχεία εφαρμογή των μέτρων ελέγχου των προσβολών**

Η εφαρμογή μοριακών τεχνικών για τη διάκριση των φυλών της Οροβάγχης διευκολύνει την έγκαιρη ανίχνευση των προσβολών. Οι αγρότες μπορούν να εφαρμόσουν στρατηγικές ελέγχου



κατά τα αρχικά στάδια της προσβολής με την άμεση ανίχνευση ιδιαίτερα μολυσματικών φυλών του παρασίτου. Η έγκαιρη ανίχνευση είναι ζωτικής σημασίας για τη δυνατότητα έγκαιρων στρατηγικών παρέμβασης, συμπεριλαμβανομένης της αμειψισποράς, της διαχείρισης ζιζανίων και της στοχευμένης χορήγησης ζιζανιοκτόνων (El-Dabaa & Abd-El-Khair, 2020).

Οι βελτιώσεις στην ταυτοποίηση των ειδών της Οροβάγχης και ο διαχωρισμός των φυλών του μπορούν να διευκολύνουν την εφαρμογή στρατηγικών ολοκληρωμένης διαχείρισης παρασίτων (IPM) για τον έλεγχο της Οροβάγχης. Η ολοκληρωμένη διαχείριση των επιβλαβών οργανισμών (ΟΠΔ) υιοθετεί μια ολοκληρωμένη προσέγγιση για τη διαχείριση των επιβλαβών οργανισμών ενσωματώνοντας διάφορες τεχνικές ελέγχου σε ένα ενιαίο σύστημα (Sawinska *et al.*, 2020). Οι προαναφερθείσες τεχνικές για τον έλεγχο των επιβλαβών οργανισμών περιλαμβάνουν την εφαρμογή ανθεκτικών ποικιλιών, καλλιεργητικών πρακτικών, χημικής καταπολέμησης και βιολογικών παραγόντων καταπολέμησης. Η ταχεία εφαρμογή των μεθοδολογιών ολοκληρωμένης διαχείρισης επιβλαβών οργανισμών (ΟΠΔ) που βασίζονται στην ταυτοποίηση των φυλών χρησιμεύει για την ενίσχυση της αποτελεσματικότητας των στρατηγικών ελέγχου (Usman *et al.*, 2021).

Η επίτευξη βιώσιμου ελέγχου της Οροβάγχης μπορεί να πραγματοποιηθεί με την υιοθέτηση προηγμένων στρατηγικών ελέγχου που βασίζονται σε μοριακές τεχνικές και ποικιλίες που παρουσιάζουν ανθεκτικότητα. Οι αγρότες μπορούν να μειώσουν την εξάρτησή τους από τις τεχνικές χημικής διαχείρισης και να μετριάσουν τις σχετικές περιβαλλοντικές συνέπειες, στοχεύοντας σε συγκεκριμένα παράσιτα και χρησιμοποιώντας ποικιλίες που παρουσιάζουν ανθεκτικότητα σε αυτές τις φυλές. Η εφαρμογή της συγκεκριμένης στρατηγικής ενισχύει την πιθανότητα αποτελεσματικής διαχείρισης για μεγάλο χρονικό διάστημα και μειώνει την επιλεκτική πίεση που ασκείται στους πληθυσμούς της Οροβάγχης (Amri *et al.*, 2021).

## **4. Μέθοδοι ταυτοποίησης των διαφόρων φυλών Οροβάγχης**

### **4.1. Μορφολογικά χαρακτηριστικά για την ταυτοποίηση της Οροβάγχης**

Η Οροβάγχη είναι ένα γένος μικρών παρασιτικών ποωδών φυτών με περισσότερα από 200 είδη, τα οποία ενδημούν κυρίως στο εύκρατο βόρειο ημισφαίριο (Wikipedia, 2023). Μία από τις κύριες μεθόδους αναγνώρισης των διαφόρων ειδών Οροβάγχης είναι τα μορφολογικά χαρακτηριστικά τους. Τα χαρακτηριστικά των ανθέων, όπως το μέγεθος και το σχήμα των πετάλων της στεφάνης και των σέπαλων, μπορούν να αποτελέσουν συγκεκριμένα διαγνωστικά χαρακτηριστικά για την ταυτοποίηση των ειδών Οροβάγχης (Konarska & Chmielewski, 2020). Επιπλέον, τα άνθη ορισμένων ειδών, όπως το *Orobanche fasciculata*, είναι συγκεντρωμένα σφιχτά μεταξύ τους σχηματίζοντας μια πυκνή ακίδα, γεγονός που καθιστά εύκολη την αναγνώρισή τους (DNR.State, 2023a, 2023b). Έτσι, η προσεκτική εξέταση των χαρακτηριστικών των λουλουδιών μπορεί να βοηθήσει στην αναγνώριση των διαφόρων ειδών Οροβάγχης.

Τα χαρακτηριστικά των στελεχών μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν για την αναγνώριση διαφορετικών ειδών Οροβάγχης. Για παράδειγμα, ορισμένα είδη έχουν πιο εύρωστο στέλεχος, ενώ άλλα έχουν πιο λεπτό στέλεχος (FNWD, 2023). Επιπλέον, το χρώμα και η υφή του στελέχους μπορεί να διαφέρουν μεταξύ των ειδών, παρέχοντας περαιτέρω ενδείξεις για την ταυτοποίηση. Η προσεκτική εξέταση των χαρακτηριστικών του στελέχους μπορεί να βοηθήσει στη διαφοροποίηση μεταξύ διαφορετικών ειδών Οροβάγχης.

Τα χαρακτηριστικά των φύλλων μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν για την αναγνώριση διαφορετικών ειδών Οροβάγχης. Ορισμένα είδη έχουν απλά και εναλλασσόμενα φύλλα, ενώ άλλα έχουν φύλλα που περιορίζονται σε λέπια ή απουσιάζουν εντελώς (Negewo *et al.*, 2022). Σε ορισμένες περιπτώσεις, το σχήμα και το μέγεθος των φύλλων μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για τη διάκριση μεταξύ των διαφόρων ειδών Οροβάγχης (Konarska & Chmielewski, 2020). Έτσι, η ενδελεχής εξέταση των χαρακτηριστικών των φύλλων μπορεί να αποτελέσει πολύτιμο εργαλείο για την αναγνώριση των διαφόρων ειδών Οροβάγχης.

### **4.2. Μοριακές τεχνικές για την ταυτοποίηση της Οροβάγχης**

Έχουν αναπτυχθεί μοριακές τεχνικές για την ταυτοποίηση διαφόρων ειδών και τύπων της Οροβάγχης. Μια τέτοια τεχνική είναι η γραμμωτή κωδικοποίηση DNA, η οποία περιλαμβάνει τη χρήση σύντομων αλληλουχιών DNA για την ταυτοποίηση και ταξινόμηση των φυτικών ειδών (Center for Advanced Studies in Vaccinology & Biotechnology (CASVAB) & Ahmed, 2020). Η

μέθοδος αυτή έχει χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για την ταυτοποίηση ειδών Οροβάγχης, μεταξύ άλλων σε μια μελέτη επιτήρησης σε καλλιέργειες τομάτας το 2018. Έχουν επίσης αναπτυχθεί τεχνικές με βάση την PCR για την ταυτοποίηση της Οροβάγχης, όπως το τυχαία ενισχυμένο πολυμορφικό DNA (RAPD) και οι δοκιμασίες τήξης υψηλής ανάλυσης (Plaza *et al.*, 2004). Αυτές οι τεχνικές μπορούν να παρέχουν ακριβή και ταχεία ταυτοποίηση των ειδών Οροβάγχης, ακόμη και σε μικτά δείγματα.

Μια άλλη μοριακή τεχνική για την ταυτοποίηση της Οροβάγχης είναι η φυλογενετική ανάλυση, η οποία περιλαμβάνει τη σύγκριση αλληλουχιών DNA για τον προσδιορισμό των εξελικτικών σχέσεων μεταξύ των ειδών (Jedrejek *et al.*, 2020). Η ανάλυση του γονιδιώματος των πλαστιδίων έχει επίσης χρησιμοποιηθεί για τον καθορισμό των σχέσεων μεταξύ των ειδών Οροβάγχης και την ταυτοποίηση συγκεκριμένων ειδών (Roman *et al.*, 2003). Αυτές οι τεχνικές μπορούν να παράσχουν πολύτιμες πληροφορίες σχετικά με την εξελικτική ιστορία και τις σχέσεις μεταξύ των διαφόρων ειδών Οροβάγχης, βοηθώντας στην ταυτοποίηση και ταξινόμησή τους.

Η δυσκολία στην ταυτοποίηση των ειδών Οροβάγχης έχει επισημανθεί σε διάφορες μελέτες (Plaza *et al.*, 2004). Ωστόσο, η ανάπτυξη μοριακών τεχνικών, όπως η γραμμωτή κωδικοποίηση DNA, οι τεχνικές που βασίζονται στην PCR και η φυλογενετική ανάλυση, έχει βελτιώσει δραματικά την ακρίβεια και την αποτελεσματικότητα της ταυτοποίησής τους.

#### **4.3. Τεχνικές χημικής ανάλυσης για την ταυτοποίηση της Οροβάγχης**

Έχουν αναπτυχθεί τεχνικές χημικής ανάλυσης για την ταυτοποίηση διαφόρων ειδών/τύπων της Οροβάγχης. Μια προσέγγιση είναι η ανάλυση της χημικής σύνθεσης των φυτών. Μια μελέτη των Jedrejek *et al.* 2020 παρείχε μια ποιοτική και ποσοτική φυτοχημική περιγραφή έξι ειδών Οροβάγχης (Jedrejek *et al.*, 2020). Μια άλλη μέθοδος περιλαμβάνει τη χρήση προσεγγίσεων βασισμένων στη μεταβολική για τον εντοπισμό μοναδικών μεταβολιτών ή βιοδεικτών ειδικά για κάθε είδος. Οι Clermont *et al.* 2019 μελέτησαν τον μεταβολισμό των παρασιτικών φυτών για τον εντοπισμό διεργασιών που θα μπορούσαν να στοχευθούν για διακοπή με σκοπό τη βελτίωση της απόδοσης των καλλιεργειών (Clermont *et al.*, 2019). Οι ερευνητές μπορούν να τα διακρίνουν αναλύοντας τους μεταβολίτες και τους βιοδείκτες σε διαφορετικά είδη Οροβάγχης και προσδιορίζοντας με ακρίβεια κάθε είδος.

Φασματοσκοπικές τεχνικές, όπως η φασματοσκοπία υπερύθρου και η φασματοσκοπία Raman, έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί για την ταυτοποίηση των ειδών Οροβάγχης. Οι τεχνικές

αυτές περιλαμβάνουν την ανάλυση των μοναδικών φασματικών αποτυπωμάτων των φυτών, τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη διάκριση μεταξύ διαφορετικών ειδών. Οι Halouzka *et al.* 2020 συζήτησαν υφολογικές τεχνικές κατάλληλες για φασματοσκοπική ανάλυση, όπως η GC-MS και η LC-MS/MS, καθώς και νεότερες περιβαλλοντικές τεχνικές όπως η HR-DART-MS (Halouzka *et al.*, 2020). Οι ερευνητές μπορούν να προσδιορίσουν με ακρίβεια κάθε τύπο και να διακρίνουν μεταξύ στενά συγγενών ειδών αναλύοντας τα φασματικά αποτυπώματα των διαφόρων ειδών Οροβάγχης.

Εκτός από τις χημικές και φασματοσκοπικές τεχνικές, έχουν επίσης αναπτυχθεί μοριακά εργαλεία για την ανίχνευση και την ταυτοποίηση των ειδών Οροβάγχης. Οι Kirilova *et al.* 2019 συνδύασαν μια δοκιμασία με βάση την PCR για την ανίχνευση των σπόρων οροβάγχης με μεθόδους διάκρισης των ειδών με βάση το πυρηνικό ITS (Kirilova *et al.*, 2019). Αυτά τα μοριακά εργαλεία επιτρέπουν στους ερευνητές να προσδιορίζουν με ακρίβεια κάθε είδος Οροβάγχης με βάση το DNA τους. Χρησιμοποιώντας έναν συνδυασμό χημικών, φασματοσκοπικών και μοριακών τεχνικών, οι ερευνητές μπορούν να προσδιορίσουν με ακρίβεια τα διάφορα είδη/τύπους Οροβάγχης και να διακρίνουν μεταξύ στενά συγγενών ειδών. Αυτό μπορεί να είναι χρήσιμο για τη μελέτη της βιολογίας και της οικολογίας αυτών των παρασιτικών φυτών και την ανάπτυξη αποτελεσματικών μέτρων ελέγχου.

#### **4.4. Βιολογικές τεχνικές για την ταυτοποίηση της Οροβάγχης**

Ο έλεγχος της εξειδίκευσης του ξενιστή είναι μία από τις πιο αποτελεσματικές μεθόδους για την ταυτοποίηση διαφορετικών ειδών ή τύπων Οροβάγχης. Η τεχνική αυτή περιλαμβάνει την αξιολόγηση της ικανότητας ενός συγκεκριμένου είδους Οροβάγχης να παρασιτεί σε ένα συγκεκριμένο φυτό ξενιστή (Westwood, 2000). Παρατηρώντας την αλληλεπίδραση μεταξύ του είδους Οροβάγχης και του φυτού ξενιστή, οι ερευνητές μπορούν να καθορίσουν το εύρος ξενιστών του παρασίτου και να προσδιορίσουν το συγκεκριμένο είδος Οροβάγχης (Diriba, 2023). Η μέθοδος αυτή είναι επωφελής για τον εντοπισμό νέων ή αναδυόμενων ειδών Οροβάγχης και την κατανόηση της σχέσης ξενιστή-παρασίτου μεταξύ διαφορετικών ειδών Οροβάγχης και φυτών ξενιστών (Fernández-Aparicio *et al.*, 2009).

Ο έλεγχος παθογένειας είναι μια άλλη βιολογική τεχνική που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ταυτοποίηση διαφορετικών ειδών Οροβάγχης. Η μέθοδος αυτή περιλαμβάνει τον εμβολιασμό διαφορετικών ειδών Οροβάγχης σε μια σειρά φυτών ξενιστών και την παρατήρηση

των επιπτώσεων στα φυτά (Habimana *et al.*, 2014). Συγκρίνοντας την παθογένεια διαφορετικών ειδών Οροβάγχης σε διαφορετικά φυτά ξενιστές, οι ερευνητές μπορούν να προσδιορίσουν το συγκεκριμένο είδος Οροβάγχης που είναι υπεύθυνο για τα παρατηρούμενα συμπτώματα (Rolland *et al.*, 2016). Η μέθοδος αυτή είναι επωφελής για τον εντοπισμό των πιο επιβλαβών ειδών Οροβάγχης και την ανάπτυξη αποτελεσματικών στρατηγικών ελέγχου.

Η δοκιμή βλαστικότητας των σπόρων είναι μια άλλη αποτελεσματική μέθοδος για τον εντοπισμό διαφορετικών ειδών Οροβάγχης. Η τεχνική αυτή περιλαμβάνει τη δοκιμή της βλάστησης των σπόρων Οροβάγχης σε απόκριση σε διαφορετικά διεγερτικά βλάστησης (Poungreau *et al.*, 2013). Συγκρίνοντας τις αντιδράσεις βλάστησης διαφορετικών ειδών Οροβάγχης σε διαφορετικά διεγερτικά, οι ερευνητές μπορούν να προσδιορίσουν τα συγκεκριμένα είδη Οροβάγχης (Louarn *et al.*, 2012). Η μέθοδος αυτή είναι επωφελής για τον εντοπισμό νέων ή αναδυόμενων ειδών Οροβάγχης και για την κατανόηση της βιολογίας της βλάστησης διαφόρων ειδών Οροβάγχης (Lu; Zhang *et al.*, 2022).

#### **4.5. Τεχνολογίες για την ταυτοποίηση της Οροβάγχης**

Οι πρόσφατες τεχνολογικές εξελίξεις έχουν ανοίξει νέους δρόμους για την ταυτοποίηση των διαφόρων ειδών/τύπων της Οροβάγχης. Οι προσεγγίσεις που βασίζονται στην τεχνητή νοημοσύνη (TN) έχουν δείξει μεγάλες δυνατότητες στην ακριβή ταυτοποίηση ειδών με βάση τα μορφολογικά χαρακτηριστικά (Rzanny *et al.*, 2022). Η αλληλουχία επόμενης γενιάς (NGS) έχει επίσης χρησιμοποιηθεί για την ανάλυση της γενετικής ποικιλότητας και της δομής των πληθυσμών των διαφόρων ειδών Οροβάγχης. Αυτές οι τεχνολογίες έχουν επιτρέψει στους ερευνητές να προσδιορίσουν και να διαφοροποιήσουν τα διάφορα είδη Οροβάγχης με μεγαλύτερη ακρίβεια και αποτελεσματικότητα από τις παραδοσιακές μεθόδους μορφολογικής ταυτοποίησης (Bartlett *et al.*, 2022).

Έχουν επίσης διερευνηθεί προσεγγίσεις που βασίζονται στη νανοτεχνολογία για την ταυτοποίηση των ειδών Οροβάγχης. Σε μια μελέτη των El Amri *et al.*, χρησιμοποιήθηκαν νανοσωματίδια για την ταυτοποίηση και τον χαρακτηρισμό διαφόρων ειδών του σκουληκιού που συλλέχθηκαν από μολυσμένους αγρούς μάραθου (El Amri *et al.*, 2023). Αυτές οι προσεγγίσεις που βασίζονται στη νανοτεχνολογία έχουν δείξει πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα και θα μπορούσαν να φέρουν επανάσταση στον τρόπο με τον οποίο αναγνωρίζονται και μελετώνται τα είδη Οροβάγχης.

Έχουν επίσης αναπτυχθεί μοριακά εργαλεία για την ανίχνευση και την ταυτοποίηση διαφόρων ειδών Οροβάγχης από το έδαφος και παρτίδες σπόρων καλλιεργειών. Τα εργαλεία αυτά χρησιμοποιούν DNA barcoding και δοκιμασίες με βάση την PCR για την ακριβή ταυτοποίηση διαφορετικών ειδών Οροβάγχης. Επιπλέον, έχει χρησιμοποιηθεί η αλληλουχία του μεταγραφώματος για τον εντοπισμό εκφραζόμενων γονιδίων για κρίσιμα στάδια ζωής της Οροβάγχης (Westwood *et al.*, 2012). Αυτά τα μοριακά εργαλεία επέτρεψαν στους ερευνητές να ταυτοποιήσουν και να διαφοροποιήσουν με ακρίβεια τα είδη Οροβάγχης, παρέχοντας πολύτιμες πληροφορίες για τη βιολογία και την οικολογία τους. Η εμφάνιση νέων τεχνολογιών έχει βελτιώσει δραματικά την ακρίβεια και την αποτελεσματικότητα της ταυτοποίησης των ειδών Οροβάγχης. Αυτές οι εξελίξεις άνοιξαν το δρόμο για περαιτέρω έρευνα της βιολογίας και της οικολογίας των Οροβάγχης και μπορεί τελικά να οδηγήσουν στην ανάπτυξη νέων στρατηγικών για τον έλεγχο αυτών των παρασιτικών φυτών.

## 5. Τήξη υψηλής ανάλυσης (HRM).

Η τήξη υψηλής ανάλυσης (HRM) είναι ένα ισχυρό εργαλείο που επιτρέπει στους ερευνητές να ανιχνεύουν και να διαφοροποιούν τις γενετικές παραλλαγές με μεγάλη ακρίβεια και ευαισθησία. Οι τεχνικές HRM χρησιμοποιούνται όλο και περισσότερο στη φυτοπαθολογία για τον εντοπισμό και τον χαρακτηρισμό μολυσματικών φυλών της Οροβάγχης, ενός παρασιτικού ζιζανίου που προκαλεί σημαντικές ζημιές στις καλλιέργειες παγκοσμίως. Η παρούσα εργασία έχει ως στόχο να διερευνήσει τις χρήσεις, τους περιορισμούς και τις προκλήσεις που σχετίζονται με την HRM στον εντοπισμό μολυσματικών φυλών της Οροβάγχης. Στις επόμενες ενότητες θα εξετάσουμε τα πλεονεκτήματα της χρήσης της HRM, τους περιορισμούς και τις προκλήσεις που αντιμετωπίζουν οι ερευνητές κατά τη χρήση αυτής της τεχνικής, καθώς και τις πιθανές λύσεις. Η κατανόηση των πλεονεκτημάτων και των περιορισμών της HRM θα παράσχει πολύτιμες πληροφορίες για τη βέλτιστη χρήση της στην έρευνα για το Οροβάγχης και μπορεί να συμβάλει στη βελτίωση της ικανότητάς μας να ελέγχουμε αυτό το καταστροφικό ζιζάνιο.

Η τήξη υψηλής ανάλυσης (HRM) χρησιμοποιείται για την ανάλυση του DNA (Song *et al.*, 2016). Πρόκειται για μια μέθοδο εντός του σωλήνα, η οποία απαιτεί την προσθήκη μιας κορεστικής παρεμβαλλόμενης χρωστικής στο μείγμα PCR (Kryuy *et al.*, 2007). Αυτή η χρωστική απελευθερώνεται από το δίκλωνο DNA καθώς μετουσιώνεται από μικρές αυξήσεις της θερμοκρασίας, η οποία στη συνέχεια μετράται με ένα βήμα τήξης υψηλής ανάλυσης (Kryuy *et al.*, 2007). Η HRM είναι μια γρήγορη, απλή, κλειστού σωλήνα, ομοιογενής και οικονομικά αποδοτική προσέγγιση (Słomka *et al.*, 2017). Χρησιμοποιείται για γραμμωτή κωδικοποίηση, γονότυπο, ανάλυση μεθυλίωσης και ποσοτικοποίηση νοθευμάτων (Ganopoulos *et al.*, 2011). Η ευαισθησία αυτής της μεθόδου έχει αποδειχθεί ευρέως (Ganopoulos *et al.*, 2011). Χρησιμοποιείται για τη σάρωση γονιδίων, τον γονότυπο των πολυμορφισμών ενός νουκλεοτιδίου (SNPs) και τη μετάβαση σε κλίμακα υψηλής απόδοσης (Słomka *et al.*, 2017). Η τεχνική επιτρέπει επίσης την εκτίμηση του επιπέδου μεθυλίωσης συγκρίνοντας τα προφίλ τήξης άγνωστων προϊόντων PCR με εκείνα των προϊόντων PCR που προέρχονται από πρότυπα με γνωστή αναλογία μη μεθυλιωμένου προς μεθυλιωμένο πρότυπο (Wojdacz & Dobronic, 2007).

Επιπλέον, η τεχνολογία HRM έχει εφαρμοστεί για την ανίχνευση της μεθυλίωσης (Wojdacz & Dobronic, 2007) και είναι αρκετά ειδική και ευαίσθητη για τη διάκριση της παραλλαγής νουκλεϊκών οξέων (Słomka *et al.*, 2017). Μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για τη σάρωση μεταλλάξεων, την ανίχνευση ρουτίνας γνωστών παραλλαγών, τη διάκριση μεταξύ

μεθυλιωμένων και μη μεθυλιωμένων αλληλουχιών μετά την τροποποίηση του DNA-στόχου με διουλιφίτη (Wojdacz & Dobronic, 2007) και τη διάκριση διαφορετικών ομάδων δειγμάτων με βάση τα σχήματα των καμπυλών τήξης τους (Słomka *et al.*, 2017). Η HRM έχει πολλαπλά οφέλη και εφαρμογές στη γενετική ανάλυση, συμπεριλαμβανομένης της μικροβιολογίας, της φυτογενετικής έρευνας και της ανάλυσης τροφίμων (Słomka *et al.*, 2017).

### **5.1. Το HRM για τον εντοπισμό μολυσματικών φυλών της Οροβάγχης;**

Η HRM χρησιμοποιείται για τον εντοπισμό διαφορετικών μολυσματικών φυλών του υποχρεωτικού παρασιτικού ζιζανίου Οροβάγχης (Lebrun, 2012). Μπορεί επίσης να βελτιώσει το καλλιεργούμενο ρύζι (Dias, 2023) με τον έλεγχο των άγριων συγγενών και των ποικιλιών της καλλιέργειας. Οι δείκτες SSR προσφέρουν πολλά πλεονεκτήματα, όπως η υψηλότερη συχνότητα πολυμορφισμού, η τεχνική απλότητα και η απαίτηση για λίγα μόνο νανογραμμάρια DNA (Nyongesa, 2017)- χρησιμοποιούνται συχνά για την ταυτοποίηση παθότυπων (Miladinović *et al.*, 2019). Επίσης, οι μοριακοί δείκτες διαφοροποιούν μεταξύ πρωτογενών και δευτερογενών λοιμώξεων (Tani *et al.*, 2017). Με τον τρόπο αυτό, εντοπίζεται ένα τμήμα αλληλουχίας που εμφανίζεται μόνο στην πρώτη φυλή, το οποίο μπορεί να βοηθήσει στον καθορισμό ελάχιστων γονιδιακών συνόλων που απαιτούνται για τη μόλυνση. Η εργασία αυτή καταδεικνύει επίσης την επίδραση των κλιματικών συνθηκών στα επίπεδα προσβολής από Οροβάγχης μεταξύ των καλλιεργούμενων ποικιλιών ρυζιού (Polidoros *et al.*, 2022). Επιπλέον, η εφαρμογή της σχεδιαστικής σκέψης και η χρήση βιβλιοθηκών τμημάτων χρωμοσωμάτων μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον εντοπισμό και την ανάπτυξη των ανθρώπινων φυλών μαζί με τη βιωσιμότητα του πλανήτη (Choudhury, 2020).

### **5.2. Ποια είναι τα πλεονεκτήματα της χρήσης HRM**

Η ανάλυση τήξης υψηλής ανάλυσης (HRM) είναι μια αποτελεσματική και πλεονεκτική μέθοδος για τη σάρωση μεταλλάξεων και τον προσδιορισμό του γονότυπου (Norambuena *et al.*, 2009), καθώς είναι μια ομοιογενής μέθοδος κλειστού σωλήνα μετά την PCR χωρίς την ανάγκη για επισημασμένα ολιγονουκλεοτίδια (Grievink & Stowell, 2008). Αυτό την καθιστά μια χαμηλού κόστους και γρήγορη τεχνική, καθώς η ενίσχυση της PCR και η ανάλυση της καμπύλης τήξης μπορούν να πραγματοποιηθούν εντός του ίδιου σωλήνα ή πλάκας χωρίς επεξεργασία μετά την PCR (Norambuena *et al.*, 2009). Επιπλέον, το γεγονός ότι η HRM βασίζεται στην ανάλυση με



υπολογιστή των μεταβάσεων τήξης του DNA επιτρέπει την καταγραφή περισσότερων από 25 μετρήσεων ανά 1°C, γεγονός που την καθιστά ιδιαίτερα χρήσιμη για ένα διαγνωστικό περιβάλλον ρουτίνας (Norambuena *et al.*, 2009). Η HRM είναι επωφελής για τον ακριβή προσδιορισμό του γονότυπου και τη σάρωση ετερόζυγων αλληλουχιών, καθώς οι διαφορές μεταξύ των ομοζυγωτικών τμημάτων DNA άγριου τύπου και των ομοζυγωτικών μεταλλαγμένων είναι πιο εμφανείς (Norambuena *et al.*, 2009). Η HRM μπορεί επίσης να προσαρμοστεί για την ανάλυση πολυμορφικών πολυμορφισμών ενός νουκλεοτιδίου (SNPs) μέσω ενίσχυσης μικρών αμπλικονίων με PCR, καθώς η μείωση του μήκους του αμπλικονίου οδηγεί σε ευρύτερη απόκλιση μεταξύ των προφίλ τήξης και αυξάνει την ευαισθησία της τεχνικής (Norambuena *et al.*, 2009).

Επιπλέον, η HRM δεν απαιτεί επισημασμένα ολιγονουκλεοτίδια και βασίζεται σε γενικής χρήσης χρωστικές πρόσδεσης νέας γενιάς που ανιχνεύουν ετεροδιπλέγματα dsDNA (Grievink & Stowell, 2008). Ως εκ τούτου, η ανάλυση HRM είναι μια οικονομικά αποδοτική και ευαίσθητη μέθοδος για τον γονότυπο υψηλής απόδοσης και τη σάρωση μεταλλάξεων (Grievink & Stowell, 2008) και αποτελεί ένα ισχυρό εργαλείο για την ανίχνευση γονιδιακών μεταλλάξεων και SNP (Norambuena *et al.*, 2009). Η HRM μπορεί να ανιχνεύσει αλλαγές ενός μόνο ζεύγους βάσεων στο αμπλικόνιο, είναι μια μέθοδος ανάλυσης υψηλής ανάλυσης μετά την PCR και βοηθά στην ανίχνευση γενετικών παραλλαγών (Grievink & Stowell, 2008). Παρέχει επίσης πληροφορίες σχετικά με τις καμπύλες τήξης του DNA (Grievink & Stowell, 2008), είναι εξαιρετικά αξιόπιστη για τη διάγνωση ρουτίνας μικρών αμπλικονίων και έχει χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για την επικύρωση κοινών παραλλαγών MTHFR (Norambuena *et al.*, 2009). Η HRM μπορεί να χρησιμεύσει ως μοντέλο για άλλες διαγνωστικές εφαρμογές και είναι πλεονεκτική για τον προσδιορισμό γονότυπου γονιδίων που σχετίζονται με ασθένειες (Norambuena *et al.*, 2009). Ως εκ τούτου, εισάγεται ταχέως στα διαγνωστικά εργαστήρια. Μπορεί να βοηθήσει στον εντοπισμό παραλλαγών που σχετίζονται με διαταραχές που σχετίζονται με διαταραχές του μεταβολισμού του φυλλικού οξέος, όπως η μετρήσιμη μείωση της ενζυμικής δραστηριότητας του MTHFR (Norambuena *et al.*, 2009). Η HRM μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για την εξέταση κοινών παραλλαγών του γονιδίου MTHFR και για τη διαγνωστική επικύρωση της γονοτύπωσης μικρών αμπλικονίων (Norambuena *et al.*, 2009). Επιπλέον, πλεονεκτεί για τον προσδιορισμό μεταλλάξεων σε δείγματα με χαμηλές ποσότητες εξαγόμενου DNA, ανιχνεύει αποτελεσματικά τις αναφερόμενες μεταλλάξεις και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον γονοτυποποίηση μικρών αμπλικονίων (Norambuena *et al.*, 2009). Συμπερασματικά, η HRM είναι ένα πολύτιμο εργαλείο

για τη σάρωση μεταλλάξεων και τον προσδιορισμό του γονοτύπου (Norambuena *et al.*, 2009) και υπάρχει ανάγκη να δοθούν παραδείγματα κατάλληλων στρατηγικών επικύρωσης για τον προσδιορισμό του γονοτύπου των.

### **5.3. Ποιοι είναι οι περιορισμοί του HRM στον εντοπισμό μολυσματικών φυλών της Οροβάγχης;**

Η HRM (High-Resolution Melt) έχει χρησιμοποιηθεί για τον εντοπισμό παθογόνων φυτών, όπως η Οροβάγχης και η Striga, και για την αξιολόγηση της γενετικής ρύθμισης της διαδικασίας μόλυνσης των φυτών (Tani *et al.*, 2017). Ωστόσο, η HRM έχει επίσης τους περιορισμούς της. Για παράδειγμα, οι ζημιές που προκαλεί η Striga στις καλλιέργειες δημητριακών είναι πιο σοβαρές υπό συνθήκες ξηρασίας και χαμηλής γονιμότητας του εδάφους, ενώ τα τρόφιμα που περιέχουν αναστολείς μπορεί να προκαλέσουν διατροφικά προβλήματα (Nyongesa, 2017; Polidoros *et al.*, 2022). Επιπλέον, η HRM μπορεί να είναι περιορισμένη ως προς την ικανότητά της να επιλύει προβλήματα ευαισθησίας σε ασθένειες (Miladinović *et al.*, 2019). Για το λόγο αυτό, είναι σημαντικό να κατανοηθούν τα πλεονεκτήματα και τα τρωτά σημεία της HRM (Polidoros *et al.*, 2022). Προκειμένου να εντοπιστούν πρόσθετες πηγές ανθεκτικότητας σε αβιοτικούς και βιοτικούς περιορισμούς στα φασόλια faba, οι ερευνητές έχουν εξετάσει τους άγριους συγγενείς και τις ποικιλίες γης της καλλιέργειας (Dias, 2023). Ωστόσο, απαιτούνται περισσότερα για την επίλυση των προβλημάτων που αυξάνονται σταθερά (Lebrun, 2012). Έτσι, είναι απαραίτητο να αντιμετωπιστεί το ζήτημα με την επέκταση της χρήσης της ΜΑΔ για τον εντοπισμό πρόσθετων πηγών ανθεκτικότητας (Tani *et al.*, 2017).

### **5.4. Ποιες προκλήσεις συνδέονται με τη χρήση HRM?**

Παρά τα πλεονεκτήματά της, η ΔΑΔ έχει περιορισμούς και επιφυλάξεις που πρέπει να λαμβάνονται υπόψη πριν από την έναρξη ενός πειράματος ή την επέκταση του αριθμού των δειγμάτων (Słomka *et al.*, 2017). Αυτό ισχύει ιδιαίτερα για τους ερευνητές που είναι νέοι στην τεχνική ή σχεδιάζουν να αυξήσουν σημαντικά τον αριθμό των επεξεργασμένων δειγμάτων (Słomka *et al.*, 2017). Μη στοχευμένα είδη, όπως το *A. Creber* και το *A. sydowii*, μπορούν να ενισχυθούν κατά την ανάλυση HRM, παρουσιάζοντας την ίδια Tm με το *A. versicolor* (Libert *et al.*, 2017). Αυτή η ιδιαίτερη πρόκληση που σχετίζεται με την HRM μπορεί να παρεμποδίσει την ανάλυση δεδομένων (Libert *et al.*, 2017; Słomka *et al.*, 2017). Επιπλέον, υπάρχουν τρεις κύριες

προσεγγίσεις για την έρευνα παραλλαγών αλληλουχίας με HRM: σάρωση γονιδίων, κατευθυνόμενος γονοτυπικός προσδιορισμός με βάση ανιχνευτές και κατευθυνόμενος γονοτυπικός προσδιορισμός με βάση καμπύλη αναφοράς (Słomka *et al.*, 2017). Η HRM είναι μια πολύτιμη μέθοδος για την κατευθυνόμενη γονοτυποποίηση με βάση καμπύλη αναφοράς, όπου έχει λίγες εναλλακτικές λύσεις με συγκρίσιμη ισχύ, απόδοση και οικονομική αξία (Słomka *et al.*, 2017). Συνιστώνται μικρότερα θραύσματα για εργασίες ρουτίνας, με 150-250 bp για τη σάρωση γονιδίων και 80-100 bp για τη στοχευμένη γονοτυποποίηση (Słomka *et al.*, 2017). Το μήκος του αμφικονίου αποτελεί επίσης περιορισμό στην HRM, με την ευαισθησία και την ειδικότητα να μειώνονται για προϊόντα μεγαλύτερου μήκους (Słomka *et al.*, 2017). Γενικά, τα αμπλικόνια άνω των 500 bp είναι δύσκολο να αναλυθούν λόγω της σταδιακής τήξης, διαταράσσοντας την ανίχνευση παραλλαγών (Słomka *et al.*, 2017). Τα θραύσματα γονοτύπου που περιέχουν πολλαπλές περιοχές τήξης ή σαρώνουν μακρά εξόνια θα πρέπει να αποφεύγονται και να χωρίζονται σε μικρότερα αμπλικόνια (Słomka *et al.*, 2017). Επιπλέον, πρέπει να τηρούνται ορισμένοι κανόνες στη γονοτυποποίηση με βάση την HRM, οι οποίοι μπορεί να έχουν καθοριστικό αντίκτυπο στην ποιότητα των αποτελεσμάτων και στην ανάλυσή τους (Słomka *et al.*, 2017). Συνεπώς, οι πιθανές παγίδες και τα συμβιβασμένα αποτελέσματα θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη από τους ερευνητές κατά τη χρήση αυτής της μεθόδου (Słomka *et al.*, 2017).

Οι προκλήσεις στη διαχείριση των λοιμώξεων των περιπροθετικών αρθρώσεων (PJIs) περιλαμβάνουν ψευδώς αρνητικές καλλιέργειες και μεγάλο χρονικό διάστημα για τη διάγνωση, τα οποία μπορούν να αντιμετωπιστούν με μοριακές μεθόδους (Bourbour *et al.*, 2021). Η PCR-HRMA είναι μια γρήγορη και ακριβής μοριακή τεχνική που μπορεί να ανιχνεύσει πολυμικροβιακές PJIs. Ωστόσο, δεν μπορεί να διαγνώσει σωστά μεμονωμένους αιτιολογικούς παράγοντες (Bourbour *et al.*, 2021). Οι αποκλίσεις μεταξύ μονομικροβιακής ανάπτυξης με καλλιέργεια και πολλαπλών οργανισμών με PCR-HRMA μπορεί να οφείλονται σε επιμόλυνση ή σε πιθανό πλεονέκτημα της PCR-HRMA έναντι των συμβατικών καλλιεργητικών μεθόδων (Bourbour *et al.*, 2021). Για την ταυτοποίηση μεμονωμένων βακτηριακών ειδών από πολυμικροβιακά δείγματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν προγράμματα όπως το Matlab, καθώς και η καθολική ψηφιακή PCR και η τήξη υψηλής ανάλυσης μαζί με την αναπτυγμένη Nanoarray (Bourbour *et al.*, 2021). Ο δείκτης διαφοράς  $T_m$  της HRMA θα πρέπει να θεωρείται 0-1,4°C για την αποφυγή ασυμφωνίας των δειγμάτων με τα ευρήματα της καλλιέργειας και συνιστάται μια τεράστια βιβλιοθήκη στελεχών αναφοράς για την αντιμετώπιση του περιορισμού της ανάλυσης

HRMA (Bourbour *et al.*, 2021). Προκειμένου να αποφευχθούν περιττές πολλαπλές χειρουργικές επεμβάσεις, είναι απαραίτητη η έγκαιρη και ακριβής διάγνωση των λοιμογόνων παραγόντων και θα πρέπει να λαμβάνονται μέτρα όπως η αύξηση του διαστήματος χωρίς αντιβιοτικά πριν από τη δειγματοληψία για τη μείωση του κινδύνου επαναμόλυνσης (Bourbour *et al.*, 2021). Οι εξειδικευμένες διεπιστημονικές ομάδες και τα νέα διαγνωστικά εργαλεία (Ferreira *et al.*, 2020) μπορούν να βελτιώσουν αποτελεσματικά την πρόγνωση των PJIs. Συνιστώνται περισσότερες έρευνες και μελέτες για την αντιμετώπιση της πρόκλησης της υψηλής συχνότητας αρνητικής καλλιέργειας στις PJIs (Bourbour *et al.*, 2021).

Η τήξη υψηλής ανάλυσης (HRM) είναι μια ευέλικτη και οικονομικά αποδοτική τεχνική με πολυάριθμες εφαρμογές στη γενετική ανάλυση, συμπεριλαμβανομένης της μικροβιολογίας, της γενετικής των φυτών και της ανάλυσης τροφίμων. Πρόκειται για μια ομοιογενή μέθοδο κλειστού σωλήνα μετά την PCR που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για σάρωση μεταλλάξεων, ανίχνευση ρουτίνας γνωστών παραλλαγών, διάκριση μεταξύ μεθυλιωμένων και μη μεθυλιωμένων αλληλουχιών και διάκριση διαφορετικών ομάδων δειγμάτων με βάση τα σχήματα των καμπυλών τήξης τους. Η HRM μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό του γονότυπου πολυμορφισμών ενός νουκλεοτιδίου (SNPs) και τη σάρωση γονιδίων. Η τεχνική αυτή έχει εφαρμοστεί για τον εντοπισμό διαφορετικών μολυσματικών φυλών του υποχρεωτικού παρασιτικού ζιζανίου, Οροβάγγης, και για τον έλεγχο των άγριων συγγενών της καλλιέργειας και των ποικιλιών γης για τη βελτίωση του καλλιεργούμενου ρυζιού. Παρά τα πολυάριθμα οφέλη της, η HRM έχει ορισμένους περιορισμούς που πρέπει να αντιμετωπιστούν. Για παράδειγμα, μη στοχευόμενα είδη μπορούν να ενισχυθούν κατά την ανάλυση HRM, παρουσιάζοντας την ίδια Tm με τα είδη-στόχους, και υπάρχει υψηλή συχνότητα αρνητικής καλλιέργειας σε PJIs. Ως εκ τούτου, συνιστώνται περισσότερες έρευνες και μελέτες για την αντιμετώπιση αυτών των προκλήσεων. Συνολικά, η ανάλυση HRM είναι ένα ισχυρό εργαλείο για την ανίχνευση γονιδιακών μεταλλάξεων και SNP που μπορεί να συμβάλει στην πρόοδο της γνώσης στη γενετική ανάλυση

## 6. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### 6.1. Φυτικό υλικό

Το πειραματικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε ήταν ιστός οροβάγχης (βλαστός με άνθη), *Phelipanche ramosa*, *Orobanche cumana* και *Phelipanche aegyptiaca*. Συνολικά μελετήθηκαν 28 δείγματα με ονομασίες GR1, GR2, GR3 1R, GR3 1R CONTROL, GR3 2R, GR3 3R, GR3 3R+, GR3 4R, GR3 5R, A, με καταγωγή την Ελλάδα, IRAN 1.1, IRAN 1.2 3R, IRAN 1.2 4R, IRAN 1.2 5R, IRAN 1.4, IRAN 10, IRAN 2.2, IRAN 20 2R, IRAN 21, IRAN 3.1, IRAN 3.1 4R, IRAN 3.2, IRAN 3.2 5R, IRAN 3.2 6R, IRAN 3.4 1R, IRAN 3.4 2R, με καταγωγή το Ιράν και ISR 6, ISR 7 με καταγωγή το Ισραήλ. Ο ιστός ήταν ευγενική χορηγία από το Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο και συντηρήθηκε σε βαθιά ψύξη στους  $-80^{\circ}\text{C}$ . Ο ιστός, με τη μορφή ανθέων και βλαστών, λήφθηκε από τρία διαφορετικά είδη στις χώρες Ελλάδα, Ιράν και Ισραήλ (Εικόνα 6.1, Εικόνα 6.2, Εικόνα 6.3). Τα πειράματα μοριακών αναλύσεων διεξήχθησαν στο Εργαστήριο Βελτίωσης Φυτών και Πειραματισμού του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Η μεταφορά των δειγμάτων έγινε με υγρό άζωτο και ακολούθησε η αποθήκευσή τους σε βαθιά κατάψυξη  $-80^{\circ}\text{C}$ , στις εγκαταστάσεις του εργαστηρίου στο ΓΠΑ.



Εικόνα 6.1: Είδος *P. ramosa* (πηγή: προσωπική συλλογή)



Εικόνα 6.2: Είδος *P.aegyptiaca*(πηγή: προσωπική συλλογή)



Εικόνα 6.3: Είδος *P.cumana*(πηγή: Διαδίκτυο)

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε απομόνωση DNA με χρήση του εμπορικού κιτ NucleoSpin R Plant II (Macherey-Nagel) ακολουθώντας τις οδηγίες του κατασκευαστή.

## **6.2. Διαδικασία λειοτρίβησης φυτικού ιστού**

Αρχικά, έγινε αποστείρωση όλων των υλικών που απαιτούνταν για την πειραματική διαδικασία. Ακολούθησε λειοτρίβηση του νεπού φυτικού ιστού με την βοήθεια υγρού άζωτου. Σαν αποτέλεσμα είχαμε την δημιουργία πούδρας για κάθε δείγμα ξεχωριστά η οποία και τοποθετήθηκε σε tubes των 1.5ml. Κατά την διαδικασία της λειοτρίβησης πρέπει να αποφεύγεται η απόψυξη των δειγμάτων. Αυτό επιτυγχάνεται με την συνεχή παραμονή του φυτικού ιστού σε υγρό άζωτο καθόλη την διάρκεια της λειοτρίβησης.

### 6.3. Απομόνωση DNA

Τα δείγματα “επαναιωρήθηκαν” σε 200  $\mu\text{L}$  TE Buffer, αναμίχθηκαν 400  $\mu\text{L}$  Lysis Solution και επώαστηκαν στους 65°C για 10 λεπτά. Αμέσως προστέθηκαν 600  $\mu\text{L}$  χλωροφόρμιου σε κάθε δείγμα και αναδεύτηκαν ελαφρώς πριν φυγοκεντρηθούν στις 10,000 rpm για 2 λεπτά. Μετά την φυγοκέντρηση δημιουργήθηκαν 2 φάσεις στο φιαλίδιο, πάρθηκε η άνω φάση με την χρήση πιπέτας τοποθετήθηκε σε ένα καινούριο φιαλίδιο.

Στη συνέχεια παρασκευάστηκε το Precipitation Solution σε αναλογία 1/10, εκ του οποίου 800  $\mu\text{L}$  τοποθετήθηκαν σε κάθε φιαλίδιο. Έγινε ανάμειξη σε θερμοκρασία δωματίου για 1-2 λεπτά και φυγοκέντρηση στις 10,000 rpm για 2 λεπτά. Αφαιρέθηκε το υπερκείμενο προσεκτικά, χωρίς να στεγνώσει το εσωτερικό του φιαλιδίου και διαλύθηκε το DNA Pellet σε 100  $\mu\text{L}$  χλωριούχου Νατρίου με Vortex. Προστέθηκαν 300  $\mu\text{L}$  κρύας αιθανόλης και τα δείγματα τοποθετήθηκαν στους -20°C για 10 λεπτά. Στη συνέχεια φυγοκεντρήθηκαν στις 10,000 rpm για 4 λεπτά. Αφαιρέθηκε η αιθανόλη και το βήμα επαναλήφθηκε, αυτή τη φορά με αιθανόλη περιεκτικότητας 70%.

Τέλος, το DNA Pellet διαλύθηκε σε 100  $\mu\text{L}$  αποστειρωμένου νερού με απαλό Vortex. Η συγκέντρωση του DNA μετρήθηκε με τη βοήθεια φασματοφωτόμετρου και η ποιότητα του μέσω ηλεκτροφόρησης σε πηκτή αγαρόζης.

### 6.4. Προσδιορισμός ποιότητας εξαγόμενου DNA

Η ποσοτικοποίηση του DNA έγινε με την χρήση του φασματοφωτόμετρου Nanodrop. Καταγράφηκαν οι απορροφήσεις στα  $A_{260}/A_{280}$  και  $A_{260}/A_{230}$ . Ο λόγος της απορρόφησης  $A_{260}/A_{280}$  είναι ένας δείκτης σύμφωνα με τον οποίο προσδιορίζεται η πιθανή μόλυνση από πρωτεΐνες. Τιμές  $\geq 1,8$  υποδηλώνουν καθαρό δείγμα DNA. Ο λόγος απορρόφησης  $A_{260}/A_{230}$ , όταν είναι μικρότερος του 1,8, υποδηλώνει πιθανή μόλυνση από οργανικές ενώσεις που απορροφούν στα 230 nm. Η συγκέντρωση του DNA υπολογίστηκε σε ng/ $\mu\text{L}$ . Χρησιμοποιήθηκε 1 $\mu\text{L}$  από το κάθε δείγμα (Πίνακας 1.) για την ποιοτική και ποσοτική ανάλυση με την χρήση Nanodrop.

**Πίνακας 1.** Απορροφήσεις  $A_{260}/A_{280}$ ,  $A_{260}/A_{230}$  και συγκεντρώσεις του DNA των δειγμάτων.

Δείγμα	$A_{260}/A_{280}$	$A_{260}/A_{230}$	ng/uL
GR1	2,09	2,28	277,9
GR2	2,07	2,16	99,5
GR3 1R	2,06	2,41	150,8
GR3 1R CONTROL	2,04	2,34	135,6
GR3 2R	2	2,22	48,2
GR3 3R	2,05	1,96	62,1
GR3 3R	2,06	1,85	52,1
GR3 4R	2,06	1,69	26,5
GR3 5R	2,07	2,19	85,1
IRAN 1.1	2,08	2,21	161,8
IRAN 1.2 3R	2,07	2,36	171,2
IRAN 1.2 4R	2,07	2,06	57,7
IRAN 1.2 5R	2,07	3,96	25,2
IRAN 1.4	2	2,65	77,5
IRAN 10	2,03	2,53	108,9
IRAN 2.2	1,79	1,12	22,4
IRAN 20 2R	2,06	1,1	12,5
IRAN 21	2,19	0,97	8,2
IRAN 3.1	1,97	2,34	146,3
IRAN 3.1 4R	1,94	2,29	101,8
IRAN 3.2	2,05	2,29	271,1
IRAN 3.2 5R	1,81	2,01	43,8
IRAN 3.2 6R	1,99	2,48	55,1
IRAN 3.4 1R	1,9	2,11	59,6
IRAN 3.4 2R	2,05	2,2	54,2
ISR 6	1,64	1,68	12,2
ISR 7	2,09	2,09	16,5
A	1,94	2,43	173,5
B1	1,89	2,55	99
C	1,98	2,04	325,5

### 6.5. Σχεδιασμός εκκινητών

Ο σχεδιασμός εκκινητών έγινε με την βοήθεια λογισμικού και πληροφοριών από την τράπεζα δεδομένων γενετικής πληροφορίας. Με τη βοήθεια προηγούμενων μελετών (Rolland *et al*, 2016) πάνω στην οροβάγχη, μελετήθηκαν δύο plastid genes (*rbcL*, *trnL*) και μία nuclear transcribed region (ITS) για τη συγκεκριμένη μελέτη. Οι αλληλουχίες που αποκτήθηκαν από την τράπεζα δεδομένων βιοπληροφορικής γενετικού υλικού NCBI και ευθυγραμμίστηκαν (*align*) μέσω του προγράμματος Geneious. Οι περιοχές ενδιαφέροντος και οι πιθανοί δείκτες επιλέχθηκαν και ταυτοποιήθηκαν με το μάτι. Οι περιοχές αυτές έδειχναν σημαντικές διαφορές ανάμεσα στα 3



είδη, κάνοντας έτσι πιο εύκολη τη διαφοροποίηση τους μέσω της HRM. Για να επιτευχθεί η διαφοροποίηση των ειδών μέσω της HRM σχεδιάστηκαν ειδικοί εκκινητές που να περιβάλλουν τις επιθυμητές περιοχές στο γονίδιο με τη βοήθεια του προγράμματος Geneious και του Oligo Analyzer. Οι εκκινητές είχαν Tm κοντά στους 60°C και βρισκόντουσαν στις θέσεις 279-373 bp για το γονίδιο ITS, 369-482 bp για το γονίδιο rbcL και 88-160 bp για το γονίδιο trnL.

```

MG099483      ---gggtattgagccttagtatgaaacctactaggtgataactttc aaattcagagaaact 57
KX539163      attaaattgagccttagtatgaaacctactaggtgataactttc aaattcagagaaact 60
                *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *
MG099483      ccggaattaataaaaacgggcaatcctgagc caaatcctgtttttcaaaaca aaattaa 117
KX539163      ccggaattaataaaaacgggcaatcctgagc caaatcctgtttttcaaaaca aaattaa 120
                *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *
MG099483      taaaattaaaaataaggataggTgcagagactcaatggaagct attctaacataaaaaaa 177
KX539163      taaaattaaaaataaggataggTgcagagactcaatggaagct attctaacataaaaaaa 180
                *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *
MG099483      ataatttatgtgaattgattacatattgaagagaatatgtaatcaattcactccacagtt 237
KX539163      ataatttatgtgaattgattacatattgaagagaatatgtaatcaattcactccacagtt 240
                *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *

```

Εικόνα 4: Ευθυγράμμιση των γονιδίων trnL από τα είδη *P.ramosa* (MG099483) και *P.aegyptiaca* (KX539163) με την χρήση του προγράμματος Geneious. Με πράσινο χρώμα σημειώνεται πρώτα ο εκκινητής trnL-F και μετά ο trnL-R. Με κόκκινο χρώμα απεικονίζεται η διαφορά βάσης (SNP) μεταξύ των δύο αλληλουχιών.

```

AY82251      agcttacccttttagacttttttgaggaaggttctgttactaacaatgtttacttccattat 332
MN305914      agcttacccttttagacttttttgaggaaggttctgttactaacaatgtttacttccattat 351
                *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *
AY82251      aggaaatgtatattggatttaaagaccgcgctgctctaCGTctggaagatctgcgaattcc 392
MN305914      aggaaatgtatattggatttaaagaccgcgctgctctaCGTctggaagatctgcgaattcc 411
                *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *
AY82251      tCgtgcttatattaaaattttccaaagcatgagattcaagttgaaatagataaattgaac 452
MN305914      tCgtgcttatattaaaattttccaaagcatgagattcaagttgaaatagataaattgaac 471
                **  *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *
AY82251      aagtatggtcgtcccctgttgggatgtactattaataaacctaaattaggattatccgc 512
MN305914      aagtatggtcgtcccctgttgggatgtactattaataaacctaaattaggattatccgc 531
                *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *
AY82251      taaaaaccatgggagaacagttgatgagaacgtaaacctcccagccatttatgcgctggag 572
MN305914      taaaaaccatgggagaacagttgatgagaacgtaaacctcccagccatttatgcgctggag 591
                *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *   *

```

Εικόνα 5: Ευθυγράμμιση των γονιδίων rbcL από τα είδη *P.ramosa* (AY82251) και *P.aegyptiaca* (MN305914) με την χρήση του προγράμματος Geneious. Με γαλάζιο χρώμα σημειώνονται οι εκκινητές rbcL-F και rbcL-R. Με κόκκινο χρώμα απεικονίζεται η διαφορά βάσης (SNP) μεταξύ των δύο αλληλουχιών.

```

MW812300.1      TGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCAAAGCCATC 323
EU581802.1      TGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCAAAGCCATC 358
*****

MW812300.1      CGGTTAAGGGCATGTCTGCCTGGGCGTCACGCATCACGTCACCTCCCTCCTCTTGTCCCTT 383
EU581802.1      CGGTTAAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCATCACGTCACCTCCCTCCTCCGTCCCTT 418
*****

MW812300.1      TGGGACGTGTTGCTGGTGGGGTGGATATTGGCCTCCCGTGTGTTGACACGCGGCTGTCCT 443
EU581802.1      TGGGACGTGTTGCTGGTGGGGTGGATATTGGCCTCCCGTGTGTTGACACGCGGCTGTCCT 478|
*****

MW812300.1      AAACATGATCCCCGGCGACTCACGTCACGGCTAGTGGTGGTTGAACACAACCTCCCGTCC 503
EU581802.1      AAACATGATCCCCGGCGACTCACGTCACGGCTAGTGGTGGTTGAACACAACCTCCCGTCC 538
*****

```

Εικόνα 6: : Ευθυγράμμιση των γονιδίων ITS από τα είδη *P.ramosa* (EU581802.1) και *P.aegyriaca* (MW812300.1) με την χρήση του προγράμματος Geneious. Με κίτρινο χρώμα σημειώνονται οι εκκινητές ITS-F και ITS-R. Με κόκκινο χρώμα απεικονίζεται η διαφορά βάσης (SNP) μεταξύ των δύο αλληλουχιών.

Πίνακας 6-1: Εκκινητές και Tm

Primer	Sequence (5'-3')	Tm °C
trnL-F	AAAACGGGCAATCCTGAGC	56.7
trnL-R	AGCTTCCATTGAGTCTCTGCA	57.9
rbcL-F	CGTCTGGAAGATCTGCGAAT	57.3
rbcL-R	AGTACATCCCAACAGGGGAC	59.4
ITS-F	GTGAACCATCGAGTCTTTGAACG	60.7
ITS-R	AGGAGGGAGTGACGTGATGCG	63.7

## 6.6. Ανάλυση τεχνικής HRM

Η διαδικασία της HRM πραγματοποιήθηκε μέσω του μηχανήματος StepOnePlus (Applied Biosystems) ακολουθώντας τις συστάσεις του κατασκευαστή. Για τον κάθε primer (trnL, rbcL, ITS) διεξήχθησαν ξεχωριστά δύο επαναλήψεις του πειράματος. Η προετοιμασία του πειράματος εξελίχθηκε σε αποστειρωμένο περιβάλλον (Laminar Flow Cabin) έπειτα από την χρήση UV ακτινοβολίας. Όλες οι διεργασίες έγιναν με την χρήση προστατευτικών γαντιών και τα υλικά παρέμειναν στον πάγο καθ'όλη την διάρκεια του πειράματος. Πιο συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκε 1μL απομονωμένου DNA και τοποθετήθηκε σε φιαλίδιο 0,1μl μαζί με τα αντιδραστήρια που αναφέρονται στον πίνακα 5.2 (συνολικός όγκος αντίδρασης 20μL), χρησιμοποιώντας το MeltDoctor Master mix της Life technologies, ακολουθώντας τις ρυθμίσεις

των κατασκευαστών. Τα τμήματα από τα ψευδογονίδια *trnL* και *rbcL* πολλαπλασιάστηκαν χρησιμοποιώντας τους εκκινητές *trnL-F* και *trnL-R*, και τους εκκινητές *rbcL-F* και *rbcL-R* αντίστοιχα, σε συγκέντρωση 0.2μΜ. Οι ρυθμίσεις της PCR ορίστηκαν ως εξής, μια αρχική μετουσίωση διάρκειας 10 λεπτών στους 95°C, 45 κύκλοι των 15 δευτερολέπτων στους 95°C, και του ενός λεπτού στους 60°C, μια ολοκληρωτική μετουσίωση 10 δευτερολέπτων στους 95°C, 1 λεπτού στους 60°C, και μετρήσεις για υπολογισμό της θερμοκρασίας μετουσίωσης από τους 60 μέχρι τους 95°C με 0.3% αύξηση θερμοκρασίας κάθε 15 δευτερόλεπτα.

Για την HRM ανάλυση χρησιμοποιήθηκε ειδική χρωστική (dye) που ονομάζεται Melt Doctor.

Το πρωτόκολλο που ακολουθήθηκε είναι το εξής:

Πίνακας 6-2: Πρωτόκολλο ανάλυσης HRM

Συστατικά	Ποσότητα
MeltDoctor	10 μL
Primer Forward	0.25 μL
Primer Reverse	0.25 μL
H <sub>2</sub> O	8.5 μL
DNA	1 μL

Οι ρυθμίσεις της RealTime qPCR είναι οι εξής:

Πίνακας 6-3: Ρυθμίσεις PCR (Real-Time)

Στάδιο	Βήμα	Θερμοκρασία	Διάρκεια
Holding	Enzyme Activation	95°C	10 minutes
Cycling	Denature	95°C	15 seconds
	Anneal/Extend	60°C	1 minute
High Resolution	Denature	95°C	10 seconds
	Anneal	60°C	1 minutes
	High resolution melting	95°C	15 seconds
	Anneal	60°C	15 seconds

Τα πρωτόκολλα πάρθηκαν από τον οδηγό της HRM που σχεδιάστηκε για την γρήγορη εκτέλεση της με την χρήση του αντιδραστηρίου MeltDoctor και του λογισμικού HRM.

### 6.7. Προετοιμασία plate για HRM

Τα δείγματα φορτώθηκαν σε 'πιατο' plate έχοντας έναν αρνητικό μάρτυρα

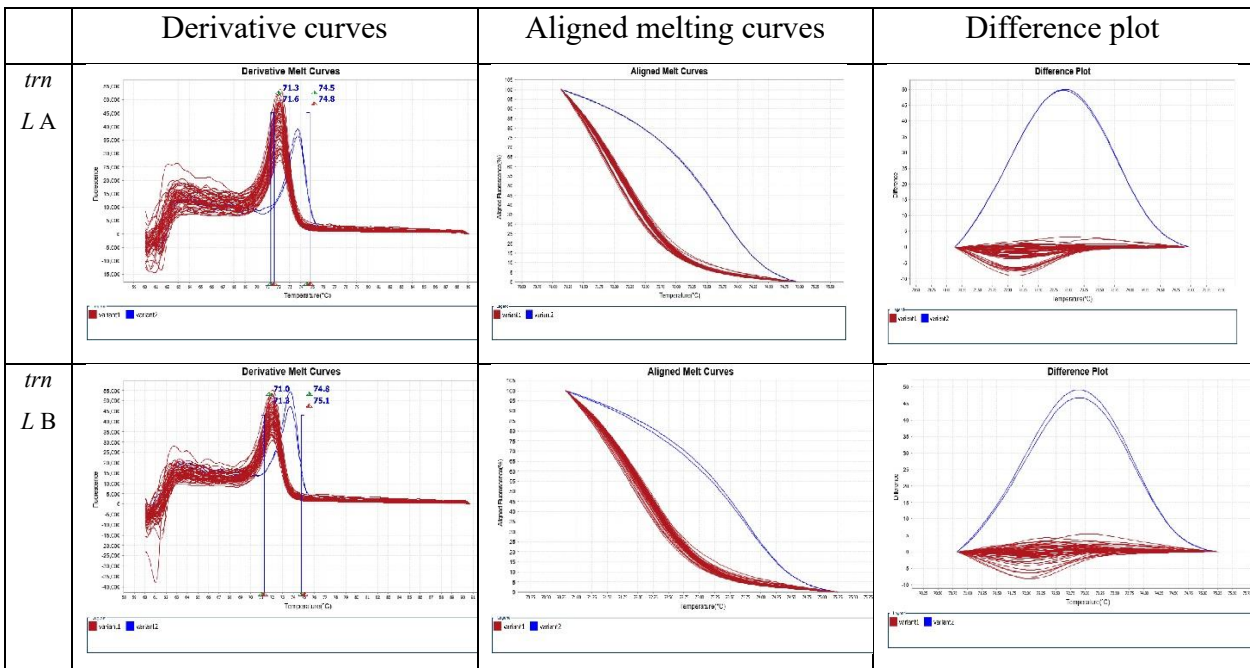
- Αναμίχθηκαν όλα τα υλικά για την παρασκευή του MasterMix και στην συνέχεια ομογενοποιήθηκαν με την χρήση Vortex.
- Το PCR plate παρέμεινε στον πάγο. Τοποθετήθηκαν τα PCR tube strips αφού προηγουμένως είχαν ταυτοποιηθεί με την χρήση ανεξίτηλου μαρκαδούρου.
- Στο κάθε κελί προστέθηκαν 19μL από το MasterMix.
- Στη συνέχεια, προστέθηκαν 1μL H<sub>2</sub>O για το negative control (αρνητικός μάρτυρας), ενώ 1μL δείγματος DNA χρησιμοποιήθηκε στα υπόλοιπα κελιά. Κάθε δείγμα εκτελέστηκε με δύο επαναλήψεις. Ο τελικός όγκος σε κάθε κελί ήταν 20μL.
- Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν για 10 sec.
- Οι συνθήκες της HRM ρυθμίστηκαν στο όργανο StepOnePlus ως εξής: 95°C για 10 min για την ενεργοποίηση του ενζύμου (Taq polymerase), 40 κύκλοι των 15s στους 95 °C και 1 min στους 60 °C, ανάλυση τήξης 10s στους 95 °C, 1 min στους 60 °C , υψηλή ανάλυση για 15s στους 95 °C και σταδιακή μείωση της θερμοκρασίας στους 60 °C για 15s.

## 7. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### 7.1. Διαχωρισμός ειδών

Οι επιλεγμένοι εκκινητές για τα γονίδια *trnL*, *rbcL* και *ITS*, χρησιμοποιήθηκαν με σκοπό τον διαχωρισμό των ειδών της Οροβάγχης μέσω της ανάλυσης με τη τεχνική HRM. Οι εκκινητές επιλέχθηκαν σύμφωνα με την ικανότητα τους να διαφοροποιούν τα είδη Οροβάγχης, παρέχοντάς μας ξεχωριστά προφίλ για κάθε διαφορετικό είδος. Η ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με την βοήθεια του προγράμματος High Resolution Melt Software (Applied Biosystems). Παρακάτω απεικονίζονται οι καμπύλες τήξης υψηλής ανάλυσης από τα προϊόντα της qPCR για τα γονίδια που μελετήθηκαν (Πίνακες 4, 5, 6).

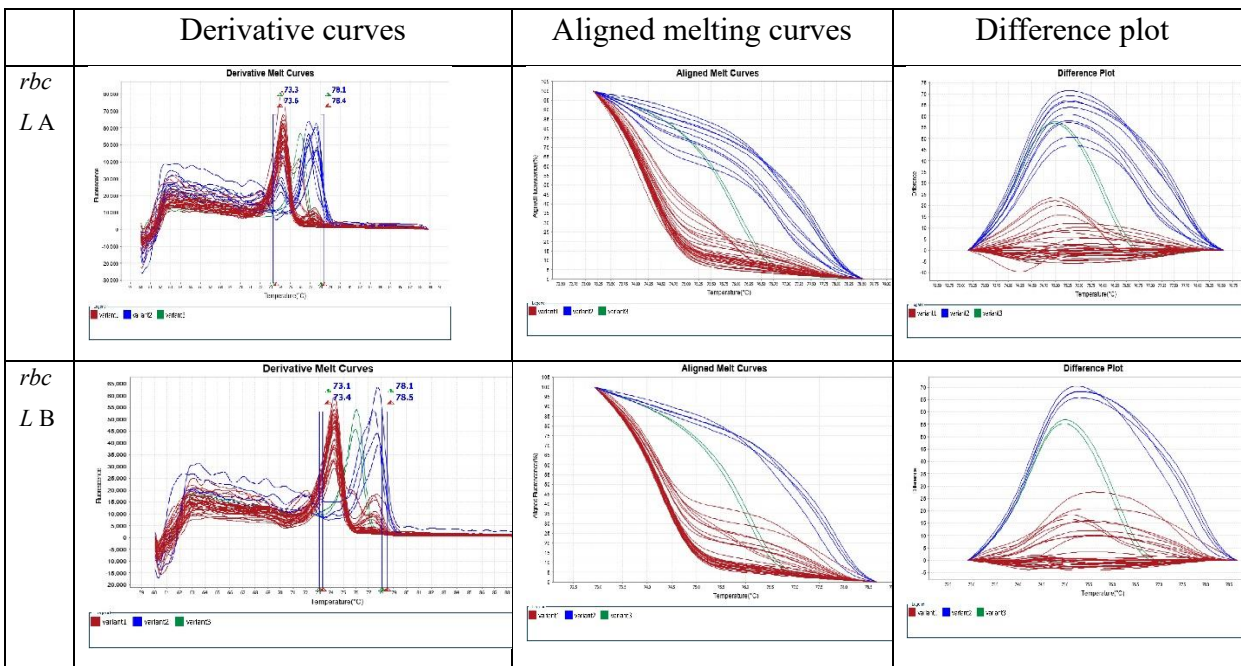
Πίνακας 4: Ανάλυση τήξης υψηλής ανάλυσης (HRM) για τον εκκινητή *trnL*. Ικανότητα της ανάλυσης να διαφοροποιεί τα στοχευμένα είδη ως διαφορετικά προφίλ. Α) Πρώτη επανάληψη με τον εκκινητή *trnL*: **Κόκκινο** = *Orobanche ramosa*, *Orobanche aegyptiaca*, **Μπλε** = *Orobanche cumana*, Β) Δεύτερη επανάληψη με τον εκκινητή *trnL*: **Κόκκινο** = *Orobanche ramosa*, *Orobanche aegyptiaca*, **Μπλε** = *Orobanche cumana*.



Τα είδη *Orobanche ramosa*, *Orobanche aegyptiaca* και *Orobanche cumana* θα έπρεπε να παρουσιάζουν τρία διαφορετικά προφίλ, ένα για το κάθε είδος, όταν εξετάζουμε τις καμπύλες τήξης υψηλής ανάλυσης για τους τρεις εκκινητές. Ωστόσο στην περίπτωση του γονιδίου *trnL*, παρατηρούμε ότι δημιουργούνται δύο διαφορετικά προφίλ και στις δύο επαναλήψεις του

πειράματος (Πίνακας 4) με την μόνη διαφορά να είναι τα υψηλότερα επίπεδα φθορισμού που παρουσιάζει η *O. cumana* στην δεύτερη επανάληψη του πειράματος. Συγκεκριμένα, σχηματίζονται δύο διαφορετικά μοτίβα καμπυλών τήξης. Οι καμπύλες τήξης χρώματος κόκκινου αντιπροσωπεύουν τα δείγματα GR1, GR2, GR3 1R, GR3 1R CONTROL, GR3 2R, GR3 3R, GR3 3R+, GR3 4R, GR3 5R, IRAN 1.1, IRAN 1.2 3R, IRAN 1.2 4R, IRAN 1.2 5R, IRAN 1.4, IRAN 10, IRAN 2.2, IRAN 20 2R, IRAN 21, IRAN 3.1, IRAN 3.1 4R, IRAN 3.2, IRAN 3.2 5R, IRAN 3.2 6R, IRAN 3.4 1R, IRAN 3.4 2R, ISR6 και ISR7 ενώ με μπλε χρώμα το δείγμα A. Το είδος *Orobanchae cumana* απεικονίζεται με το μπλε χρώμα και διαχωρίζεται εύκολα από τα υπόλοιπα είδη. Παρατηρούμε ότι μπορούν να διαφοροποιηθούν με σαφήνεια όλα τα είδη μεταξύ τους, όταν εξετάζουμε τον συγκεκριμένο εκκινητή. Αυτό πρακτικά μπορεί να ερμηνευθεί με δύο τρόπους. Πρώτον, είτε η αλληλουχία που πολλαπλασιάστηκε με τους συγκεκριμένους εκκινητές ήταν ίδια για τα δείγματα GR, IRAN, και ISR, κι έτσι δεν ήταν δυνατόν να γίνει σαφής διαχωρισμός των δειγμάτων οδηγώντας σε ομαδοποίηση των διαφορετικών ειδών ή ότι τα δείγματα που μελετήσαμε τελικά ανήκαν στο ίδιο είδος, πιθανότατα στο *Orobanchae ramosa*.

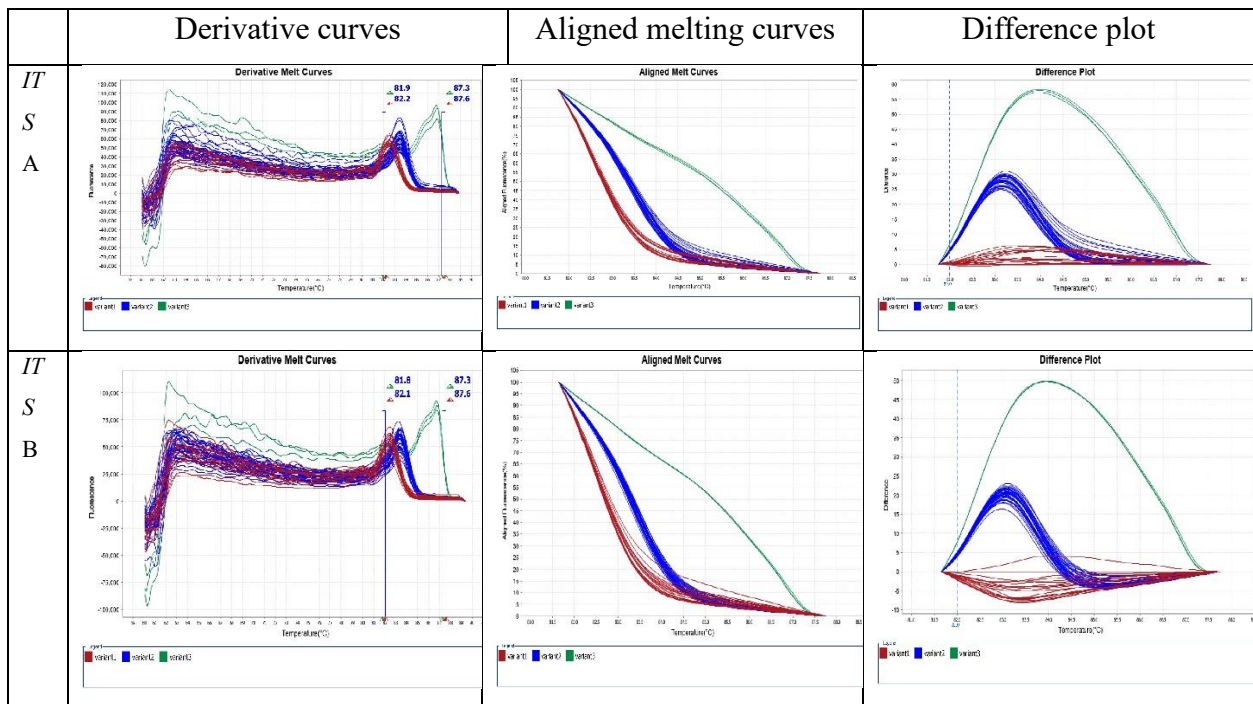
Πίνακας 5: Ανάλυση τήξης υψηλής ανάλυσης (HRM) για τον εκκινητή ITS. Α) Πρώτη επανάληψη με τον εκκινητή ITS: **Κόκκινο**= *Orobanchae ramosa*, *Orobanchae aegyptiaca*, **Μπλε**= *Orobanchae ramosa*, *Orobanchae aegyptiaca*, **Πράσινο**=*Orobanchae cumana* Β) Δεύτερη επανάληψη με τον εκκινητή ITS: **Κόκκινο**=*Orobanchae ramosa*, *Orobanchae aegyptiaca*, **Μπλε**=*Orobanchae aegyptiaca*, *Orobanchae ramosa*, **Πράσινο**=*Orobanchae cumana*. Οι καμπύλες Derivative melting, Aligned melting και Difference plot αντιστοιχούν σε τρεις αναπαραστάσεις των ίδιων δεδομένων.





Στην περίπτωση του γονιδίου *rbcL* τα αποτελέσματα διαφέρουν ελαφρώς για τις δύο επαναλήψεις (Πίνακας 5). Και στις δύο επαναλήψεις το *rbcL* φανερώνει τρία διαφορετικά προφίλ καμπυλών τήξης. Στην πρώτη επανάληψη παρατηρούμε ελαφρώς υψηλότερα επίπεδα φθορισμού των δειγμάτων από την δεύτερη. Αυτό μπορεί να οφείλεται στην υψηλή ευαισθησία της μεθόδου. Για τον συγκεκριμένο εκκινητή, οι καμπύλες τήξης κόκκινου και μπλε χρώματος περιλαμβάνουν δείγματα και των δύο ειδών, *O.aegyptiaca* και *O.ramosa*. Ενώ η καμπύλη τήξης πράσινου χρώματος αναπαριστά το είδος *O.cumana* με επιτυχία και στις δύο επαναλήψεις. Εφόσον ο συγκεκριμένος εκκινητής για το γονίδιο *rbcL* φαίνεται να μην διαχωρίζει ικανοποιητικά τα είδη *O.aegyptiaca* και *O.ramosa* μεταξύ τους, το γεγονός αυτό τον καθιστά έναν όχι τόσο αξιόπιστο μοριακό δείκτη.

Πίνακας 6: Ανάλυση τήξης υψηλής ανάλυσης (HRM) για τον εκκινητή ITS. Α) Πρώτη επανάληψη με τον εκκινητή ITS: Κόκκινο=*Orobancha ramosa*, Μπλε=*Orobancha aegyptiaca*, Πράσινο=*Orobancha cumana* Β) Δεύτερη επανάληψη με τον εκκινητή ITS: Κόκκινο=*Orobancha ramosa*, Μπλε=*Orobancha aegyptiaca*, Πράσινο=*Orobancha cumana*. Οι καμπύλες Derivative melting, Aligned melting και Difference plot αντιστοιχούν σε τρεις αναπαραστάσεις των ίδιων δεδομένων.



Στην περίπτωση του γονιδίου *ITS*, τα αποτελέσματα δεν διαφέρουν για τις δύο επαναλήψεις (Πίνακας 6). Και στις δύο επαναλήψεις το *ITS* φανερώνει τρία διαφορετικά προφίλ καμπυλών τήξης, όπως και το γονίδιο *rbcL*. Παρατηρούμε μία διαφορά στην θερμοκρασία τήξης μεταξύ των δειγμάτων που εμφανίζονται με κόκκινο χρώμα, το οποίο έχει σαν αποτέλεσμα να δημιουργούνται δυο διαφορετικά προφίλ κόκκινου χρώματος χωρίς, όμως, να γίνεται διακριτός κάποιος

διαχωρισμός μεταξύ τους. Οι καμπύλες τήξης με πράσινο χρώμα σχετίζονται με το είδος *Orobanche cumana* το οποίο διαχωρίζεται εμφανώς από τα είδη *O.ramosa* που σχετίζονται με το κόκκινο χρώμα και *O.aegyptiaca* που σχετίζονται με το μπλε χρώμα. Σε αυτή την περίπτωση είναι δυνατός ο διαχωρισμός και των τριών ειδών Οροβάγχης με το κόκκινο χρώμα να αναφέρεται στο είδος *O.ramosa*, το μπλε στο *O.aegyptiaca* και με πράσινο το *O.cumana*. Οι διαφορές μεταξύ των επαναλήψεων πιθανόν να οφείλονται σε μεγάλη ευαισθησία της μεθόδου, σε κάθε περίπτωση ωστόσο ο συγκεκριμένος εκκινητής για το γονίδιο *ITS* φαίνεται να διαχωρίζει ικανοποιητικά τα είδη μεταξύ τους, πράγμα που τον καθιστά έναν πιθανά αξιόπιστο μοριακό δείκτη. Ωστόσο για να ισχυριστούμε κάτι τέτοιο με ασφάλεια απαιτείται μεγαλύτερος αριθμός επαναλήψεων της μεθόδου και με περισσότερα δείγματα από τα τρία φυτικά είδη.

Στον παρακάτω πίνακα 4 συνοψίζονται οι διαφορές που παρατηρήθηκαν στα φυτικά δείγματα οροβάγχης που μελετήσαμε, οι οποίες καταδεικνύονται με βάση το διαφορετικό χρώμα, για καθένα από τα γονίδια που διερευνήσαμε για τα διαφορετικά είδη οροβάγχης.

Πίνακας 7: Αντιστοιχία μεταξύ των προφίλ HRM των ειδών οροβάγχης που ελήφθησαν με την χρήση των εκκινητών *trnL*, *rbcL* και *ITS*.

<b>Είδος</b>	<b>trnL</b>	<b>rbcL</b>	<b>ITS</b>
<b>O.ramosa</b>	<b>Κόκκινο</b>	<b>Κόκκινο</b>	<b>Κόκκινο</b>
<b>O.aegyptiaca</b>	<b>Κόκκινο</b>	<b>Μπλε</b>	<b>Μπλε</b>
<b>O.cumana</b>	<b>Μπλε</b>	<b>Πράσινο</b>	<b>Πράσινο</b>



## 8. ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ο πρωταρχικός στόχος αυτής της μελέτης ήταν να αναπτύξουμε και να αξιολογήσουμε μια μέθοδο μέσω της τεχνικής τήξης υψηλής ανάλυσης (HRM) για την ταυτοποίηση και τη διάκριση μερικών ειδών *Orobanche*. Αυτή η έρευνα αντιπροσωπεύει μια πολύτιμη συνέχεια και επιβεβαίωση του πειράματος των Rolland *et al.* (2016), το οποίο έθεσε τις βάσεις για την εφαρμογή του δικού μας πειράματος HRM στη διάκριση των ειδών *Orobanche*. Το πρωτόκολλο που δημιουργήθηκε στην έρευνα των Rolland *et al.* ήταν η πρώτη έρευνα που περιγράφει την εφαρμογή της ανάλυσης των καμπυλών τήξης HRM για την διαφοροποίηση ειδών οροβάγχης, όπου ταυτοποιήθηκαν με επιτυχία τα οκτώ επιβλαβή είδη: *O.cumana*, *O.cernua*, *O.crenata*, *O.minor*, *O.hederiae* και *O.foetida.*, όπως επίσης και τα είδη *P.ramosa* και *P.aegyptiaca* που μπόρεσαν να διαφοροποιηθούν από άλλα είδη αλλά όχι μεταξύ τους. Στην δική μας μελέτη χρησιμοποιήθηκαν εκκινητές για τα γονίδια *trnL*, *rbcL* και *ITS* και ήταν εφικτή η αναγνώριση τριών διαφορετικών ειδών οροβάγχης, των *O.cumana*, *O.aegyptiaca* και *O.ramosa*. Όσον αφορά το γονίδιο *trnL*, τα αποτελέσματα της μελέτης μας έδειξαν εμφανή διάκριση του είδους *O.cumana* όμως δεν μπορούσε να γίνει σαφής διαχωρισμός μεταξύ των ειδών *O.aegyptiaca* και *O.ramosa* αφού έδειξαν να ανήκουν στην ίδια ομάδα καμπυλών τήξης, γεγονός που συμφωνεί με τα παρόμοια αποτελέσματα των Rolland *et al.* Ομοίως, για το γονίδιο *rbcL* υπήρξε πάλι εμφανής διαφοροποίηση του είδους *O.cumana* όμως τα είδη *O.aegyptiaca* και *O.ramosa*, παρόλο που παρουσιάστηκαν τρεις διαφορετικές καμπύλες τήξης άρα και τρία διαφορετικά προφίλ, ήταν μοιρασμένα/διασκορπισμένα σε δύο από αυτές. Οι Aly *et al.* το 2019 παρουσίασαν ενδιαφέροντα αποτελέσματα χρησιμοποιώντας μοριακούς δείκτες βασισμένοι στο γονίδιο *rbcL* για την επιτυχή διαφοροποίηση των ειδών *O.crenata* και *O.cumana*. Οι ίδιοι δείκτες όμως απέτυχαν να ενισχύσουν δείγματα εδάφους από το είδος *P. Aegyptiaca*. Τέλος, για το γονίδιο *ITS* τα αποτελέσματα ήταν περισσότερο ικανοποιητικά, όπου και πάλι παρουσιάστηκαν τρία διαφορετικά προφίλ όμως αυτή τη φορά ο διαχωρισμός των ειδών ήταν ξεκάθαρος με το κάθε είδος να έχει τη δική του χαρακτηριστική καμπύλη τήξης.

Προκειμένου να αποκτήσουμε αποτελεσματικές στρατηγικές στα προγράμματα βελτίωσης για την αντιμετώπιση των ειδών Οροβάγχης, απαιτείται η διερεύνηση της γενετικής παραλλακτικότητας εντός και μεταξύ των πληθυσμών των παρασίτων αυτών. Οι μοριακοί δείκτες αντιπροσωπεύουν ένα εργαλείο για τη μελέτη της γενετικής ποικιλότητας και έχουν εφαρμοστεί

με επιτυχία στην εκτίμηση των γενετικών σχέσεων μεταξύ των ειδών *Orobanche* (Paran *et al.*, 1997; Katzir *et al.*, 1996). Για την ταυτοποίηση και αντιμετώπιση των διαφορετικών ειδών Οροβάγγης, συγκεκριμένα, έχουν αναφερθεί διάφορες μοριακές τεχνικές, οι οποίες βασίζονται κυρίως στην ανάπτυξη μοριακών δεικτών όπως *ITS*, *ISSR*, γονιδίων πλαστιδίου ή *RAPD* (Rolland, *et al.*, 2016). Μοριακοί δείκτες *RAPD* χρησιμοποιήθηκαν για την ανάλυση γενετικών παραλλαγών εντός και μεταξύ πληθυσμών *O.foetida* που παρασιτούσαν σε καλλιέργειες *Cicer arietinum* και *Vicia faba* όπου έδειξαν μια καθαρή διαφοροποίηση μεταξύ των δειγμάτων που παρασιτούσαν σε φυτά ρεβιθιού και αυτών που παρασιτούσαν σε φυτά φάβας (Boukteb *et al.*, 2021). Οι Martin-sanz *et al* διεξήγαγαν το 2016 αναλύσεις μολυσματικότητας και γενετικής παραλλακτικότητας σε τέσσερις πληθυσμούς *O.cumana* που παρασιτούσαν σε ανθεκτικά υβρίδια που είχαν δημιουργηθεί για τον περιορισμό της εξάπλωσης του παρασίτου στα τέλη του 20<sup>ου</sup> αιώνα. Τα αποτελέσματα επιβεβαίωσαν ότι οι τέσσερις πληθυσμοί μπορούν να παρασιτήσουν στην πλειοψηφία των ανθεκτικών υβριδίων, όμως δεν μπορούν να παρασιτήσουν στις νέες καθαρές σειρές *DEB-2* και *P-96*. Δείγματα *O.aegyptiaca* που συλλέχθηκαν από διαφορετικές περιοχές του βορειοδυτικού Ιράν μελετήθηκαν χρησιμοποιώντας δείκτες μικρής επανάληψης αλληλουχίας (*ISSR*) και έδειξαν σημαντική γενετική διαφοροποίηση μεταξύ των ατόμων που εξετάστηκαν (Abedi *et al.*, 2014). Ενδιαφέρουσα αναφορά αποτελεί και η μελέτη των Gashaw *et al.* το 2020 που κατάφερε να αναγνωρίσει 11 δείκτες *SSR* οι οποίοι μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη μελλοντική μελέτη γενετικής ποικιλότητας πληθυσμών *O.crenata*. Οι δείκτες αυτοί αποκάλυψαν σημαντική γενετική διαφοροποίηση στους πληθυσμούς του είδους αυτού, και κατηγοριοποίησαν τους γονότυπους της *O.crenata* της Αιθιοπίας σε δύο γενετικές ομάδες χωρίς να περιορίζονται από γεωγραφικές προελεύσεις.

Σε σύγκριση με άλλες μεθόδους η τεχνική HRM αποτελεί μία σχετικά νέα μέθοδο βασισμένη στην PCR η οποία σε συνδυασμό με διάφορους μοριακούς δείκτες (*ITS*, γονίδια πλαστιδίου), επαναλήψεις μεταξύ απλών ακολουθιών (*ISSRs*), *SSRs* και μεμονωμένων πολυμορφισμών (*SNPs*), έχει χρησιμοποιηθεί για την ταυτοποίηση φυτικών ειδών, καθώς και για δοκιμές ελέγχου πιστοποίησης και νοθείας σπόρων και διατροφικών προϊόντων. Οι Kalivas *et al.* (2014), στη μελέτη τους, αντιμετώπιζαν δυσκολία στην αναγνώριση γενοτύπων *Sideritis* λόγω της μορφολογικής ομοιότητας και της συχνής εμφάνισης φυσικού υβριδισμού του συγκεκριμένου γένους. Για τον λόγο αυτό στη μελέτη τους χρησιμοποιήθηκε αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης πραγματικού χρόνου (PCR) για την γονιδιακή περιοχή *ITS2* σε συνδυασμό με HRM ανάλυση

έχοντας έτσι ένα ακριβές, γρήγορο και ευαίσθητο εργαλείο για την αναγνώριση επτά ειδών *Sideritis* που αναπτύσσονται στην Ελλάδα. Η HRM έχει χαρακτηριστεί ως ένα πολύ ευαίσθητο εργαλείο για την γενοτύπιση ποικιλιών ρυζιού και την ανίχνευση πρόσμικτων, καθώς και ως ικανό να ανιχνεύσει αναλογία 1:100 μη αρωματικού ρυζιού σε αρωματικό ρύζι (Ganopoulos *et al.*, 2011). Ομοίως, μια έρευνα που εστίασε στη μοριακή αναγνώριση και διάκριση μεταξύ 38 επιλεγμένων δειγμάτων του γένους *Origanum* από την Ελλάδα χρησιμοποίησε επιτυχώς την τεχνική HRM σε συνδυασμό με τη χρήση μικροδορυφόρων (microsatellite markers). Αυτή η διαδικασία αποδείχθηκε αποτελεσματική και χαρακτηρίστηκε ως μία εύκολη και γρήγορη μέθοδος, που δεν απαιτεί πρόσθετη επεξεργασία μετά το τέλος της PCR (Papaioannou *et al.*, 2020). Τα τελευταία χρόνια έχουν δημοσιευτεί αρκετές έρευνες που αποσκοπούν στην ανίχνευση παθογόνων σε τρόφιμα, με την χρήση της τεχνικής HRM σε συνδυασμό με παραμαγνητικές χάντρες επετεύχθη ταχεία ανίχνευση συγκεντρώσεων του παθογόνου *E.coli* σε δείγματα φαγητών που δεν θα μπορούσαν να ανιχνευθούν με συμβατικές μεθόδους καλλιέργειας σε πετρί (Dhital & Mustapha, 2023), όπως επίσης και διαφοροποίηση του παθογόνου οργανισμού γένους *Listeria* και *Listeria monocytogenes* από άλλους παθογόνους σε προϊόντα κρέατος (Vishnuraj *et al.*, 2023).

Η οροβάγγη είναι ένα ολοπαρασιτικό ζιζάνιο που συναντάται σε πολλές περιοχές του κόσμου, κυρίως όμως στην περιοχή της μεσογείου και της μέσης ανατολής. Η μελέτη του ζιζανιού αυτού είναι υψηλής σημασίας λόγω της μεγάλης οικονομικής ζημιάς που μπορεί να προκαλέσει στις καλλιέργειες που παρασιτεί και της δυνατότητας του να παραμείνει στο έδαφος για δεκαετίες σε μορφή σπόρων. Αφού φυτρώσει, η αντιμετώπιση της θεωρείται ιδιαίτερα δύσκολη, έως και αδύνατη. Όχι όλα τα είδη οροβάγγης είναι το ίδιο μολυσματικά. Λαμβάνοντας υπόψιν ότι η αναγνώριση των ειδών οροβάγγης είναι εξαιρετικά δύσκολη βασισμένοι μόνο στο φαινότυπο θα πρέπει να ληφθούν δραστικά μέτρα για την ταχεία αναγνώριση του είδους οροβάγγης, την αποτροπή μόλυνσης μελλοντικών καλλιεργειών, και τον γενικό περιορισμό της εξάπλωσής της. Ο σκοπός της δικής μας μελέτης ήταν να καταφέρουμε να ταυτοποιήσουμε τρία είδη οροβάγγης *O.cumana*, *O.ramosa*, και *O.aegyptiaca*, μέσω της τεχνικής τήξης υψηλής ανάλυσης (HRM) από δείγματα φυτικού ιστού. Η τεχνική HRM παρέχει μια ταχεία και οικονομικά αποδοτική μέθοδο για ταυτοποίηση, καθώς δεν απαιτεί αλληλούχιση των δειγμάτων ή εξειδικευμένο εξοπλισμό και μπορεί να αναγνωρίσει διαφορετικά είδη με μεγάλη ακρίβεια. Στη συγκεκριμένη μελέτη, χρησιμοποιήθηκαν εκκίνητες βασισμένοι σε τρεις γονιδιακές περιοχές, *trnL*, *rbcL*, (γονίδια πλαστιδίου) και *ITS* (γονίδιο πυρήνα). Λόγω της μεγάλης ευαισθησίας της μεθόδου HRM οι

εκκινητές σχεδιάστηκαν ώστε να μην έχουν μήκος μεγαλύτερο από 100 bp και να μην περιέχουν πολλούς SNP πολυμορφισμούς. Τα είδη *O.ramosa*, *O.cumana* και *O.aegyptiaca* διαφοροποιήθηκαν επιτυχώς μεταξύ τους αφού τα αποτελέσματα της ανάλυσης HRM μας παρουσίασαν διαφορετικά προφίλ τήξης για κάθε παραγόμενο προϊόν. Τα αποτελέσματα της έρευνας αυτής σε συνδυασμό με άλλες μεθόδους και έρευνες μπορούν να συμβάλλουν στη δημιουργία αποτελεσματικών στρατηγικών για την πρόληψη των καλλιεργειών από πιθανούς εχθρούς καθώς επίσης και στην κατανόηση της εξελικτικής βιολογίας του παρασίτου και την επιτάχυνση της βελτίωσης της αντοχής και νέων καλλιεργειών στο ολοπαράσιτο.

## 9. Βιβλιογραφία

- Abang, M. M., Bayaa, B., Abu-Irmaileh, B., & Yahyaoui, A. (2007). A participatory farming system approach for sustainable broomrape (*Orobanche* spp.) management in the Near East and North Africa. *Crop Protection*, 26(12), 1723-1732. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2007.03.005>
- Abdalla, M. M. F., Saleh, H. A. M. A., & Khater, M. A. (2020). Detection of genetic variations in *Orobanche crenata* using inter simple sequence repeat (ISSR) markers. *Bulletin of the National Research Centre*, 44(1), 139. <https://doi.org/10.1186/s42269-020-00390-0>
- Abedi, S., Darvishzadeh, R., Bernousi, I., Abdollahi Mandoulakani, B., Hatami Maleki, H., & Shah, D. (2014). Genetic variability of *Orobanche aegyptiaca* infesting tobacco in Iran by Bayesian analysis. *Biologia*, 69(12), 1652-1659. <https://doi.org/10.2478/s11756-014-0473-6>
- Akkose Baytar, A., ÇeliK, İ., Doğanlar, C., Frary, A., & Doğanlar, S. (2021). QTL MAPPING OF BROOMRAPE (*OROBANCHE CUMANA* WALLR.) RESISTANCE IN SUNFLOWER (*HELIANTHUS ANNUUS* L.) USING GBS-SNPS. *Turkish Journal Of Field Crops*, 26(2), 157-162. <https://doi.org/10.17557/tjfc.940409>
- Aldrich, R. J. (1987). Predicting Crop Yield Reductions from Weeds. *Weed Technology*, 1(3), 199-206. <https://doi.org/10.1017/S0890037X00029535>
- Aly, R., Bari, V. K., Londner, A., Nassar, J. A., Lati, R., Taha-Salaime, L., & Eizenberg, H. (2019). Development of specific molecular markers to distinguish and quantify broomrape species in a soil sample. *European Journal of Plant Pathology*, 155, 1367-1371. <https://doi.org/10.1007/s10658-019-01841-9>
- Asfaram, S., Fakhar, M., Mirani, N., Derakhshani-niya, M., Valadan, R., Ziaei Hezarjaribi, H., & Emadi, S. N. (2020). HRM-PCR is an accurate and sensitive technique for the diagnosis of cutaneous leishmaniasis as compared with conventional PCR. *Acta Parasitologica*, 65(2), 310-316. <https://doi.org/10.2478/s11686-019-00154-5>
- Bartlett, P., Eberhardt, U., Schütz, N., & Beker, H. J. (2022). Species determination using AI machine-learning algorithms: Hebeloma as a case study. *IMA Fungus*, 13(1), 13. <https://doi.org/10.1186/s43008-022-00099-x>
- Beck, L. (2023). *Dodder Biology and Management | New Mexico State University - BE BOLD. Shape the Future.* <https://pubs.nmsu.edu/a/A615/>
- Belay, G., Tesfaye, K., Hamwih, A., Ahmed, S., Dejene, T., & De Oliveira Júnior, J. O. L. (2020). Genetic Diversity of *Orobanche crenata* Populations in Ethiopia Using Microsatellite Markers. *International Journal of Genomics*, 2020, 1-8. <https://doi.org/10.1155/2020/3202037>
- Benharrat, H., Veronesi, C., Theodet, C., & Thalouarn, P. (2002). *Orobanche* species and population discrimination using intersimple sequence repeat (ISSR). *Weed Research*, 42(6), 470-475. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3180.2002.00305.x>
- Bourbour, S., Emaneini, M., Jabalameli, M., Mortazavi, S. M. J., Tahmasebi, M. N., Taghizadeh, A., Sharafatvaziri, A., Beigverdi, R., & Jabalameli, F. (2021). Efficacy of 16S rRNA variable regions high-resolution melt analysis for bacterial pathogens identification in periprosthetic joint infections. *BMC Microbiology*, 21(1), 112. <https://doi.org/10.1186/s12866-021-02164-8>
- Britannica. (2023, 2023-07-21). *Broomrape | Description, Parasitic Plant, Pest, Species, & Facts | Britannica.* <https://www.britannica.com/plant/broomrape>

- Britannica. (2023, 2023-07-21). *Parasitic plant | Definition, Species, Characteristics, Examples, & Facts | Britannica*. <https://www.britannica.com/plant/parasitic-plant>
- Brun, G., Spallek, T., Simier, P., & Delavault, P. (2020). Molecular actors of seed germination and haustoriogenesis in parasitic weeds. *Plant Physiology*, *185*(4), 1270-1281. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiaa041>
- Buschmann, H., Gonsior, G., & Sauerborn, J. (2005). Pathogenicity of branched broomrape (*Orobanche ramosa*) populations on tobacco cultivars. *Plant Pathology*, *54*(5), 650-656. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2005.01211.x>
- Calderón-González, Á., Pouilly, N., Muños, S., Grand, X., Coque, M., Velasco, L., & Pérez-Vich, B. (2019). An SSR-SNP Linkage Map of the Parasitic Weed *Orobanche cumana* Wallr. Including a Gene for Plant Pigmentation. *Frontiers in Plant Science*, *10*, 797. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00797>
- Cartry, D., Steinberg, C., & Gibot-Leclerc, S. (2021). Main drivers of broomrape regulation. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, *41*(2), 17. <https://doi.org/10.1007/s13593-021-00669-0>
- Center for Advanced Studies in Vaccinology & Biotechnology (CASVAB), U. o. B., & Ahmed, N. (2020). *Orobanche* species identification through DNA barcoding in tomato crop in uplands of Balochistan, Pakistan. *Indian Journal of Science and Technology*, *13*(27), 2747-2754. <https://doi.org/10.17485/IJST/v13i27.76>
- Choudhury, M. K. P., Kshyudha S. (2020). *Unleash the Neurons: Design Thinking*. Notion Press.
- Clermont, K., Wang, Y., Liu, S., Yang, Z., dePamphilis, C. W., Yoder, J. I., Collakova, E., & Westwood, J. H. (2019). Comparative Metabolomics of Early Development of the Parasitic Plants *Phelipanche aegyptiaca* and *Triphysaria versicolor*. *Metabolites*, *9*(6), 114. <https://doi.org/10.3390/metabo9060114>
- Cochavi, A., Rapaport, T., Gendler, T., Karnieli, A., Eizenberg, H., Rachmilevitch, S., & Ephrath, J. E. (2017). Recognition of *Orobanche cumana* Below-Ground Parasitism Through Physiological and Hyper Spectral Measurements in Sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Frontiers in Plant Science*, *8*, 909. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00909>
- Colbach, N., Petit, S., Chauvel, B., Deytieux, V., Lechenet, M., Munier-Jolain, N., & Cordeau, S. (2020). The Pitfalls of Relating Weeds, Herbicide Use, and Crop Yield: Don't Fall Into the Trap! A Critical Review. *Frontiers in Agronomy*, *2*.
- Corpus, G. (2010). Get in the "groove" with new molecular technology. *MLO: medical laboratory observer*, *42*, 36, 38.
- Cvejić, S., Radanović, A., Dedić, B., Jocković, M., Jocić, S., & Miladinović, D. (2020). Genetic and Genomic Tools in Sunflower Breeding for Broomrape Resistance. *Genes*, *11*(2), 152. <https://doi.org/10.3390/genes11020152>
- Dhital, R., & Mustapha, A. (2023). DNA concentration by solid phase reversible immobilization improves its yield and purity, and detection time of *E. coli* O157: H7 in foods by high resolution melt curve qPCR. *Food Control*, *145*, 109456. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109456>
- Dias, S. (2023). Enhanced Genepool Utilization - Capturing wild relative and landrace diversity for crop improvement.
- Diriba, L. (2023). Identification of Host Critical Stage Affected by *Orobanche crenata* and Variation in the Resistance of Faba Bean Genotypes under Infested Field and Controlled Conditions in Ethiopia. *Advances in Agriculture*, *2023*, e1553452. <https://doi.org/10.1155/2023/1553452>

- DNR.State. (2023a). *Orobanche fasciculata* : Clustered Broomrape | Rare Species Guide. <https://www.dnr.state.mn.us/rsg/profile.html?action=elementDetail&selectedElement=PDORO04060>
- DNR.State. (2023b). *Orobanche uniflora* : One-flowered Broomrape | Rare Species Guide | Minnesota DNR. <https://www.dnr.state.mn.us/rsg/profile.html?action=elementDetail&selectedElement=PDORO040F0>
- Dor, E., & Goldwasser, Y. (2022). “Parasitic Weeds: Biology and Control” Special Issue Editors Summary. *Plants*, 11(14), 1891. <https://doi.org/10.3390/plants11141891>
- ECHOcommunity. TN #94 Parasitic Plants in African Agriculture. <https://www.echocommunity.org/resources/97670675-53b4-40ca-833a-3c35bc92b0dc>
- Eizenberg, H., Golan, S., & Joel, D. M. (2002). First Report of the Parasitic Plant *Orobanche aegyptiaca* Infecting Olive. *Plant Disease*, 86(7), 814. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2002.86.7.814A>
- El Amri, M., Amri, M., Kadir, E. M., Abidine Triqui, Z. E., Khayi, S., & Mentag, R. (2023). First Report of the Branched Broomrape (*Phelipanche schultzei* (Mutel) Pomel.) on Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) in Morocco. *Horticulturae* 9. <https://www.mdpi.com/2311-7524/9/5/567>
- Fernández-Aparicio, M., Delavault, P., & Timko, M. P. (2020). Management of Infection by Parasitic Weeds: A Review. *Plants*, 9(9), 1184. <https://doi.org/10.3390/plants9091184>
- Fernández-Aparicio, M., Flores, F., & Rubiales, D. (2009). Recognition of root exudates by seeds of broomrape (*Orobanche* and *Phelipanche*) species. *Annals of Botany*, 103(3), 423-431. <https://doi.org/10.1093/aob/mcn236>
- Fernández-Aparicio, M., Flores, F., & Rubiales, D. (2016). The Effect of *Orobanche crenata* Infection Severity in Faba Bean, Field Pea, and Grass Pea Productivity. *Frontiers in Plant Science*, 7.
- Fernández-Aparicio, M., Reboud, X., & Gibot-Leclerc, S. (2016). Broomrape Weeds. Underground Mechanisms of Parasitism and Associated Strategies for their Control: A Review. *Frontiers in Plant Science*, 7.
- Ferreira, I. R., Costa, R. A., Gomes, L. H. F., Dos Santos Cunha, W. D., Tyszler, L. S., Freitas, S., Llerena Junior, J. C., De Vasconcelos, Z. F. M., Nicholls, R. D., & Guida, L. D. C. (2020). A newborn screening pilot study using methylation-sensitive high resolution melting on dried blood spots to detect Prader-Willi and Angelman syndromes. *Scientific Reports*, 10(1), 13026. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69750-0>
- Fischer, R. A., & Miles, R. E. (1973). The role of spatial pattern in the competition between crop plants and weeds. a theoretical analysis. *Mathematical Biosciences*, 18(3-4), 335-350. [https://doi.org/10.1016/0025-5564\(73\)90009-6](https://doi.org/10.1016/0025-5564(73)90009-6)
- FNWD. (2023). *Orobanche and Phelipanche spp.* | Federal Noxious Weed Disseminules of the U.S. <https://idtools.org/fnwd/index.cfm?packageID=1097&entityID=2631>
- Frank, S., Bradley, L., & Moore, K. (2022). 8. *Integrated Pest Management (IPM)* | NC State Extension Publications. <https://content.ces.ncsu.edu/extension-gardener-handbook/8-integrated-pest-management-ipm>
- Ganopoulos, I., Argiriou, A., & Tsaftaris, A. (2011). Adulterations in Basmati rice detected quantitatively by combined use of microsatellite and fragrance typing with High Resolution Melting (HRM) analysis. *Food Chemistry*, 129(2), 652-659. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.109>



- Garay, A. F. G., Fraenkel, S., Diaz, J. J. A. R., Recalde, O. D. S., Gómez, M. C. V., Riquelme, J. A. M., Arze, P. V., Centurión, G. N. R., Britos, M., & Rolón, M. (2022). Sensitivity comparison for the *Leishmania* spp. detection in different canine tissues using PCR-HRM. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 55, e0069-2022. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0069-2022>
- Garner, C., Stephen, C., Pant, S. D., & Ghorashi, S. A. (2023). Comparison of PCR-HRM, colorimetric LAMP and culture based diagnostic assays in the detection of endometritis caused by *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* in mares. *Veterinary Research Communications*, 47(2), 495-509. <https://doi.org/10.1007/s11259-022-10047-0>
- Grievink, H., & Stowell, K. M. (2008). Identification of ryanodine receptor 1 single-nucleotide polymorphisms by high-resolution melting using the LightCycler 480 System. *Analytical Biochemistry*, 374(2), 396-404. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2007.11.019>
- H. Abu Almaaty, A., E. Abd-Alaty, H., & A. Abbas, O. (2020). Molecular Discrimination Among Three Fish Species of Family Sparidae Using ISSR and SDS-PAGE Techniques. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 24(7), 619-628. <https://doi.org/10.21608/ejabf.2020.122907>
- Habimana, S., Nduwumuremyi, A., & Chinama R, J. D. (2014). Management of orobanche in field crops: A review. *Journal of soil science and plant nutrition*, 14(1), 43-62. <https://doi.org/10.4067/S0718-95162014005000004>
- Halouzka, R., Zeljković, S. Č., Klejdus, B., & Tarkowski, P. (2020). Analytical methods in strigolactone research | Plant Methods | Full Text. *Plant Methods*, 16(7).
- Howard, G. W., & Harley, K. L. S. (1997). How do floating aquatic weeds affect wetland conservation and development? How can these effects be minimised? *Wetlands Ecology and Management*, 5(3), 215-225. <https://doi.org/10.1023/A:1008209207736>
- Ihsan, B. M., Berbudi, A., Agoes, R., & Hanif, M. I. (2022). Microfilaria Positification Test Using Real-Time PCR Technique with HRM (High-Resolution Melting). *Acta Parasitologica*, 67(1), 496-503. <https://doi.org/10.1007/s11686-021-00412-5>
- IPM. (2022). *What Is Integrated Pest Management (IPM)? / UC Statewide IPM Program (UC IPM)*. <https://ipm.ucanr.edu/what-is-ipm/>
- Jedrejek, D., Pawelec, S., Piwowarczyk, R., Pecio, Ł., & Stochmal, A. (2020). Identification and occurrence of phenylethanoid and iridoid glycosides in six Polish broomrapes (*Orobanche* spp. and *Phelipanche* spp., *Orobanchaceae*). *Phytochemistry*, 170, 112189. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2019.112189>
- Kalivas, A., Ganopoulos, I., Xanthopoulou, A., Chatzopoulou, P., Tsaftaris, A., & Madesis, P. (2014). DNA barcode ITS2 coupled with high resolution melting (HRM) analysis for taxonomic identification of *Sideritis* species growing in Greece. *Molecular biology reports*, 41, 5147-5155. <https://doi.org/10.1007/s11033-014-3381-5>
- Katzir, N., Portnoy, V., Tzuri, G., Joel, D. M., & Castejón-Muñoz, M. (1996). Use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers in the study of the parasitic weed *Orobanche*. *Theoretical and Applied Genetics*, 93, 367-372. <https://doi.org/10.1007/BF00223178>
- Khawar, J. (2017). *Noxious Weed - an overview* | *ScienceDirect Topics*.
- Kirilova, I., Hristeva, T., & Denev, I. (2019). Identification of seeds of *Phelipanche ramosa*, *Phelipanche mutellii* and *Orobanche cumana* in the soils from different agricultural regions in Bulgaria by molecular markers. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 33(1), 520-528. <https://doi.org/10.1080/13102818.2019.1591933>



- Konarska, A., & Chmielewski, P. (2020). Taxonomic traits in the microstructure of flowers of parasitic *Orobanche picridis* with particular emphasis on secretory structures. *Protoplasma*, 257(1), 299-317. <https://doi.org/10.1007/s00709-019-01438-3>
- Krypuy, M., Ahmed, A. A., Etemadmoghadam, D., Hyland, S. J., Group, A. O. C. S., deFazio, A., Fox, S. B., Brenton, J. D., Bowtell, D. D., & Dobrovic, A. (2007). High resolution melting for mutation scanning of TP53 exons 5–8. *BMC Cancer*, 7(1), 168. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-7-168>
- Lanini, W. (2010). *Dodder Management Guidelines--UC IPM*. <https://ipm.ucanr.edu/PMG/PESTNOTES/pn7496.html>
- Le Ru, A., Ibarcq, G., Boniface, M.-C., Baussart, A., Muños, S., & Chabaud, M. (2021). Image analysis for the automatic phenotyping of *Orobanche cumana* tubercles on sunflower roots. *Plant Methods*, 17(1), 80. <https://doi.org/10.1186/s13007-021-00779-6>
- Lebrun, M.-H. (2012, 2012-11). Interacting with plants: lessons from fungal genomes. *Plenary session 5: Genomes*
- Libert, X., Packeu, A., Bureau, F., Roosens, N. H., & De Keersmaecker, S. C. J. (2017). Discrimination of three genetically close *Aspergillus* species by using high resolution melting analysis applied to indoor air as case study. *BMC Microbiology*, 17(1), 84. <https://doi.org/10.1186/s12866-017-0996-4>
- Lingenfelter, D. (2023). *Introduction to Weeds and Herbicides*. <https://extension.psu.edu/introduction-to-weeds-and-herbicides>
- Louarn, J., Carbonne, F., Delavault, P., Bécard, G., & Rochange, S. (2012). Reduced Germination of *Orobanche cumana* Seeds in the Presence of Arbuscular Mycorrhizal Fungi or Their Exudates | PLOS ONE. <https://doi.org/https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049273>
- Mahaut, L., Cheptou, P.-O., Fried, G., Munoz, F., Storkey, J., Vasseur, F., Violle, C., & Bretagnolle, F. (2020). Weeds: Against the Rules? *Trends in Plant Science*, 25(11), 1107-1116. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2020.05.013>
- Martín-Sanz, A., Malek, J., Fernández-Martínez, J. M., Pérez-Vich, B., & Velasco, L. (2016). Increased virulence in sunflower broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) populations from Southern Spain is associated with greater genetic diversity. *Frontiers in Plant Science*, 7, 589. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00589>
- Miladinović, D., Hladni, N., Radanović, A., Jocić, S., & Cvejić, S. (2019). Sunflower and Climate Change: Possibilities of Adaptation Through Breeding and Genomic Selection. In C. Kole (Ed.), *Genomic Designing of Climate-Smart Oilseed Crops* (pp. 173-238). Springer International Publishing.
- Negewo, T., Ahmed, S., Tessema, T., & Tana, T. (2022). Biological Characteristics, Impacts, and Management of Crenate Broomrape (*Orobanche crenata*) in Faba Bean (*Vicia faba*): A Review. *Frontiers in Agronomy*, 4.
- Norambuena, P. A., Copeland, J. A., Křenková, P., Štambergová, A., & Macek Jr., M. (2009). Diagnostic method validation: High resolution melting (HRM) of small amplicons genotyping for the most common variants in the MTHFR gene. *Clinical Biochemistry*, 42(12), 1308-1316. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2009.04.015>
- Nyongesa, S. P. (2017). *FIELD AND MOLECULAR SCREENING FOR STRIGA RESISTANCE IN SELECTED FINGER MILLET (Eleusine coracana, L. Gaertn) GERMPLASM IN WESTERN KENYA* [Thesis, University of Eldoret]. 41.89.164.27.

- Okazawa , A. (2022). Chemical, Biological, and Biotechnological Control of Parasitic Weeds | Frontiers Research Topic. <https://www.frontiersin.org/research-topics/37883/chemical-biological-and-biotechnological-control-of-parasitic-weeds>
- Ortiz-Bustos, C. M., Pérez-Bueno, M. L., Barón, M., & Molinero-Ruiz, L. (2017). Use of Blue-Green Fluorescence and Thermal Imaging in the Early Detection of Sunflower Infection by the Root Parasitic Weed *Orobanche cumana* Wallr. *Frontiers in Plant Science*, 8, 833. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00833>
- Pakbin, B., Basti, A. A., Khanjari, A., Azimi, L., Brück, W. M., & Karimi, A. (2021). RAPD and ERIC-PCR coupled with HRM for species identification of non-dysenteriae *Shigella* species; as a potential alternative method. *BMC Research Notes*, 14(1), 345. <https://doi.org/10.1186/s13104-021-05759-6>
- Papaioannou, C., Zeliou, K., Trigas, P., & Papatotiropoulos, V. (2020). High resolution melting (HRM) genotyping in the genus *Origanum*: molecular identification and discrimination for authentication purposes. *Biochemical genetics*, 58(5), 725-737. <https://doi.org/10.1007/s10528-020-09970-1>
- Paran, I., Gidoni, D., & Jacobsohn, R. (1997). Variation between and within broomrape (*Orobanche*) species revealed by RAPD markers. *Heredity*, 78(1), 68-74. <https://doi.org/10.1038/hdy.1997.8>
- Park, J.-M., Schneeweiss, G. M., & Weiss-Schneeweiss, H. (2007). Diversity and evolution of Ty1-copia and Ty3-gypsy retroelements in the non-photosynthetic flowering plants *Orobanche* and *Phelipanche* (*Orobanchaceae*). *Gene*, 387(1), 75-86. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2006.08.012>
- Parker, C. (2012). Parasitic Weeds: A World Challenge. *Weed Science*, 60(2), 269-276. <https://doi.org/10.1614/WS-D-11-00068.1>
- Patterson, D. T. (1995). Effects of Environmental Stress on Weed/Crop Interactions. *Weed Science*, 43(3), 483-490. <https://doi.org/10.1017/S0043174500081510>
- Patterson, D. T., Westbrook, J. K., Joyce†, R. J. V., Lingren, P. D., & Rogasik, J. (1999). Weeds, Insects, and Diseases. *Climatic Change*, 43(4), 711-727. <https://doi.org/10.1023/A:1005549400875>
- Plaza, L., Fernandez, I., Juan, R., Pastor, J., & Pujadas, A. (2004). Micromorphological Studies on Seeds of *Orobanche* Species from the Iberian Peninsula and the Balearic Islands, and Their Systematic Significance. *Annals of Botany*, 94(1), 167-178. <https://doi.org/10.1093/aob/mch124>
- Polidoros, A. N., Avdikos, I. D., Gleridou, A., Kostoula, S. D., Koura, E., Sakellariou, M. A., Stavridou, E., Gerasopoulos, D., Lagopodi, A., Mavromatis, A., Mylona, P. V., Nianiou-Obeidat, I., & Vlachostergios, D. (2022). Lentil Gene Pool for Breeding. In P. M. Priyadarshan & S. M. Jain (Eds.), *Cash Crops: Genetic Diversity, Erosion, Conservation and Utilization* (pp. 407-475). Springer International Publishing.
- Pouvreau, J.-B., Gaudin, Z., Auger, B., Lechat, M.-M., Gauthier, M., Delavault, P., & Simier, P. (2013). A high-throughput seed germination assay for root parasitic plants. *Plant Methods*, 9(1), 32. <https://doi.org/10.1186/1746-4811-9-32>
- Radosevich, S. R. (1987). Methods to Study Interactions Among Crops and Weeds. *Weed Technology*, 1(3), 190-198. <https://doi.org/10.1017/S0890037X00029523>
- Rock, G., Gerhards, M., Gattung, T., Hecker, C., Udelhoven, T., Schlerf, M., & Werner, W. (2014, 6/2014). Species discrimination using emissive thermal infrared imaging spectroscopy.

- 2014 6th Workshop on Hyperspectral Image and Signal Processing: Evolution in Remote Sensing (WHISPERS),
- Rolland, M., Dupuy, A., Pelleray, A., & Delavault, P. (2016). Molecular Identification of Broomrape Species from a Single Seed by High Resolution Melting Analysis. *Frontiers in Plant Science*, 7.
- Roman, B., Alfaro, C., Torres, A. M., Moreno, M. T., Satovic, Z., Pujadas, A., & Rubiales, D. (2003). Genetic Relationships among Orobanche Species as Revealed by RAPD Analysis. *Annals of Botany*, 91(6), 637-642. <https://doi.org/10.1093/aob/mcg060>
- Rubiales, D., Fernández-Aparicio, M., Vurro, M., & Eizenberg, H. (2018). Editorial: Advances in Parasitic Weed Research. *Frontiers in Plant Science*, 9.
- Rzanny, M., Wittich, H. C., Mäder, P., Deggelmann, A., Boho, D., & Wäldchen, J. (2022). Image-Based Automated Recognition of 31 Poaceae Species: The Most Relevant Perspectives. *Frontiers in Plant Science*, 12, 804140. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.804140>
- Sauerborn, J., Müller-Stöver, D., & Hershenthorn, J. (2007). The role of biological control in managing parasitic weeds. *Crop Protection*, 26(3), 246-254. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2005.12.012>
- Schkoda, R. F., Lund, R., Su, N., & Wagner, J. (2015). A comparison of multivariate signal discrimination techniques. *Journal of Statistical Computation and Simulation*, 85(3), 494-506. <https://doi.org/10.1080/00949655.2013.826219>
- Science.gov. (2023). *parasitic plant orobanche: Topics by Science.gov*. <https://www.science.gov/topicpages/p/parasitic+plant+orobanche>
- Scott, D., & Freckleton, R. P. (2022). Crop diversification and parasitic weed abundance: a global meta-analysis. *Scientific Reports*, 12(1), 19413. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-24047-2>
- Singh, M., Kukal, M. S., Irmak, S., & Jhala, A. J. (2022). Water Use Characteristics of Weeds: A Global Review, Best Practices, and Future Directions. *Frontiers in Plant Science*, 12, 794090. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.794090>
- Słomka, M., Sobalska-Kwapis, M., Wachulec, M., Bartosz, G., & Strapagiel, D. (2017). High Resolution Melting (HRM) for High-Throughput Genotyping—Limitations and Caveats in Practical Case Studies. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(11), 2316. <https://doi.org/10.3390/ijms18112316>
- Smith, Steven M., & Waters, Mark T. (2012). Strigolactones: Destruction-Dependent Perception? *Current Biology*, 22(21), R924-R927. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.09.016>
- Song, M., Li, J., Xiong, C., Liu, H., & Liang, J. (2016). Applying high-resolution melting (HRM) technology to identify five commonly used Artemisia species. *Scientific Reports*, 6(1), 34133. <https://doi.org/10.1038/srep34133>
- Stadelmeyer, E., Heitzer, E., Wolf, P., Dandachi, N., & Orlando, C. (2011). COLD-HRM PCR versus Conventional HRM PCR to Detect the BRAF V600E Mutation. *The Journal of Molecular Diagnostics*, 13(2), 243-244. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2010.09.005>
- Suckling, D. M., & Sforza, R. F. H. (2014). What Magnitude Are Observed Non-Target Impacts from Weed Biocontrol? *PLOS ONE*, 9(1), e84847. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084847>
- Sunku, S., Nageswara Rao, E., Manoj Kumar, G., Tewari, S. P., & Venugopal Rao, S. (2013, 2013-5-29). Discrimination methodologies using femtosecond LIBS and correlation techniques. SPIE Defense, Security, and Sensing,

- Tani, E., Abraham, E., Chachalis, D., & Travlos, I. (2017). Molecular, Genetic and Agronomic Approaches to Utilizing Pulses as Cover Crops and Green Manure into Cropping Systems. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(6), 1202. <https://doi.org/10.3390/ijms18061202>
- Thomas, S. H., Schroeder, J., & Murray, L. W. (2005). The role of weeds in nematode management. *Weed Science*, 53(6), 923-928. <https://doi.org/10.1614/WS-04-053R.1>
- Thorogood, C. J., Rumsey, F. J., & Hiscock, S. J. (2009). Host-specific races in the holoparasitic angiosperm *Orobanche minor*: implications for speciation in parasitic plants. *Annals of Botany*, 103(7), 1005-1014. <https://doi.org/10.1093/aob/mcp034>
- Thorogood, C. J., Rumsey, F. J., & Hiscock, S. J. (2009). Seed viability determination in parasitic broomrapes ( *Orobanche* and *Phelipanche* ) using fluorescein diacetate staining. *Weed Research*, 49(5), 461-468. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2009.00716.x>
- Varanasi, A., Prasad, P. V. V., & Jugulam, M. (2016). Impact of Climate Change Factors on Weeds and Herbicide Efficacy. In *Advances in Agronomy* (Vol. 135, pp. 107-146). Elsevier.
- Vishnuraj, M. R., Ajay, G., Aravind Kumar, N., Renuka, J., Pollumahanti, N., Anusha Chauhan, H., ... & Barbuddhe, S. B. (2023). Duplex real-time PCR assay with high-resolution melt analysis for the detection and quantification of *Listeria* species and *Listeria monocytogenes* in meat products. *Journal of Food Science and Technology*, 60(5), 1541-1550. <https://doi.org/10.1007/s13197-023-05695-2>
- Wassenegger, M. (2001). Advantages and Disadvantages of Using PCR Techniques to Characterize Transgenic Plants. *Molecular Biotechnology*, 17(1), 73-82. <https://doi.org/10.1385/MB:17:1:73>
- Weed Physiology: Volume I: Reproduction and Ecophysiology*. (2018). (S. O. Duke, Ed. First edition ed.). CRC Press.
- Westwood, J. H. (2000). Characterization of the *Orobanche-Arabidopsis* System for Studying Parasite-Host Interactions. *Weed Science*, 48(6), 742-748.
- Westwood, J. H., dePamphilis, C. W., Das, M., Fernández-Aparicio, M., Honaas, L. A., Timko, M. P., Wafula, E. K., Wickett, N. J., & Yoder, J. I. (2012). The Parasitic Plant Genome Project: New Tools for Understanding the Biology of *Orobanche* and *Striga*. *Weed Science*, 60(2), 295-306. <https://doi.org/10.1614/WS-D-11-00113.1>
- Wikipedia. (2023). *Orobanche aegyptiaca*. In *Wikipedia*.
- Wojdacz, T. K., & Dobrovic, A. (2007). Methylation-sensitive high resolution melting (MS-HRM): a new approach for sensitive and high-throughput assessment of methylation. *Nucleic Acids Research*, 35(6), e41-e41. <https://doi.org/10.1093/nar/gkm013>
- Yoder, J. I., & Scholes, J. D. (2010). Host plant resistance to parasitic weeds; recent progress and bottlenecks. *Current Opinion in Plant Biology*, 13(4), 478-484. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2010.04.011>
- Zhang, L., Cao, X., Yao, Z., Dong, X., Chen, M., Xiao, L., & Zhao, S. (2022). Identification of risk areas for *Orobanche cumana* and *Phelipanche aegyptiaca* in China, based on the major host plant and CMIP6 climate scenarios. *Ecology and Evolution*, 12(4), e8824. <https://doi.org/10.1002/ece3.8824>
- Zhang, L., Cao, X., Yao, Z., Dong, X., Chen, M., Xiao, L., & Zhao, S. (2022). Identification of risk areas for *Orobanche cumana* and *Phelipanche aegyptiaca* in China, based on the major host plant and CMIP6 climate scenarios - Zhang - 2022 - Ecology and Evolution - Wiley Online Library. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/ece3.8824>