中国油料作物学报
Chinese Journal of Oil Crop Sciences
2026,48(5):220-229
doi:10.19802/j.issn.1007-9084.2026029

向日葵列当不同生理小种寄生结构形成过程的组织表型特征

刘荣[1],王明东[2],闫宁宁[3],李铁[1],刘瑞[1],杨剑锋[1],张键[1],曹庆芹[2],肖婷婷[2*],赵君[1*]
(1.内蒙古农业大学园艺与植物保护学院,内蒙古 呼和浩特,010019;2.北京农学院植物科学技术学院园艺系,北京,102206;
3.塔里木大学农学院,新疆 阿拉尔,843300)

摘要:为探究列当(*Orobanche cumana*)不同生理小种在寄生向日葵过程中木质部桥的形成差异是否决定其寄生效率和发育时序,本研究以向日葵品种LD5009为寄主,选取向日葵列当的D、E、G小种及寄生番茄的G小种为材料,结合振荡切片与双荧光染色技术,系统比较了不同生理小种在吸器形成、木质部桥发育及瘤结形成等关键阶段的组织学特征,揭示了木质部桥结构的复杂度与列当寄生能力之间的相关性。列当不同生理小种接种后的寄生瘤结的统计结果表明:相同寄生条件下,列当不同生理小种对向日葵根系的寄生能力的排序表现为G小种的寄生能力最强,寄生在番茄植株的G小种与D小种寄生能力次之,而E小种的寄生能力表现为最弱。按照列当寄生的不同阶段,在组织学水平比较了列当不同生理小种侵染后建立寄生结构过程差异,结果表明,接触期列当不同生理小种萌发形成的芽管与向日葵根系开始附着,附着后寄主根系结构无显著差异;吸器形成期,列当G小种和寄生在番茄植株上的向日葵G小种形成了高度发达的木质部桥结构,木质部桥组织在寄生组织中的占比远高于D、E小种。列当G小种和寄生在番茄植株上的G小种已经进入瘤结期,而D小种和E小种还处于寄生吸器的形成期。供试列当不同生理小种和寄生在番茄植株上的G小种从种子萌发形成芽管接触向日葵根系开始,23 d后均进入列当的出茎期。但是,寄生在番茄植株上的G小种的出茎最早,其次为列当G小种和D小种,而列当E小种的出茎最晚。本研究的结果还表明,不同列当生理小种在侵染向日葵根系时寄生组织的形态变化基本一致,但列当不同生理小种寄生时在向日葵根系形成的维管束桥的连接形态有一定的差别,主要表现在D、E小种的木质部桥与向日葵根系木质部细胞的连接结构的复杂度低,空间延伸范围窄,组织连通程度有限;而G小种及寄生在番茄植株上的G小种的木质部桥连接结构完整、空间延伸宽泛、组织连通性更充分,其连接形态与列当茎的形成和生长速度直接相关。

关键词:向日葵列当;生理小种;寄生能力;木质部桥形成
中图分类号:S565.5;S451;S453　　**文献标识码:**A　　**文章编号:**1007-9084(2026)05-0220-10

Histological phenotypic characteristics during parasitic structure development of different *Orobanche cumana* races

LIU Rong[1], WANG Ming-dong[2], YAN Ning-ning[3], LI Tie[1], LIU Rui[1], YANG Jian-feng[1], ZHANG Jian[1], CAO Qing-qin[2], XIAO Ting-ting[2*], ZHAO Jun[1*]
(1. *College of Horticulture and Plant Protection, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot* 010019, *China*; 2. *Department of Horticulture, School of Plant Science and Technology, Beijing University of Agriculture, Beijing* 102206, *China*; 3. *College of Agriculture, Tarim University, Alaer* 843300, *China*)

Abstract: To investigate whether the differences in xylem bridge formation among different physiological races of *Orobanche cumana* during sunflower parasitism determine their parasitic efficiency and developmental timing, this study used sunflower variety LD5009 as the host and selected races D, E, G (originating from sunflower), and the tomato-adapted race G as materials. By combining vibratome sectioning with dual fluorescence staining technol-

收稿日期:2026-01-29
基金项目:内蒙古自治区高等学校创新团队发展计划(NMGIRT2320);国家自然科学基金项目(32260514);国家特色油料产业技术体系(CARS-14);北京农学院2024分类发展定额项目-人才引进启动经费(5066516006/005)
作者简介:刘荣(1996-),女,硕士研究生,从事列当寄生向日葵研究,E-mail: 2022202260020@emails.imau.edu.cn
* 通讯作者:赵君(1969-),女,教授,博士,主要从事向日葵和马铃薯土传病害研究,E-mail: Zhaojun02@hotmail.com;
肖婷婷(1984-),女,教授,博士,主要从事核果类果树根系抗逆发育的分子机理挖掘和应用研究,E-mail: tingting.xiao@bua.edu.cn

ogy, we systematically compared the histological characteristics of different races at key parasitic stages, including haustorium formation, xylem bridge development, and tubercle formation. This revealed a correlation between structural complexity of xylem bridge and parasitic ability. Statistical results on parasitic tubercles following inoculation with different races showed that under the same parasitic conditions, the order of parasitic ability on sunflower roots was as follows: race G (originating from sunflower) exhibited the strongest parasitic ability, followed by the tomato adapted race G and race D, while race E was the weakest. Histological comparisons across different parasitic stages revealed differences in the process of establishing parasitic structures after infection by different races. The results indicated that at the attachment phase, germ tubes formed by different physiological races began attaching to sunflower roots, with no significant differences observed in host root structure post attachment. During the haustorium formation phase, race G (from sunflower) and the tomato adapted race G developed highly elaborate xylem bridge structures, whose proportion within the parasitic tissue was far greater than that of the corresponding structures formed by races D and E. When race G (from sunflower) and the tomato adapted race G had entered the tubercle phase, races D and E were still in the parasitic haustorium formation phase. All tested *O. cumana* races and the tomato adapted race G entered the stem emergence phase 23 d after seed germination and initial contact of the germ tube with sunflower roots. However, the tomato adapted race G exhibited the earliest stem emergence, followed by race G (from sunflower) and race D, while race E emerged latest. The above findings further revealed that the morphological changes of parasitic tissues during sunflower root infection were largely consistent among different *O. cumana* races, but the connection morphology of the vascular bridges formed in roots differed among races. Specifically, the xylem bridges of races D and E exhibited lower structural complexity in their connections to sunflower root xylem cells, narrower spatial extension, and limited tissue connectivity. In contrast, the xylem bridges of race G (from sunflower) and the tomato adapted race G were complete, exhibited broad spatial extension, and demonstrated more sufficient tissue connectivity. Their connection morphology was directly correlated with the subsequent formation and growth rate of *Orobanche* stem.

Key words: *Orobanche cumana*; physiological races; parasitic capacity; xylem bridge formation

列当属(*Orobanche* spp.)是一类极具破坏性的根寄生植物,寄主范围广泛,涵盖向日葵、番茄、油菜、胡萝卜、蚕豆、烟草、大麻、茄子、马铃薯、花生、等多种作物[1-5],对亚、非、欧三大洲多数国家的农业生产造成巨大损失[6]。列当科寄生植物的种子在感知寄主根系分泌物(如独脚金内酯)后打破休眠并萌发[7]。萌发后,幼苗在寄主根系分泌的吸器诱导因子(如DMBQ、SyA等)刺激下形成吸器,进而与寄主建立寄生关系[6]。通过吸器,寄生植物从寄主那里掠夺水分与养分,导致寄主生长迟缓、产量下降[7,8]。列当的种子非常小,易传播且存活时间长,列当还极易分化出不同的生理小种,以及列当的寄主范围比较广,如小列当(*O. crenata*)有非专性寄生特点,可跨豆科、茄科、伞形科等多科侵染作物[9],从而加剧了列当的危害范围和防控难度,从而使其成为全球向日葵产业发展的瓶颈。

向日葵是受列当(*O. cumana*)危害最为严重的作物之一,全球每年由于列当寄生造成的经济损失超过20亿欧元。个别地区向日葵列当侵染率高达100%,导致向日葵的绝收[10]。由于向日葵列当是专性寄生,因此极易产生新的生理小种。向日葵列当生理小种划分的核心依据是其在国际通用鉴别寄主上的致病力差异。前人的研究证实,列当生理小种存在显著致病力分化:同一地区内,小种级别与致病力呈正相关;不同地区间,同级别小种的致病力呈现出明显的差异。如本实验室的研究结果表明,来自中国与摩尔多瓦的列当的F、G小种,其致病力存在显著的分化[11,12]。由于列当不同生理小种可依次突破向日葵的*Or1*至*Or7*及*OrDeb2*等抗列当基因,因此,研究者便按其毒力递增顺序将列当的生理小种依次命名为A至H小种[12];部分小种还附加有区域性标识以区分同一小种类型在不同的地理区域导致的致病力差异[12]。此外,向日葵列当对番茄的寄生也已经被证实[13],这为后续向日葵轮作作物的选择提供了一定的理论依据。

基于形态学观察,列当寄生向日葵的基本过程可概括为:向日葵根系分泌的独脚金内酯类物质诱导土壤中休眠的列当种子萌发;萌发后的列当种子

尖端膨大形成芽管,芽管接触并附着于向日葵根系的表面;随后侵入寄主根系并形成功能性的吸器结构;列当通过吸器获取足够的营养进而发育为瘤结,最终从瘤结发育为茎,茎出土后便进入开花期,然后结实并产生新的列当种子,从而完成列当的整个侵染循环过程。列当的寄生过程可从组织、细胞及分子水平分解为精密且连续的步骤:列当的种子萌发与寄主根系的识别由寄主根系分泌的独脚金内酯等化学信号所介导[14-16];列当的芽管通过分泌细胞壁降解酶破坏寄主根系的结构,并借助致病效应蛋白抑制寄主防御体系,实现对寄主的侵染[17]。侵染后,列当进入根系的维管束需要依赖细胞壁修饰酶的作用,实现其发育结构与寄主维管束的成功连接,同时,为寄主根系养分的转运奠定了结构性基础。列当吸器的建立需要依赖寄主分泌的细胞分裂素作为关键的诱导信号,促进了列当吸器发育与从寄主根系摄取养分[18]。不同的寄生性植物和寄主的微观互作的异质性是寄生宏观模式多样性的根源。

相关文献查阅的结果表明,目前关于列当不同生理小种的组织学比较研究较为有限。本课题组前期已有的研究结果表明,列当的G小种的致病力最强,D、E小种相对较弱[12],但是有关向日葵列当不同生理小种(D、E、G小种)在同一寄主背景下侵染过程以及相同小种的跨寄主侵染过程的系统研究尚属首次。因此,全面评估列当不同生理小种寄生过程的细胞组织学特征,解析列当不同生理小种与向日葵根系互作的细胞组织学差异,将为后续抗列当育种奠定基础。

基于前期致病力差异的研究结果,我们提出如下科学假设:列当不同生理小种在寄生向日葵过程中,木质部桥的发育程度与其寄生效率和出茎时序密切相关。为验证这一假设,本研究选取实验室单株纯化的列当D、E、G小种及寄生在番茄植株上的向日葵列当G小种作为接种材料,以向日葵感病品种LD5009为寄主材料,通过比较列当不同生理小种在寄生向日葵过程中的寄生效率、组织学水平上的互作及寄生关系建立后列当茎的生长速度等方面的特征,揭示列当不同生理小种对向日葵根系寄生效率的差异,以及寄生过程中关键阶段的细胞学特征。为深入解析寄主和寄生植物互作的微观机制及建立向日葵抗性种质筛选的标准化组织细胞学技术奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试的寄主材料:向日葵品种LD5009购自凯福瑞种子公司。

由本实验室提供的向日葵列当种子经过鉴别寄主鉴定,生理小种分别为D(BM1-D)、E(HB6-E)和G小种(NMG42)。基于致病力的梯度差异为G>D>E[12],用以系统比较不同生理小种在寄生结构形成过程中的组织学特征。同时,选用了寄生在番茄上的向日葵G小种(NMWYG),以比较同一小种(G小种)在不同寄主来源下的组织学差异,为解析列当的寄主适应性机制提供线索。供试接种列当的具体信息见表1。

1.2 试剂与仪器

实验所用试剂包括蒸馏水、75%乙醇、4%多聚甲醛(PFA,固定液)、0.6%(*m/V*)低熔点琼脂糖(购自生工生物工程股份有限公司)、0.1%(*m/V*)直接黄96、0.2%碱性品红,1倍磷酸盐缓冲液(PBS)均为分析纯级别。

主要仪器包括徕卡振荡切片机(Leica,德国)、激光共聚焦荧光显微镜(Leica,德国)、体式荧光显微镜(Leica,德国)、数显恒温水浴锅(DK-8D)、光照

表1 供试接种列当种子的信息

Table 1 Information regarding the tested *Orobanche* inocula

样本编号 Sample code	采集地点 Location of sample	纬度 Latitude	经度 Longitude	列当类型 Race type
BM1-D	内蒙古巴彦淖尔市磴口县 Dengkou, Bayannur, Inner Mongolia	40°33′N	107°01′E	D
HB6-E	河北省张家口市阳原县 Yangyuan, Zhangjiakou City, Heibei Province	40°01′N	114°00′E	E
NMG42	内蒙古呼和浩特市武川县 Wuchuang, Huhhot, Inner Mongolia	40°09′N	111°36′E	G
NMWYG	内蒙古巴彦淖尔市五原县 Wuyuan, Bayannur, Inner Mongoilia	41°09′N	108°27′E	G

培养箱(BluePard)等。

1.3 方法

1.3.1 向日葵幼苗的准备 向日葵种子经75%乙醇表面消毒5 min,无菌水冲洗两次后,置于铺有湿润脱脂棉的培养皿中,覆盖湿纱布,于25℃培养箱中催芽。培养期间每天补水以保持湿润。

1.3.2 列当种子预处理 取实验室存留适量的种子置于2 mL离心管中,加入1 mL蒸馏水,振荡洗涤,12 000 r/min离心10 min,弃上清。向沉淀中加入1 mL 75%乙醇,迅速混合后倾倒在滤纸上过滤,并用蒸馏水冲洗数次后将种子均匀平铺于灭菌的滤纸上自然干燥,用毛笔收集,上述操作重复3次处理后用毛笔收集,置于1.5 mL离心管中备用[12]

1.3.3 列当的接种体系 采用实验室建立的列当培养皿滤纸寄生体系进行人工接种[19],具体的操作步骤如下:在正方形塑料培养皿内(12 cm×12 cm),铺设厚度约3 cm的脱脂棉,称取4 mg列当种子作为预处理的列当种子,将其均匀平铺于滤纸中央(约覆盖滤纸1/3至2/3宽度的区域),用自来水润湿至无积水状态。随后,在脱脂棉上覆盖一层滤纸。将已催芽的向日葵幼苗(每皿2株)移植其中,使其根系平铺于湿润的滤纸上,并用少量湿润的脱脂棉轻覆固定。调整向日葵幼苗的位置,使幼苗根系与列当种子充分接触,子叶置于皿外;用锡箔纸包裹培养皿,垂直放入光照培养箱中培养,培养条件为25℃、16 h光照/8 h黑暗光周期,培养期间每周随机轮换培养皿在光照培养箱内的位置,以消除光照不均的影响[19-21]。在列当侵染的不同阶段进行向日葵根系的取样制片。

1.3.4 列当寄生不同阶段表型图像采集及组织切片的制备 用体式荧光显微镜对列当寄生的四个发育阶段进行表型采集。取列当侵染的3个关键阶段的向日葵根系组织样品,包括接触期(列当芽管接触寄主根系的第1 d)、吸器形成期(芽管接触根系后的第7 d)以及小瘤结形成期(芽管接触根系后的第13 d)。每个时期均采集包含寄主和列当寄生结构的长度1~2 cm向日葵根系段制备用于切片的组织。

将根系组织置于含有1 mL PFA固定液的1.5 mL离心管中,4℃下以0.09 MPa真空度渗透30分钟,确保固定液完全穿透;将固定后的组织段包埋于0.6%(*m/V*)低熔点琼脂糖中;使用莱卡振荡切片机(Leica VT1200 S)进行切片参照Xiao的方法[22],切片厚度为80~100 μm,以保持组织结构完整性。

1.3.5 共聚焦荧光染色与成像 将切片用0.1%(*m/V*)直接黄96染色[23]6 h;采用倒置共聚焦激光扫描显微镜(Leica DMI8或Leica STELLARIS)成像。成像参数为:激发光488 nm、激光功率9%、PMT增益600、针孔直径1 Airy Unit(AU)、发射光检测范围500-550 nm。用磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤3次后,接着用0.2%碱性品红染色[22,24]3 h;采用同一共聚焦激光扫描显微镜成像。成像参数为:激发光561 nm、激光功率2%、PMT增益700、针孔直径1 AU、发射光检测范围600~650 nm。

1.4 数据收集与分析

从列当种子接种后的第10 d,统计培养皿中列当种子萌发率。针对每个接种的列当生理小种,设置了5个重复培养皿。在每个培养皿中随机观察100粒列当种子,以萌发种子数占观察种子总数的百分比计算列当种子的萌发率。

在接种后第30 d,统计向日葵根系上寄生的列当瘤结数量。每个列当小种共统计10株向日葵,这10株向日葵来源于5个独立培养皿(每皿2株)。同一培养皿中的2株向日葵根系在空间上相互分离,侵染过程独立发生,独立记录瘤结计数结果,因此可视为独立观察单元(n=10)进行统计分析,并计算单株向日葵根系寄生瘤结数量的平均值。

所有实验数据均使用GraphPad Prism 9软件(美国GraphPad Software公司)和IBM SSPA Statistics 24进行整理分析并生成图表。

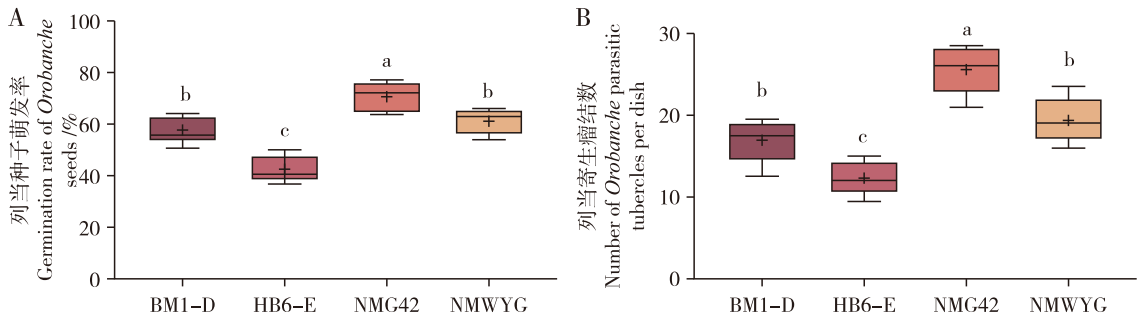
2 结果与分析

2.1 不同生理小种接种后列当种子的萌发率和寄生瘤结数量的比较

列当的不同生理小种在向日葵根系上的萌发率和寄生瘤结数量统计结果表明,在相同的寄生条件下,4个供试的列当不同的生理小种中,从向日葵上采集的G小种(NMG42),种子萌发率和每株向日葵根系上寄生瘤结数的平均值为最高,分别为70.6%和25.6个/株;其次为D小种(BM1-D),分别为57.8%和16.9个/株;E小种(HB6-E)的萌发率和寄生瘤结数最低,分别为42.8%和12.3个/株。寄生在番茄植株上的向日葵G小种(NMWYG)的萌发率和寄生瘤结数分别为61.2%和19.4个/株,仅次于从向日葵上采集的G小种,但是和D小种没有显著差异(图1)。

2.2 列当寄生不同阶段的显微观察

运用振荡切片技术、激光共聚焦显微镜观察及双荧光染色等技术,对列当寄生的不同阶段进行了



注:A:不同小种类型的向日葵列当在LD5009上的萌发率;B:不同列当接种材料在向日葵LD5009上的瘤结数。数据以均值±标准差表示(萌发率:n = 5;瘤结数:n = 10),不同小写字母表示在$P < 0.05$水平上存在显著性差异

Note: A: ermination rates of different race types of *O. cumana* on LD5009; B: Tubercle numbers of different *Orobanche* inoculums on sunflower LD5009. Caption: Data are presented as mean ± SD (n = 5 for germination rate; n = 10 for tubercle number). Different lowercase letters indicate significant differences at $P < 0.05$

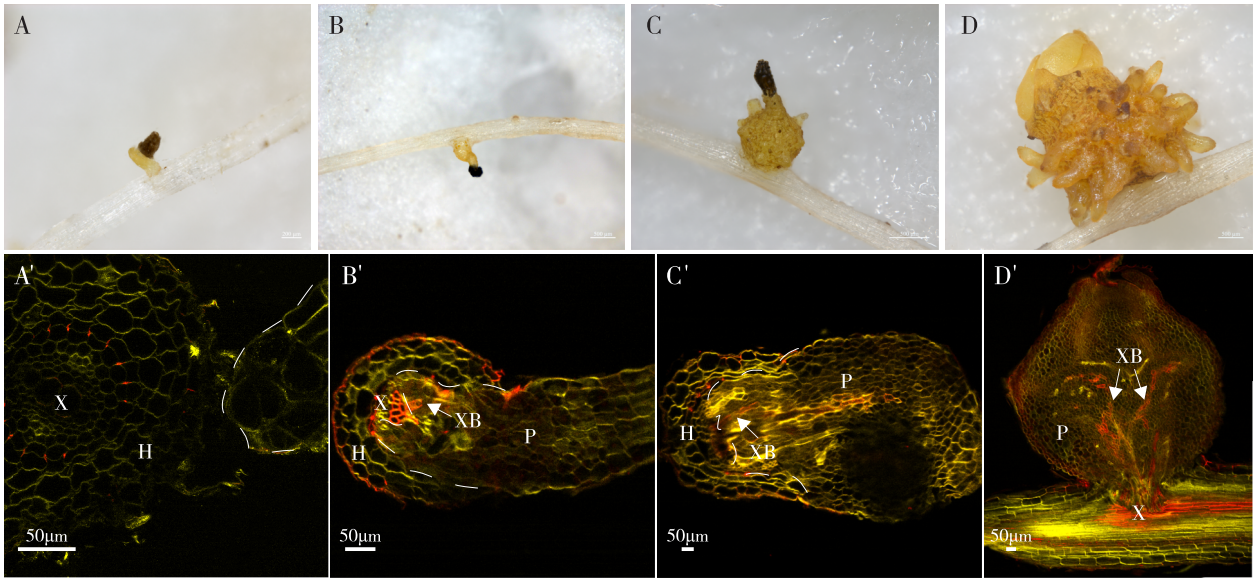
图1 不同种类的列当接种后种子萌发率和向日葵根系寄生瘤结数量的比较

Fig. 1 Comparison of seed germination rates and parasitic tubercle numbers among different *Orobanche* species after root inoculation

显微观察,结果表明,列当种子萌发形成的芽管和寄主根系接触1 d后,芽管可附着于寄主的根系表面(接触期,图2A和A′);芽管和寄主根系接触7 d后,芽管组织突破根系表皮细胞后,不断向寄生根系内进行扩展,并与寄主维管束的导管和韧皮部形成木质部桥,此时,开始形成吸器结构(吸器形成期,图2B和B′);芽管和寄主根系接触13 d后,通过吸器开始从寄主根系吸取养分供列当生长所需;吸器细胞获得寄主营养后逐步分化形成瘤结(瘤结期,图2C和C′);芽管和寄主根系接触23 d后,瘤结不断发育、木质部桥结构成熟,且细胞壁增厚、导管扩大,茎端原基开始出现,然后,茎端原基不断发育形成肉眼可见幼嫩的茎(幼茎期,图2D和D′)。

2.3 列当不同小种接种后接触期细胞组织特征观察

列当种子萌发形成的芽管和寄主根系接触1 d后,列当不同生理小种芽管都能够与寄主根系进行附着,但是接触面的细胞壁结构(黄色荧光)未呈现明显的组织水平上的差异。此时,寄主根系的木质



注:A-D':黄色为使用直接黄进行细胞壁染色,红色为碱性品红进行木质素染色。下同。A-A':接触期;B-B':吸器形成期;C-C':瘤结期;D-D':幼茎期。X:木质部;XB:木质部桥;H:寄主植物;P:寄生植物;下同

Note: Yellow color is cell wall staining by Direct Yellow; Red is lignin staining by Basic Fuchsin; same as below. A-A': attachment phase; B-B': haustorium formation phase; C-C': tubercle phase; D-D': juvenile stem phase. X: xylem; XB: xylem bridge; H: host plant; P: parasitic plant; Same as below

图2 组织学水平上显微观察向日葵列当的寄生过程

Fig. 2 Histological analysis of the parasitic process of *Orobanche cumana* on sunflower

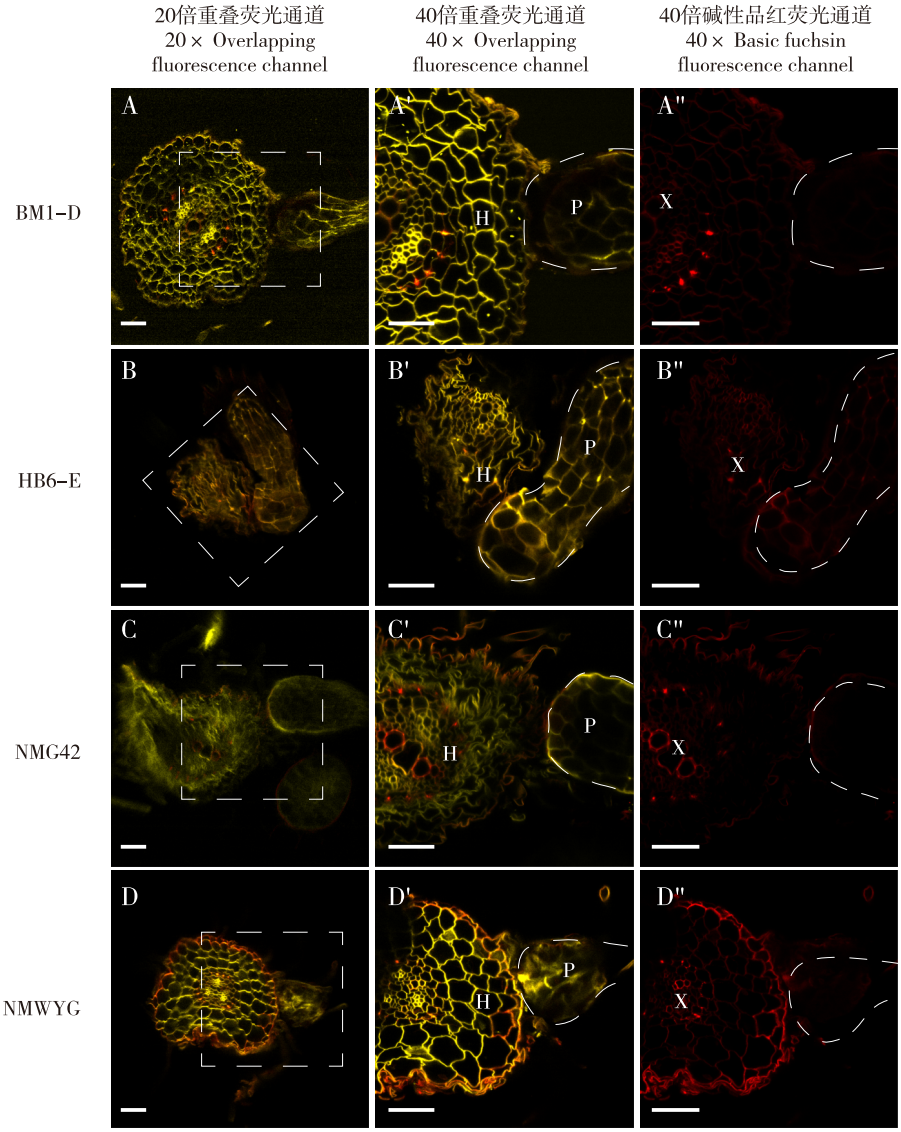
部的染色结果(红色荧光)表明,不同接种处理条件下向日葵根系木质部的结构及染色强度均表现一致,未观察到木质部结构异常的现象(图3)。

2.4 列当不同小种接种后吸器形成期细胞组织特征分析

列当芽管和寄主根系接触7 d后开始形成吸器。此时,列当与寄主根系维管束之间均可见木质部桥(XB)的形成。其中,向日葵的G小种和寄生在番茄植株上向日葵G小种对应的视野(图4C″和4D″)中木质部桥的分支数量较多,且其与向日葵根系木质部(X)的连接区域面积也增大、木质部细胞明显表现为增大增厚。而相同时间点,D小种和E小种接种后对应的视野(图4A″和B″)中观察到木质部桥的分支数量较少,且其与向日葵根系木质部的连接所覆盖范围相对G小种更小。

2.5 列当不同小种接种后瘤结发育期细胞组织特征分析

列当芽管和寄主根系接触13 d后,吸器形成,寄生关系建立,此时列当开始发育形成瘤结。通过对不同生理小种的列当接种后寄生组织的显微观察发现,D小种(图5A和A″)、E小种(图5B和B″)的吸器组织及附属组织(H)覆盖的面积相对较小,

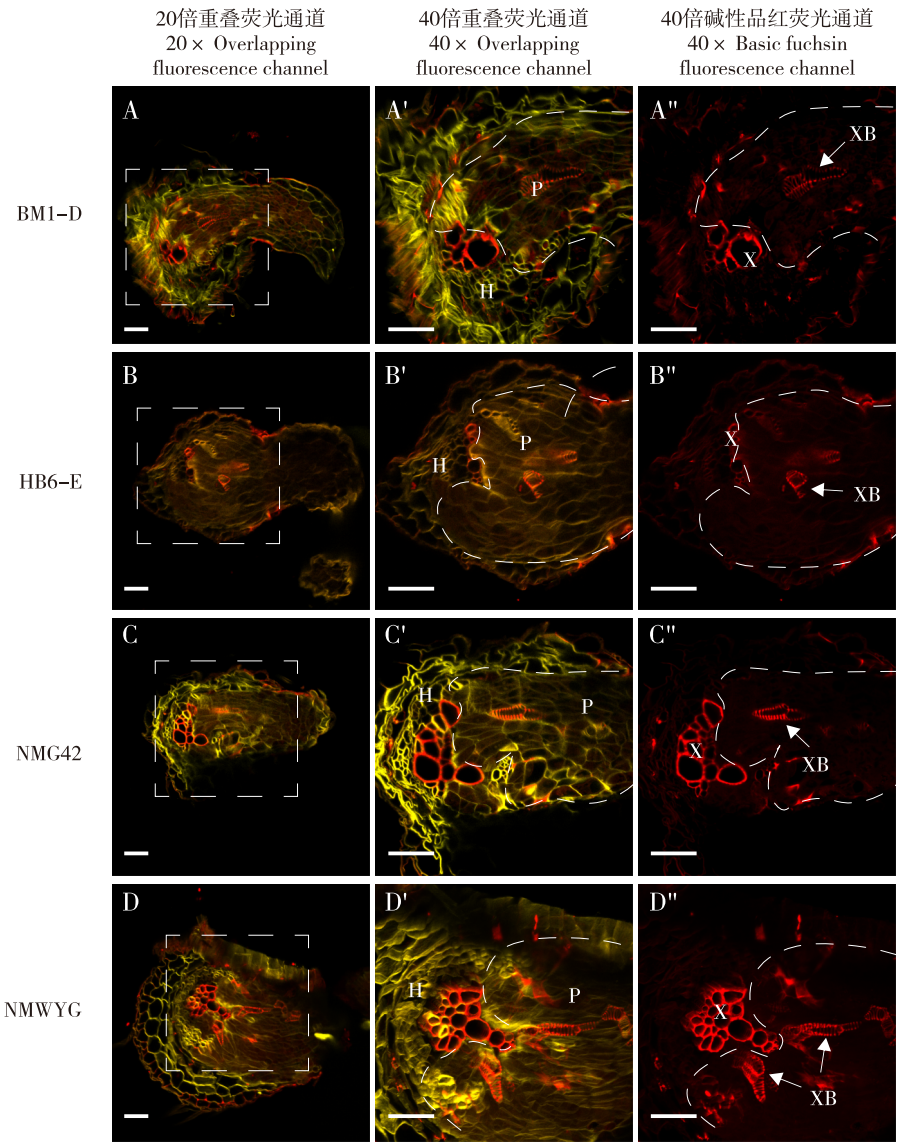


注:A-A″:列当D小种(BM1-D)寄生向日葵的组织;B-B″:列当E小种(HB6-E)寄生向日葵的组织;C-C″:寄生在向日葵植株上的列当G小种(NMG42)寄生向日葵的组织;D-D″:寄生在番茄植株上的向日葵列当G小种(NMWYG)寄生向日葵的组织。所有比例尺为50 μm

Note: Different *Orobanche* types are in diferent capital letters. A-A″: Race D (BM1-D); B-B″: Race E (HB6-E); C-C″: sunflower tissue parasitized by *O. cumana* race G (NMG42); D-D″: parasitic tissue from tomato adapted *O. cumana* race G (NMWYG). Scale bar 50 μm

图3 接触期的组织切片与染色法观察不同列当小种在向日葵根系组织中的变化

Fig. 3 Histological sectioning and staining analysis of sunflower root tissue changes during attachment phase induced by different *Orobanche* types



注:A-A″:列当D小种(BM1-D)寄生向日葵的组织;B-B″:列当E小种(HB6-E)寄生向日葵的组织;C-C″:寄生在向日葵植株上的列当G小种(NMG42)寄生向日葵的组织;D-D″:寄生在番茄植株上的向日葵列当G小种(NMWYG)寄生向日葵的组织。所有比例尺为50 μm

Note: Different *Orobanche* types are in diferent capital letters. A-A″: Race D (BM1-D); B-B″: Race E (HB6-E); C-C″: sunflower tissue parasitized by *O. cumana* race G (NMG42); D-D″: parasitic tissue from tomato adapted *O. cumana* race G (NMWYG). Scale bar 50 μm

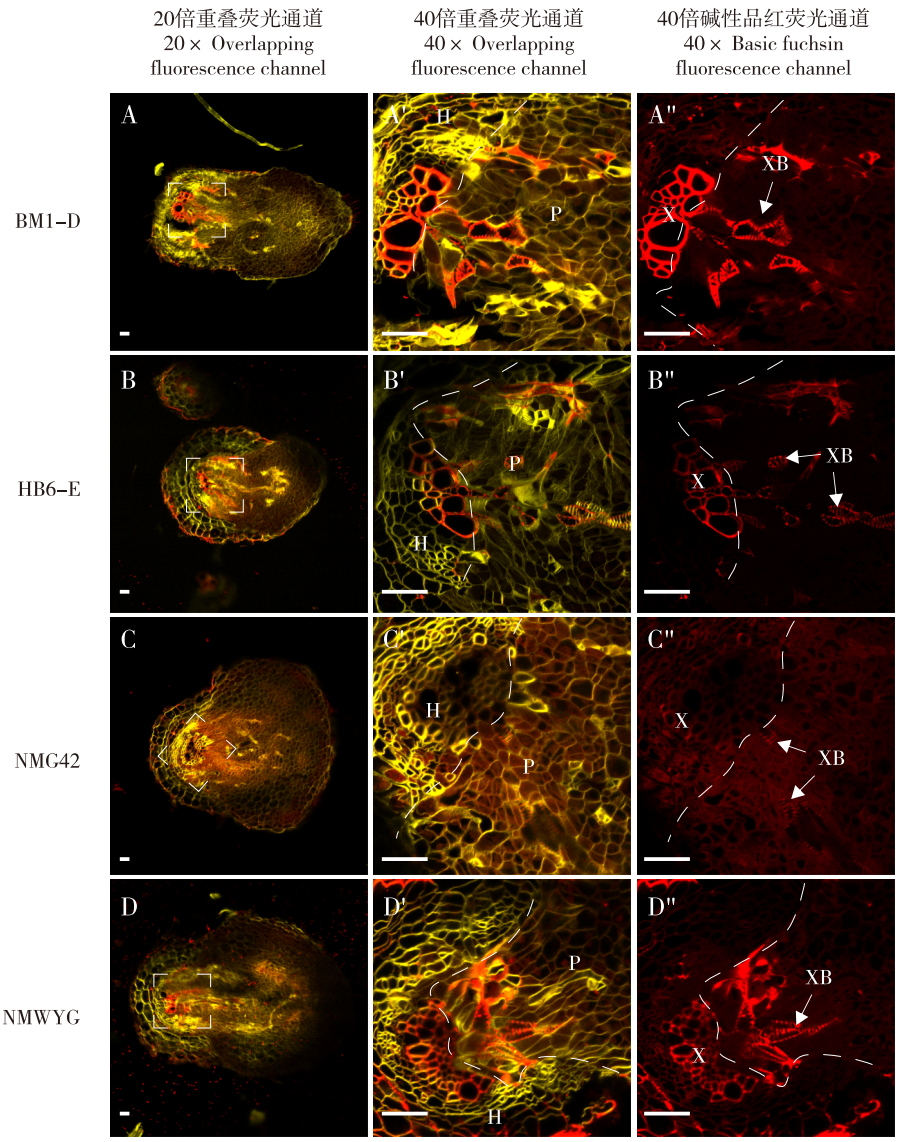
图4 吸器形成期组织切片与染色法观察不同列当小种在向日葵根系组织中的变化

Fig. 4 Histological analysis of sunflower root tissue alterations during haustorium formation phase induced by different *Orobanche* types

与向日葵根系的结合界面(P)似乎仍然处于吸器建立时期的结构、空间覆盖范围相对较小;同时,其木质部桥(XB)与向日葵根系的木质部细胞(X)的连接结构复杂度相对更低一些,空间延伸范围更窄,组织连通程度相对有限。而接种G小种(图5C和C″)和寄生在番茄植株上向日葵G小种(图5D和D″)后的吸器组织的细胞(H)体积变得更为饱满,与向日葵根系组织的结合界面(P)的融合区域范围变得更广泛,且其木质部桥(XB)与寄主根系木质部细胞的(X)的连接结构完整,空间延伸范围更宽泛,呈现出更充分的组织连通性。

2.6 列当不同小种接种后出茎时序的比较分析

列当种子芽管接触寄主根系的第23 d后,接种G小种的向日葵根系上肉眼可见瘤结的形成,同时,瘤结的体积开始增大,质地饱满,逐渐发育为茎端原基的结构(图6C);而此时接种D小种瘤结的体积也开始增大,但是仍然存留有瘤结分化的初期结构(图6A);接种E小种后的瘤结也呈现膨大状态,但是未有明显的茎端原基结构的形成(图6B)。而此时,寄生在番茄植株上的向日葵G小种的瘤结体积



注:A-A'':列当D小种(BM1-D)寄生向日葵的组织;B-B'':列当E小种(HB6-E)寄生向日葵的组织;C-C'':寄生在向日葵植株上的列当G小种(NMG42)寄生向日葵的组织;D-D'':寄生在番茄植株上的向日葵列当G小种(NMWYG)寄生向日葵的组织。所有比例尺为50 μm

Note: Different *Orobanche* types are in diferent capital letters. A-A'': Race D (BM1-D); B-B'': Race E (HB6-E); C-C'': sunflower tissue parasitized by *O. cumana* race G (NMG42); D-D'': parasitic tissue from tomato adapted *O. cumana* race G (NMWYG). Scale bar 50 μm

图5 瘤结期组织切片与染色法观察不同列当小种在向日葵根系组织中的变化

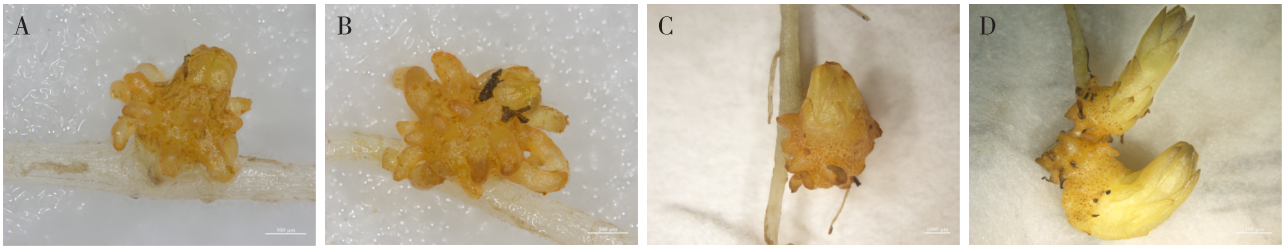
Fig. 5 Histological analysis of sunflower root tissue alterations during tubercle phase induced by different *Orobanche* types

变大、质地饱满,瘤结处组织开始向外延伸,茎端原基发育形成了肉眼可见的幼嫩的茎(图6D)。

3 讨论与结论

本研究针对组织学水平上缺乏对向日葵列当不同生理小种的寄生过程简析的现状,以感列当向日葵品种LD5009为寄主,在组织学水平上对列当不同小种的寄生过程进行了比较研究,确定了列当不同小种的寄生效率存在一定的差异;同时,在组织学水平明确了向日葵列当D/E/G小种及和寄生在番茄植株上的向日葵G小种的寄生能力的差异、寄生不同阶段寄主根系维管束细胞以及列当寄生组织的分化特征,为抗列当育种提供一种育种材料抗性水平的评价体系。

本研究在组织学水平上证实,列当不同生理小种的寄生能力差异与其木质部桥的发育程度密切相关。G小种在吸器形成期即建立起高度分支、广泛连接的木质部桥网络,而D/E小种木质部桥发育受限,且与寄主维管连通性不足(图4和图5)。这一结果为前期报道的G小种致病力最强、D/E小种较弱的表型差异提供了组织结构层面的解释[11,12]。木质部桥形成是根寄生植物成功寄生的关键事件,依



注:列当不同品种的出茎期表型图:A:列当D小种(BM1-D);B:列当E小种(HB6-E);C:寄生在向日葵植株上的列当G小种(NMG42);D:寄生在番茄植株上的向日葵列当G小种(NMWYG)

Note: Stem emergence in different *Orobanche* types: A: *O. cumana* race D (isolate BM1-D); B: *O. cumana* race E (isolate HB6-E); C: sunflower tissue parasitized by *O. cumana* race G (isolate NMG42); D: parasitic tissue from tomato adapted *O. cumana* race G (isolate NMWYG)

图6 接种不同类型列当小种后观察同一时间节点幼茎的形成

Fig. 6 Monitoring of juvenile stem formation at the same time point following inoculation with different *Orobanche* types

赖于生长素极性运输和PIN蛋白的极性定位,这一机制在独脚金属(*Striga*)中已有详细研究[20,22],向日葵列当的木质部桥同样经历"侵入细胞分化→木质部细胞特化→与寄主维管连接"的保守发育程序(图2)。然而,不同生理小种间木质部桥发育程度的差异揭示了其调控机制的可塑性,在兼性寄生植物*Phtheirospermum japonicum*寄生过程中,吸器形成需要局部生长素合成[25];列当小种间的分化可能源于生长素信号响应强度或细胞壁修饰酶活性的差异。这表明,寄主定向选择压力不仅作用于吸器诱导阶段,也可能筛选出木质部桥发育更高效的群体,从而优化资源获取效率。从番茄上采集的向日葵G小种(NMWYG)出茎更早、木质部桥连接结构更完整(图4D″、5D″、6D),进一步印证了寄主适应可驱动维管连接效率的优化。这一现象警示,列当寄主范围广泛,可分别侵染向日葵(菊科)和番茄(茄科)等重要作物,具有较高的传播风险和危害潜力。

基于本研究结果,列当防控可采取以下针对性策略,由于G小种木质部桥发育早,在侵入后7~14 d即可建立完整的养分转运通道(图4C″和5C″)。因此,应在该时期对向日葵根系进行抽样检查,一旦发现早期木质部桥结构,应与非寄主作物(如小麦、大麦)轮作,以防止土壤种子库累积与交叉侵染[1,2];同时,要严格避免向日葵与番茄、油菜、蚕豆[1,4]等列当易感作物进行轮作,防止土壤中列当种子库的累积与交叉侵染;特别是鉴于从番茄上采集的G小种(NMWYG)木质部桥连接更完整、出茎更早(图4D″、5D″、6D),提示跨寄主适应群体传播风险更高,在曾发生列当危害的地块需实行至少3年非寄主作物轮作,以切断其寄主链条。此外,木质部桥形成依赖于细胞壁修饰和生长素信号通路,后续可针对这些关键节点筛选抑制其形成的小分子化合物,在吸器形成期喷施以阻断寄生关系建立。

参考文献:

[1] Baghyalakshmi K, Sarala K, Prabhakararao K, et al. *Orobanche menace* in crop plants: Host resistance as a potential tool to control[J]. J Pharmacogn Phytochem, 2019, 2: 93-102.

[2] Das T K, Ghosh S, Gupta K, et al. The weed *Orobanche*: species distribution, diversity, biology and management[J]. J Res Weed Sci, 2020, 2(4): 162-180.

[3] Hu L Y, Wang J S, Yang C, et al. The effect of virulence and resistance mechanisms on the interactions between parasitic plants and their hosts[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(23): 9013. DOI:10.3390/ijms21239013.

[4] Azab A. Orobanchaceae plants of Israel and Palestine. Chemical and medicinal treasures[J]. Eur Chem Bull, 2021, 10(1): 1. DOI:10.17628/ecb.2021.10.1-12.

[5] Bürger M, Soco C F, García M A, et al. Three *Orobanche* genomes reveal distinct molecular repertoires in species with different host ranges[J]. Plant Cell Physiol, 2025: pcaf047. DOI:10.1093/pcp/pcaf047.

[6] Cvejić S, Radanović A, Dedić B, et al. Genetic and genomic tools in sunflower breeding for broomrape resistance[J]. Genes, 2020, 11(2): 152. DOI: 10.3390/genes11020152.

[7] Miura H, Ochi R, Nishiwaki H, et al. Germination stimulant activity of isothiocyanates on *Phelipanche* spp[J]. Plants, 2022, 11(5): 606. DOI:10.3390/plants11050606.

[8] Zhang X. Effects of nutrient conditions on haustorium formation on parasitic plants in Orobanchaceae[D]. Nara: Nara Institute of Science and Technology, 2023.

[9] Bendaoud F, Kim G, Larose H, et al. GBS analysis of *Orobanche crenata* populations in Algeria supports local adaptation and host-specialization[J]. Authorea Pre-

prints, 2021.

[10] Barea G, García-Carneros A B, Baltazar L, et al. First report of *Orobanche cumana* Wallr. (sunflower broomrape) in South America[J]. Plant Dis, 2025, 109(11): 2448. DOI:10.1094/pdis-05-25-1012-pdn.

[11] Fernández-Melero B, Martín-Sanz A, del Moral L, et al. A novel sunflower broomrape race with unusual virulence potentially caused by a mutation[J]. Front Plant Sci, 2023, 14: 1236511. DOI:10.3389/fpls.2023.1236511.

[12] 张宇宽. 中国与东欧地区向日葵列当遗传多样性分析及生理小种鉴定[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2024.

[13] Brun G, Braem L, Thoiron S, et al. Seed germination in parasitic plants: what insights can we expect from strigolactone research?[J]. J Exp Bot, 2018, 69(9): 2265-2280. DOI:10.1093/jxb/erx472.

[14] Shi B X, Zhao J. Recent progress on sunflower broomrape research in China[J]. Ocl, 2020, 27: 30. DOI: 10.1051/ocl/2020023.

[15] Fernández-Aparicio M, Masi M, Cimmino A, et al. Effects of benzoquinones on radicles of *Orobanche* and *Phelipanche* species[J]. Plants, 2021, 10(4): 746. DOI: 10.3390/plants10040746.

[16] Yang C, Fu F, Zhang N, et al. Transcriptional profiling of underground interaction of two contrasting sunflower cultivars with the root parasitic weed *Orobanche cumana* [J]. Plant Soil, 2020, 450(1): 303-321. DOI:10.1007/s11104-020-04495-3.

[17] Olsen S, Popper Z A, Krause K. Two sides of the same coin: Xyloglucan endotransglucosylases/hydrolases in host infection by the parasitic plant *Cuscuta*[J]. Plant Signal Behav, 2016, 11(3): e1145336. DOI:10.1080/15592324.2016.1145336.

[18] Goyet V, Billard E, Pouvreau J B, et al. Haustorium initiation in the obligate parasitic plant *Phelipanche ramosa* involves a host-exudated cytokinin signal[J]. J Exp Bot, 2017, 68(20): 5539-5552. DOI:10.1093/jxb/erx359.

[19] 石胜华.向日葵品种抗列当水平的室内评价以及抗列当机制研究体系的建立[D].呼和浩特:内蒙古农业大学, 2018.

[20] Yoshida S, Cui S K, Ichihashi Y, et al. The haustorium, a specialized invasive organ in parasitic plants[J]. Annu Rev Plant Biol, 2016, 67: 643-667. DOI: 10.1146/annurev-arplant-043015-111702.

[21] Chen S Y, Zhang L, Ma Q Q, et al. Jasmonate ZIM domain protein (JAZ) gene *SLJAZ15* increases resistance to *Orobanche aegyptiaca* in tomato[J]. Plants, 2024, 13(11): 1493. DOI:10.3390/plants13111493.

[22] Xiao T T, Kirschner G K, Kountche B A, et al. A PLETHORA/PIN-FORMED/auxin network mediates prehaustorium formation in the parasitic plant *Striga hermonthica* [J]. Plant Physiol, 2022, 189(4): 2281-2297. DOI:10.1093/plphys/kiac215.

[23] Musielak T J, Schenkel L, Kolb M, et al. A simple and versatile cell wall staining protocol to study plant reproduction [J]. Plant Reprod, 2015, 28(3): 161-169. DOI:10.1007/s00497-015-0267-1.

[24] Ursache R, Andersen T G, Marhavý P, et al. A protocol for combining fluorescent proteins with histological stains for diverse cell wall components [J]. Plant J, 2018, 93(2): 399-412. DOI:10.1111/tpj.13784.

[25] Ishida J K, Wakatake T, Yoshida S, et al. Local auxin biosynthesis mediated by a *YUCCA* flavin monooxygenase regulates haustorium development in the parasitic plant *Phtheirospermum japonicum*[J]. Plant Cell, 2016, 28(8): 1795-1814. DOI:10.1105/tpc.16.00310.

(责任编辑:郭学兰)