

天麻消化紫萁小菇及蜜环菌过程中细胞超微结构变化的研究

郭顺星 徐锦堂

(中国医学科学院药用植物资源开发研究所,北京)

摘要 本文对天麻种子消化入侵的紫萁小菇菌丝及营养繁殖茎消化蜜环菌过程中,细胞超微结构的变化进行了研究。观察结果表明:紫萁小菇侵入种胚后,染菌胚细胞的细胞器逐渐消失,其细胞质产生囊状体起消化菌丝的作用,存在于胚细胞中的紫萁小菇菌丝有脱壁或失去细胞质成为空腔等变化;种子萌发形成的原球茎消化紫萁小菇的方式同胚萌发阶段类同。蜜环菌侵入原球茎分化的营养繁殖茎后,皮层细胞产生消化酶类颗粒或囊状体包围并分解蜜环菌菌丝;被皮层细胞消化的菌丝残物或部分菌丝进入皮层内面的大型细胞,此时大型细胞的代谢功能显著增强,该细胞中的各种水解酶颗粒及液泡等完成对菌体物质的最终同化。紫萁小菇及蜜环菌先后在天麻有性繁殖和无性繁殖阶段侵染供给其营养,但菌丝被消化过程中的细胞形态变化、被消化方式不完全一致。

关键词 天麻种子;营养繁殖茎;紫萁小菇;蜜环菌;超微结构

天麻(*Gastrodia elata* Bl.)生长以蜜环菌(*Armillaria mellea* Fr.)为营养来源已被实验证实(Kusano, 1911; 张维经, 1980)。董兆彬、张维经(1986)和刘成运(1981, 1983)对天麻无性繁殖阶段的球茎消化蜜环菌过程中超微结构变化进行了观察;张维经(1987)在“天麻与其真菌营养”一文中论述到种子萌发与真菌的关系,但未谈及何种真菌,对真菌菌丝在种胚细胞中的变化也未详细阐述;徐锦堂、郭顺星(1989)和徐锦堂、牟春(1990)分离并鉴定了供给天麻种子萌发营养的紫萁小菇(*Mycena osmundicola* Lange),之后用光学显微镜对种子萌发及原球茎发育与真菌的关系进行了探讨。本文用超薄切片技术及电子显微镜,对天麻种胚消化紫萁小菇及营养繁殖茎消化蜜环菌过程中,细胞超微结构的变化进行了研究,为系统解释天麻生长发育规律及阐明天麻生活史提供参考。

材料和方法

(一) 种子及其播种方法

实验所用的天麻种子,采自本所栽培的箭麻。在室内将种子播在有紫萁小菇腐生的树叶上,种子萌发后再接入已培养好的蜜环菌菌棒。

(二) 观察材料

1. 未接菌的天麻种子。2. 接紫萁小菇菌萌发过程中的种子。3. 种子萌发形成的原球茎。4. 原球茎分化出的营养繁殖茎,切成 1mm^3 。5. 接蜜环菌的营养繁殖茎,切成 1mm^3 。

(三) 超微结构观察

分别将上述材料立即投入用0.1M磷酸缓冲液配制的2.5%戊二醛液(pH 7.2),在4℃下固定

2—8小时,用上述缓冲液洗4次,每次15分钟;再放入该缓冲液配制的1%锇酸中,室温下固定2小时,再用缓冲液洗4次,每次15分钟,经各级丙酮系列脱水,每次30分钟,Epon 812包埋,在37℃—45℃—60℃聚合72小时。包埋块用LKB超薄切片机切片,厚度为500Å,切片用醋酸铀和柠檬酸铅双重染色。在H-800型电子显微镜下观察并照像。

(四)一般组织学观察

为了使电镜观察的材料组织正确定位,同时将上述各观察材料用FAA固定,常规石蜡切片,片厚8μm,番红-固绿二重染色,光学显微镜作一般组织学观察。

结 果

(一) 紫萁小菇侵染天麻种胚和原球茎的细胞变化

1. 种胚染菌前后的细胞结构特点

用光学显微镜和电镜对未染菌的种子观察(图版I-1,6),可看到组织分化不明显的原胚细胞中,细胞质较浓,分布有淀粉粒;核明显,其余细胞器如线粒体、内质网较少而小。对种子进行萌发实验证实,无外源营养供给时,胚细胞中的贮藏物质远不能满足其萌发的需要。种子伴菌培养后,紫萁小菇菌丝由天麻胚柄细胞侵入胚体,侵入初期菌丝在胚柄上部2—3层的胚细胞中分布。随着胚的发育,菌丝分别向胚体的两侧侵染,种子萌发至原球茎时,纵切面可看到有菌丝侵染的细胞在原球茎基部呈“V”字形分布(图版I-2)。电镜观察发现,凡被紫萁小菇菌丝侵染的种胚或原球茎细胞,其原生质及细胞器逐渐消失而出现许多无定形的囊状体,在种胚萌发至原球茎阶段主要靠这种囊状体对紫萁小菇菌丝进行包围和消化(图版I-3,7)

2. 菌丝被消化过程中的形态变化

存在于胚细胞中的紫萁小菇菌丝主要有以下几种变化:(1)菌丝被胚细胞产生的囊状体消化而处于脱壁状态,从图版I-5可明显看到既有正在被囊状体包围处于脱壁状态的菌丝,也有脱壁后的菌丝仅剩质膜包裹或去壁后被消化成碎段的原生质团。菌丝是否处于脱壁状态,根据这些菌丝变化与正常菌丝的结构相比较,很容易对此进行区分。菌丝脱下的细胞壁可附着在囊状体的一侧或周围,也可游离存在被胚细胞进一步消化。(2)有些菌丝并无上述脱壁现象,在被消化前,其细胞质就逐渐消失变为空腔的菌丝(图版I-9)。这种空腔菌丝观察时很容易与上述胚或原球茎细胞产生的囊状体混淆,但二者的形态与结构完全不同,囊状体的形状、大小差别较大,多为中空的囊状;而变为空腔的菌丝,仍保持原菌丝的大小,其细胞壁与质膜可见,且有的腔中仍保留变性的核或少量原生质。中空的菌丝为失去活性即将崩解的表现,最终被胚细胞彻底消化。(3)同未侵染天麻种胚的正常紫萁小菇菌丝相比(图版I-4),存在于胚细胞中的有些菌丝内外壁被消化掉,仅剩质膜包裹的细胞质团(图版I-5C,9HL)。去壁后的菌丝松弛变大失去原有的细胞形态。失去细胞壁的菌丝,其细胞质的组成无大的改变,有的细胞核、内质网、线粒体等细胞器存在,内部结构较完整(图版I-8),这些细胞质团,最后逐渐被分解成原生质碎段(图版I-5d)作为种子萌发及原球茎生长的营养物质。

从上述观察结果可以看出,天麻种胚消化紫萁小菇的过程比较复杂,它不是以一种规范的方式进行。胚细胞消化紫萁小菇获得营养,其上部的分生细胞迅速分裂,胚体膨大,

此时胚体的大型细胞进一步分化，染菌的胚或原球茎细胞消化的菌丝产物进入邻近的大型细胞被彻底分解利用，其消化方式同营养繁殖茎大型细胞消化蜜环菌类同。

(二) 蜜环菌侵染天麻营养繁殖茎后的细胞变化

原球茎顶端分生细胞分裂，分化出营养繁殖茎，此时紫萁小菇已不能满足天麻继续生长的需要，必须同化侵入的蜜环菌获得营养。蜜环菌侵染营养繁殖茎的机率大于原球茎，蜜环菌侵入后，逐渐取代了紫萁小菇供给天麻营养的作用，完成了两种菌营养关系的交替（徐锦堂、牟春，1990）。

1. 蜜环菌的侵染

蜜环菌以菌索形态突破天麻营养繁殖茎的表皮和皮层一些细胞，直达皮层最内或大型细胞外的一层，此时菌索鞘被溶解，菌丝在该层细胞中侵染形成具有一定方向性菌丝流的细胞层（图版 II-10），其菌丝周围的皮层细胞质消失，出现菌丝与皮层细胞质间隔的空腔（图版 II-11）。其原因是由于菌丝侵入后吸收所致，还是天麻细胞原生质对菌丝入侵的一种反应形式，仍待进一步研究。菌丝由菌丝流细胞层向皮层的外面细胞侵染，形成1—2层具有菌丝结的细胞层（图版 II-10），在这些细胞中的蜜环菌丝周围未见到皮层细胞质消失现象（图版 II-11）。

2. 天麻皮层细胞对蜜环菌侵染的反应

蜜环菌侵入后，染菌的天麻营养繁殖茎皮层细胞器逐渐消失，早期还可看到核变成多角状，核仁消失，整个核趋于崩解状态（图版 II-12），核周围的细胞质中分布着不同形态的蜜环菌丝。侵入后期则有些皮层细胞的原生质、细胞器全部消失。由于侵入的时期不同，在具有菌丝结的皮层细胞中可观察到不同的现象，有些皮层细胞原生质及细胞器存在，且结构完整，细胞进行着正常的代谢活动（图版 II-15），这同其它兰科植物菌根细胞变化的观察一致（Flentje et al., 1963; Hadley, 1982）。

在细胞质未消失的皮层细胞中（图版 II-17），菌丝周围分布有许多皮层细胞产生的颗粒状结构，这些颗粒由一层单位膜所包绕，内部由均匀的细微颗粒组成。菌丝周围的不同类型的颗粒，可能是代表了溶酶体的不同分化时期（郑国锠，1980；刘成运，1983），在皮层细胞原生质、细胞器未消失时，主要靠这些水解酶类消化侵入的蜜环菌丝。在细胞器消失或液泡化的皮层细胞中，细胞产生囊状体或片层结构包围侵入的蜜环菌（图版 III-24），最终菌丝被分解。上述消化蜜环菌的方式，在营养繁殖茎染菌的皮层细胞中均可观察到。

3. 皮层细胞中的蜜环菌菌丝变化

存在于天麻皮层细胞中的蜜环菌菌丝形态变化较大，有的菌丝被皮层细胞原生质包裹，其细胞壁明显加厚（图版 II-15），有些菌丝成扁平状、或特化成分枝状（图版 II-13）。放大观察，这些特化的菌丝腔狭窄，内部仅留少量的细胞质，无细胞器存在。Hadley (1975) 对 *Dactylorhiza purpurella* 原球茎染菌细胞观察中，也发现真菌菌丝变形或特化现象，一般认为这种现象是菌丝失去活力处于解体过程中的一种表现形式。

蜜环菌在皮层细胞中，虽然处在不断被消化环境中，但有些菌丝仍具生命力。从已失去外壁的菌丝细胞观察，细胞内含物完整，可清晰看到各种细胞器存在，如核（图版 II-16）、大型线粒体、内质网等（图版 III-18）。从图版 III-20, 22 可见侵入的蜜环菌细胞核处于分裂期的特征。这种现象在胚或原球茎细胞中存在的紫萁小菇也有发现，表明不论

胚细胞中的紫萁小菇菌丝,或营养繁殖茎皮层细胞中的蜜环菌丝,除作为营养来源不断被天麻消化吸收外,仍有部分继续保持生长繁殖能力,菌丝的营养主要来自外部的基质,也可部分从天麻细胞中获得。

4. 消化产物的运输

蜜环菌菌丝被消化的产物,如菌丝细胞质团(图版 III-19)或脱壁菌丝可向大型细胞及邻近的皮层细胞穿壁运输,被穿越的细胞壁多形成乳状突起(图版 III-21),已分解的菌丝由此通过。乳突在天麻属其它种的染菌皮层中也普遍存在(Burgeff, 1959; Campbell, 1963, 1964)。在天麻营养繁殖茎消化蜜环菌过程中,菌丝自染菌细胞向邻近皮层细胞穿越,除正常菌丝外,也可是被分解的菌丝碎片,或脱壁的菌丝,其中有些具完整的桶状隔膜(图版 III-27,28);但向大型细胞穿壁运输,多是已被消化的菌丝残体,通过壁上的乳突进入后,被大型细胞彻底消化吸收。

5. 营养繁殖茎染菌后大型细胞的变化

在蜜环菌侵入营养繁殖茎皮层细胞的刺激下,大型细胞内质网增多,槽库膨大(图版 III-23),分泌出许多具有水解酶功能的小泡或颗粒对进入的蜜环菌细胞残体进一步消化(图版 III-21),或被液泡吞噬分解(图版 III-26)。大型细胞有双核和一核多仁现象,某些大型细胞中还可看到多瓣深裂的核,为老核崩解后产生的更新核。另外还可发现大型细胞的造粉质体膜破裂释放出内含的淀粉粒,游离的淀粉粒被逐渐水解(图版 II-14),其水解产物进入代谢途径,作为该类细胞所需的新能源。蜜环菌未侵入营养繁殖茎前,大型细胞造粉体无这种变化,并且核正常(图版III-25)。进一步观察还发现蜜环菌侵入皮层细胞后,大型细胞的线粒体增加,脊数增多(图版 III-26)。大型细胞的上述变化是与蜜环菌侵入营养繁殖茎后该类细胞旺盛代谢功能相适应(刘成运,1981)。

讨 论

(一) Williamson (1970) 对兰科植物中绿色兰的菌根研究曾报道,真菌菌丝侵入植物根部的皮层细胞后,常缠绕形成菌丝结,其中菌丝常被寄主细胞质紧紧包围。后来的研究发现(Hadley et al, 1971; Hadley, 1972; Hadley & Ong, 1971, 1978),侵入菌丝的细胞壁在皮层细胞中明显加厚,并有囊状结构附着,认为囊状体起源于寄主细胞的膜层结构,且进一步证实其上可能有消化真菌的酶类存在(Nieuwdorp, 1972)。近年来,对蜜环菌侵染天麻后皮层细胞变化的研究中,也发现有囊状结构起消化菌丝的作用(董兆彬、张维经, 1986)。有学者将这种作用归于起源于皮层细胞内质网分泌形成的小液泡或溶酶体(刘成运, 1983)。究竟是囊状体,还是溶酶体起消化蜜环菌的作用,从本实验所选材料观察,蜜环菌侵染后,皮层细胞质未消失时,消化菌丝多靠皮层细胞溶酶体系。随着蜜环菌侵染后的取材时期、部位的不同,可观察到有些皮层细胞质消失,其内大部分被形状不同的菌丝充满,此时可明显看到,消化菌丝主要由游离的囊状体来完成。这两种现象在营养繁殖茎皮层的染菌细胞中均可观察到。

(二) 据报道侵染天麻营养繁殖茎的蜜环菌,在天麻皮层细胞中表现为无生命力或生命力极弱(刘成运, 1983; 董兆彬、张维经, 1986),从本实验取材于原球茎分化的营养繁殖茎的超薄切片观察,无论天麻皮层细胞质及细胞器存在或消失、蜜环菌丝细胞壁加厚还

是脱壁，有些入侵菌丝细胞仍保持原有内含物，各种细胞器可见，有的菌丝细胞核处于分裂状态。表明虽然蜜环菌菌丝作为天麻生长的营养来源处于不断被消化中，但有一部分菌丝仍保持自身正常的代谢活动，以适应继续侵染，用常规菌种分离技术能从营养繁殖茎皮层中分离到纯蜜环菌种，便进一步证实了这一观察。

(三) 从紫萁小菇和蜜环菌先后对天麻种胚及营养繁殖茎侵染的电镜观察分析，二者功能相同，即均可提供天麻生长的营养物质，但侵染后在天麻细胞中菌丝变化有一定差异。胚细胞中的紫萁小菇菌丝形态变化较小；有些菌丝细胞质消失仅剩细胞壁和质膜存在的空腔，而蜜环菌则与此不同。关于胚细胞中的紫萁小菇菌丝细胞质消失的原因，一种可能是菌丝侵入种胚后受其影响而产生某些自溶性酶，使自体细胞质分解，另一种可能是胚细胞对菌丝主动消化的结果，根据实验结果分析，前者的解释较为合理。

(四) 天麻细胞对入侵菌丝的消化是一个复杂的过程，目前的研究结果仍未能对此作出完善解释。因为天麻对真菌的同化不仅表现在天麻与真菌细胞结构的变化上，而且涉及在相互作用过程中二者所产生物质的化学性质。在天麻生活史中，从有性繁殖到无性繁殖，需要不同的真菌侵染提供营养，无疑使得天麻细胞按特定顺序产生某些特定种类的物质如酶等，而这些酶只有在和相应底物即各种真菌及其产物接触后才能显示其活性，这是天麻长期进化的结果。由于天麻细胞代谢活动的变化可以在真菌侵入过程中，以各种不同方式反应在结构上，因此进一步对两者相互关系中最初阶段的细胞化学和细胞学进行研究，从遗传学或分子生物学等方面揭示其相互识别和适应的机理，仍是很有意义的。

参 考 文 献

- [1] Burgeff H (1959) Mycorrhiza of Orchids. In CL Withner (ed.) *The orchids: A Scientific Survey*. Ronald Press New York, pp. 361—395
- [2] Campbell EO (1963) *Gastrodia minor* an epiparasite of Manuka. *Trans Roy Soc New Zealand* 2: 73—81
- [3] ————— (1964) The fungal association in a colony of *Gastrodia sesamoides* R Br. *Trans Roy Soc New Zealand* 2: 243—246
- [4] 董兆彬, 张维经(1986)蜜环菌侵染后天麻皮层细胞结构性质的研究。植物学报 28(4): 349—354
- [5] Flentje NT, Dodman RL, Kerr A (1963) The mechanism of host penetration by *Thanatephorus cucumeris*. *Aust J Biol Sci* 16: 784—799
- [6] Hadley G, Johnson RPC, John DA (1971) Fine structure of the host-fungus interface in orchid mycorrhiza. *Planta* 100: 191—199
- [7] Hadley G (1972) Features of mycorrhizal infection in some Malayan orchids. *New Phytol* 71: 1111—1118
- [8] ————— (1975) Organization and Fine Structure of Orchid Mycorrhiza. *Endomycorrhizas*. Academic Press London, pp. 335—351
- [9] Hadley G, Ong SH (1978) Nutritional requirement of orchid endophytes. *New Phytol* 81: 561—569
- [10] Hadley G (1982) *Orchid Mycorrhiza*. Cornell Univ Press, pp. 85—118
- [11] Kusano S (1911) *Gastrodia elata* and its symbiotic association with *Armillaria mellea*. *Jour Coll Agric Imp Univ Tokyo* 4(1): 1—66
- [12] 刘成运(1981)天麻食菌过程中细胞结构形态变化的研究。植物学报 23(2): 92—95
- [13] 刘成运(1983)天麻消化蜜环菌过程中超微结构变化及酸性磷酸酶细胞化学定位。植物学报 25(4): 301—304
- [14] Nieuwdorp PJ (1972) Some observations with light and electron microscope on the endotrophic mycorrhiza of orchids. *Acta Bot Neerl* 21: 128—144
- [15] Williamson B (1970) Penetration and infection of orchid protocorms by *Thanatephorus cucumeris* and other *Rhizoctonia* isolates. *Phytopath* 60: 1092—1096
- [16] 徐锦堂, 郭顺星(1989)供给天麻种子萌发营养的真菌——紫萁小菇。真菌学报 8(3): 221—226
- [17] 徐锦堂, 冉砚珠, 郭顺星(1989)天麻生活史的研究。中国医学科学院学报 11(4): 237—241
- [18] 徐锦堂, 卞春(1990)天麻原球茎生长发育与紫萁小菇及蜜环菌的关系。植物学报 32(1): 26—31

- [19] 张维经(1980)天麻与蜜环菌的关系。植物学报 22(1): 57—61
- [20] 张维经(1987)天麻与其真菌营养。西北植物学报 7(3): 215—221
- [21] 郑国锠(1980)《细胞生物学》。人民教育出版社。177—201页

STUDIES ON THE CELL ULTRASTRUCTURE IN THE COURSE OF *GASTRODIA ELATA* DIGESTING *MYCENA OSMUNDICOLA* LANGE AND *ARMILLARIA MELLEA* FR.

GUO SHUN-XING · XU JIN-TANG

(Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing)

ABSTRACT Seed germination in *G. elata* depends on the existence of *M. osmundicola* in the infected embryonic cells of the plant. However, further growth of the plant corms only occurs after the invasion of *A. mellea*. In the present study, the ultrastructural changes in the plant cell-fungus were investigated by means of electron-microscopy at the early stage of *G. elata* development. The result showed that disappearance of organelles and development of a great number of sacs could be noticed in the embryonic cells after the infection of *M. osmundicola*. The sacs enclosed and then digested the hyphae, turning some of them into empty cavities by destroying their cytoplasm. The way of digesting *M. osmundicola* by corm cells was the same as in embryonic cells. When *A. mellea* entered the vegetative propagative corms, cortex cells produced many grains or sacs which surrounded *A. mellea* hyphae and collapsed them at last. The survival hyphae from cortex cells entered the large cells, the vacuoles in those cells completed the final digestion of the hyphae. *M. osmundicola* and *A. mellea* infected and supplied nutrition successively for sexual and asexual reproduction of *G. elata*, but the changes of cell structure and the ways of hyphae being digested were different.

KEY WORDS *Gastrodia elata* seeds; Vegetative propagative corms; *Mycena osmundicola*; *Armillaria mellea*; Ultrastructure

图 版 说 明

图 版 I

1. 未染菌的天麻种胚纵切面,箭头示胚柄处 $\times 250$
2. 在原球茎基部的纵切面中,具有紫萁小菇菌丝结的原球茎细胞成“V”字形分布 $\times 250$
3. 紫萁小菇菌丝在天麻种胚细胞中的分布, CW 示胚细胞壁 $\times 1500$
4. 未侵染天麻种胚的正常紫萁小菇菌丝,箭头示菌丝隔膜 $\times 5000$
5. 胚细胞中的紫萁小菇菌丝被消化过程中,示正在被囊状体(S)包围处于脱壁状态的菌丝(a,b),已脱掉壁的菌丝(c),被消化成碎段的菌丝原生质(d) $\times 8000$
6. 未染菌前胚细胞中的淀粉粒成堆(S₁)或呈游离(S₂)状态存在 $\times 10000$
7. 种胚染菌细胞中不同形态的囊状体(S)分布在菌丝周围 $\times 6000$
8. 已脱壁的紫萁小菇菌丝,示核(N)、核仁(NL)、内质网(ER)、线粒体(M) $\times 12000$
9. 胚细胞中的部分紫萁小菇菌丝的细胞质逐渐消失变成空腔的菌丝(箭头), HL 为无壁的菌丝细胞。 $\times 8000$

图 版 II

10. 蜜环菌侵入营养繁殖茎后,在皮层最内一层形成具菌丝流的细胞层(C₁),向皮层的外层细胞侵染形成具菌丝结的细胞层(C₂), CW 为皮层细胞壁 $\times 1500$
11. 图10的部分放大,示C₁细胞中菌丝周围的皮层细胞质消失,C₂无此现象 $\times 3000$
12. 示蜜环菌(H)侵入后,天麻皮层细胞核(N)变形崩解 $\times 2500$
13. 皮层细胞中蜜环菌(H)呈多种状态 $\times 5000$
14. 蜜环菌侵入皮层细胞后,示大型细胞中淀粉粒(PS)被水解(箭头) $\times 8000$
15. 皮层细胞在有蜜环菌(H)存在时仍具有各种细胞器,代谢正常,线粒体(M)、内质网(ER)、高尔基体(D), HW 为细胞壁加厚的菌丝 $\times 9000$
16. 示脱去外壁的蜜环菌丝(H₁)的细胞核(N), H₂为菌丝细胞的原生质团 $\times 15000$
17. 皮层细胞中,蜜环菌丝周围分布着许多类似溶酶体的颗粒(箭头) $\times 9000$

图 版 III

18. 蜜环菌已脱壁菌丝细胞中的大型线粒体(M) $\times 50000$
19. 蜜环菌菌丝原生质碎段(PF),皮层细胞壁(CW) $\times 9000$
20. 图22核的放大,示核膜(NE)上有核糖体(RB),核中染色体(CH) $\times 100000$
21. 蜜环菌丝原生质碎段(PF)通过大型细胞(LC)壁上形成的突起(Pa)穿壁向大型细胞运输,LC的液泡(V)、内质网(ER) $\times 5000$
22. 示侵入皮层的蜜环菌细胞核(N)处在分裂期 $\times 12000$
23. 大型细胞的内质网(ER)增多, 楷库变大 $\times 30000$
24. 皮层细胞中的囊状体(S)在消化蜜环菌丝(H) $\times 20000$
25. 未染蜜环菌时的营养繁殖茎中大型细胞的淀粉粒(PS)、核(N) $\times 1000$
26. 大型细胞中液泡(V)吞噬传递进来的蜜环菌产物(箭头),线粒体(M) 楷库增多 $\times 15000$
27. 图28中DS的放大,示隔膜孔(a)、膨大体(b)、隔膜孔盖(c) $\times 30000$
28. 脱去外壁的蜜环菌丝在穿越皮层细胞壁(CW),菌丝具完整的桶状隔膜(DS) $\times 5000$

Plate I

1. Vertical section of *G. clata* embryo without infection of fungi, arrow points the suspensor cell $\times 250$
2. The cells (arrows) possessed hyphae coils of *M. osmundicola* distributing to the shape of 'V' in the base of protocorm $\times 250$
3. Showing *M. osmundicola* hyphae distributing in the cells of embryo, CW shows cell wall of embryo $\times 1500$
4. Normal hyphae (H) of *M. osmundicola* without infecting embryo of *G. clata* $\times 5000$
5. *M. osmundicola* hyphae are being digested in the embryonic cells, a, b show hyphal walls are being digested by sacs (S), c shows the hyphal wall has been digested and its cytoplasm is cut into fragments(d) $\times 8000$
6. Starch grains in embryonic cells without infection with *M. osmundicola*, compound starch grains (S₁), single starch grains (S₂) $\times 10000$
7. Different sacs (S) surrounding *M. osmundicola* hyphae in embryonic cells $\times 6000$
8. The hyphal wall of *M. osmundicola* has been digested, nucleus (N), nucleolus (NL), endoplasm reticulum (ER),

mitochondrion (M) $\times 12000$ 9. Arrows point empty hyphae of *M. osmundicola*, only remain cell wall, plasmalemma and deteriorated nuclei, HL shows the cells lost wall $\times 8000$

Plate II

10. After *A. mellea* penetrated the vegetative myceliation corms, the cells of cortical inner layer became cell layer (C1) possessing hyphal flow, and cortical outer layer became the cell layer (C2) possessing hyphal coils, CW shows cell wall of cortex $\times 1500$ 11. The enlarged parts of Fig. 10; showing cortical cytoplasm disappeared around hyphae in C1 and that without disappear in C2 $\times 3000$ 12. Showing collapsed nucleus (N) of cortical cells when infection with *A. mellea* $\times 2500$ 13. Showing different form hyphae (H) of *A. mellea* in cortical cells $\times 5000$ 14. Showing starch grains (PS) dissolved (arrows) in large cells after cortical cells infection with *A. mellea* $\times 8000$ 15. Showing cortical cell have normal metabolism when *G. elata* infection with *A. mellea*, various organelles such as mitochondrion (M), endoplasmic reticulum (ER) and golgi body (D), HW shows hyphal wall thickened of a *A. mellea* $\times 9000$ 16. Showing hyphal outside wall of *A. mellea* have been digested (HI), N shows nucleus; H2 shows hypha without cell wall $\times 15000$ 17. Lots of lysosomes (arrows) around hyphae (H) of *A. mellea* in cortical cells $\times 9000$

Plate III

18. Large mitochondria (M) in the cell without wall of *A. mellea* $\times 50000$ 19. Protoplast fragments (PF) of hyphae, CW shows cortical cell wall $\times 9000$ 20. The enlarged parts of Fig. 22, N; showing ribosomes (RB) on nuclear membrane (NE), chromosomes (CH) in nucleus $\times 100000$ 21. Protoplast fragments (PF) of *A. mellea* go into large cells (LC) through papilla (Pa) of LC wall, vacuoles (V) and endoplasmic reticula (ER) of large cells $\times 5000$ 22. Nucleus (N) of *A. mellea* at the stage of division in cortical cell of *G. elata* $\times 120000$ 23. Endoplasmic reticula (ER) in large cells, its cavity enlarged $\times 30000$ 24. The sac(S) in cortical cell enclosing and digesting hypha (H) of *A. mellea* $\times 20000$ 25. Showing starch grains (PS) and nucleus (N) of large cells before *G. elata* infection with *A. mellea* $\times 1000$ 26. Showing vacuoles (V) of large cells are phagocytosing fragments of *A. mellea*, cristae of mitochondrion (M) increasing of large cells $\times 15000$ 27. The enlarged parts of Fig. 28, DS; a. shows dolipore, b. shows inflated body, c. shows map of dolipore $\times 30000$ 28. *A. mellea* hypha without outside wall is passing through cortical cell wall (CW), DS shows hyphal dolipore septum $\times 5000$