蝴蝶蘭的花器發育與小孢子形成[1]

陳裕星[2]、陳姿孝[3]、李國基[4*]

摘　要

蘭科植物的花器與一般單子葉植物略有不同，其最大的特徵是雄、雌蕊生長在唇瓣的中央，並癒合為一個脊型的蕊柱，本研究使用掃描式電子顯微鏡(SEM)及石蠟包埋切片來觀察蝴蝶蘭的花器發育及小孢子的形成。結果顯示當花芽起始後，唇瓣與蕊柱互相獨立，同時發生於花芽的中央，在蕊柱頂端形成雄蕊原，下方表面則分化為柱頭。蕊柱基部分化出兩片花瓣與背萼片，唇瓣基部兩側分化出側萼片，萼片、花瓣與唇瓣快速生長發育形成包覆蕊柱的構造。在蕊柱早期發育階段，頂端可觀察到花藥蓋及小孢子母細胞群之形成，花藥室不明顯，和下方的柱頭在空間上獨立發育。蕊柱發育後期，花藥壁細胞逐漸膨大而與花粉塊分離，此時在柱頭表面也有約五層細胞開始分解，形成柱頭表面的黏液物質，當花粉塊發育完成時，花粉囊由裂口開裂，花粉塊中央連接組織連結黏盤，可沾附於昆蟲體表使之帶走花藥。

關鍵字：蝴蝶蘭、花芽分化、小孢子形成、花器分化、花芽發育。

前　言

蘭科植物廣泛分佈於全世界，尤以亞洲和南美洲的熱帶地區最多，花的所有特徵都充分表現對昆蟲授粉的高度適應性，並與真菌建立共生關係，被認為是植物演化的頂點(12)。蘭科植物都是多年生草本，生態習性可分為二類：一為地生及腐生蘭類，具有鬚根、根莖或是塊莖生長於地面上，分布區域以熱帶地區及亞熱帶地區為主；二為附生蘭類，具有肥厚根被的氣生根，常懸掛貼附於枝條及樹幹上。絕大部分蘭花皆有附生習性，莖直立、懸垂或攀緣；單葉互生，有葉鞘；花因與昆蟲的授粉模式共演化而特化出唇瓣構造，花器構造複雜；假鱗莖是蘭科植物特有的器官，主要見於附生蘭。

蝴蝶蘭是蘭科蝴蝶蘭屬(*Phalaenopsis*)植物，其中包含約60種原生種(1)。蝴蝶蘭的莖短，葉大；氣生根，白色或淺綠色；花梗長，花大，蝶狀，總狀花序排列整齊，有些品種的花朵大型而美麗，且具有不同顏色和形狀，因此常被栽培為觀賞花卉。臺灣也於九十三年興建了

---

[1]行政院農業委員會臺中區農業改良場研究報告第0792號。
[2]行政院農業委員會臺中區農業改良場助理研究員。
[3]長榮大學生物科技系學生。
[4]行政院農業委員會技正，*通訊作者 E-mail: coachlee@mail.coa.gov.tw。

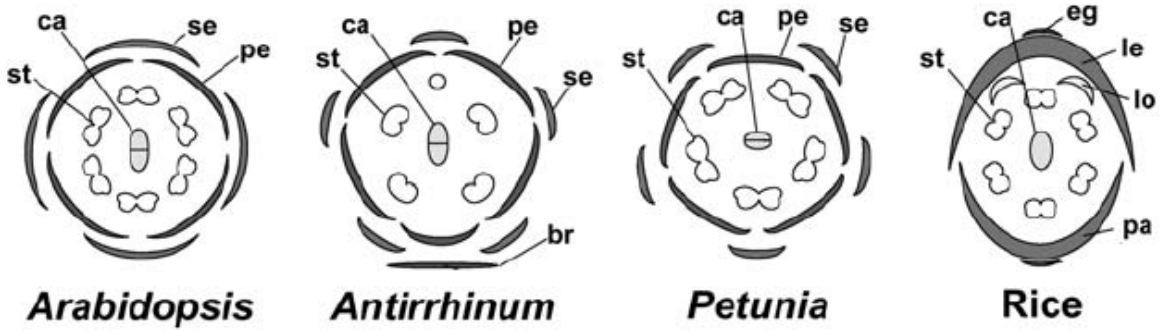
第一座臺灣蘭花生物科技園區，蝴蝶蘭也成為臺灣的四大旗艦農產品，蝴蝶蘭種尾名aphrodite意指「愛與美麗的女神」，用來形容臺灣蝴蝶蘭真是當之無愧。

因蝴蝶蘭與其他多數單子葉植物在小孢子形成過程及型態構造上具有明顯差異，而且蝴蝶蘭子房是在授粉後才進行分化發育，此特性和裸子植物相似。雖然Zhang與O'Neill [16]曾探討蝴蝶蘭授粉後大孢子分化發育的過程，然而蝴蝶蘭小孢子形成過程尚未有完整報導。本研究以花芽分化後之花器發育及小孢子形成過程為研究主題，希望透過SEM與切片觀察比較蝴蝶蘭花器分化發育與其他植物之異同。本文主要探討蝴蝶蘭各花器發育過程，以及小孢子與授粉構造的解剖特徵，希望透過切片觀察能更加了解蝴蝶蘭花朵形成的過程，建立蘭科研究的基礎資料。

前人研究

開花植物花器的構造

開花植物(被子植物)是陸生植物中最主要的植物，約有35萬種，在化石紀錄中開花植物最早出現於侏儸紀(208~145 million years ago)，因為演化出花器構造，自此在陸域中繁衍成為植物界的主宰[4,5]。被子植物所演化形成之兩性花，通常具有四層花器的構造(圖一)，由外而內分別為花萼、花瓣、雄蕊、雌蕊，雌蕊由心皮組成，心皮內孕育了胚珠，當授粉受精後未來會發育為種子[2,4,5]。雄蕊由花藥組成含有花粉，包圍著雌蕊。花朵外圍兩輪則形成花萼及花瓣，負責吸引授粉動物前來協助授粉，最外層的花萼則負責保護未成熟的花朵。同一科屬的植物常具有相同的花序及花朵特徵，花朵特徵也是植物分類的重要依據。由許多的演化證據顯示花朵各個花器是變態的葉片，而雄、雌花器擔負有性生殖之責任，因此常成為主要之研究對象。花部器官始源產生多為向頂順序(acropetal)，先花萼、花瓣、雄花器而後雌花器[2]。



圖一、阿拉伯芥、金魚草、矮牽牛與水稻的花式圖，由外向內皆為四輪之構造，外二輪為花萼及花瓣，第三輪為雄蕊，中央為雌蕊。縮寫: se, 花萼；pe, 花瓣；st, 雄蕊；ca, 心皮；br, 苞葉；eg, 空穎；lo, 鱗片；pa, 內稃；le, 外稃(引自 Bemer & Angenent, 2010)。

Fig. 1. The floral diagrams of *Arabidopsis*, *Antirrhinum*, *Petunia* and rice. Abbreviations: br, bracts; ca, carpels; eg, empty glumes; le, lemma; lo, lodicules; pa, palea; pe, petals; se, sepals; st, stamens (Cited from Bemer & Angenent, 2010).

開花植物小孢子體的分化與發育

從開花誘導、花芽中雄蕊的始源、花藥壁與小孢子母細胞的分化、發育過程等，向來為植物分化與發育研究過程中，廣受矚目的焦點。近十年來，由於分子生物學技術的快速發展，與花器形成有關的基因陸續被選殖定序，並證實其在花器分化發育過程中所扮演的角色[13]。即便如此，由切片進行觀察仍不失為直接了解植物花器分化發育的必要方法。一般被子植物的雄蕊始源突起於花芽分生組織，在雄蕊形成之初即可陸續觀察到花藥壁、藥室以及造孢細胞的構造[2,4]。根據Maheshwari的描述[5]，在一個具有四個花粉囊的初期花藥中，每個藥室中無論是單細胞或多細胞的孢源組織(archesporium)都起源於下皮層(hypodermis)[4]。而後經由多次不同步的細胞分裂產生造孢細胞(sporogenous cell)，當胼胝質壁(callosic wall)開始堆積時，則分化成為小孢子母細胞(microsporocyte)。小孢子母細胞的型態顯著地與周圍的藥壁層細胞不同，此細胞的體積大、細胞核大且細胞質濃厚，沒有明顯的液胞[4,11]。花藥中的造孢細胞都有可能成為小孢子母細胞並產生小孢子，但在某些植物中有些造孢細胞會退化而被其他的細胞吸收，例如龍膽科的某些植物。

小孢子母細胞產生小孢子或花粉時的減數分裂有兩種方式，分為連續型和同時型[2]。前者在第一次分裂後會產生二分體(dyad)，之後再進行第二次分裂形成四分體；後者則幾乎同步直接經由兩次分裂產生四核形成四分體(tetrad)，大多數雙子葉植物屬於後者。小孢子母細胞經減數分裂產生四分體小孢子時，仍被胼胝質壁包圍。事實上，有許多雄不孕的植物產生不正常的花粉是由於小孢子形成過程中，因為小孢子母細胞無法正常的減數分裂、胼胝質壁提早出現退化現象或是延遲瓦解而使小孢子無法釋出所致[7]。

花藥的表皮具有明顯的角質層(cuticle)，往內則有一層藥室內壁(endo- thecium)又可稱為纖維層，通常只有一層細胞，當花藥發育至成熟時，藥室內壁細胞呈橫向延長，大多數植物此層細胞壁會從內切線壁向外和向上發生帶狀加厚，外切線壁則保留為薄壁。這種加厚壁的物質一般認為是纖維素，成熟時略為木質化[4,7,11]。而這種藥室內壁加厚的特點在開花時，有助於花粉囊的裂開，因花藥曝露在空氣中，表皮失去水分，於是從藥室內壁取水分，因此水份減少，液胞內的內聚力上升，使細胞徑向壁之間產生拉力，導致花粉囊裂開，花粉散出[4]。藥室內壁往內有一至三層細胞稱為中間層(middle layer)，內含有澱粉或其他貯藏物，在成熟的花藥中通常已瓦解不存在，但也有例外，如百合。再往內有營養層，此層細胞較其他的藥壁細胞大，且具有分泌細胞的特徵－細胞質濃厚、液胞小而少，初期營養層為單核，後來常進行核內有絲分裂(endomitosis)而形成雙核或多核；營養層後期型態差別可分為二種：腺質營養層和變形營養層。腺質營養層又可稱分泌營養層，此型的營養層可通過細胞的內表面分泌數種物質提供給小孢子發育需要，而當小孢子母細胞減數分裂近完成時，營養層細胞開始出現退化的現象，在小孢子發育過程中繼續進行自我解體，在小孢子後期或雄配子體發育階段，營養層細胞僅留殘跡或已不存在。

在花藥壁層細胞內微細構造的變化和藥室中小孢子發育過程息息相關，尤其是營養層細胞在小孢子發育過程中扮演提供養分、製造並提供胼胝質水解酵素，產生花粉外壁物質[4,11]

的重要角色。花粉壁的功能有三種：(1)保護花粉原生質，防止過度乾燥和機械性傷害；(2)供給授粉時辨識之物質；(3)提供花粉粒因溼度改變而脫水或吸水時體積的調節。當花粉在授粉成功落在柱頭表面後，即與柱頭細胞展開訊息傳導、花粉萌發預備下一階段的花粉管伸長與受精作用。

被子植物中如百合、阿拉伯芥的大、小配子分化發育過程已經被完整探討，然而在蝴蝶蘭，對於小孢子起源，蕊柱的形成過程、花粉塊外是否具有花藥壁、藥室、營養層等分化構造則尚未有完整報導。

蝴蝶蘭開花誘導與花朵形態

蝴蝶蘭為春化型植物，經25/20℃處理30天後，即可依花芽分化達100%抽梗，是對蝴蝶蘭的花芽分化最有利的條件(1)。在臺灣自然氣溫下，蝴蝶蘭多在冬季即有花芽分化，至春天氣溫回升開始迅速發育開花。為調節花期，以利產銷，除夏季利用高冷地的低溫引發花梗抽出發育外，冬天氣溫低於20℃時，應加溫至20℃以上(即最低夜溫20℃)，方能達到促進花芽發育之目的。

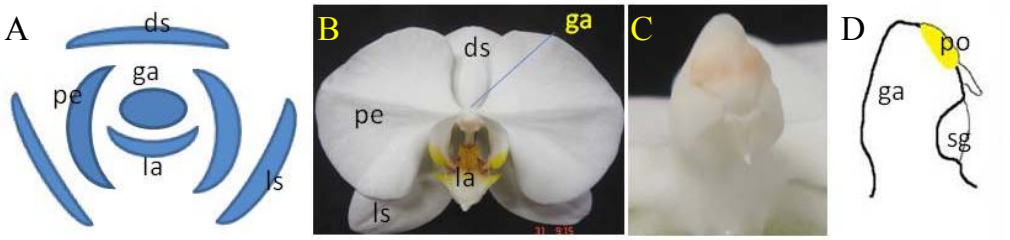
在花芽誘導後，在植株體內的激素和外界條件調節影響下，誘導花芽形成後，依生長點組織形態開始發生變化，進入了花芽的型態形成期，逐漸發育形成花萼、花瓣、雄蕊、雌蕊，直到開花前才完成整個花器的發育。

蘭花的花器構造與其他單、雙子葉植物不同(表一)，最大的特徵是雄、雌蕊生長在唇瓣的中央，唇瓣上有特化的癒合脊(callus ridge)與吸引昆蟲相關，雄蕊及雌蕊融合為一個脊型的蕊柱(gynandriun)，柱頭在蕊柱的內側，雄蕊則位於蕊柱頂端，是蘭花生殖構造的重要部份。由蝴蝶蘭花朵模式圖(圖二)可知，以蕊柱為中心，包覆蕊柱之花器構造為唇瓣，其次為兩側相對的兩片花瓣，最後為背萼片與兩片側萼片，其中唇瓣、蕊柱及背萼片位在花朵中軸線上，兩片花瓣位在橫軸線上，並非典型單子葉植物的結構模式(圖二A、B)，花朵最外圍為三枚花萼 (背萼片與側萼片)，第二輪為2枚花瓣，最中央第三輪同時升起的是唇瓣及蕊柱，其中有孕性的雄蕊數目減少到一枚，雄蕊和雌蕊有不同程度的癒合，形成稱為蕊柱的構造(圖二C、D)。除此之外，蝴蝶蘭在成功授粉之後才開始子房的分化發育，以確保養分不會浪費。

表一、蝴蝶蘭花器分化發育與其他被子植物之比較

Table 1. Comparison on organs differentiation and development of *Phalaenopsis* orchids with other angiosperm

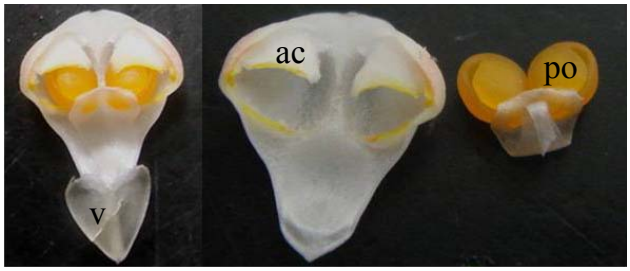
	Dicotyledonous plant	Monocotyledonous plant	*Phalaenopsis* species
Number of stamen	In multiples of 4 or 5	In multiples of 3	Reduced to 2
Pollen	Pollen grain	Pollen grain	Pollen load, or pollinia
Successful pollination rate	Varies according to species	Varies according to species	Can achieve to 100%
Pistil differentiation	Complete, differentiated before pollination	Complete, differentiated before pollination	Incomplete, ovary differentiated after pollination
root	Initiated from first division of zygote	Initiated from first division of zygote	Initiated from protocorm like body



圖二、蝴蝶蘭花朵結構與特化之蕊柱構造。A、花式圖；B、蝴蝶蘭花朵正面觀；C、將萼片去除後的蕊柱外觀；D、蕊柱示意圖。縮寫：ds, 背萼片；ga, 蕊柱；la, 唇瓣；ls, 側萼片；pe, 花瓣；po, 花粉塊；sg, 柱頭。

Fig. 2. Flower and specialized gynandrium structure of *Phalaenopsis*. A, floral diagram. B, *Phalaenopsis* flower. C, Gynandrium. D. Schematic illustration of gynandrium. Abbreviations: ds, dorsal sepal; ga, gynandriun; la, labellum; ls, lateral sepal; pe, petals; po, pollinia; se, sepal; sg, stigma.

蕊柱的頂端的雄蕊有帽狀的花藥蓋(anther cap)(圖三)，此花藥蓋很容易被去除而露出位於藥室中的花粉塊(pollinium)，花粉塊多為二粒呈黃色，形狀呈圓型或橢圓形，但也有些蘭花的花粉塊為2~4顆，例如三藥細筆蘭的花藥即可孕育1~3顆花粉塊[6]。花藥基部具有柄連接黏盤(viscidium)，黏盤呈心型(圖三)具有黏性，可附著在授粉媒介上。藥隔位於花粉塊與其下方凹陷處的柱頭(stigma)，目的是用來防止蝴蝶蘭自花授粉，在雌蕊柱頭凹穴中有黏液物，乃為黏吸花粉塊及提供養分之用。



圖三、蝴蝶蘭雄蕊型態。ac, 花藥蓋; po, 花粉塊; v, 黏盤。

Fig. 3. Morphology of *Phalaenopsis* stamen. ac, Anther cap; po, pollinia; v, viscidium.

在蘭科植物中可普遍觀察到唇瓣構造，在早期即具有保護蕊柱的功能，隨後迅速長成姿態各異的唇瓣。蘭科植物的唇瓣演化出各種花色與型態，被認為與吸引授粉昆蟲有極大的關聯[11]，與授粉昆蟲共演化(coevolution)形成目前豐富的多樣性。蘭花的唇瓣在自然授粉過程中的角色包括吸引昆蟲、提供著陸停留、導引昆蟲沾附花粉至另一朵花完成授粉工作，有些蘭科植物的唇瓣也分泌化學物質供昆蟲採集合成費洛蒙。

蘭花授粉與授精

蘭花的子房在授粉前尚未開始發育，需等花粉塊進入柱頭後，柱頭會慢慢的關閉，以防止再有花粉塊進入[8,9,10,14]。受精後，子房開始膨脹，胚珠中的大孢子母細胞開始進行減數分裂以形成胚囊(embryo sac)，花粉萌發出花粉管以利精子與胚囊內的卵細胞結合，此時才完成

受精的步驟，成為種果(seed pod)或稱為蒴果(capsules)。而種子在子房內部呈無菌狀態，內有數萬或數百萬粒種子，種子非常細小，用肉眼幾乎無法分辨。有人認為，蘭花種子是未發育完全的胚，在授粉後，極核在胚發育過程中便會退化瓦解，並未形成胚乳細胞。因此在自然環境下需有蘭菌結合方得共生存活，所以大多數的種子都不會自然發芽。

研究方法及步驟

植物材料

以白花蝴蝶蘭V3品種經低溫誘導後，待花芽冒出之後，取長度10 cm的花梗進行埋蠟切片觀察。另外取外觀長度為0.5及1 cm之花芽，以埋蠟切片觀察小孢子生長發育之情形。

方法

一、型態解剖

由蝴蝶蘭總狀花序上的不同分化發育階段的花芽，區分不同發育階段以解剖顯微鏡觀察拍照，完成後以FAA (5 mL 38% Formaldehyde, 90 mL 70% Ethanol, 5 mL Glacial acetic acid)固定，預備後續埋蠟切片。

二、埋蠟切片法

將不同時期以FAA固定之花芽，以TBA (Tert-butyl alcohol)系列脫水[6]，滲蠟後再以石蠟包埋。將包埋後的樣品蠟塊修整後置於切片機上固定，切成10 μm厚的連續切片。再以蛋白黏著劑貼附於載玻片上，置於40℃熱板上使其展平，並附著於載玻片上。以二甲苯溶蠟、酒精系列復水，以番紅精(safranin O)與速綠精(fast green)雙重染色後，再脫水至二甲苯，最後以巴爾森膠封片，烘乾。

三、SEM

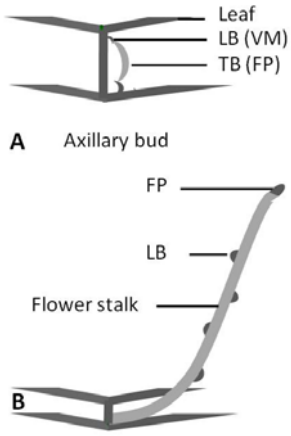
將花芽以FPGA(福馬林：甘油：醋酸：酒精)固定後，以50%酒精沖洗三次，以酒精－丙酮系列脫水，進行臨界點乾燥(critical point drying)，再將乾燥後的材料黏於標本鋁檯上，經金箔合金覆膜後，在掃描式電子顯微鏡下觀察，拍照。

結果與討論

蝴蝶蘭花梗芽形成模式探討

在幼年期或是營養生長狀態下，蝴蝶蘭的頂芽與腋芽(axillary bud)皆為營養芽，當頂芽不斷生長出新葉片時，腋芽都處在休眠狀態。從花梗的型態與解剖觀察可以發現，原本處於休眠狀態的腋芽同時具有頂芽(terminal bud) (圖四A、TB)以及側芽(lateral buds) (圖四A、LB)，皆為營養芽，經過低溫誘導後轉變形成花芽原(floral bud primordium)，在此腋芽僅有其中的頂芽會轉變為花芽(floral bud) (圖四A、FP)，而該腋芽兩側的側芽仍維持營養生長狀態，如果植株維持在適合花芽分化發育的環境下，此腋芽當中的頂芽會伸長形成花梗(圖四B)。原本該腋芽中的側芽未來成為花梗芽，此花梗芽為營養芽，仍保留無限生長繁殖的能力，可由此進行無性繁殖以大量生產種苗。

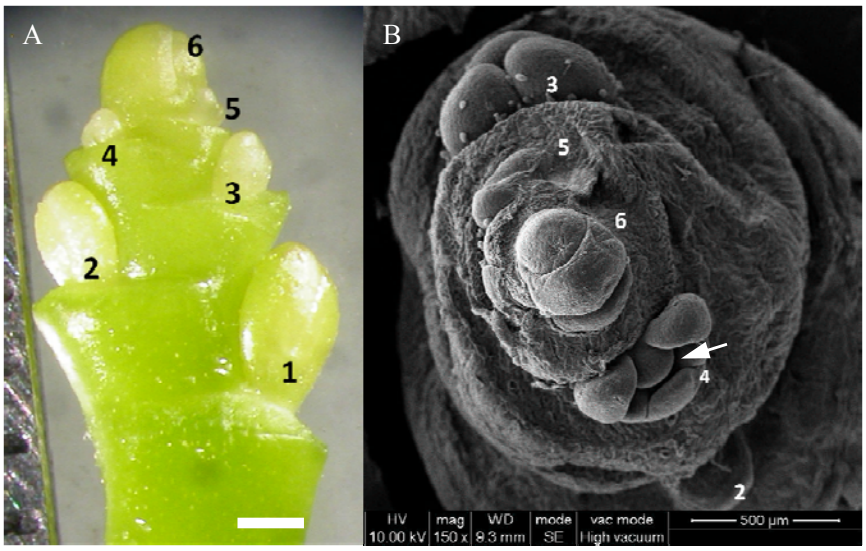
由這樣的花芽分化現象，我們推論蝴蝶蘭在經過低溫誘導之後，花芽原始源(floral bud initiation)的訊息由成熟葉片產生而後運往腋芽，如果植株能夠提供足夠的養分，或提供足夠誘導花芽分化的訊號，則可由兩側的葉腋誘導出雙梗的花芽。



圖四、蝴蝶蘭早期花芽誘導觀察。A、腋芽受誘導分化模式，腋芽中的頂芽受低溫誘導形成花芽原(floral bud primordium, FP)，附屬的側芽(lateral bud, LB)仍為營養芽分生組織(vegetative meristem, VM)；B、頂芽受誘導形成花梗，但僅有頂芽形成花序，原附屬的腋芽形成未來的花梗芽。

Fig. 4. Pattern of floral initiation in *Phalaenopsis* orchid. A. The axillary bud is a dormant vegetative bud, after floral initiation, the terminal bud become a floral primordium. B. Only the terminal bud of axillary bud forms an inflorescence, other lateral buds remain vegetative stage.

本研究以長約10 cm之花梗為材料進行觀察與切片分析，此時已經可以看到六個花芽(圖五A, B)，以最早分化發育的花芽編號為1，依序小心剝去花序的苞片後在電子顯微鏡下觀察，可看到編號 3的花芽已經具備有花朵的完整雛形，在中心的圓形突起為唇瓣，覆蓋在蕊柱的正上方，第五、六芽則仍處在花朵分化發育的早期階段。



圖五、花芽早期發育的解剖與 SEM 觀察。A、花梗頂端已形成六個花芽；B、剝除苞片之後以 SEM 觀察花芽，第四個花芽已可觀察到花朵完整雛型，唇瓣(箭號所指處)覆蓋在蕊柱上方。Bar = 1 mm。

Fig. 5. Observation of early developmental stage of floral buds by LM and SEM. A, 6 floral buds have formed at top of floral stalk. B, after removing bracts, a flower bud has formed at the 4th position, labellum (white arrow) covering the gynandriun. Bar = 1 mm.

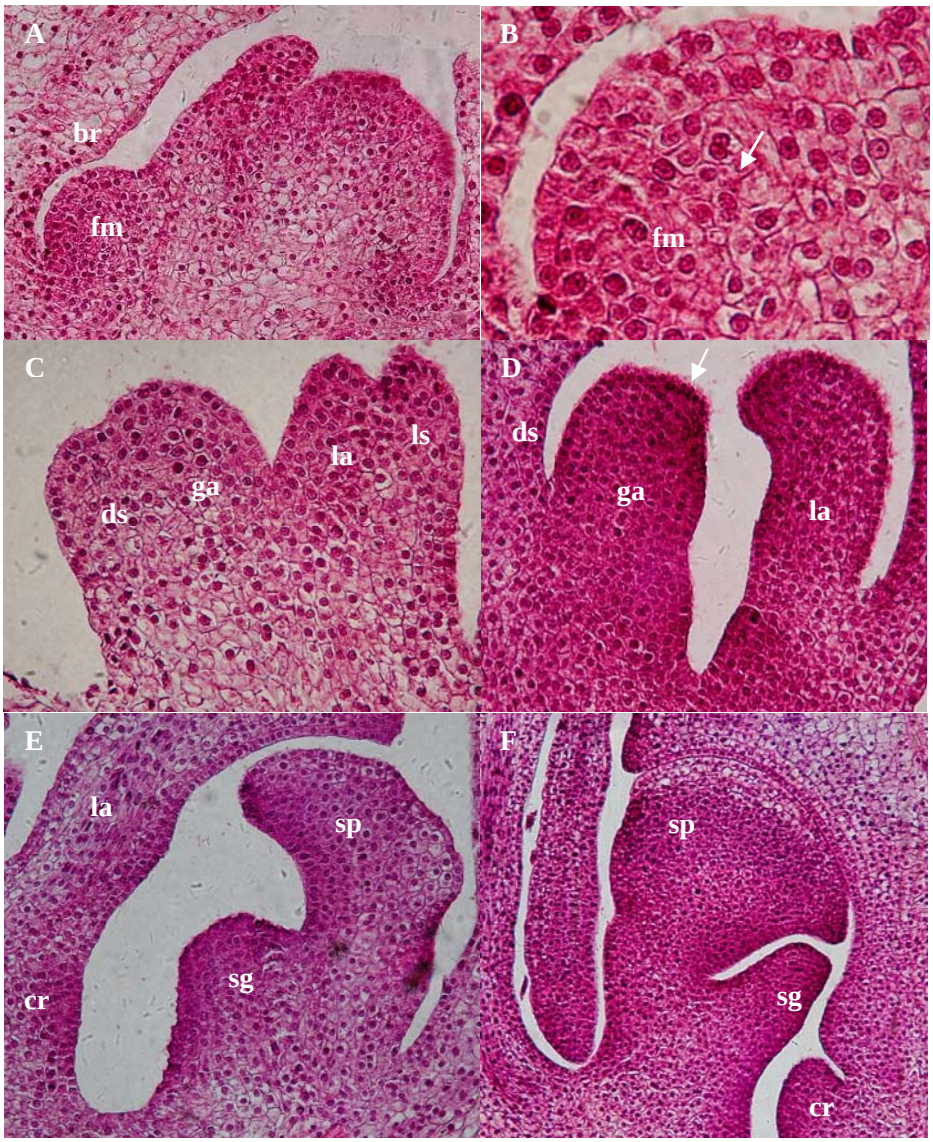
在典型的單子葉植物，唇瓣(labellum)應該和花瓣(petal)同樣屬於花器的第二輪，之後才為第三輪的雄蕊及第四輪的雌蕊。但是在蝴蝶蘭與其他蘭科植物中，特別的是唇瓣的分化發育，從花芽原的切片可以看到，在圖六中編號5的花芽，唇瓣和蕊柱幾乎同時分化，產生蕊柱原與唇瓣原，但自此後其花器分化方向即分道揚鑣。在圖六編號2的花芽中，箭號所指處即為發育中的蕊柱，隨後唇瓣快速生長成一覆蓋構造(圖六)，以保護發育中的蕊柱。在此時期並不具備明顯的花粉塊、藥室或花藥壁構造，但可觀察到細胞質濃且有旺盛的細胞分裂活動之處，在未來會逐漸發育成為花粉塊、花藥蓋、柱頭等構造。

在花梗長度為約10 cm時，由最早開始分化發育的花芽依序編號，從外觀上可以看出有六個花芽(圖六)，由圖六的切片圖觀察，在編號6的頂花芽之中包含三個花芽，被苞片所包覆，苞片的基部所包覆的即為花芽分生組織(floral meristem, fm) (圖七A、B)，處在花芽分化最早的階段。在頂芽中突起的三個分生組織在此階段僅能觀察到濃密的細胞質，無法看出細胞將會如何進行下一步的分化途徑，但可以觀察到最外兩層表皮細胞行垂周分裂(圖七B)，以增加表面積，表皮層兩層下之細胞群則向四面八方分裂(圖七B，箭號所指處)，由細胞分裂方向推估此為分生組織中的核心。



圖六、蝴蝶蘭 10 cm 長之花梗頂端縱切片。發育早期的花芽，其蕊柱和唇瓣可由相對花序軸之位置辨別。縮寫: br, 苞片；ds, 背萼片；ga, 蕊柱；la, 唇瓣；ls, 側萼片；pe, 花瓣。

Fig. 6. Anatomy of floral buds at terminal end of a 10 cm long floral stalk, longitudinal section. Labellum and gynandriun (ga) can be identified by their position relative to floral axis. Abbreviations: br, bracts; ds, dorsal sepal; ga, gynandriun; la, labellum; ls, lateral sepal; pe, petals.



圖七、蝴蝶蘭 10 cm 長花梗之埋蠟切片。A、為花梗的頂花芽，此花芽包含三個花芽原被苞片(br)所包覆。B、頂花芽之花芽分生組織(fm)，箭號所指處。C、圖六中編號 5 之花芽，蕊柱和唇瓣由相對位置辨別。D~F 為快速生長中的花芽，圖 D 中箭號所指處為蕊柱，未來將分化出花藥、柱頭及早期子房。F 為最早分化發育之花芽，此時唇瓣已經覆蓋在蕊柱週圍，花藥蓋覆在花粉塊上，柱頭略微下凹，細胞分裂活動旺盛。縮寫: br, 苞片；cr, 癒合脊；fm, 花芽原；ga, 蕊柱；la, 唇瓣；sg, 柱頭；sp, 造孢細胞。

Fig. 7. Paraffin section of a 10 cm long floral stalk. A. Longitudinal section of floral stalk. B. No. 6 floral bud contains floral meristems embraced by bract (br). C. Labellum (la) and gynandriun (ga) can be identified by their relative position to floral axis. D. E, F Rapid growing floral buds, gynandriun is indicated by arrow. G. The earliest floral bud with labellum covering gynandriun, and slightly sunken stigma. Abbreviations: br, bracts; cr, callus ridge; fm: floral meristem; ga, gynandriun; la, labellum; sg, stigma; sp, sporogenous cells.

圖七之C、D分別為圖六中編號5及3之花芽，以ga標示出未來的蕊柱(gynandrium)，相對於蕊柱的柱狀花器則是未來的唇瓣(la)。由圖二之花示圖可知，在蕊柱背側突起之花器構造為背萼片(dorsal sepal, ds)，在唇瓣背側突起之花器構造為側萼片(lateral sepal, ls)，雖然此時尚未分化出細部的特徵，僅能看到唇瓣和側萼片以及蕊柱和背萼片的初步雛形，但是上述的花器原在此階段已經隆起，開始分化發育。

圖七之E、F則分別代表圖六中編號2及1之花芽，圖七E中可以確認的是蕊柱頂端和基部濃密的細胞團分別是未來的花粉塊和柱頭，相對於柱頭腹側唇瓣的下方，可觀察到細胞核質濃密的區域為癒合脊(callus ridge, cr) (圖七E、F)。在本樣品中，最早分化的第一個花芽(圖七F)已經大致完成所有花器的分化，包括萼片、花瓣、唇瓣與蕊柱上的雄蕊及柱頭，雄蕊及柱頭已經明顯分化為兩個區塊進行發育，在雄蕊頂端排列整齊的表皮細胞下，從切面可觀察到有3~4層較大型之細胞，未來形成花藥蓋，在其下方則為分佈呈弧形，細胞核質濃厚的造孢細胞(圖七、F)，此區之造孢細胞未來形成花粉塊，但此時藥室之構造尚未形成。

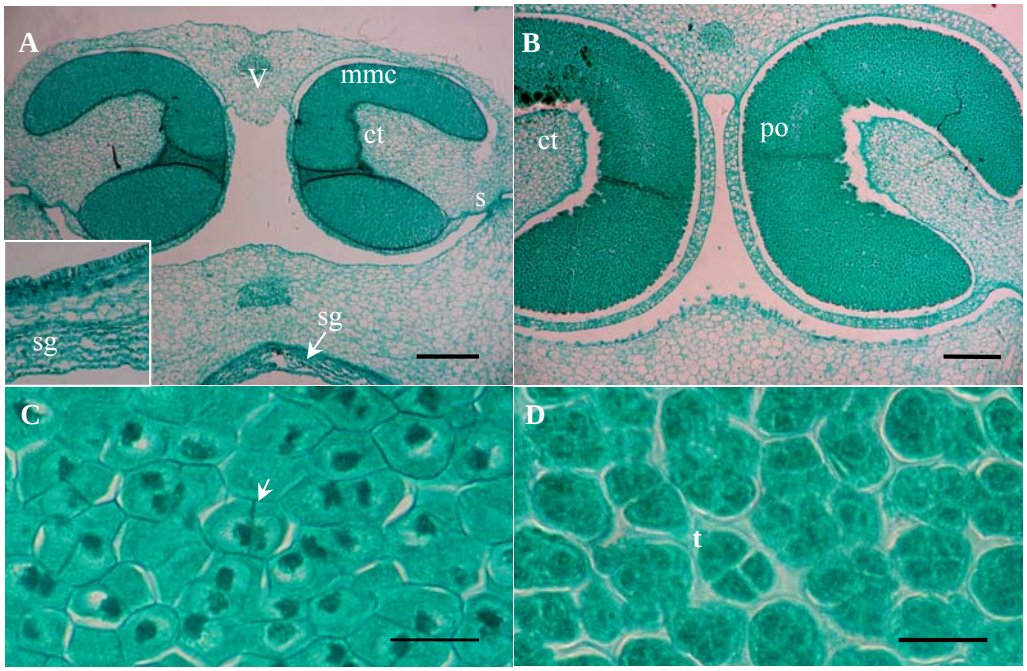
待花朵發育至0.5及1 cm大小之花芽後，分別進行花藥與柱頭的切片，在花藥與柱頭之間形成明顯的腔室分隔花粉塊和柱頭(圖八A、B)，此特徵在花朵發育早期即已產生(圖七F)；在花粉塊外側的花藥壁細胞以薄壁細胞為主，含維管束組織(圖八A)，有表皮細胞的分化，並形成花藥蓋包圍花粉塊，花藥壁在此階段已經開始逐漸和花粉塊分離(圖八A、B)，在本研究所處理的材料中並無法判斷是否有營養層的構造，尚需進一步取不同發育階段的花芽進行觀察。蝴蝶蘭具有兩個明顯的藥室(圖八A、B)，當花粉塊成熟時，花藥室會從裂口(圖八A)自然開裂，以利花粉塊散佈。

花粉塊腹側中央連接著薄壁細胞群為藥隔(圖八B)，連接花粉塊延伸到黏盤(viscidium)(圖八B)，此藥隔在花藥成熟時仍然與花藥緊密結合，當黏盤沾附在授粉媒介時，會靠著藥隔將花粉塊一併帶走。在本切片中，可能因為樣品脫水的緣故，使藥隔與花粉塊呈現分離狀態，但是在藥隔頂端與花粉塊腹側組織仍可看到不同細胞組織之間漸進連結的痕跡。

此時柱頭表面可看到約五層排列緊密的細胞(圖八A插圖)，未來會崩解形成柱頭表面黏液。花粉塊中小孢子母細胞(圖八A)之細胞核質濃密，形成C型的細胞群，已經開始減數分裂第一階段形成二分體(dyad) (圖八C)，在二分體中會形成細胞板(cell plate，箭號所指處)，之後再進一步分裂為四分體(tetrad)(t, 圖八D)。

結　論

蝴蝶蘭在花芽原始源(floral bud initiation)產生後，萼片首先迅速分裂，增大細胞體積覆蓋花芽，在發育早期快速分裂生長形成包覆蕊柱的保護構造，唇瓣和蕊柱在早期發育的時候同時由花芽原中隆起，雄、雌蕊融合為一個脊型的蕊柱，蕊柱頂端為雄蕊始源細胞，其下為柱頭始源細胞，等到授粉後才開始進行子房及胚珠的分化與發育。



圖八、長度 0.5 cm (A)及 1 cm (B)大小之花朵其雄蕊切片，Bar = 100 μm。小孢子母細胞分裂成二分體(C)及四分體 (D)，Bar = 20 μm。縮寫: ct, 藥隔；po, 花粉塊；s, 裂口；sg, 柱頭；v, 維管組織。

Fig. 8. Transverse section of anthers at the different developmental stage of (A) 0.5 cm and (B) 1cm floral buds. Bar = 100 μm. Microspore mother cells are dividing to become dyad (C) and tetrad (D), Bar = 20 μm. Abbreviations: ct: connective tissue; po: pollinia; s: stromium; sg: stigma; t: tetrad.

蝴蝶蘭的花粉聚集為塊狀，在發育過程中，花粉塊包裹在花藥室的構造中，外側的花藥壁組織可以觀察到其上、下表皮皆有角質層覆蓋，內側有藥隔連接黏盤。在蕊柱腹側的柱頭表面也有約五層細胞開始分解，形成柱頭表面的黏液物質。此表面物質可能富含養分，用以協助花粉管的附著、萌發與生長，以及授粉訊息的辨識，未來可以進一步分析該黏液物質成分。這些特徵顯示了蝴蝶蘭小孢子與花藥組織的分化受到嚴密的調控，本研究先由解剖切片觀察小孢子與花器分化發育的特徵，可作為未來進一步探討蘭科植物花器分化發育調控研究的基礎。

誌　　謝

本研究承國科會大專生參與專題研究計畫補助，計畫名稱：蝴蝶蘭的花器發育與小孢子形成，計畫編號：99-2815-C-309-006-B。試驗期間承蒙臺大生科系黃玲瓏教授與陳香君老師提供實驗設備與指導，並不吝分享經驗使本計畫能順利執行，在此特誌謝意。

參考文獻

1. 李哖、林菁敏　1984　溫度對白花蝴蝶蘭生長與開花之影響　p.110-113　蝴蝶蘭繁殖、生育特性、產期調節及產後品質　財團法人臺灣區花卉發展協會。
2. 林讚標　1988　臺灣蘭科植物　第二版　南天書局　臺北。
3. 胡適宜　1991　第三章 小孢子囊及小孢子的發生　p.23-42　被子植物胚胎學　曉園出版社　臺北。
4. 許玉珠、莊茗翔、郭長生、廖國嫈　1999　文心蘭花部發育之研究　中國園藝 45(4): 456。
5. 陳香君　2000　毛西番蓮的花器發育和小孢子形成　國立臺灣大學植物學研究所博士論文。
6. 蔡淑華　1975　植物組織切片技術綱要　茂昌出版社　臺北。
7. Bemer, M. and G. C. Angenent. 2010. Floral Organ Initiation and Development. In: Plant Developmental Biology - Biotechnological Perspectives: Volume 1, Chong Pua E. and M. R. Davey, eds, Springer.
8. Brown, R. C. and B. E. Lemmon. 1991. Pollen development in orchids. 3. A novel generative pole microtubule system predicts unequal pollen mitosis. J. of Cell Science 99: 273-281.
9. Izhar, S. and R. Frankel. 1971. Mechanism of male sterility in *Petunia*: The relationship between pH, callase activity in the anthers, and the breakdown of the microsporogenesis. Theoretical and Applied Genetics 41(3): 104-108.
10. Porat, R., A. H. Halevy, M. Serek and A. Borochov. 1995. An increase in ethylene sensitivity following pollination is the initial event triggering an increase in ethylene production and enhanced senescence of Phalaenopsis orchid flowers. Physiologia Plantarum. 93: 778–784.
11. Porat, R., J. A. Nadeau, J. A. Kirby, E. G. Sutter and S. D. O'Neill. 1998. Characterization of the primary pollen signal in the postpollination syndrome of *Phalaenopsis* flowers. *Plant Growth Regulation*. 24: 109-117
12. Kim, S., C. W. Morden, Y. Sagawa and J.-Y. Kim. 2003. The Phylogeny of *Phalaenopsis* Species. *Proceedings of NIOC2003, Nagoya, Japan*.
13. Twell, D., S. K. Park and E. Lalanne. 1998. Asymmetric division and cell-fate determination in developing pollen. Trends in plant science p.305-310.
14. Vogel, S. 1996. Floral biology: studies on floral evolution in animal-pollinated plants. Spencer C. H. and D. W. Lloyd, eds., London: Chapman & Hall, pp.44-60.
15. Xu, Y., L. L. Teo, J. Zhou, P. P. Kumar and H. Yu. 2006. Floral organ identity genes in the orchid *Dendrobium crumenatum*. The Plant Journal 46: 54-68.
16. Zhang, X. S. and S. D. O'Neill. 1993. Ovary and gametophyte development are coordinately regulated by auxin and ethylene following pollination. Plant Cell 5: 403-418.

The Floral Organs Development and Microsporogenesis in *Phalaenopsis* Orchid[1]

Yuhsin Chen[2], Zih-Syue Chen[3] and Guo-Chi Lee [4*]

ABSTRACT

The floral organs of orchids are different from typical monocotyledons that the anthers and pistils are fused into a specialized structure called gynandriun. The floral organ development and microsporogenesis were observed by using paraffin- embedding section and SEM. The results show that 3 sepals are formed from the outermost whorl of floral meristem at the earliest stage. The second whorl of floral organs are 2 petals, followed by the gynandriun and labellum risen from center of floral meristem. The gynandriun and labellum protrude independently at the succsssive time. The two pollen sacs are formed on the top of the gynandriun, at the base is the stigmatous tissue. At a later floral developmental stage, 2 pollinia can be found inside each pollen sac. The anther wall layers disappear when pollinia are mature, it is assumed that cell layers collapsed gradually during microsporogenesis and deposited their cell residues on the surface of pollinia. On the surface of stigma, there are also 5 layers of cells starting to disintegrate and secreting mucilage before anthesis. Underneath the collapsed layers of cells, a layer of cell with dense cytoplasm separates the parenchyma cells of gynandriun and the mucilage, which is presumed to play roles in pollination signal transduction. In this study, we discovered several floral developmental features, indicating there are strict controls on the floral organogenesis in *Phalaenopsis* orchids.

Keywords: *Phalaenopsis*, floral organs development, microsporogenesis, floral organogenesis.

---

[1] Contribution No. 0792 from Taichung DARES, COA.
[2] Assistant Researcher of Taichung DARES, COA.
[3] BSc of Chang Jung Christian University.
[4] Specialist, Council of Agriculture. * Corresponding author, E-mail: coachlee@mail.coa.gov.tw.