

ธีระ ธรรมวงศา : อนุกรมวิธาน ชีววิทยาการสืบพันธุ์ และการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ดินลัน
มังกร *Habenaria rhodocheila* Hance และชนิดใกล้เคียง (Orchidaceae) (TAXONOMY,
REPRODUCTIVE BIOLOGY AND SEED GERMINATION OF *HABENARIA RHODOCHEILA*
HANCE COMPLEX (ORCHIDACEAE)) อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร.หนูเดือน
เมืองแสน, 134 หน้า

คำสำคัญ: การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ/รูปแบบการสืบพันธุ์/ขนาดประชากร/การ
เพาะเลี้ยงแบบสมชีพ

กล้วยไม้สกุลลันมังกร (*Habenaria*) เป็นกล้วยไม้ดินที่มีความต้องการของตลาดสูง เนื่องจาก
ดอกมีสีสรรที่หลากหลาย จึงมีผู้นิยมลักลอบนำออกจากธรรมชาติเพื่อมาจำหน่าย ทำให้กลายเป็นพืชที่
เสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) ทบทวนอนุกรมวิธานของกล้วยไม้ดินลันมังกร
และชนิดใกล้เคียง (*H. rhodocheila* Hance complex) 2) ศึกษาชีววิทยาการสืบพันธุ์ ประกอบด้วย
ระบบการผสมพันธุ์ การออกดอกและติดผล และโครงสร้างขนาดประชากร และ 3) ประเมินการงอก
ของเมล็ดลันมังกร (*H. rhodocheila*) และลันมังกรชมพูร่องกล้า (*H. janellehayneiana*) ผลการ
ทดลอง พบว่า การวิเคราะห์ทางสัณฐานวิทยาเชิงตัวเลขด้วยวิธีวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (Principal
Component Analysis, PCA) และ เดนโตแกรม โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของดอก 26
ลักษณะ ทำให้ประชากรลันมังกรชมพูร่องกล้าแยกออกมา ด้วยลักษณะของยอดเกสรเพศเมียที่มี
ลักษณะเป็นก้านคู่เข้าหากัน สนับสนุนการระบุความแตกต่างของชนิดนี้ออกจากลันมังกร นอกจากนี้
ยังแยกกลุ่มของลันมังกรประชากรที่ 03 ที่มีความยาวจอยเล็กที่สั้นกว่าชนิดอื่น และลันมังกร
ประชากรที่ 06 ที่มีก้านดอกและรังไข่ยาวกว่าประชากรอื่น และกลุ่มที่ไม่สามารถแยกออกจากกันได้
ซึ่งลักษณะของสีที่แตกต่างกันไม่สามารถใช้แยกกลุ่มทางอนุกรมวิธานได้ ส่วนความยาวจอยเล็ก และ
ความยาวรังไข่ อาจเป็นลักษณะที่ใช้แยกกลุ่มทางอนุกรมวิธานได้ แต่ยังต้องการตัวอย่างศึกษาเพิ่มเติม
โดยเฉพาะตัวอย่างจากเขตการกระจายพันธุ์ในประเทศฟิลิปปินส์ เนื่องจากลันมังกรเป็นกล้วยไม้ที่มี
การกระจายพันธุ์กว้าง ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยใช้การรวม 3 ยีน (Internal
Transcribed Spacers (ITS) + *matK* + *rbcL*) ด้วยวิธี maximum-parsimony analysis พบว่า
เครื่องหมายดีเอ็นเอของยีนทั้งสามร่วมกันสามารถจำแนกตัวอย่างพืชได้ 3 กลุ่ม โดยไม่สามารถแยก
ลันมังกรชมพูร่องกล้าออกจากลันมังกรได้ จึงยังไม่มี การเปลี่ยนแปลงสถานะทางอนุกรมวิธานใน
การศึกษาครั้งนี้ ส่วนผลการศึกษาระบบการสืบพันธุ์และโครงสร้างประชากรของลันมังกรพอร์มดอกลี
ส้มและลันมังกรชมพูร่องกล้า ในพื้นที่อุทยานภูหินร่องกล้า จังหวัดพิษณุโลก พบว่ากล้วยไม้ดินทั้งสอง
ชนิดมีการออกดอก 1-11 ดอกต่อช่อ และการติดผลในสภาพธรรมชาติอยู่ระหว่าง 42.55-52.21 %
ไม่พบการติดผลหากไม่มีการถ่ายละอองเรณู แสดงว่าไม่มีการผสมตัวเองตามธรรมชาติ ในขณะที่การ
ผสมเกสรด้วยมือมีการติดผล 100 % ซึ่งบ่งชี้ถึงความสามารถในการผสมตัวเองได้ และต้องการ
พาหะในการช่วยผสมเกสร และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของใบและการติดผล ในเรื่องของ
การทดสอบการงอกของเมล็ดแบบสมชีพร่วมกับเชื้อราที่แยกได้จากรากและไรโซมกล้วยไม้ดินทั้งสอง
ชนิด จำนวน 32 ไอโซเลตเป็นเวลา 16 สัปดาห์ พบว่าเมล็ดกล้วยไม้ลันมังกรชมพูร่องกล้า มีการงอก
เมื่อเลี้ยงร่วมกับเชื้อราไอโซเลต I03 I08 และ I20 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยมี

เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดสูงสุด เมื่อเลี้ยงร่วมกับราไอโซเลต I20 (14.08 %) ในขณะที่กล้วยไม้ลีน มังกรไม่พบการงอกของเมล็ดในการเพาะเลี้ยงแบบสมชีพ การระบุเชื้อรา 3 ไอโซเลต ที่ส่งเสริมการงอกของเมล็ด ด้วยการศึกษาความคล้ายกันของดีเอ็นเอบริเวณ ITS กับฐานข้อมูล GenBank พบว่ารา ไอโซเลต I03 มีความคล้าย *Colletotrichum* sp. ไอโซเลต O8 มีความคล้าย *Hypoxyton* sp. และ ไอโซเลต 20 มีความคล้าย *Aspergillus* sp. การทดสอบการงอกของเมล็ดแบบไม่อาศัยราในอาหาร 4 ชนิด พบว่าเมล็ดของกล้วยไม้ดินทั้งสองชนิด งอกภายใน 4 สัปดาห์หลังการเพาะเลี้ยง ที่ระยะเวลา 16 สัปดาห์ เมล็ดลีนมังกรชมพูร่องกล้าและลีนมังกรมีเปอร์เซ็นต์การงอกรวมสูงสุดบนอาหาร 1/2VW คือ 19.11 % และ 15.78 % ตามลำดับ ผลการทดสอบฮอร์โมน 3 ชนิดได้แก่ BAP, GA และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 1, 3, และ 5 mg/L ในอาหาร 1/2VW ต่อการการงอกของเมล็ดพบว่า หลังจากเพาะเลี้ยง 16 สัปดาห์ เมล็ดลีนมังกรชมพูร่องกล้าและลีนมังกรที่เลี้ยงบนอาหาร 1/2VW ที่เติม BA 1 mg/l มีการงอกรวมสูงสุด (12.86 % และ 11.83 % ตามลำดับ) ข้อมูลที่ได้สามารถเป็นแนวทางในการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์ของกล้วยไม้สองชนิดนี้ และกล้วยไม้ดินชนิดอื่น ๆ



สาขาวิชาชีววิทยา
ปีการศึกษา 2564

ลายมือชื่อนักศึกษา ศิร อรรถวรงค์
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา กฤษณ์ ธีระวิทย์
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม S. Wattana

THEERA THUMMAVONGSA : THESIS TITLE. TAXONOMY, REPRODUCTIVE BIOLOGY AND SEED GERMINATION OF *HABENARIA RHODOCHEILA* HANCE COMPLEX (ORCHIDACEAE). THESIS ADVISER : ASSOC. PROF. NOODUAN MUANGSAN, Ph.D. 134 PP.

Keyword: Phylogenetic analysis/Breeding system/Population size structure/ Symbiotic seed germination

Habenaria rhodocheila Hance is a highly demanded terrestrial orchid due to the diversity of its floral color. Thus, it has been taken out from the natural for commercial purposes, becoming endanger species. The objectives of this thesis were to 1) taxonomically revise the species of the *H. rhodocheila* Hance complex, 2) compare reproductive biology including breeding system, flowering and fruit set, and population size structure of *H. rhodocheila* and *H. janellehayneiana*, and 3) compare symbiotic and asymbiotic seed germination of *H. rhodocheila* and *H. janellehayneiana*. The results revealed that the morphometric study of seven populations of *H. rhodocheila* complex examined by PCA plot and dendrogram using 26 floral morphological characters *H. janellehayneiana* was separated with the convergent stigma, supporting the species circumscription differed from *H. rhodocheila*. Moreover, *H. rhodocheila* population number 03 and 06 were separated by rostellum length, and pedicel and ovary length, respectively. The other populations were mixed. It was indicated that color forms are not a taxonomic character for *H. rhodocheila*. Although, rostellum length, and pedicel and ovary length seem to be good taxonomic characters, but it is better to add more specimen especially from Philippines, because this species has very wide distribution. The phylogenetic analysis using a maximum-parsimony analysis method, combined (Internal Transcribed Spacers (ITS) + *matK* + *rbcL*) dataset identified four major clades. The result indicated that *H. janellehayneiana* is in the same group with *H. rhodocheila*. So, there is no taxonomic status change from this study. Comparative study of breeding system and population size structure in Phu Hin Rong Kla National Park, Phitsanulok province showed the number of flowers per inflorescence of *H. rhodocheila* (orange form) and *H. janellehayneiana* ranged from 1 to 11. Natural fruit set ranged from 42.55-52.21 %. No fruits was created by untouched (no pollination) of both species on caged individuals set fruit, however all manually self-pollinated flowers gave 100 % fruit set. This indicated that both species were genetically self-compatibility, non-autogamous species with no apomixis. There is no relationship between leaf length and fruit set. Both orchid species are self-compatibility and

need vectors for pollination. The population size structure of both species showed the low number of seedlings and large individual, indicating low reproductive success. To conserve these populations, re-introduction with seedlings propagated by seeds and protection the large individual are crucial needed. A total of thirty-two fungal isolates were recovered from roots and tubers of both plant species. The seed germination test of *H. janellehayneiana* with fungal isolates I03, I08, and I20 differed significantly between treatments. The highest total seed germination percentage was on I20 (14.08 %). *H. rhodochila* had no germination when cultured with 12 fungal isolates. Fungal identifications based on DNA similarity of ITS to the GenBank database revealed that I03 was similar to the *Colletotrichum* sp., I08 was similar to the *Hypoxyylon* sp., and I20 was similar to the *Aspergillus* sp. The asymbiotic seed germination of four tested media revealed that seeds of both plant species germinated within four weeks after inoculation. At 16 weeks, *H. janellehayneiana* and *H. rhodocheila* had the highest total seed germination percentages on $\frac{1}{2}$ VW media with 19.11 % and 15.78 %, respectively. The results of testing three hormones, BAP, GA and TDZ, at concentrations of 1, 3, and 5 mg/L demonstrated that *H. janellehayneiana* and *H. rhodocheila* cultured on $\frac{1}{2}$ VW added with 1 mg/l BA had the highest total germination, 12.86 % and 11.83 %, respectively. The results of this research may be applied for conservation and exploitation of these species and other terrestrial orchids species.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

School of Biology
Academic Year 2021

Student's Signature ดร. อรรณพ
 Advisor's Signature ดร. อรรณพ
 Co-advisor's Signature ส. นัทธนา