ชีววิทยาการถ่ายละอองเรณูของถั่วแปบช้าง *Afgekia sericea* Craib

นายบุญสนอง ช่วยแก้ว

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2545

ISBN 974-17-1917-5

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I21165579

POLLINATION BIOLOGY OF *Afgekia sericea* Craib

Mr. Boonsanong Chourykaew

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Dissertation Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Doctor of Philosophy in Biological Sciences

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic year 2002

ISBN 974-17-1917-5

Thesis Title	POLLINATION BIOLOGY OF *Afgekia sericea* Craib
By	Mr. Boonsanong Chourykaew
Field of Study	Biological Sciences
Thesis Advisor	Chumpol Khunwasi, Ph.D.
Thesis Co-advisors	Associate Professor Thaweesakdi Boonkerd, Ph.D. and Tosak Seelanan, Ph.D.

Accepted by the Faculty of Science, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Doctor's Degree

..... Dean of Faculty of Science
(Associate Professor Wanchai Phothiphichitr, Ph.D.)

THESIS COMMITTEE

..... Chairman
(Associate Professor Nantana Angkinand)

..... Thesis Advisor
(Chumpol Khunwasi, Ph.D.)

..... Thesis Co-advisor
(Associate Professor Thaweesakdi Boonkerd, Ph.D.)

..... Thesis Co-advisor
(Tosak Seelanan, Ph.D.)

..... Member
(Associate Professor Prakong Tangpraprutgul, Ph.D.)

..... Member
(Chaba Jampatong, Ph.D.)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บุญสนอง ช่วยแก้ว: ชีววิทยาการถ่ายละอองเรณูของถั่วแปบช้าง *Afgekia sericea* Craib. (POLLINATION BIOLOGY OF *Afgekia sericea* Craib) อาจารย์ที่ปรึกษา: อาจารย์ ดร. ชุมพล คุณวาสี, อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม: รองศาสตราจารย์ ดร. ทวีศักดิ์ บุญเกิด และ อาจารย์ ดร. ต่อศักดิ์ สีลานันท์, 126 หน้า. ISBN 974-17-1917-5.

ถั่วแปบช้าง (*Afgekia sericea* Craib) พืชถิ่นเดียวของไทย และมีแนวโน้มเป็นพืชหายาก เนื่องจากถิ่นอาศัยตามธรรมชาติถูกรบกวน และมีอัตราการติดฝักน้อยมาก เพียงร้อยละ 1-3 การศึกษานี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาชีววิทยาการถ่ายละอองเรณู เพื่ออธิบายสาเหตุการติดฝักน้อยในพืชชนิดนี้ จากการศึกษาพบว่าถั่วแปบช้างออกดอกตั้งแต่เดือนเมษายนจนถึงเดือนตุลาคม แต่ละช่อดอกมีอายุประมาณ 2 เดือน การศึกษาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเลกตรอนแบบส่องกราด (SEM) พบว่าส่วนประกอบของดอกมีพัฒนาการแบบการเจริญสู่ปลาย ดอกเริ่มบานตั้งแต่ 04:00 น. และมีอายุ 1 วัน อัตราการมีชีวิตของละอองเรณู จากการทดสอบด้วยเททราโซเลียม (tetrazolium test) มีร้อยละ 90 แต่สามารถงอกในห้องทดลองได้ร้อยละ 68 และอัตราการมีชีวิตจะลดลงหลังจากละอองเรณูมีอายุ 24 ชั่วโมง จากการทดสอบเอนไซม์เอสเทอเรส (esterase) พบว่ายอดเกสรเพศเมียมีความพร้อมในช่วงที่ดอกบาน การศึกษาครั้งนี้พบแมลง 19 ชนิด และนก 1 ชนิด ที่มีปฏิสัมพันธ์กับดอกถั่วแปบช้าง แต่มีเพียง 12 ชนิดเท่านั้นที่น่าจะเป็นพาหะถ่ายเรณู โดย *Megachile velutiana* Smith เป็นหาหะถ่ายเรณูหลัก แมลงเหล่านี้ถูกดึงดูดโดยตัวชี้น้ำต้อย (nectary guides) บนกลีบกลาง และเก็บละอองเรณู และ/หรือน้ำต้อยจากดอก น้ำต้อยผลิตโดยเซลล์หลั่ง (secretory cell) ในต่อมน้ำต้อยที่มีลักษณะเป็นจานฐานดอกรอบวงเกสรเพศเมีย จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีการโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (HPLC) พบว่าน้ำต้อยมีซูโครสเป็นองค์ประกอบหลัก จากการกันพาหะถ่ายเรณูออกจากดอก พบว่าจะไม่มีการติดฝัก และการถ่ายละอองเรณูแบบเปิด ซึ่งแมลงสัมผัสกับดอก ทำให้เกิดการติดฝักได้ ยิ่งไปกว่านั้น ระยะทางระหว่างต้นมีผลต่อการติดฝัก คือถ้าต้นใกล้กันอัตราการติดฝักจะมีเพิ่มมากขึ้น จากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่าถั่วแปบช้างมีแนวโน้มที่จะเป็นพืชผสมข้าม และมีการผสมตัวเองไม่ได้ และสาเหตุของการการติดฝักน้อยเกิดจาก การไม่ผสมตัวเอง และการการฝ่อของฝักอ่อน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา.....พฤกษศาสตร์..... ลายมือชื่อนิสิต.....

สาขาวิชา.....วิทยาศาสตร์ชีวภาพ..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ปีการศึกษา...2545..... ลายมือชื่ออาจารย์ทีปรึกษาร่วม.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

##4173809723: MAJOR BIOLOGICAL SCIENCES
KEY WORDS: *Agekia sericea* Craib / POLLINATION BIOLOGY
BOONSANONG CHOURYKAEW: POLLINATION BIOLOGY OF *Afgekia sericea* Craib. THESIS ADVISOR: CHUMPOL KHUNWASI, Ph.D., THESIS COADVISORS: ASSOCIATE PROFESSOR THAWEESAKDI BOONKERD, Ph.D., AND TOSAK SEELANAN, Ph.D., 126 pp. ISBN 974-17-1917-5.

Afgekia sericea Craib is an endemic species of Thailand and becoming rare due to natural habitats disturbed and very low percentage in the range of 1-3% of fruit setting. The study was conducted thus to investigate the pollination biology to explain why fruit setting is so low. It was found that inflorescences are produced from April to October and each inflorescence lasts about 2 months. SEM investigation revealed that floral structure developed acropetally. Flowers anthesis begin from 4:00 hour and last only one day. The maximum pollen viability is 90% as revealed by tetrazolium test, but 68% was able to germinate *in vitro* and the viability abruptly decreased after 24 hours. According to localization of esterase, the stigma receptivity occurs in the same period of time of anthesis. Nineteen insects and one bird species were found to be visitors but only twelve might take part in the pollination, of which *Megachile velutina* Smith is likely a main pollinator for *A. sericea*. These insect visitors are attracted by nectary guides on the vexillum and rewarded by pollen and/or nectar. The nectar is produced by secretary cells in the collar disc around the gynoecium. From HPLC analysis, the nectar is composed mainly of sucrose. Bagging experiments yielded no fruit setting. In addition, open pollination that allowed insect to visit flowers, resulted in fruit setting. Furthermore, distance between individual plant may affect the success of fruit setting, i.e. the close of plants, the more fruit setting. It might be then concluded that *A. sericea* is likely cross-pollinating species and is self-incompatible. Thus, possible causes of low fruit setting might be the existence of self-incompatibility and young fruit abortion.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Department.....Botany.....Student's signature.....Boonsanong Chourykaew
Field of study....Biological Sciences...Advisor's signature.....Chumpol Khunwasi
Academic year...2002.....Co-advisor's signature.....Thaweesakdi Boonkerd
Co-advisor's signature.....

ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to express my deepest gratitude and sincere appreciation to my thesis advisors Dr. Chumpol Khunwasi, Associate Professor Dr. Thaweesakdi Boonkerd, and Dr. Torsak Seelanan for their guidance, encouragement and many valuable suggestions, which has a great benefit throughout my study.

I wish to express my sincere thanks to the thesis committee, Associate Professor Nantana Angkinand, Associate Professor Dr. Prakong Tangpraprutgul and Dr. Chaba Champatong for their valuable suggestions and advice.

I also wish to thank Mrs. Somporn Sangswang, Miss Suchada Wongpakam, Mr. Manit Kidyue, Mr. Sahut Chantanaorrapint, Mr. Yuttaya Yuyen, Mr. Khachonsak Worapatip, Mr. Sahanut Phetsri, Mr. Tanucha Boonjaras, Miss Oravan Vannasri, Miss Paweena Jaikrasane, Miss Suthira Srapratet, Miss Paweena Triperm, Miss Wilawan Ratthanathirakul, Miss Somruethai Chaiyapo, Miss Apirada Sthapattayanon, Miss Maliwan Kutako and Miss Oratai Neamsuvan for their helps and their friendship.

Thanks are also due to the staff of the Professor Suvatabhandhu Herbarium, and the Department of Botany, Faculty of Science, Chulalongkorn University for providing laboratory facilities for this thesis.

I am particularly grateful to Insect Taxonomy Research Group, Entomology and Zoology Division, Department of Agriculture, Ministry of Agriculture and Cooperatives with the kind help of Mr. Sura Pimpasalee and Mr. Wijit Koonthong for their patient identification of plant visitors.

I also would like to thank to Mr. Therayoot Dechaboonpob, Mr. Nuttawut Lumlertwittaya and many anonymous who help me during my field observations.

I am in debt to the Secondary Education Quality Improvement Project, Office of Rajabhat Institutes Council Ministry of Education, and Graduated School, Chulalongkorn University for funding my study.

Last but not least, I am truly gratitude to my family for their supports and encouragement.

TABLE OF CONTENTS

	Page
Thai Abstract	iv
English Abstract	v
Acknowledgements	vi
Table of Contents	vii
List of Tables	viii
List of Figures	ix
Chapter	
1 Introduction	1
2 Literature Review	6
3 Study Sites	11
4 Materials and Methods	16
5 Results	22
6 Conclusion and Discussion	85
7 General Conclusion	101
References	102
Appendices	113
Biography	126

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF TABLES

Table		Page
5.1	Nectar sugar composition and concentration.	45
5.2	The percentages of pollen germinated on stigma.	54
5.3	The results of pollen germinated on stigma from several manipulations.	54
5.4	The results from bagging experiments.	57
5.5	The results from many manipulations and pollen germination.	59
5.6	Plant visitors at 5 study sites.	64
5.7	Percentage of infructescence and average of pod production.	83
5.8	ANOVA of seed weight of *Afgekia sericea* from 3 plant samples.....	83
6.1	Characters constituting the pollination syndrome of *A. sericea*.	95

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF FIGURES

Figure **Page**

1.1 *Afgekia sericea* Craib; natural habitat, leafs and inflorescences. 3

1.2 *A. sericea*; young pods, mature pod, ripe pod with seeds, and seeds. 4

3.1 Map of Thailand showing the location of 6 study sites. 13

3.2 Climatic data of Six study sites. 14

3.3 Some of study sites. 15

5.1 Flower structure of young flowers and at anthesis. 23

5.2 Inflorescence meristem after bracts initiation. 23

5.3 Each of bracts subtends an ellipsoid floral primordial. 23

5.4 Fives sepals initiated on floral apex. 25

5.5 Petal initiation around initiated carpel. 25

5.6 Petal primordium at top will become vexillum. 25

5.7 Initiation of first antesepalous stamen and the other twos. 25

5.8 The carpel primordium becomes dorsiventral. 26

5.9 Antepetalous stamens have been initiated. 26

5.10 Carpellary cleft formed adaxially. 26

5.11 Vexillum primordium seems to be the latest one to initiate. 26

5.12 The margin of ventral side of carpel primordium is folded. 28

5.13 Carpel primordium looks like a horseshoe–shaped. 28

5.14 The antepetalous stamens have shorter filaments. 28

5.15 The fusion of anther filaments. 28

5.16 The vexillum, the first one to begin form differentiation. 29

5.17 The lowermost petals (keels) primordia earlier appear. 29

LIST OF FIGURES (CONTINUED)

Figure **Page**

5.18 Keels are fused. 29

5.19 Vexillum encloses the adjacent petal margins. 29

5.20 Keel start to fuse at the distal end. 30

5.21 Keel start is fused. 30

5.22 The short incomplete stamen tube. 30

5.23 The nine-stamen tube fused with the vexillary stamen. 30

5.24 Pseudo–monadelphous stage at one day before anthesis. 31

5.25 Pseudo–monadelphous stage on the anthesis day. 31

5.26 The antepetalous stamens have shorter filaments until before anthesis. . 31

5.27 Stamens are all equal in length on the anthesis day. 31

5.28 Stigma maturation on anthesis day. 32

5.29 Floral primordium diagram during development. 33

5.30 Flower before anthesis, at anthesis and after blooming day. 34

5.31 Wing petal removed flower. 35

5.32 Wing petal. 35

5.33 Vexillum and wing removed flower. 35

5.34 Vexillum petal. 35

5.35 Vexillum, wing, and keel removed flower. 36

5.36 Vexillum, wing, and keel removed flower, calyx is presented. 36

5.37 Vexillum, wing, keel and staminal tube removed flower. 36

5.38 Staminal tube, two nectar gates are presented. 36

5.39 Timing of flower opening. 38

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF FIGURES (CONTINUED

Figure **Page**

5.40 Percentage of dehiscenceed anthers and opened flower. 39

5.41 Dynamics of flowering of the fifteen plants. 39

5.42 Average monthly climatic data of SERS in 2000 and 2001. 40

5.43 Phenology of *A. sericea* in 2000 and 2001. 41

5.44 Nectary SEM micrograph. 43

5.45 Nectary longitudinal section 43

5.46 Nectary cross-section. 43

5.47 Nectary gland is composed of small isodiametrical cells. 43

5.48 Partial nectary longitudinal section. 44

5.49 The gland in detail, showing the nectariferous tissue. 44

5.50 Outer epidermis of the nectary. 44

5.51 Inner epidermis of the nectary. 44

5.52 The results of pollen viability Tetrazolium tests. 47

5.53 Comparison of percentage viable pollen. 48

5.54 Comparison of percentage pollen germination. 48

5.55 Pollen germination tests in 7 sucrose formulas. 49

5.56 Cytochemical localization of surface esterases in stigmas. 51

5.57 Pollen germination tests depend on flower opening time. 52

5.58 Comparison of percentage pollen germination. 53

5.59 Pollen germinated on stigma. 53

5.60 Bagging experiment. 56

5.61 Fruit abortion. 58

LIST OF FIGURES (CONTINUED)

Figure **Page**

5.62 Microphotograph of stigma and pollen tubes. 60

5.63 Frequency and diversity of plant visitors on 3 rainy days. 65

5.64 Frequency and diversity of plant visitors on 2 sunny days. 66

5.65 *Megachile velutina* 68

5.66 *Megachile monticola* 69

5.67 *Megachile conjuncta* 69

5.68 *Megachile disjuncta* and *Megachile umbripennis* 70

5.69 *Megachile* sp.1 70

5.70 *Megachile* sp.2 71

5.71 *Megachile* sp. 3 71

5.72 Pollinated stigma of *Afgekia sericea.* 73

5.73 *Nomia elliotii*, *Nomia iridescens*, and *Nomia* sp. 76

5.74 *Pithitis smaragdula.* 77

5.75 Bee loads. 78

5.76 *Xylocopa aestuans* and *Xylocopa dissimilis.* 79

5.77 *Trigona* sp. 79

5.78 Anthophora *zonata* and *Anthophora crocea.* 80

5.79 Chilades *pandava.* 80

5.80 *Nectarinia sperata.* 81

5.81 *Mylabris phalerata.* 81

5.82 Pod setting in a cluster of 3 near plants and in far away plants. 84