Thesis Title Selecting Superior Parent Trees for Forest Restoration Programs, Maximizing Performance Whilst Maintaining Genetic Diversity.

Author Mr. Greuk Pakkad

Ph.D. Biology

Examining Committee

Dr. Stephen Elliott	Chairperson
Assoc. Prof. Dr. Vilaiwan Anusarnsunthorn	Member
Mr. James F. Maxwell	Member
Dr. David Blakesley	Member
Dr. George Gale	Member

ABSTRACT

The framework species method of forest restoration addresses the serious problem to tropical deforestation by planting selected tree species that accelerate the natural processes of forest regeneration and biodiversity recovery. Recent field trails have shown that the performance of framework tree species planted in deforested sites in northern Thailand is highly variable, due to variations among different seed batches originating from different parent trees. The objective of this study was to develop criteria, based on nursery and field performance of planted saplings and genetic variability, to select superior parent seed trees, to optimise production methods and performance of the 5 species studied seedlings for forest restoration projects.

The five framework tree species were *Spondias axillaris* Roxb. (Anacardiaceae), *Melia toosendan* Sieb. & Zucc. (Meliaceae), *Gmelina arborea* Roxb. (Verbenaceae), *Prunus cerasoides* D. Don (Rosaceae) and *Castanopsis acuminatissima* (Bl.) A. DC. (Fagaceae). They have all been identified as a 'framework species' for restoring evergreen forest in seasonally dry climates.

Variability in both nursery and field performance of seedlings germinated from a maximum 50 individual parent trees per species studied is reported. Relationships between seed size, germination characteristics, seedling performance in the nursery and in the field were found, but the relationships were mixed.

Seed and pyrene size of *S. axillaris, M. toosendan* and *C. acuminatissima* increased with increasing elevation of the parent trees, but there was no such relationship for *G. arborea* and *P. cerasoides.*

Percent seed germination of *M. toosendan* and *C. acuminatissima* increased with increasing seed size. In contrast, the percent germination of *G. arborea* increased with decreasing pyrene size and there was no relationship for *S. axillaris* and *P. cerasoides*. Mean seed size of germinating seeds of *M. toosendan* and *C. acuminatissima* was larger than those of non-germinating seeds. On the other hand mean pyrene size of germinating seeds of *G. arborea* and *P. cerasoides* was smaller than those of non-germinating seeds.

Percent germination was negatively correlated with time to germination and median length of dormancy for all species studied.

Seed and pyrene sizes was correlated with seedling size in the nursery, but only weakly correlated with relative growth rate (RGR). Seedling size (height and root collar diameter) of *M. toosendan*, *P. cerasoides* and *C. acuminatissima* increased with increasing seed sizes, but there was no relationship for *G. arborea* and *S. axillaris*. Seedling survival in the nursery was not correlated with seed size.

There were some correlations between seedling performance in the field and seed (pyrene) size, germination characteristics and seedling performance in the nursery. However, the correlations were equivocal and weak.

Four standards for selection of superior seed trees were recognized: (*i*) 70% or greater sapling survival in the field, (*ii*) a sapling height of 100 cm or taller after the first growing season in the field, (*iii*) 40% or greater germination in the nursery and (*iv*) 70 % or higher seedling survival in nursery. Twelve seed trees of *S. axillaris*, twenty-one for *P. cerasoides* and seventeen for *C. acuminatissima* met these standards and were therefore selected as the superior seed trees. *M. toosendan* and *G. arborea* had no seed trees that qualified in all 4 standards. Seeds for seedling production in reforestation programme should be collected from those seed trees.

The genetic diversity of *P. cerasoides* and *C. acuminatissima* was examined using microsatellite markers. This study enables a more informed selection of seed

trees in our forest restoration programmes. Firstly, the F_{ST} values indicate that there is no differentiation between the three *C. acuminatissima* populations, hence seed may be collected and moved between the three National parks. In contrast, there is significant differentiation amongst the three populations of *P. cerasoides*, indicating that for this species, seed should be collected locally, and not transferred between the National parks. Secondly, the data for both species suggests a large amount of genetic diversity, because of the high number of rare and low-frequency microsatellite alleles. Seed should therefore be collected from as many trees as possible, certainly within, or close to the FAO recommendation of 25-50 individuals per population (FAO Forest Resources Division, 1995).

Furthermore, I believe that microsatellite data can 'inform' a genetic conservation programme at this time, in the absence of more sophisticated genetic data, through the selection of individuals to capture microsatellite allelic diversity. To capture genetic diversity, two alternative algorithms were designed to: select individual seed trees based on their individual genotype (model I) and randomly select seed trees from a population of unknown genetic makeup (model II). This approach is presented and discussed fully in Chapters 6 and 7.

By combining the additional field data relating to establishment and growth rates, with the nursery performance and genetic information, I expect to have a more robust, practical procedure for identifying parent seed trees.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การคัดแม่ไม้ยืนต้นที่ดีเพื่อใช้ในโครงการฟื้นฟูป่าให้ได้ประสิทธิภาพสูงสุดโดยยังคงไว้ซึ่งความหลากหลายทางพันธุกรรม
ชื่อผู้เขียน	นายเกริก ผักกาด
วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต	สาขาวิชาชีววิทยา

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

ดร. สตีเฟน เอลเลียต	ประธานกรรมการ
ร.ศ. ดร. วิไลวรรณ อนุสารสุนทร	กรรมการ
นาย เจมส์ เอฟ แมกซ์เวลส์	กรรมการ
ดร. เดวิด บลาเคสลี	กรรมการ
ดร. จอร์จ เกลล์	กรรมการ

บทคัดย่อ

การฟื้นฟูป่าโดยวิธีพรรณไม้โครงสร้างได้นำมาแก้ปัญหาการทำลายป่าในเขตร้อน โดยการคัดเลือกปลูกชนิดของต้นไม้ที่ช่วยในการฟื้นฟูสภาพป่าตามธรรมชาติและการกลับคืนมาของความหลากหลายทางชีวภาพ จากการทดลองปลูกในแปลงทดลอง พบว่าอัตราการเจริญเติบโต อัตราการอยู่รอดของต้นกล้าพรรณไม้โครงสร้างที่ปลูกในป่าเสื่อมโทรมในเขตภาคเหนือของประเทศไทยมีความผันแปรมาก เป็นผลสืบเนื่องมาจากความแตกต่างกันของเมล็ดที่ได้มาจากแต่ละต้นแม่ วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อที่จะพัฒนาหลักเกณฑ์ในการคัดเลือกแม่ไม้ยืนต้นที่ดีที่สุดเพื่อใช้ในโครงการฟื้นฟูป่า

พรรณไม้ยืนต้นที่ทำการศึกษา 5 ชนิด ได้แก่ มะกอกห้ารู (*Spondias axillaris* Roxb. - Anacardiaceae), เลี่ยน (*Melia toosendan* Sieb. & Zucc. - Meliaceae), ซ้อ (*Gmelina arborea* Roxb. - Verbenaceae), นางพญาเสือโคร่ง (*Prunus cerasoides* D. Don - Rosaceae) และ ก่อเดือย

(*Castanopsis acuminatissima* (Bl.) A. DC. - Fagaceae) ซึ่งได้รับการคัดเลือกให้เป็นพรรณไม้โครงสร้างที่มีศักยภาพในการฟื้นฟูป่าในเขตร้อนชื้น

ผลการศึกษาทั้งในเรือนเพาะชำและในแปลงทดลองแสดงถึงความผันแปรของอัตราการเจริญเติบโต อัตราการอยู่รอดของต้นกล้าซึ่งได้มาจากแม่ไม้จำนวนอย่างมากที่สุด 50 ต้น ของพรรณไม้ที่ศึกษาทั้ง 5 ชนิด การศึกษาในครั้งนี้ยังพบความสัมพันธ์ระหว่าง ขนาดของเมล็ด ลักษณะการงอก อัตราการเจริญเติบโต อัตราการอยู่รอดทั้งในเรือนเพาะชำและในแปลงปลูก แต่ความสัมพันธ์เหล่านี้ผสมผสานกัน

เมล็ด (pyrene) ของ มะกอกห้ารู เลี่ยน และก่อเดือย มีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อต้นแม่ไม้เจริญอยู่ในระดับความสูงจากระดับน้ำทะเลที่สูงขึ้น แต่ไม่พบความสัมพันธ์นี้ในซ้อและนางพญาเสือโคร่ง

อัตราการงอกของเลี่ยนและก่อเดือยเพิ่มขึ้นเมื่อเมล็ดมีขนาดใหญ่ขึ้น แต่ในทางตรงกันข้ามอัตราการงอกของซ้อเพิ่มขึ้นเมื่อขนาดของเมล็ดลดลง ไม่พบความสัมพันธ์นี้ในมะกอกห้ารูและนางพญาเสือโคร่ง ค่าเฉลี่ยขนาดเมล็ดที่งอกของเลี่ยนกับก่อเดือย ใหญ่กว่าค่าเฉลี่ยขนาดของเมล็ดที่ไม่งอก ขณะที่ค่าเฉลี่ยขนาดเมล็ดที่งอกของซ้อและนางพญาเสือโคร่งกลับมีขนาดเล็กกว่าค่าเฉลี่ยของเมล็ดที่ไม่งอก

อัตราการงอกมีความแปรผกผันกับระยะเวลาที่ใช้ในการงอกและค่ากลางของระยะพักตัวของเมล็ด สำหรับทุกชนิดที่ทำการศึกษา

นอกจากนั้นยังพบความสัมพันธ์ระหว่างขนาดของเมล็ดกับขนาดของต้นกล้าในเรือนเพาะชำ และมีความสัมพันธ์ที่ไม่เด่นชัดกับอัตราการเจริญเติบโต ขนาดรอบโคนต้นกล้าของเลี่ยน นางพญาเสือโคร่ง และ ก่อเดือย มีขนาดเพิ่มขึ้นเมื่อเมล็ดมีขนาดใหญ่ขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม ไม่พบความสัมพันธ์นี้ในซ้อและมะกอกห้ารู อัตราการอยู่รอดของต้นกล้าในเรือนเพาะชำไม่มีความสัมพันธ์กับขนาดของเมล็ด

พบความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจริญเติบโต อัตราการอยู่รอดของกล้าไม้ในแปลงทดลอง กับขนาดของเมล็ด ลักษณะการงอกและอัตราการเจริญของต้นกล้าและอัตราการอยู่รอดในเรือนเพาะชำ แต่ความสัมพันธ์มีความสับสนและไม่เด่นชัด

หลักเกณฑ์ 4 ข้อในการคัดเลือกแม่ไม้ยืนต้นที่ดี ได้แก่ (1) อัตราการอยู่รอดของต้นกล้าในแปลงทดลอง ร้อยละ 70 หรือมากกว่า (2) หลังจากปลูกในแปลงทดลอง 1 ฤดูการเจริญเติบโต ความสูงของต้นกล้าสูง 100 เซนติเมตรหรือมากกว่า (3) อัตราการงอกของเมล็ดร้อยละ 40 หรือมากกว่า (4) อัตราการอยู่รอดของต้นกล้าในเรือนเพาะชำร้อยละ 70 หรือมากกว่า ต้นแม่ที่มีคุณลักษณะเข้าหลักเกณฑ์นี้คือ มะกอกห้ารูจำนวน 12 ต้น ก่อเดือย 17 ต้น นางพญาเสือโคร่งจำนวนชนิดละ 21 ต้น เลี่ยนและซ้อไม่มีต้นแม่ที่มีคุณลักษณะเข้าหลักเกณฑ์ทั้ง 4

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของนางพญาเสือโคร่งและก่อเดือย โดยใช้เทคนิค microsatellite marker การศึกษาในครั้งนี้จะทำให้มีความรู้สำหรับการคัดเลือกแม่ไม้ในโครงการฟื้นฟูป่าของเราดีขึ้น ประการแรก ค่า F_{ST} แสดงให้เห็นว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของก่อเดือยไม่มีความแตกต่างกันระหว่าง 3 กลุ่มประชากร ดังนั้นจึงสามารถจะเก็บเมล็ดได้ในอุทยานแห่งชาติทั้ง 3 แห่ง ในทางตรงกันข้าม ความหลากหลายทางพันธุกรรมของนางพญาเสือโคร่งมีความแตกต่างกันระหว่างประชากร ซึ่งแสดงว่าเมล็ดควรจะเก็บในแต่ละท้องที่และไม่ควรเคลื่อนย้ายระหว่างประชากร ประการที่สอง ข้อมูลทางด้านความหลากหลายทางพันธุกรรมของทั้ง 2 ชนิด บ่งบอกว่าต้นไม้ทั้งสองชนิดมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง เนื่องจากมีอัลลีลที่หายากจำนวนมากและแต่ละ microsatellite อัลลีลที่มีความถี่ต่ำ ดังนั้นการเก็บเมล็ดควรจะเก็บมาจากต้นแม่จำนวนมากเท่าที่จะทำได้ ซึ่งก็ตรงกับที่องค์การอาหารแห่งสหประชาชาติ (FAO) ได้แนะนำไว้ว่าเมล็ดควรจะเก็บจากต้นแม่จำนวน 25-50 ต้นในแต่ละประชากร

นอกเหนือกว่านั้น ผู้วิจัยเชื่อว่าข้อมูลของ microsatellite สามารถที่จะให้ความกระจ่างชัดเกี่ยวกับโครงการอนุรักษ์ความหลากหลายทางพันธุกรรมได้ โดยการคัดเลือกแต่ละแม่ไม้ที่มีความหลากหลายของ microsatellite อัลลีล เพื่อที่จะคัดเลือกความหลากหายทางพันธุกรรมดังกล่าว จึงกำหนดแบบแผนทางคณิตศาสตร์ขึ้น 2 โมเดล คือเลือกแม่ไม้แต่ละต้นที่ทราบ genotype แล้ว (โมเดลที่ 1) และคัดเลือกแม่ไม้โดยสุ่มจากประชากรที่ไม่ทราบองค์ประกอบของสารพันธุกรรม (โมเดลที่ 2) ซึ่งได้เสนอวิธีการและข้ออภิปรายปัญหาและในบทที่ 6 และ 7

เมื่อนำข้อมูลทางด้านความหลากหลายทางพันธุกรรมมารวมกับข้อมูลอัตราการเจริญเติบโต อัตราการอยู่รอดของกล้าไม้ทั้งในเรือนเพาะชำและแปลงทดลองก็จะทำให้หลักเกณฑ์ในการคัดเลือกต้นแม่มีความสมบูรณ์ชัดเจนมากยิ่งขึ้น