Thesis Title In Vitro Propagation of Black Kwao Keur

(Mucuna macrocarpa Wall.)

**Author** Miss Thanpitcha Wongsriwiwat

**Degree** Master of Science (Biological Science)

Supervisory Committee Lecturer Dr. Sayamrat Panpoom Chairperson

Lecturer Dr. Chalermpol Kerdmanee Member

Assoc. Prof. Yuthana Smitasiri Member

## **ABSTRACT**

Mucuna macrocarpa Wall. (black Kwao Keur) is a Thai medicinal plant species in imminent danger of extinction. Since natural regeneration is poor by seeds and plant growth is very slow. So, asexual propagation is necessary. Protocols for callus induction of M. macrocarpa have been established. Murashige and Skoog 1962 (MS) and McCown and Lloyd 1981 (WPM) media were used as basal medium. The internodal explants were cultured on medium supplemented with various combinations of auxins and cytokinins for 4 weeks for callus formation. Creamy compact callus initiated on MS medium and WPM containing 2.0 mg/l Ct-Naphthaleneacetic acid (NAA) and 1.0 mg/l 6-Benzyl-aminopurine (BAP). The highest growth and size increasing were observed in the callus cultured on MS medium containing 2.0 mg/l 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and 1.0 mg/l BAP. Multiplied shoots were induced from nodal explants through forced axillary branching in vitro. The explants cultured on the medium containing 1.0 mg/l NAA and 1.5 mg/l BAP exhibited the highest number of developed shoot. However, the frequency of shoot proliferation on media containing BAP alone was relatively low and there were fewer number of shoots in each explant when compare with

those on media the containing NAA and BAP. The shoot multiplication was not observed on medium lacking plant growth regulators. The two to three cm long shoots rooted on both MS medium containing NAA or Indole-3-butyric acid (IBA) alone. The highest number of rooting was markedly enhanced by containing the medium with a combination of 2.0 mg/l NAA. The rooted plantlets were successfully acclimatized for 4 weeks. The regenerated plants did not show any detectable phenotypic variation.

**Keywords:** Kwao Keur / *Mucuna macrocarpa Wall.* / *in vitro* propagation / plant tissue culture / medicinal woody climber



ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การขยายพันธุ์กวาวเครือคำ (Mucuna macrocarpa Wall.)

ในสภาพปลอดเชื้อ

ผู้เขียน นางสาวธัญพิชชา วงศ์ศรีวิวัฒน์

หลักสูตร วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ)

**คณะกรรมการที่ปรึกษา** อาจารย์ คร. สยามรัฐ ป้านภูมิ ประธานกรรมการ

อาจารย์ คร. เฉลิมพล เกิดมณี กรรมการ รองศาสตราจารย์ ยุทธนา สมิตะสิริ กรรมการ

## บทคัดย่อ

กวาวเครือคำ (Mucuna macrocarpa Wall.) เป็นพืชสมุนไพรของไทยที่มีค่าต่อการ ศึกษาวิจัย มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและมีความเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ การขยายพันธุ์กวาวเครือคำ ด้วยเมล็ดมักมีข้อจำกัดด้านการพักตัวและการเจริญเติบโตซ้า จึงเป็นต้องใช้การขยายพันธุ์ กวาวเครือคำในสภาพปลอดเชื้อเข้าช่วย การชักนำแคลลัสกวาวเครือคำสามารถทำได้โดยการใช้ ชิ้นส่วนลำตันอ่อนวางเลี้ยงบนอาหารสูตรพื้นฐาน Murashige และ Skoog (1962) (MS) และ McCown และ Lloyd (1981) (WPM) เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินร่วมกับไซโตโคนินเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าแคลลัสชนิดแข็งสีครีมเกิดบริเวณรอยตัดของชิ้นส่วนลำต้น อ่อนที่วางเลี้ยงบนอาหารทั้งสูตร MS และ WPM เติม NAA ความเข้มข้น 2.0 มก/ล ร่วมกับ BAP ความเข้มข้น 1.0 มก/ล อาหารสูตรที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของแคลลัสและซักนำให้แคลลัสมี ขนาดใหญ่ คือ MS เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2.0 มก/ล ร่วมกับ BAP กวามเข้มข้น 1.0 มก/ล การชัก นำการสร้างยอดรวมจากชิ้นส่วนข้อของกวาวเครือคำเกิดขึ้นได้ดีบนอาหารสูตรที่เติม NAA ความ เข้มข้น 1.0 มก/ล ร่วมกับ BAP ความเข้มข้น 1.5 มก/ล การชักนำรากของกวาวเครือคำนำยอดที่ได้ จากการชักนำในสภาพปลอดเชื้อขนาดความสูง 2-3 ซม. มาวางเลี้ยงในอาหารสูตร MS เติม NAA หรือ IBA พบว่าอาหารสูตร MS เติม NAA ความเข้มข้น 2.0 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดรากใน

ปริมาณมาก หลังจากนั้นนำต้นพืชที่สมบูรณ์มาปรับสภาพเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ก่อนนำไปปลูกใน สภาพธรรมชาติ อย่างไรก็ตามต้นพืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อนั้นไม่พบว่ามีการ เปลี่ยนแปลงที่แสดงออกทางกายภาพ (phenotypic variation)

คำสำคัญ : เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ / กวาวเครือคำ / การขยายพันธุ์

