

## บทที่ 5

### สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของเอื้องมรกตครั้งนี้เป็นการศึกษาเพื่อสนับสนุนงานอนุรักษ์พันธุ์กรรมกล้วยไม้ป่า โดยการศึกษาทดลองเพื่อหาวิธีการขยายพันธุ์กล้วยไม้ป่า ซึ่งมีปริมาณลดน้อยลงเรื่อย ๆ ในแหล่งเจริญเติบโตดั้งเดิม เอื้องมรกตเป็นกล้วยไม้ป่าประเภทกล้วยไม้ดินซึ่งปกติเป็นกล้วยไม้ที่หายากอยู่แล้ว และปัจจุบันนับได้ว่าเป็นกล้วยไม้ดินชนิดที่เสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ เนื่องจากมีลักษณะสวยแปลกตาจึงมีการนำออกมาจากแหล่งกระจายพันธุ์ เพื่อนำไปใช้ประโยชน์โดยไม่มีการอนุรักษ์ และด้วยเหตุที่เป็นกล้วยไม้ดินที่เจริญในสภาพธรรมชาติในป่าผสมผลัดใบซึ่งมีการชะล้างพังทลายของดินค่อนข้างสูง และเป็นพื้นที่ที่เสี่ยงต่อการเกิดไฟป่าอีกด้วย

ในการทดลองขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนี้ได้ทดลองกับเนื้อเยื่อซึ่งเป็นส่วนประกอบทั้งทางกิ่งใบ และทางเมล็ด สำหรับเนื้อเยื่อที่เป็นประเภทไม้อาศัยเพศนั้น ได้ทดลองกับเนื้อเยื่อปลายยอด ก้านใบ และใบ ส่วนการขยายโดยอาศัยเพศนั้นใช้วิธีการเพาะเมล็ดและการเพาะเรณูจากอับเรณูในระยะที่ยังอ่อนอยู่

การศึกษาดทดลองประกอบด้วยการศึกษาโครงสร้างของต้นเอื้องมรกต การขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ การเพาะเลี้ยงอับเรณู และผลของอายุฝักต่อการงอกของเมล็ด ผลการศึกษาทดลองสรุปและวิจารณ์ได้ดังนี้

#### 1. การศึกษาโครงสร้างของต้นเอื้องมรกต

การศึกษาโครงสร้างของต้นเอื้องมรกตเป็นการศึกษาโครงสร้างของต้นพืชทั้งโครงสร้างภายนอกและโครงสร้างภายใน เพื่อที่จะได้ทำความรู้จักกับต้นพืช และจะได้นำข้อมูลไปใช้ให้เป็นประโยชน์โดยเฉพาะอย่างยิ่งข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการนำส่วนของพืชแต่ละส่วนไปตัดเป็นชิ้นส่วนเพื่อการเพาะเลี้ยง

##### 1.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของส่วนประกอบของเอื้องมรกต พบว่าต้นพืชเป็นกล้วยไม้ดินที่มีหัวอยู่ใต้ดิน หัวมีลักษณะเป็นหัวแบบคอร์ม ที่มีลักษณะเฉพาะตัว คือมีรูปร่างป้านที่โคนแล้วเรียวไปทางปลาย หัวมีรูปร่างไม่ได้สมมาตรคือ ด้านหนึ่งโป่งออกทางด้านข้าง ส่วน

อีกด้านหนึ่งมีลักษณะแบน ซึ่งลักษณะนี้เกิดจากการขยายตัวของหัวในระยะสะสมอาหารนั้นไม่ได้สมมาตร จึงทำให้หัวดูเบี้ยว ต้นพืชมีใบเป็นแบบใบพับจีบ สีเขียว รูปรี เรียงแบบสลับ แผ่นใบแผ่คลุมดิน ช่อดอกเป็นแบบช่อกระจุก ตั้งตรง ก้านช่อดอกมีลักษณะเป็นกรวยยาวตลอดก้าน ดอกเป็นดอกสมบูรณ์เพศแบบสมมาตรด้านข้าง มีกลีบเลี้ยง 3 กลีบ กลีบดอก 2 กลีบ และกลีบปาก มีสีเขียว กลีบปากรูปเกือบกลมมีแผ่นปากหนา มีขนาดใหญ่และเด่นกว่ากลีบอื่น มีแถบเส้นตรงแบน ๆ สีเขียวเข้มเป็นเงามัน และหนา แถบแบนนี้พาดตามยาวไปตามกลีบปาก เส้นแวงมีขนาดเล็ก สีเขียว ปลายโค้งและมีปีกบาง ๆ รังไข่ อยู่ในแนวระนาบระดับเดียวกับกลีบเลี้ยงด้านบน ฝักเป็นผลแบบผลแห้งแตก รูปขอบขนาน ปลายฝักเรียวแหลม

ลักษณะที่ได้รายงานมานี้ สอดคล้องกับที่ได้มีนักวิจัยหลายท่าน ได้บรรยายไว้ (สลิท, 2549; อบฉันท, 2543; และ Seidenfaden, 1976)

## 1.2 การศึกษาลักษณะทางกายวิภาควิทยา

การศึกษาลักษณะทางกายวิภาควิทยาเป็นการนำส่วนประกอบของต้นพืชซึ่งเป็นส่วนที่น่าจะนำไปเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้สำเร็จคือ ก้านช่อดอก ใบ และ ดอก จากเนื้อเยื่อที่ตัดตามยาวและตามขวางของเอื้องมรกต พบว่ามีโครงสร้างทางกายวิภาค สรุปได้ดังนี้

**ปลายยอด** ประกอบด้วยเซลล์เจริญที่ปลายยอดซึ่งน่าจะต้นตัวที่จะแบ่งเซลล์ได้ตลอดเวลาตามหน้าที่ ซึ่งจะต้องมีการสร้างจุดกำเนิดใบที่ต่อมาเจริญไปเป็นใบ โดยมีตาข้างเกิดที่ซอกของใบอ่อน และเนื้อเยื่อเจริญดังกล่าวนี้สามารถที่จะได้รับการชักนำให้เจริญเป็นยอดและแตกเป็นหน่อออกมาได้

**ก้านช่อดอก** มีโครงสร้างเป็นโครงสร้างของลำต้นซึ่งจากภาคตัดขวางพบว่าประกอบด้วยเนื้อเยื่อผิวที่เป็นชั้นของเซลล์พารากิมา 1 ชั้น เนื้อเยื่อพื้นประกอบด้วยเซลล์พารากิมาที่มีผนังบาง รูปร่างไม่แน่นอน เซลล์พื้นในคอร์เทกซ์ซึ่งอยู่ระหว่างกลุ่มของมัดท่อลำเลียงที่อยู่ในบริเวณรอบนอกของลำต้นเป็นเซลล์สเคลอเรนจิม และเกิดในแนวรัศมีเห็นเป็นขอบเขตที่ชัดเจนเนื่องจากเกิดขึ้นหลายชั้นเซลล์ และผนังเซลล์ย้อมติดสีเข้ม มัดท่อลำเลียงเป็นแบบท่อลำเลียงเฉียงข้างที่มีเซลล์ไซเล็มอยู่ด้านในและเซลล์โฟลเอ็มอยู่ด้านนอก มัดท่อลำเลียงด้านนอกมีขนาดเล็กกว่ามัดท่อลำเลียงด้านใน โครงสร้างของก้านช่อดอกนี้ เมื่อเทียบกับโครงสร้างของลำต้นของช้างผสมโคลง (จารุภัทร, 2549) ว่านจูนาง (สลิษา, 2549) และเอื้องน้ำต้น (จารุวรรณ, 2550) แล้วพบว่ามีความคล้ายคลึงกัน

**ใบ** เนื้อเยื่อพื้นของใบเอื้องมรกตเป็นเซลล์พารากิมาที่มีรูปร่างหลายเหลี่ยมจนเกือบกลม มีขนาดไม่สม่ำเสมอ เนื้อเยื่อมีไซฟิลล์ไม่แยกเป็นแพลิสเตด และสpongiji มีลักษณะคล้ายกับช้างผสมโคลง (จารุภัทร, 2549) ว่านจูนาง (สลิษา, 2549) และเอื้องน้ำต้น (จารุวรรณ, 2550) ที่พบ

เนื้อเยื่อพื้นไม่แยกเป็นเซลล์เพลิวและเซลล์สปองจิ แต่เป็นเนื้อเยื่อที่เป็นเซลล์พาราเรติคูลาหลายรูปร่าง หลายขนาดเรียงตัวแน่นอยู่เต็มพื้นที่ สอดคล้องกับรายงานของ Stern and Judd (2002) มัดท่อลำเลียงเป็นแบบท่อลำเลียงเคียงข้างเรียงตัวกันเป็นแถวเดี่ยว มีเซลล์ไซเล็มอยู่ผิวใบด้านบนใบและเซลล์โฟลเอ็มอยู่ผิวใบด้านใต้ใบเช่นเดียวกับใบของช้างผสมโคลง วานจงนาง และเอื้องน้ำคั้น (จารุภัทร, 2549; ศลิษา, 2549; จารุวรรณ, 2550) ใบของเอื้องมรกตมีเส้นใบทั้งขนาดใหญ่และเส้นใบย่อย ซึ่งเห็นได้จากมัดท่อลำเลียงในภาคตัดขวางซึ่งเรียงตัวกันเป็นแถวเรียงเดี่ยว มีหลายขนาดและอยู่ใกล้ ๆ กัน ซึ่งเซลล์ของเนื้อเยื่อลำเลียงนี้สามารถที่จะเจริญไปเป็นเซลล์เจริญที่ต้นตัวและพร้อมที่จะแบ่งเซลล์ได้ ซึ่งถ้ามีในปริมาณมากก็จะมีผลในการกระตุ้นหรือชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ได้มากตามไปด้วย

**ดอก** จากการศึกษาส่วนประกอบของดอกของเอื้องมรกต ที่มีความยาว 0.3-0.8 ซม พบว่าดอกมีส่วนประกอบครบทุกวง อวัยวะย่อยซึ่งเป็นส่วนประกอบของดอกมีระบบเนื้อเยื่อในลักษณะปกติ ระบบเนื้อเยื่อของกลีบเลี้ยงและกลีบดอกเป็นลักษณะเดียวกับของใบ เอื้องมรกตมีกลุ่มเรณูที่มีขนาดค่อนข้างใหญ่และจากการตัดเนื้อเยื่อดอกอ่อน พบว่าเรณูมีลักษณะอัดแน่นเป็นก้อน จะเห็นว่ากลุ่มเรณูดอกขนาดใหญ่เริ่มหลุดออกมาจากโพรงอับเรณู

## การทดลองที่ 2 การขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ

การขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อเป็นการนำเนื้อเยื่อกิ่งใบมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยการทดสอบคุณสมบัติในการชักนำการแตกหน่อ แยกยอด และออกรากของไซโตไคนินและออกซินร่วมกับสูตรของอาหารเพาะเลี้ยง ส่วนชนิดของเนื้อเยื่อนั้นมี 3 แบบ คือ เนื้อเยื่อปลายยอด ก้านใบ และเนื้อเยื่อใบ ผลการทดลองสรุปได้ดังนี้

### 2.1 ผลของไซโตไคนินต่อเนื้อเยื่อปลายยอด

ไซโตไคนินที่ใช้มี 3 ชนิด คือ BA, TDZ และ zeatin ผลที่มีต่อการเจริญของเนื้อเยื่อปลายยอดของเอื้องมรกตนั้น พบว่า มีไซโตไคนินชนิดเดียวที่ให้ผลในทางส่งเสริมการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อคือ zeatin ซึ่งชักนำให้เกิดการแตกหน่อได้มากมาย และเกิดใบมากมายเช่นกัน เมื่อเทียบกับ BA และ TDZ แต่ผลการทดลองที่ได้นี้ขัดแย้งกับการทดลองของ สุวรรณ (2548) ได้ศึกษาผลของไซโตไคนินกับกล้วยไม้ 3 สกุล คือ *Coelogyne tenasserimensis* Scidenf. เอื้องทอง (*Dendrobium ellipsophyllum* Tang & Wang) และเข็มขาว (*Vanda lilacina* Teijsm & Binnend) ที่พบว่า TDZ เข็มชัน 5 มิลลิโมลาร์ ชักนำให้กล้วยไม้ 3 ชนิดนั้นเกิดยอดได้มาก และ BA ให้ผลดีรองลงไป ส่วนการชักนำใบและรากนั้น BA ให้ผลดีที่สุด ดังนั้นจึงเห็นว่า ไซโตไคนินต่างชนิดกันมีผล

แตกต่างกันต่อกลิ้วยไม้แต่ละชนิด และสูตรอาหารที่มีส่วนประกอบของสารแตกต่างกัน น่าจะมีผลร่วมด้วย

## 2.2 ผลของไซโตไคนินต่อเนื้อเยื่อถิ่นช่อดอก

การนำเนื้อเยื่อถิ่นช่อดอกมาเพาะเลี้ยงนั้น พบว่ามีปัญหาในการเกิดการปนเปื้อนของเนื้อเยื่อในขวดอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม่มีการเจริญ และตายไปเมื่อเวลาผ่านไป 2 สัปดาห์ การปนเปื้อนที่เป็นสาเหตุในครั้งนี้อาจจะเนื่องมาตั้งแต่ขั้นตอนของการฟอกฆ่าเชื้อให้ถิ่นช่อดอก โดยที่วิธีการทำความสะอาดชิ้นส่วนถิ่นช่อดอก และความเข้มข้นของสารฟอกฆ่าเชือนั้นยังไม่ได้เพียงพอ และยังไม่เหมาะสมกับเนื้อเยื่อพืชชนิดนี้ และอาจจะทำอันตรายต่อชิ้นส่วนของพืชได้ (บุญยืน, 2540) เป็นผลให้เนื้อเยื่อตาย และไม่มีการเจริญของเนื้อเยื่อเช่นเดียวกับที่ ประทุมพร (2538) รายงานไว้ว่า ได้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของประยงค์ โดยใช้ชิ้นส่วนยอด และส่วนข้อจากตำแหน่งข้อที่แตกต่างกันบนอาหารสูตร WPM พบว่า 2 สัปดาห์แรกชิ้นส่วนมีการเจริญได้ดี แต่เมื่อเพาะเลี้ยงผ่านไป 4 สัปดาห์ เนื้อเยื่อแสดงการปนเปื้อน และเนื้อเยื่อเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และตายในที่สุด

## 2.3 ผลของไซโตไคนินต่อเนื้อเยื่อใบ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบในอาหารที่เติมไซโตไคนินนั้นพบว่า เนื้อเยื่อในทุกกรรมวิธีไม่มีการเจริญเติบโต เนื้อเยื่อเปลี่ยนจากสีเขียวกลายเป็นสีน้ำตาล และบริเวณรอยตัดมีสีน้ำตาลเข้ม ทั้งนี้อาจเกิดจากการที่เนื้อเยื่อพืชกระทบกระเทือนจากการย้ายขวดและเปลี่ยนสูตรอาหารจากสูตร MS ที่ใช้ในการขยายต้นเป็น สูตร VW หรืออาจจะเกิดการกระทบกระเทือนและเนื้อเยื่อเสียหายจากการเกิดบาดแผล โดยที่บาดแผลอาจจะสร้างสารประกอบกลุ่มฟิโนลิกขึ้นเป็นจำนวนมากที่บริเวณบาดแผลเพื่อช่วยอุดแผลให้หายเป็นปกติ และเนื้อเยื่อในส่วนที่เป็นแผลก็จะตายไปเพื่อปิดรอยเปิดไม่ให้เนื้อเยื่อสูญเสียน้ำ หรือทำให้เชื้อสาเหตุของโรคเข้าไปทำอันตรายเนื้อเยื่อจนเป็นอันตรายต่อต้นพืช ซึ่งสิ่งนี้เป็นผลในการขัดขวางการดูดซึมสารอาหาร และยับยั้งการเจริญเติบโตของชิ้นส่วน (สุมนทิพย์, 2541) จึงทำให้เนื้อเยื่อบริเวณรอยตัดมีการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและลามเข้าสู่ชิ้นส่วนจนชิ้นส่วนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลทั้งหมดและตายไป

## 2.4 ผลของไซโตไคนินร่วมกับ NAA ต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อน

ผลของ zeatin ร่วมกับ NAA ต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนนั้น พบว่า ผลหลักของ zeatin และ NAA นั้นให้ผลในแง่ของการยับยั้งหรือชะลอการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเป็นส่วนใหญ่ และกรรมวิธีควบคุมหรืออาหารที่ไม่ใส่ทั้ง zeatin และ NAA ให้ผลดีกว่าในทุกด้านของการเจริญเติบโตที่ได้วัดผลไว้ จึงน่าจะกล่าวได้ว่า ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อครั้งนี้คงจะไม่จำเป็นที่จะต้องใส่สารควบคุมการเจริญเติบโตเพิ่มเติมลงไป ในอาหารสูตรมาตรฐานที่น่าจะมีสารที่เพียงพอต่อความ

ต้องการแล้ว โดยที่ ความต้องการของเนื้อเยื่อต่อสารแต่ละชนิดนั้นย่อมแตกต่างกันไปอยู่แล้ว และเชื่อว่าเกี่ยวข้องกับระดับของฮอร์โมนที่อยู่ภายในด้วย ดังนั้นการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตลงในอาหารจึงอาจไม่จำเป็นเสมอไป โดยเฉพาะในการเลี้ยงเซลล์ซึ่งมีเนื้อเยื่อพืชไม่กี่ชนิดที่สร้างเซลล์ได้ในอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (บุญยืน, 2540; รั้งสฤษฎ์, 2540; สัมฤทธิ์, 2544) สอดคล้องกับรายงานของ ราตรี (2547) ในการศึกษาผลของสารออกซิน และไซโตไคนินต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้านางอ้วนน้อยในสภาพปลอดเชื้อพบว่าการเพาะเลี้ยงต้นกล้านางอ้วนน้อยบนอาหารวุ้นที่ไม่เติมทั้ง NAA และ IBA มีผลทำให้ต้นกล้ามีความแข็งแรงของต้นและมีอัตราการรอดชีวิตหลังการออกปลูกภายนอกสูงที่สุด

ในส่วนของปฏิสัมพันธ์ระหว่าง NAA และ zeatin นั้น ผลการทดลองไม่ชัดเจนเนื่องจากความเข้มข้นของ NAA ที่ให้ผลนั้นมีเพียงระดับเดียวซึ่งเปรียบเทียบไม่ได้

## 2.5 ผลของสภาพอาหารต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อน

การศึกษาสภาพทางกายภาพของอาหารเพาะเลี้ยงสูตร VW พบว่าต้นพืชที่เลี้ยงในอาหารเหลวมีข้อดีเหนือการเลี้ยงบนอาหารแข็งเพียงด้านเดียวคือ ความกว้างของต้น ซึ่งผลที่ได้นี้ สอดคล้องกับที่ รั้งสฤษฎ์ (2540) ได้กล่าวว่า โดยทั่วไปแล้วในการเพาะเลี้ยงปลายยอดในอาหารเหลวที่มีการเคลื่อนไหวตลอดเวลาบนเครื่องเขย่านั้น จะทำให้เนื้อเยื่อปลายยอดเจริญเติบโตเป็นโปรโตคอร์ัมได้เรื่อย ๆ หากมีการเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก ๆ 3-4 สัปดาห์ และเมื่อต้องการให้โปรโตคอร์ัมเจริญเติบโตเป็นต้นและรากก็ย้ายไปเลี้ยงบนอาหารแข็ง จะเกิดต้นที่มีใบและราก ซึ่งการเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารเหลวที่มีการเคลื่อนไหวตลอดเวลาเพื่อเพิ่มการสัมผัสกับออกซิเจนของเนื้อเยื่อนั้นเนื้อเยื่อหรือเซลล์ ส่วนใหญ่จะมีการเจริญเติบโตแบบขยายขนาดรอบทิศ (เป็นก้อนกลม) และเพิ่มจำนวนเท่านั้น หากจะให้เซลล์เจริญเป็นต้นโดยมีการเพิ่มความยาว และเกิดใบจำเป็นต้องทำการย้ายลงในอาหารแข็ง เนื่องจากการเขย่าอย่างไรทิศทางของเครื่องเขย่าในการเลี้ยงในอาหารเหลวจะทำให้พืชไม่สามารถเจริญเติบโตโดยตอบสนองต่อแรงดึงดูดโลกได้ (รั้งสฤษฎ์, 2540) สอดคล้องกับงานของ บุญยืน และไพบุลย์ (2527) ซึ่งพบว่าการเจริญของโปรโตคอร์ัมของยี่โถปีนังไม่สามารถเจริญต่อจนเกิดยอดและรากได้ในอาหารเหลว จนกว่าจะทำการย้ายมาเลี้ยงในอาหารแข็งจึงจะเจริญต่อจนพัฒนาเป็นต้นได้

### การทดลองที่ 3 การเพาะเลี้ยงอับเรณู

ในการศึกษาการเพาะเลี้ยงอับเรณูในสภาพปลอดเชื้อนั้นพบว่า อับเรณูในทุกกรรมวิธีไม่มีการเจริญบนอาหารเพาะเลี้ยงซึ่งจะต้องศึกษาทดลองต่อไปเพื่อจะได้สูตรอาหารที่เหมาะสมตลอดจนสารเคมีที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตที่จำเป็นต่อไป



#### การทดลองที่ 4 การศึกษาผลของอายุฟักต่อการงอกของเมล็ด

การศึกษาอายุฟักที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดเอื้องมรกตครั้งนี้ พบว่า ฟักที่มีอายุ 2-4 สัปดาห์หลังจากการผสมเกสร น่าจะอ่อนเกินไป เนื่องจากเอ็มบริโอของเอื้องมรกตไม่เต็ม ที่ ส่วนฟักที่อายุ 5-8 สัปดาห์นั้นเมล็ดแก่พอและงอกได้ ซึ่งอายุของฟักที่เหมาะสมนั้นในพืชแต่ละชนิดแตกต่างกันไป เช่น Nagashima (1989a) ได้ศึกษาการพัฒนาของเอ็มบริโอของกล้วยไม้ดิน *Ponerorchis graminifolia* Reichd. f. ในสภาพปลอดเชื้อ รายงานว่า เมล็ดที่มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุดคือ 40% เป็นเมล็ดอายุ 35-40 วันหลังการผสมเกสร ต่อมาได้ศึกษาการเจริญของเอ็มบริโอของกล้วยไม้ดิน *Cymbidium Koran* Makino พบว่าเปอร์เซ็นต์การงอกขึ้นอยู่กับระยะการพัฒนาของเอ็มบริโอ โดยที่เอ็มบริโอที่เจริญจนสมบูรณ์แล้วสามารถงอกและสร้างไรโซมได้ (Nagashima, 1989b)

การศึกษารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของเอื้องมรกตครั้งนี้สามารถสรุปในภาพรวมได้ว่า การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากเนื้อต้น/กิ่ง/ใบนั้น เนื้อเยื่อปลายยอดตอบสนองดีถ้าใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม ส่วนเนื้อเยื่อก้านและใบนั้นยังมีปัญหาพื้นฐานที่เกี่ยวกับการเตรียมเนื้อเยื่อ การเพาะเลี้ยง ซึ่งจะต้องศึกษาเรื่องเทคนิคต่อไป ส่วนการเพาะเมล็ดนั้นความสำเร็จค่อนข้างจะสูงกว่าเนื้อเยื่อก้าน ทั้งนี้ปัจจัยอื่น ๆ ทั้งด้านสูตรอาหาร สภาพอาหาร และสารเคมีที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตและการชักนำ ยังคงต้องศึกษาอีกมาก ส่วนการเลี้ยงอับเรณูนั้นปัจจัยอาจจะซับซ้อนกว่ายิ่งต้องการการศึกษาเชิงลึกต่อไป