บทที่ 3

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลและอภิปรายผล

ส่วนที่ 1 การประเมินความต้านทานโรคราน้ำค้างของแตงกวาพันธุ์ต่าง ๆ

จากการประเมินความต้านทานโรคราน้ำค้างของแตงกวาพันธุ์การค้าและพันธุ์ปรับปรุงจากบริษัทต่าง ๆ จำนวน 23 พันธุ์ โดยใช้ข้อมูลความรุนแรงของโรคที่ได้จากผลคูณของระดับความต้านทานโรค (0-4 คะแนน) และสีของแผล (0-3 คะแนน) หลังการปลูกเชื้อ 46 และ 65 วัน (ตารางภาคผนวกที่ 1) เมื่อพิจารณาความสามารถในการต้านทานโรคราน้ำค้างของแตงกวาหลังการปลูกเชื้อ 46 วัน พบว่าแตงกวาแต่ละพันธุ์มีความสามารถในการต้านทานโรคราน้ำค้างหลังการปลูกเชื้อ 46 วัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{22, 86}$ = 5.34; P < 0.01; ตารางภาคผนวกที่ 2; ตารางที่ 1) ซึ่งแตงกวาพันธุ์ CU 4305 และพันธุ์สีมา มีความสามารถในการต้านทานโรคราน้ำค้างมากและน้อยที่สุด โดยมีระดับความรุนแรงในการเกิดโรค เท่ากับ 2.00 และ 8.70 ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาความสามารถในการต้านทานโรคราน้ำค้างของแตงกวาทั้ง 23 พันธุ์ หลังการปลูกเชื้อ 65 วัน ดังแสดงในตารางที่ 1 พบว่าแตงกวาแต่ละพันธุ์มีความสามารถในการต้านทานโรคราน้ำค้างแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{22, 85}$ = 4.63; P < 0.01; ตารางภาคผนวกที่ 3) โดยพบว่าแตงกวาพันธุ์ CU 075 และพันธุ์สุวรรณภูมิ มีความสามารถในการต้านทานโรคราน้ำค้างมากและน้อยที่สุด โดยมีระดับความรุนแรงในการเกิดโรค เท่ากับ 2.40 และ 9.90 ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบการประเมินความต้านทานโรคราน้ำค้างของแตงกวา หลังการปลูกเชื้อ 46 และ 65 วัน พบว่าที่อายุ 46 วัน เป็นช่วงที่แตงกวาออกดอกและเริ่มติดผล แตงกวาหลายพันธุ์เริ่มแสดงอาการโรคราน้ำค้างชัดเจน ส่วนที่อายุ 65 วัน เป็นช่วงที่แตงกวาชะลอการออกดอกลง และแตงกวาส่วนใหญ่แสดงอาการของโรคราน้ำค้างรุนแรงขึ้น ดังนั้นในช่วงอายุ 65 วันนี้ จึงทำการเปรียบเทียบระหว่างความรุนแรงของโรคราน้ำค้างในใบทั้งหมด (ประเมินทั้งต้น) กับใบข้อที่ 12 (นับจากด้านบน) และประเมินลักษณะต้นโดยรวมด้วย (ตารางภาคผนวกที่ 1)

จากการเปรียบเทียบระดับความรุนแรงในการเกิดโรคระหว่างใบทั้งหมด (ประเมินทั้งต้น) และใบข้อที่ 12 หลังการปลูกเชื้อ 65 วัน พบว่าระดับความรุนแรงในการเกิดโรคที่ได้จากการประเมินใบทั้งหมดและใบข้อที่ 12 (อายุใบ) มีผลต่อการเกิดโรคราน้ำค้างแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{1, 148}$ = 65.90; P < 0.01; ตารางภาคผนวกที่ 5; ตารางที่ 2) โดยใบทั้งหมดมีระดับความรุนแรงในการเกิดโรคมากกว่าใบข้อที่ 12 คิดเป็น 56 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 1 ความรุนแรงของโรคราน้ำค้างโดยรวมทั้งต้นซึ่งประเมินจากใบทั้งหมดของแตงกวา จำนวน 23 พันธุ์ หลังการปลูกเชื้อ 46 และ 65 วัน

พันธุ์	ความรุนแรงของโรค	
	46 วัน	65 วัน
ไฉไล	5.30 ± 1.43 b-g[a]	5.00 ± 0.00 e-h
หยกขาว	3.94 ± 0.82 e-i	5.00 ± 0.00 e-h
บิ๊กโบนัส	4.35 ± 1.27 d-i	6.30 ± 0.89 b-h
CU 075	2.30 ± 0.70 hi	2.40 ± 0.51 i
CU 4302	3.00 ± 0.84 ghi	7.30 ± 0.80 a-g
CU 4303	7.19 ± 0.31 abc	9.75 ± 0.43 ab
CU 4304	3.60 ± 0.81 f-i	6.30 ± 0.75 b-h
CU 4305	2.00 ± 0.45 i	3.90 ± 0.68 hi
CU 4306	7.95 ± 0.54 ab	7.56 ± 1.26 a-f
CU 4307	6.45 ± 0.48 a-e	8.10 ± 0.76 a-e
CU 4308	2.85 ± 0.57 ghi	5.80 ± 1.16 d-h
อมตะ 2	7.70 ± 0.51 ab	6.30 ± 1.21 c-h
บิ๊กซี	5.75 ± 0.87 a-f	7.20 ± 0.73 a-g
อมตะ 765	5.33 ± 0.67 b-g	8.33 ± 0.67 a-d
สุวรรณภูมิ	4.80 ± 0.49 b-g	9.90 ± 0.37 a
สายฟ้า 185	4.70 ± 1.54 c-i	4.40 ± 0.87 ghi
Natali No.5	7.20 ± 0.50 abc	9.30 ± 0.56 abc
สีมา	8.70 ± 0.87 a	6.40 ± 1.50 c-h
ขุนศรี	4.50 ± 0.77 c-h	4.50 ± 0.74 f-i
มินิ-ซี	4.80 ± 0.49 b-g	7.80 ± 0.50 a-e
สุริยา	7.95 ± 0.51 ab	7.80 ± 1.37 a-e
ไมโคร-ซี	7.10 ± 0.83 a-d	8.50 ± 1.04 a-d
มีชัย	5.00 ± 0.58 b-g	6.67 ± 0.83 a-h

[a] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE ตัวอักษรที่ต่างกันในแถวแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05 จากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 2 การเปรียบเทียบความรุนแรงในการเกิดโรคราน้ำค้างระหว่างใบทั้งหมดและใบข้อที่ 12 หลังการปลูกเชื้อ 65 วัน

ตำแหน่งใบ	ความรุนแรงของโรค
ใบทั้งหมด	6.67 ± 0.25 a[a]
ใบข้อที่ 12	3.71 ± 0.38 b

[a] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE ตัวอักษรที่ต่างกันในแถวแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05 จากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

เมื่อพิจารณาความสามารถในการต้านทานโรคราน้ำค้างของแตงกวาทั้ง 23 พันธุ์ ซึ่งประเมินจากค่าเฉลี่ยความรุนแรงของโรคราน้ำค้างจากใบทั้งหมดและใบข้อที่ 12 หลังการปลูกเชื้อ 65 วัน พบว่าแตงกวาแต่ละพันธุ์มีความสามารถในการต้านทานโรคราน้ำค้างแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{22,\ 148}$ = 6.16; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 5; ตารางที่ 3) โดยเมื่อแบ่งระดับความต้านทานของแตงกวาต่อโรคราน้ำค้างเป็น 3 ระดับ คือ ต้านทาน (0.0-3.0) ต้านทานปานกลาง (3.1-6.0) และอ่อนแอ (≥ 6.1) พบว่ามีพันธุ์แตงกวาที่แสดงความต้านทานต่อโรคราน้ำค้าง จำนวน 3 พันธุ์ (ไฉไล, CU 075 และ CU 4305) ต้านทานปานกลาง จำนวน 11 พันธุ์ (หยกขาว, บิ๊กโบนัส, CU 4302, CU 4304, CU4308, อมตะ 2, บิ๊กซี, สายฟ้า 185, สีมา, ขุนศรี และมีชัย) และอ่อนแอ จำนวน 9 พันธุ์ (CU 4303, CU 4306, CU 4307, อมตะ 765, สุวรรณภูมิ, Natali No.5, มินิ-ซี, สุริยา และไมโคร-ซี) และจากการพิจารณาปฏิสัมพันธ์ระหว่างตำแหน่งใบและพันธุ์แตงกวา พบว่าไม่มีอิทธิพลต่อการเกิดโรคราน้ำค้างร่วมกัน ($F_{22,\ 148}$ = 1.39; $P > 0.05$; ตารางภาคผนวกที่ 5)

ส่วนความปรวนแปรของลักษณะต้นโดยรวมของแตงกวาทั้ง 23 พันธุ์ พบว่าลักษณะต้นโดยรวมของแตงกวาแต่ละพันธุ์ หลังการปลูกเชื้อ 65 วัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{22,\ 86}$ = 6.85; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 4; ตารางที่ 3) ซึ่งแตงกวาทั้ง 23 พันธุ์ มีลักษณะต้นโดยรวมจัดอยู่ในระดับดีถึงดีมาก (1.00-2.90 คะแนน) จำนวน 10 พันธุ์ คิดเป็น 43.48 เปอร์เซ็นต์ โดยแตงกวาพันธุ์ CU 4305 มีลักษณะต้นดีที่สุด (1.90 คะแนน) ส่วนลักษณะต้นโดยรวมระดับปานกลาง (3.00-3.90) มีจำนวน 12 พันธุ์ คิดเป็น 52.17 เปอร์เซ็นต์ และมีเพียงแตงกวาพันธุ์ CU 4306 เพียง 1 พันธุ์ ที่มีลักษณะต้นโดยรวมด้อยที่สุด (4.50 คะแนน) คิดเป็น 4.35 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยความรุนแรงของโรคราน้ำค้างจากใบทั้งหมดและใบข้อที่ 12 ลักษณะต้นโดยรวม และระดับความต้านทานโรคของแตงกวา จำนวน 23 พันธุ์ หลังการปลูกเชื้อ 65 วัน

พันธุ์	ความรุนแรงของโรค	ลักษณะต้นโดยรวม	ระดับความต้านทานโรค
ไฉไล	2.76 ± 0.76 gh[a]	2.60 ± 0.29 e-i	ต้านทาน[b]
หยกขาว	5.93 ± 0.48 a-d	3.38 ± 0.38 b-e	ต้านทานปานกลาง
บิ๊กโบนัส	3.47 ± 1.05 e-h	2.40 ± 0.24 f-i	ต้านทานปานกลาง
CU 075	1.40 ± 0.45 h	2.10 ± 0.10 hi	ต้านทาน
CU 4302	5.95 ± 0.96 a-e	2.20 ± 0.12 ghi	ต้านทานปานกลาง
CU 4303	8.40 ± 0.92 ab	3.13 ± 0.13 b-f	อ่อนแอ
CU 4304	4.75 ± 1.03 c-g	2.90 ± 0.24 d-g	ต้านทานปานกลาง
CU 4305	2.93 ± 0.61 fgh	1.90 ± 0.19 i	ต้านทาน
CU 4306	7.18 ± 0.83 abc	4.50 ± 0.27 a	อ่อนแอ
CU 4307	6.11 ± 1.14 a-e	2.90 ± 0.10 d-g	อ่อนแอ
CU 4308	4.43 ± 1.04 c-g	2.10 ± 0.24 hi	ต้านทานปานกลาง
อมตะ 2	5.89 ± 1.14 a-e	3.50 ± 0.16 bcd	ต้านทานปานกลาง
บิ๊กซี	4.32 ± 1.10 d-g	3.10 ± 0.29 b-f	ต้านทานปานกลาง
อมตะ 765	8.65 ± 0.57 a	3.17 ± 0.44 b-f	อ่อนแอ
สุวรรณภูมิ	8.59 ± 0.99 ab	2.80 ± 0.20 d-h	อ่อนแอ
สายฟ้า 185	3.13 ± 0.83 fgh	3.20 ± 0.51 b-f	ต้านทานปานกลาง
Natali No.5	8.12 ± 0.92 ab	3.10 ± 0.19 b-f	อ่อนแอ
สีมา	5.00 ± 1.41 c-g	3.80 ± 0.20 abc	ต้านทานปานกลาง
ขุนศรี	3.81 ± 1.03 d-g	3.00 ± 0.27 c-f	ต้านทานปานกลาง
มินิ-ซี	6.40 ± 0.79 a-d	3.00 ± 0.22 c-f	อ่อนแอ
สุริยา	6.77 ± 1.47 a-d	3.90 ± 0.19 ab	อ่อนแอ
ไมโคร-ซี	8.23 ± 0.80 ab	3.60 ± 0.10 bcd	อ่อนแอ
มีชัย	5.40 ± 1.10 b-f	2.83 ± 0.17 d-g	ต้านทานปานกลาง

[a] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE ตัวอักษรที่ต่างกันในแถวแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05 จากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

[b] ระดับความต้านทานโรคราน้ำค้างประเมินจากความรุนแรงของโรค ดังนี้ 0.0-3.0 = ต้านทาน, 3.1-6.0 = ต้านทานปานกลาง และ $\geq$ 6.1 = อ่อนแอ

ส่วนที่ 2 การเปรียบเทียบสูตรอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงรังไข่แตงกวา

2.1 การทดลองเปรียบเทียบสูตรอาหารเพาะเลี้ยง ช่วงที่ 1

การศึกษาอิทธิพลของพันธุ์ อุณหภูมิ และอาหารระยะที่ 1

จากผลการประเมินโรคราน้ำค้างของแตงกวา จำนวน 23 พันธุ์ ได้ทำการคัดเลือกพันธุ์แตงกวาเพื่อใช้ในการผลิตสายพันธุ์แท้ที่ต้านทานโรคราน้ำค้าง ซึ่งมีระดับความต้านทานปานกลางถึงต้านทาน จำนวน 4 พันธุ์ คือ พันธุ์ไฉไล บิ๊กซี สายฟ้า 185 และมีชัย และพันธุ์แตงกวาลูกผสมที่นิยมปลูกทั่วไป จำนวน 1 พันธุ์ (พันธุ์มินิคิงซ์) ซึ่งจากการศึกษา 3 ปัจจัย ได้แก่ พันธุ์ อุณหภูมิ และอาหารระยะที่ 1 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัส โดยใช้พันธุ์แตงกวาการค้า ทั้ง 5 พันธุ์ อุณหภูมิ 2 ระดับ (25 และ 35°ซ) และอาหารระยะที่ 1 จำนวน 5 สูตร (I1-I5) พบว่าหลังจากเพาะเลี้ยงรังไข่นาน 2-3 สัปดาห์ เริ่มสังเกตเห็นการเจริญของ ELS และแคลลัสบนรังไข่ ผลการวิเคราะห์แต่ละปัจจัย พบว่ารังไข่ของแตงกวาแต่ละพันธุ์สามารถพัฒนาไปเป็น ELS ได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($F_{4, 231}$ = 1.16; P > 0.05; ตารางภาคผนวกที่ 6; ตารางที่ 4) โดยแตงกวาทั้ง 5 พันธุ์ ได้แก่ ไฉไล บิ๊กซี สายฟ้า 185 มีชัย และมินิคิงซ์ มีเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS เท่ากับ 36.17, 32.93, 31.00, 32.06 และ 24.68 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เช่นเดียวกับการเกิดแคลลัสซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($F_{4, 231}$ = 0.95; P > 0.05; ตารางภาคผนวกที่ 7; ตารางที่ 4) โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส เท่ากับ 46.67, 45.68, 38.78, 33.98 และ 36.10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาอาหารระยะที่ 1 พบว่าอาหารระยะที่ 1 ทั้ง 5 สูตร มีอิทธิพลต่อการเกิดจำนวน ELS แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{4, 231}$ = 10.55; P < 0.01; ตารางภาคผนวกที่ 6; ตารางที่ 5) โดยอาหารสูตร I1 และ I2 สามารถชักนำการเกิด ELS ได้สูงที่สุด (41.85 และ 45.45 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) ส่วนอาหารสูตร I4 ทำให้อัตราการเกิด ELS น้อยที่สุด (15.21 เปอร์เซ็นต์) ในทำนองเดียวกัน อาหารระยะที่ 1 ทั้ง 5 สูตร สามารถชักนำการเกิดจำนวนแคลลัสได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{4, 231}$ = 3.85; P < 0.01; ตารางภาคผนวกที่ 7; ตารางที่ 5) โดยอาหารสูตร I5 ส่งผลให้อัตราการเกิดแคลลัสสูงที่สุด (54.66 เปอร์เซ็นต์) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับอาหารสูตร I4 ซึ่งมีอัตราการเกิดแคลลัส เท่ากับ 44.81 เปอร์เซ็นต์ ส่วนอาหารสูตร I1, I2 และ I3 สามารถชักนำการเกิดแคลลัสได้ไม่แตกต่างกัน (33.36, 35.64 และ 34.09 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ)

ส่วนผลของอุณหภูมิต่อการเกิด ELS ของรังไข่แตงกวา พบว่าอุณหภูมิทั้งสองระดับมีอิทธิพลต่อการเกิด ELS ของรังไข่แตงกวาไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($F_{1, 231}$ = 2.74; P > 0.05; ตารางภาคผนวกที่ 6; ตารางที่ 6) เช่นเดียวกันกับผลของการเกิดแคลลัส ($F_{1, 231}$ = 0.00; P > 0.05; ตารางภาคผนวกที่ 7; ตารางที่ 6) โดยที่อุณหภูมิ 25 และ 35°ซ มีผลทำให้เกิด ELS เท่ากับ 35.08 และ 27.93 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทำให้เกิดแคลลัส เท่ากับ 40.59 และ 39.98 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาปฏิสัมพันธ์ระหว่าง 2 ปัจจัย คือ พันธุ์กับอาหารระยะที่ 1 พันธุ์กับอุณหภูมิ และอาหารระยะที่ 1 กับอุณหภูมิ ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัสของรังไข่แตงกวา พบว่าไม่มีปฏิสัมพันธ์ระหว่าง 2 ปัจจัยต่อการเกิด ELS และแคลลัสของรังไข่แตงกวา (P > 0.05; ตารางภาคผนวกที่ 6 และ 7; ตารางที่ 7)

เช่นเดียวกันกับปฏิสัมพันธ์ระหว่าง 3 ปัจจัย (พันธุ์ อุณหภูมิ และอาหารระยะที่ 1) ซึ่งไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัสของรังไข่แตงกวา ($P > 0.05$; ตารางภาคผนวกที่ 6 และ 7; ตารางที่ 7)

ตารางที่ 4 ผลของพันธุ์แตงกวาต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัส

พันธุ์	ELS (%)	แคลลัส (%)
ไฉไล	36.17 ± 4.53[a]	46.67 ± 4.74
บิ๊กซี	32.93 ± 4.46	45.68 ± 4.84
สายฟ้า 185	31.00 ± 4.29	38.78 ± 4.46
มีชัย	32.06 ± 4.00	33.98 ± 4.25
มินิคิงซ์	24.68 ± 3.98	36.10 ± 4.66

[a] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE

ตารางที่ 5 ผลของอาหารระยะที่ 1 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัสในแตงกวาทั้ง 5 พันธุ์

อาหารระยะที่ 1	ELS (%)	แคลลัส (%)
I1	41.85 ± 3.65 a[a]	33.36 ± 4.23 b
I2	45.45 ± 3.47 a	35.64 ± 3.85 b
I3	26.88 ± 5.16 b	34.09 ± 5.37 b
I4	15.21 ± 3.23 c	44.81 ± 3.80 ab
I5	27.92 ± 4.32 b	54.66 ± 5.18 a

[a] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE ตัวอักษรที่ต่างกันในแถวแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05 จากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 6 ผลของอุณหภูมิต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัสในแตงกวาทั้ง 5 พันธุ์ บนอาหารระยะที่ 1

อุณหภูมิ	ELS (%)	แคลลัส (%)
25°ซ	35.08 ± 2.79	40.59 ± 3.02
35°ซ	27.93 ± 2.59	39.98 ± 3.11

[a] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE

ตารางที่ 7 อิทธิพลของพันธุ์ อุณหภูมิ และอาหารระยะที่ 1 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัสในแตงกวา จำนวน 5 พันธุ์

พันธุ์	อุณหภูมิ	อาหารระยะที่ 1	ELS (%)	แคลลัส (%)
ไฉไล	25°ซ	I1	53.52 ± 17.33[a]	44.46 ± 18.97
		I2	54.89 ± 7.73	48.24 ± 15.60
		I3	27.62 ± 18.62	41.90 ± 20.52
		I4	24.47 ± 10.96	48.89 ± 10.12
		I5	33.21 ± 14.61	49.08 ± 16.36
	35°ซ	I1	40.78 ± 12.79	41.92 ± 17.33
		I2	57.13 ± 14.12	53.90 ± 15.34
		I3	21.39 ± 16.22	29.09 ± 16.11
		I4	19.58 ± 13.60	49.15 ± 11.00
		I5	31.16 ± 10.96	60.48 ± 15.96
บิ๊กซี	25°ซ	I1	52.05 ± 10.22	59.73 ± 11.72
		I2	52.60 ± 6.59	30.95 ± 9.56
		I3	42.94 ± 18.82	50.00 ± 22.36
		I4	20.67 ± 13.87	51.29 ± 14.50
		I5	27.41 ± 18.58	52.61 ± 22.47
	35°ซ	I1	29.58 ± 7.83	42.63 ± 14.42
		I2	36.01 ± 6.27	35.62 ± 7.74
		I3	34.80 ± 20.66	36.11 ± 20.37
		I4	22.22 ± 16.48	58.55 ± 14.34
		I5	15.35 ± 8.50	44.17 ± 14.35
สายฟ้า 185	25°ซ	I1	38.15 ± 4.45	20.24 ± 7.09
		I2	71.33 ± 11.89	35.51 ± 10.45
		I3	20.83 ± 16.35	40.42 ± 19.26
		I4	2.31 ± 2.30	48.09 ± 17.36
		I5	43.98 ± 15.70	59.85 ± 17.79
	35°ซ	I1	53.19 ± 13.91	37.96 ± 11.19
		I2	36.12 ± 10.71	26.55 ± 12.68
		I3	23.81 ± 16.77	32.36 ± 15.97
		I4	5.18 ± 2.89	32.80 ± 13.07
		I5	19.16 ± 8.33	58.60 ± 13.89

ตารางที่ 7 อิทธิพลของพันธุ์ อุณหภูมิ และอาหารระยะที่ 1 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัสในแตงกวา จำนวน 5 พันธุ์ (ต่อ)

พันธุ์	อุณหภูมิ	อาหารระยะที่ 1	ELS (%)	แคลลัส (%)
มีชัย	25°ซ	I1	35.61 ± 11.34[a]	17.50 ± 11.95
		I2	48.24 ± 11.79	30.83 ± 14.41
		I3	25.68 ± 16.28	27.72 ± 16.00
		I4	16.21 ± 8.37	40.24 ± 7.56
		I5	51.64 ± 13.60	48.58 ± 16.98
	35°ซ	I1	38.30 ± 9.05	23.32 ± 9.03
		I2	29.51 ± 10.58	28.05 ± 10.31
		I3	28.18 ± 16.53	24.80 ± 14.41
		I4	19.79 ± 9.38	47.69 ± 12.65
		I5	34.90 ± 22.40	66.95 ± 21.75
มินิคิงซ์	25°ซ	I1	49.44 ± 11.73	34.90 ± 15.72
		I2	33.89 ± 11.44	30.41 ± 13.40
		I3	23.07 ± 19.28	29.16 ± 19.10
		I4	7.21 ± 4.71	30.47 ± 10.61
		I5	21.57 ± 13.95	55.80 ± 17.14
	35°ซ	I1	27.25 ± 10.93	22.82 ± 10.68
		I2	39.13 ± 13.21	38.45 ± 15.12
		I3	20.01 ± 15.36	29.86 ± 16.78
		I4	11.00 ± 9.82	39.13 ± 12.62
		I5	9.50 ± 4.63	53.02 ± 21.27

[a] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE

การศึกษาอิทธิพลของพันธุ์ อุณหภูมิ อาหารระยะที่ 1 และ อาหารระยะที่ 2

ผลการศึกษาอิทธิพลของพันธุ์ อุณหภูมิ และอาหารระยะที่ 1 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัสของรังไข่แตงกวา ทำให้ทราบว่าพันธุ์และอุณหภูมิไม่มีอิทธิพลต่อการเกิด ELS และแคลลัส แต่พบว่าอาหารระยะที่ 1 แต่ละสูตรสามารถชักนำให้เกิด ELS และแคลลัสได้แตกต่างกัน ส่วนปฏิสัมพันธ์ระหว่าง 2 ปัจจัย (พันธุ์กับอาหารระยะที่ 1 พันธุ์กับอุณหภูมิ และอาหารระยะที่ 1 กับอุณหภูมิ) และ 3 ปัจจัย (พันธุ์ อุณหภูมิ และอาหารระยะที่ 1) พบว่าไม่มีปฏิสัมพันธ์ต่อกันในการเกิด ELS และแคลลัส จากนั้นย้ายรังไข่ลงบนอาหารระยะที่ 2 และเก็บข้อมูลหลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารระยะที่ 2 นาน 4 สัปดาห์เพื่อวิเคราะห์อิทธิพลของ 4 ปัจจัย (พันธุ์ อุณหภูมิ อาหารระยะที่ 1 และ อาหารระยะที่ 2) ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัส พบว่ารังไข่ของแตงกวาแต่ละพันธุ์สามารถพัฒนาไปเป็น ELS แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

($F_{4, 571}$ = 3.71; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 8; ตารางที่ 8) โดยแตงกวาพันธุ์ไฉไล บิ๊กซี และสายฟ้า 185 มีเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS สูงที่สุด (44.74, 44.60 และ 41.82 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับพันธุ์มีชัย (39.50 เปอร์เซ็นต์) ส่วนพันธุ์มินิคิงซ์มีเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS น้อยที่สุด (32.02 เปอร์เซ็นต์) เมื่อพิจารณาที่เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของแตงกวาทั้ง 5 พันธุ์ พบว่ารังไข่ของแตงกวาแต่ละพันธุ์สามารถพัฒนาไปเป็นแคลลัสแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($F_{4, 571}$ = 3.25; $P < 0.05$; ตารางภาคผนวกที่ 9; ตารางที่ 8) โดยรังไข่ของแตงกวาพันธุ์บิ๊กซีสามารถพัฒนาไปเป็นแคลลัสได้สูงที่สุด (61.56 เปอร์เซ็นต์) และไม่แตกต่างทางสถิติกับพันธุ์ไฉไล (58.36 เปอร์เซ็นต์) ส่วนพันธุ์มีชัยและมินิคิงซ์จะเจริญเป็นแคลลัสได้น้อยที่สุด (46.45 และ 48.02 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) และไม่แตกต่างทางสถิติกับพันธุ์สายฟ้า 185 (50.94 เปอร์เซ็นต์) เมื่อพิจารณาลักษณะของ ELS และแคลลัส พบว่ารังไข่ของแตงกวาพันธุ์ไฉไลและบิ๊กซีสามารถพัฒนาไปเป็น ELS และแคลลัสได้ดีกว่าพันธุ์อื่น ๆ โดยรังไข่ของแตงกวาทั้งสองพันธุ์ยังคงมีสีเขียวอมเหลือง และมีปริมาณ ELS จำนวนมาก ลักษณะ ELS เป็นสีขาวขุ่นอมเขียวเป็นก้อนแข็งไม่ฉ่ำน้ำพร้อมที่จะพัฒนาไปเป็นส่วนต่าง ๆ ของลำต้นแตงกวา และมีลักษณะแคลลัสที่แข็งแรง คือ มีสีเขียวอมเหลืองพร้อมที่จะพัฒนาหรือเพิ่มขนาดใหญ่ขึ้น แสดงว่าพันธุ์มีอิทธิพลต่อการเกิดกระบวนการไจโนเจเนซิส (gynogenesis) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองเพาะเลี้ยงรังไข่/โอวุลของพืชหลายชนิด เช่น ซูการ์บีท แตงกวา summer squash, *Nicotiana rustica* (Katoh and Iwai, 1993; Gürel et al., 2000; Shalaby, 2007; Suprunova and Shmykova, 2008)

เมื่อพิจารณาผลของอาหารระยะที่ 1 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS ของรังไข่แตงกวาทั้ง 5 พันธุ์ พบว่าอาหารระยะที่ 1 แต่ละสูตรสามารถชักนำให้เกิด ELS ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{4, 571}$ = 30.44; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 8; ตารางที่ 9) ซึ่งพบว่าอาหารสูตร I2 และ I4 สามารถชักนำการเกิด ELS ได้สูงที่สุด (60.40 เปอร์เซ็นต์) และน้อยที่สุด (19.27 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ ส่วนการเกิดแคลลัสให้ผลเช่นเดียวกับการเกิด ELS กล่าวคืออาหารระยะที่ 1 แต่ละสูตรสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{4, 571}$ = 11.03; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 9; ตารางที่ 9) โดยอาหารสูตร I5 สามารถชักนำการเกิดแคลลัสได้สูงที่สุด (70.76 เปอร์เซ็นต์) ส่วนอาหารสูตร I1 ชักนำการเกิดแคลลัสได้ต่ำที่สุด (43.10 เปอร์เซ็นต์) และไม่แตกต่างทางสถิติกับอาหารสูตร I3 (46.90 เปอร์เซ็นต์)

ส่วนผลของอาหารระยะที่ 2 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัสของรังไข่แตงกวาทั้ง 5 พันธุ์ พบว่าอาหารระยะที่ 2 ทุกสูตรมีอิทธิพลในการชักนำให้เกิด ELS ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($F_{2, 571}$ = 0.16; $P > 0.05$; ตารางภาคผนวกที่ 8; ตารางที่ 10) โดยผลของอาหารสูตร D1, D2 และ D3 สามารถชักนำให้เกิด ELS ได้เท่ากับ 41.23, 40.63 และ 40.01 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เช่นเดียวกันกับการเกิดแคลลัสในอาหารระยะที่ 2 ซึ่งพบว่าแต่ละสูตรชักนำให้เกิดแคลลัสได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($F_{2, 571}$ = 0.64; $P > 0.05$; ตารางภาคผนวกที่ 9; ตารางที่ 10) โดยอาหารสูตร D1, D2 และ D3 สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้เท่ากับ 53.37, 55.29 และ 50.76 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งจากการทดลองนี้ พบว่า ELS และแคลลัสมีอัตราการเจริญเติบโตแตกต่างกันในอาหารระยะที่ 1 แต่เมื่อย้ายรังไข่ลงในอาหารระยะที่ 2 อัตราการเพิ่มจำนวนของ ELS และแคลลัสในอาหารระยะที่ 2 ทุกสูตรจะใกล้เคียงกัน และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตาม อาหารระยะที่ 2 มีส่วนช่วยเพิ่มความแข็งแรงและเตรียมความพร้อมให้เซลล์เจริญไปเป็นต้นได้ดีขึ้น โดยเฉพาะในอาหารสูตร D2 ELS จะมีลักษณะ

เป็นเซลล์สีขาวทึบพร้อมที่จะเจริญไปเป็นส่วนต่าง ๆ ของลำต้นต่อไป ซึ่งแตกต่างจากรังไข่ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร D1 ซึ่ง ELS มีลักษณะป็นเม็ดใสสีเขียวเกิดขึ้นรอบชิ้นรังไข่จำนวนมากแต่ไม่พัฒนาไปเป็นส่วนอื่น ๆ ของลำต้น สำหรับการทดลองนี้พบว่าเฉพาะ ELS เท่านั้นที่สามารถพัฒนาไปเป็นต้นแตงกวาที่สมบูรณ์ ในขณะที่แคลลัสไม่สามารถพัฒนาเป็นต้นได้ ดังนั้น ความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงรังไข่แตงกวาให้พัฒนาไปเป็นต้นแฮพลอยด์ หรือดับเบิลแฮพลอยด์จึงขึ้นอยู่กับเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS จากการชักนำในอาหารระยะที่ 1 และลักษณะของ ELS ในอาหารระยะที่ 2 โดยพบว่าสูตรอาหารระยะที่ 1 ที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงรังไข่แตงกวาคืออาหารสูตร I2 รองลงมาคือ อาหารสูตร I1 เนื่องจากมีเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS จำนวนมาก โดยอาหารสูตร I2 ประกอบด้วย MS + TDZ 1 มก./ล + BA 1 มก./ล + glutamine 800 มก./ล และอาหารสูตร I1 ประกอบด้วย MS + TDZ 0.02 มก./ล + glutamine 800 มก./ล จากการพิจารณาอาหารทั้งสองสูตรพบว่า ปัจจัยที่ทำให้เกิด ELS จำนวนมาก อาจเป็นผลจากการเติม TDZ ซึ่งไม่พบในอาหารสูตร I3, I4 และ I5 โดยผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับผลการทดลองของ Suprunova and Shmykova (2008) ซึ่งพบว่า TDZ ความเข้มข้น 0.2 มก./ล เหมาะสมสำหรับการกระตุ้น gynogenesis ของแตงกวา เช่นเดียวกันกับ Diao et al. (2009) ซึ่งรายงานว่าการเติม TDZ ความเข้มข้น 0.04 มก./ล ลงในอาหารเพาะเลี้ยงโอวุลแตงกวา ทำให้เกิดเอ็มบริโอมากถึง 72.7 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในพืชชนิดอื่นมีรายงานถึงประสิทธิภาพของ TDZ เช่นเดียวกัน เช่น Vongxay and Chinachit (2008) รายงานการเพิ่มปริมาณหน่อแขนงของลูกผสมกล้วยไม้ ฟาแลนนอปซิสในสภาพปลอดเชื้อว่า อาหารสูตร Hyponex ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.5 มก./ล สามารถชักนำการสร้างหน่อแขนงได้สูงสุด 15 หน่อต่อชิ้น เมื่อพิจารณาการเกิดแคลลัส พบว่าอาหารสูตร I5 สามารถชักนำการเกิดแคลลัสได้สูงที่สุด เมื่อเทียบกับอาหารสูตรอื่น ซึ่งสูตรอาหารนี้ประกอบด้วยฮอร์โมนทั้งชนิดไซโตไคนิน (BA) และ ออกซิน (IAA) โดยมีองค์ประกอบคือ MS + BA 2 มก./ล + IAA 0.5 มก./ล + GA_3 1 มก./ล + glutamine 800 มก./ล + putrescine 32 มก./ล ในทำนองเดียวกันกับ Song et al. (2007) ซึ่งพบว่าอาหารที่ดีที่สุดสำหรับการกระตุ้น embryogenic callus คืออาหาร MS ที่ประกอบด้วย BA ความเข้มข้น 4.44 µM (0.9 มก./ล), 2,4-D ความเข้มข้น 2.26 µM (0.5 มก./ล) และ KIN ความเข้มข้น 4.64 µM (1 มก./ล)

และจากการเปรียบเทียบผลของอุณหภูมิต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS พบว่าอุณหภูมิทั้งสองระดับมีอิทธิพลต่อการเกิด ELS ของรังไข่แตงกวาแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{1, 571} = 14.25$; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 8; ตารางที่ 11) โดยที่อุณหภูมิ 25°ซ ทำให้เกิด ELS (46.27 เปอร์เซ็นต์) มากกว่าอุณหภูมิ 35°ซ (35.22 เปอร์เซ็นต์) เมื่อพิจารณาอุณหภูมิต่อการเกิดแคลลัส พบว่าอุณหภูมิทั้งสองระดับมีอิทธิพลต่อการเกิดแคลลัสไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($F_{1, 571} = 0.09$; $P > 0.05$; ตารางภาคผนวกที่ 9; ตารางที่ 11) โดยที่อุณหภูมิ 25 และ 35°ซ มีผลทำให้เกิดแคลลัส เท่ากับ 54.00 และ 52.31 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อย่างไรก็ตามรังไข่แตงกวามีแนวโน้มเจริญไปเป็น ELS และแคลลัสได้ดีที่อุณหภูมิ 25°ซ

เมื่อพิจารณาปฏิสัมพันธ์ระหว่าง 2 ปัจจัย คือ พันธุ์กับอุณหภูมิ พันธุ์กับอาหารระยะที่ 1 พันธุ์กับอาหารระยะที่ 2 อุณหภูมิกับอาหารระยะที่ 1 อุณหภูมิกับอาหารระยะที่ 2 และอาหารระยะที่ 1 กับ 2 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัส พบว่าไม่มีปฏิสัมพันธ์กันระหว่าง 2 ปัจจัย ($P > 0.05$; ตารางภาคผนวกที่ 8 และ 9; ตารางที่ 13) ยกเว้น อุณหภูมิและอาหารระยะที่ 1 ซึ่งมีปฏิสัมพันธ์ต่อการเกิด ELS อย่างมีนัยสำคัญ

ทางสถิติ ($F_{4, 571}$ = 2.55; $P < 0.05$; ตารางภาคผนวกที่ 8; ตารางที่ 12) เช่นเดียวกันกับปฏิสัมพันธ์ระหว่าง 3 ปัจจัย คือ (พันธุ์ อุณหภูมิ และอาหารระยะที่ 1), (พันธุ์ อุณหภูมิ และอาหารระยะที่ 2), (อุณหภูมิ อาหารระยะที่ 1 และ 2) และ (พันธุ์ อาหารระยะที่ 1 และ 2) และปฏิสัมพันธ์ระหว่าง 4 ปัจจัย (พันธุ์ อุณหภูมิ อาหารระยะที่ 1 และ 2) ซึ่งไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัสของรังไข่แตงกวาทางสถิติ ($P > 0.05$; ตารางภาคผนวกที่ 8 และ 9; ตารางที่ 13)

ตารางที่ 8 ผลของพันธุ์แตงกวาต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัส

พันธุ์	ELS (%)	แคลลัส (%)
ไฉไล	44.74 ± 3.13 a[a]	58.36 ± 3.05 ab
บิ๊กซี	44.60 ± 3.54 a	61.56 ± 3.39 a
สายฟ้า 185	41.82 ± 3.30 a	50.94 ± 3.24 bc
มีชัย	39.50 ± 3.12 ab	46.45 ± 3.06 c
มินิคิงซ์	32.02 ± 2.94 b	48.02 ± 3.10 c

[a] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE ตัวอักษรที่ต่างกันในแถวแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05 จากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 9 ผลของอาหารระยะที่ 1 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัสในแตงกวาทั้ง 5 พันธุ์

อาหารระยะที่ 1	ELS (%)	แคลลัส (%)
I1	51.36 ± 2.86 b[a]	43.10 ± 3.08 c
I2	60.40 ± 3.06 a	55.99 ± 3.43 b
I3	37.03 ± 3.47 c	46.90 ± 3.58 bc
I4	19.27 ± 2.53 d	52.05 ± 2.64 b
I5	37.62 ± 3.14 c	70.76 ± 2.73 a

[a] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE ตัวอักษรที่ต่างกันในแถวแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05 จากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 10 ผลของอาหารระยะที่ 2 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัสในแตงกวาทั้ง 5 พันธุ์

อาหารระยะที่ 2	ELS (%)	แคลลัส (%)
D1	41.23 ± 2.52[a]	53.37 ± 2.57
D2	40.63 ± 2.56	55.29 ± 2.45
D3	40.01 ± 2.41	50.76 ± 2.41

[a] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE

ตารางที่ 11 ผลของอุณหภูมิต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัสในแตงกวาทั้ง 5 พันธุ์

อุณหภูมิ	ELS (%)	แคลลัส (%)
25°ซ	46.27 ± 2.08 a[a]	54.00 ± 2.06
35°ซ	35.22 ± 1.96 b	52.31 ± 1.98

[a] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE ตัวอักษรที่ต่างกันในแถวแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05 จากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 12 อิทธิพลของอุณหภูมิ และอาหารระยะที่ 1 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัสในแตงกวาจำนวน 5 พันธุ์

อุณหภูมิ	อาหารระยะที่ 1	ELS (%)	แคลลัส (%)
35°ซ	I1	47.98 ± 4.01 bc[a]	42.97 ± 4.19
	I2	56.50 ± 4.58 ab	57.03 ± 4.93
	I3	34.54 ± 4.74 de	46.48 ± 4.91
	I4	16.50 ± 3.35 f	50.77 ± 3.68
	I5	23.29 ± 3.37 ef	67.97 ± 3.90
25°ซ	I1	54.83 ± 4.05 ab	43.23 ± 4.54
	I2	64.06 ± 4.08 a	55.01 ± 4.80
	I3	39.97 ± 5.08 cd	47.40 ± 5.25
	I4	22.23 ± 3.79 f	53.42 ± 3.77
	I5	52.40 ± 4.72 ab	73.63 ± 3.83

[a] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE ตัวอักษรที่ต่างกันในแถวแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05 จากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 13 อิทธิพลของพันธุ์ อุณหภูมิ อาหารระยะที่ 1 และ 2 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัสในแตงกวา จำนวน 5 พันธุ์

พันธุ์	อุณหภูมิ	อาหารระยะที่ 1	อาหารระยะที่ 2	ELS (%)	แคลลัส (%)
ไฉไล	35°ซ	I1	D1	62.92 ± 12.86[a]	44.45 ± 20.48
			D2	39.51 ± 17.01	44.96 ± 20.33
			D3	38.96 ± 12.69	57.69 ± 18.71
		I2	D1	71.79 ± 24.43	92.31 ± 6.66
			D2	69.05 ± 23.93	88.89 ± 8.59
			D3	65.87 ± 17.77	66.67 ± 21.04
		I3	D1	44.72 ± 18.85	54.17 ± 17.71
			D2	40.00 ± 22.36	57.21 ± 17.37
			D3	28.44 ± 16.89	42.43 ± 17.23
		I4	D1	17.22 ± 21.88	27.90 ± 14.00
			D2	16.67 ± 10.65	67.80 ± 19.82
			D3	22.22 ± 23.33	62.59 ± 20.99
		I5	D1	7.14 ± 5.83	54.64 ± 19.68
			D2	42.95 ± 17.17	79.80 ± 9.98
			D3	36.58 ± 14.21	69.44 ± 13.89
	25°ซ	I1	D1	56.35 ± 20.45	46.06 ± 20.83
			D2	53.24 ± 20.69	44.89 ± 19.13
			D3	65.71 ± 13.42	43.59 ± 22.22
		I2	D1	41.98 ± 10.74	46.92 ± 18.98
			D2	71.74 ± 11.03	62.75 ± 16.37
			D3	66.67 ± 14.63	70.56 ± 15.99
		I3	D1	75.00 ± 20.41	75.00 ± 20.41
			D2	47.50 ± 20.41	60.00 ± 18.54
			D3	50.95 ± 20.54	66.67 ± 19.24
		I4	D1	34.81 ± 12.73	63.33 ± 8.73
			D2	37.54 ± 19.53	56.70 ± 12.11
			D3	21.31 ± 11.53	36.56 ± 8.90
		I5	D1	64.72 ± 20.78	65.56 ± 18.34
			D2	44.60 ± 20.01	75.56 ± 17.32
			D3	41.01 ± 16.25	70.41 ± 14.52

ตารางที่ 13 อิทธิพลของพันธุ์ อุณหภูมิ อาหารระยะที่ 1 และ 2 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัสในแตงกวา จำนวน 5 พันธุ์ (ต่อ)

พันธุ์	อุณหภูมิ	อาหารระยะที่ 1	อาหารระยะที่ 2	ELS (%)	แคลลัส (%)
บิ๊กซี	35°ซ	I1	D1	52.13 ± 16.65	47.68 ± 18.52
			D2	46.43 ± 23.60	58.93 ± 24.81
			D3	43.78 ± 20.45	83.22 ± 11.28
		I2	D1	50.23 ± 37.24	72.50 ± 22.71
			D2	60.28 ± 22.07	59.14 ± 22.31
			D3	78.00 ± 17.53	58.00 ± 24.66
		I3	D1	57.50 ± 25.29	50.00 ± 28.87
			D2	58.33 ± 24.58	58.33 ± 24.58
			D3	41.67 ± 24.58	50.00 ± 27.39
		I4	D1	26.67 ± 21.73	62.67 ± 22.19
			D2	22.22 ± 18.02	66.32 ± 18.16
			D3	20.00 ± 19.96	58.48 ± 17.90
		I5	D1	15.87 ± 6.68	60.86 ± 17.05
			D2	22.78 ± 11.87	71.59 ± 13.19
			D3	20.36 ± 7.19	63.75 ± 14.67
	25°ซ	I1	D1	83.33 ± 16.67	81.67 ± 18.33
			D2	44.68 ± 18.10	58.33 ± 22.32
			D3	49.22 ± 16.93	49.22 ± 16.93
		I2	D1	65.83 ± 14.14	41.25 ± 18.97
			D2	61.66 ± 19.62	54.33 ± 18.28
			D3	73.88 ± 14.86	56.67 ± 17.74
		I3	D1	13.60 ± 9.64	0
			D2	72.22 ± 24.06	66.67 ± 28.87
			D3	42.86 ± 25.75	33.33 ± 28.87
		I4	D1	36.00 ± 24.90	50.46 ± 17.30
			D2	40.00 ± 22.36	97.00 ± 1.69
			D3	6.25 ± 6.25	35.54 ± 19.00
		I5	D1	55.83 ± 20.82	91.67 ± 6.80
			D2	62.71 ± 18.03	90.63 ± 7.65
			D3	58.34 ± 19.92	90.00 ± 8.16

ตารางที่ 13 อิทธิพลของพันธุ์ อุณหภูมิ อาหารระยะที่ 1 และ 2 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัสใน แตงกวา จำนวน 5 พันธุ์ (ต่อ)

พันธุ์	อุณหภูมิ	อาหารระยะที่ 1	อาหารระยะที่ 2	ELS (%)	แคลลัส (%)
สายฟ้า 185	35°ซ	I1	D1	70.00 ± 18.25	64.17 ± 11.88
			D2	60.57 ± 18.18	43.10 ± 17.82
			D3	64.12 ± 15.16	38.20 ± 13.27
		I2	D1	46.67 ± 9.38	44.44 ± 21.34
			D2	55.00 ± 14.81	35.00 ± 21.10
			D3	63.07 ± 13.46	48.05 ± 23.42
		I3	D1	30.00 ± 22.36	56.00 ± 22.80
			D2	50.00 ± 22.32	60.00 ± 24.45
			D3	30.00 ± 22.36	46.67 ± 25.28
		I4	D1	6.67 ± 4.61	42.04 ± 17.42
			D2	6.86 ± 4.80	41.69 ± 14.43
			D3	2.00 ± 2.00	41.49 ± 12.42
		I5	D1	38.89 ± 21.87	94.44 ± 3.93
			D2	9.90 ± 7.10	66.15 ± 17.46
			D3	11.81 ± 4.57	55.70 ± 19.72
	25°ซ	I1	D1	57.08 ± 18.11	38.89 ± 21.69
			D2	62.86 ± 18.45	25.71 ± 13.01
			D3	59.21 ± 18.45	39.50 ± 20.01
		I2	D1	100.00 ± 22.32	93.33 ± 5.15
			D2	85.00 ± 13.39	65.00 ± 21.10
			D3	91.43 ± 4.54	60.00 ± 21.87
		I3	D1	20.83 ± 11.16	47.92 ± 18.32
			D2	23.33 ± 13.26	41.54 ± 16.37
			D3	37.50 ± 19.54	51.79 ± 15.50
		I4	D1	7.78 ± 4.83	56.82 ± 19.29
			D2	14.28 ± 14.26	66.90 ± 17.32
			D3	4.00 ± 3.99	27.80 ± 14.51
		I5	D1	75.19 ± 25.57	74.62 ± 22.88
			D2	62.38 ± 17.63	59.33 ± 22.00
			D3	35.07 ± 13.86	55.28 ± 18.92

ตารางที่ 13 อิทธิพลของพันธุ์ อุณหภูมิ อาหารระยะที่ 1 และ 2 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัสในแตงกวา จำนวน 5 พันธุ์ (ต่อ)

พันธุ์	อุณหภูมิ	อาหารระยะที่ 1	อาหารระยะที่ 2	ELS (%)	แคลลัส (%)
มีชัย	35°ซ	I1	D1	28.95 ± 10.95	27.47 ± 12.85
			D2	42.01 ± 14.89	29.22 ± 15.93
			D3	54.98 ± 15.01	23.23 ± 8.22
		I2	D1	75.00 ± 15.78	66.67 ± 9.92
			D2	43.06 ± 19.41	48.89 ± 22.35
			D3	59.43 ± 17.32	48.57 ± 16.88
		I3	D1	25.14 ± 19.02	19.98 ± 18.63
			D2	3.13 ± 3.13	17.41 ± 13.57
			D3	18.44 ± 11.89	27.00 ± 15.20
		I4	D1	39.02 ± 34.12	57.07 ± 25.20
			D2	12.50 ± 11.16	41.90 ± 12.91
			D3	12.50 ± 12.48	60.33 ± 13.08
		I5	D1	22.86 ± 8.40	53.86 ± 13.66
			D2	26.47 ± 12.56	69.05 ± 13.52
			D3	30.55 ± 9.36	75.00 ± 11.16
	25°ซ	I1	D1	46.23 ± 14.95	30.53 ± 18.01
			D2	37.69 ± 18.51	42.77 ± 19.14
			D3	49.90 ± 20.28	40.32 ± 19.85
		I2	D1	58.80 ± 16.97	39.19 ± 23.32
			D2	52.50 ± 22.46	53.65 ± 18.28
			D3	65.32 ± 12.15	47.78 ± 18.11
		I3	D1	50.66 ± 19.01	46.66 ± 20.63
			D2	48.56 ± 20.45	61.70 ± 18.46
			D3	37.78 ± 19.82	39.03 ± 19.54
		I4	D1	15.63 ± 13.95	62.69 ± 16.73
			D2	15.36 ± 13.53	51.84 ± 12.96
			D3	34.72 ± 19.46	58.09 ± 11.06
		I5	D1	53.96 ± 17.73	73.33 ± 16.33
			D2	53.33 ± 12.97	68.33 ± 14.20
			D3	80.95 ± 19.07	78.57 ± 14.89

ตารางที่ 13 อิทธิพลของพันธุ์ อุณหภูมิ อาหารระยะที่ 1 และ 2 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัสในแตงกวา จำนวน 5 พันธุ์ (ต่อ)

พันธุ์	อุณหภูมิ	อาหารระยะที่ 1	อาหารระยะที่ 2	ELS (%)	แคลลัส (%)
มินิคิงซ์	35°ซ	I1	D1	31.83 ± 14.31	36.56 ± 14.65
			D2	47.43 ± 20.10	41.71 ± 18.83
			D3	36.39 ± 17.01	26.55 ± 14.06
		I2	D1	41.33 ± 20.47	59.33 ± 22.00
			D2	39.03 ± 19.38	51.11 ± 18.45
			D3	46.88 ± 13.44	45.63 ± 14.07
		I3	D1	18.75 ± 22.25	55.83 ± 31.27
			D2	30.22 ± 18.88	51.10 ± 22.35
			D3	35.00 ± 24.37	39.44 ± 22.83
		I4	D1	18.35 ± 15.55	55.83 ± 18.15
			D2	11.15 ± 8.61	34.22 ± 10.32
			D3	10.00 ± 12.25	40.88 ± 15.48
		I5	D1	33.57 ± 20.12	69.29 ± 17.22
			D2	8.33 ± 6.80	69.87 ± 14.36
			D3	21.67 ± 12.83	74.94 ± 8.16
	25°ซ	I1	D1	50.42 ± 21.35	47.44 ± 20.62
			D2	51.93 ± 15.83	33.88 ± 20.62
			D3	57.65 ± 20.27	42.77 ± 20.01
		I2	D1	38.43 ± 13.13	48.64 ± 20.64
			D2	50.32 ± 16.88	46.75 ± 14.23
			D3	51.29 ± 14.28	50.00 ± 22.82
		I3	D1	33.75 ± 17.61	33.75 ± 17.61
			D2	16.00 ± 13.61	29.00 ± 13.98
			D3	29.15 ± 14.68	37.09 ± 16.81
		I4	D1	13.57 ± 7.70	55.11 ± 17.54
			D2	34.28 ± 21.44	54.37 ± 13.87
			D3	7.17 ± 4.23	28.78 ± 11.00
		I5	D1	24.37 ± 13.07	54.62 ± 21.98
			D2	44.38 ± 18.84	75.81 ± 14.41
			D3	22.41 ± 15.04	79.40 ± 8.30

[a] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE

2.2 การทดลองเปรียบเทียบสูตรอาหารเพาะเลี้ยง ช่วงที่ 2

การศึกษาอิทธิพลของพันธุ์ และอาหารระยะที่ 1

จากการทดลองที่ผ่านมาพบว่า อาหารระยะที่ 1 สูตร I2 มีศักยภาพในการชักนำให้โอวุลแตงกวาพัฒนาไปเป็น ELS ได้จำนวนมาก ดังนั้น ในการทดลองนี้จึงนำสูตรอาหาร I2 มาพัฒนาเพิ่มเป็นสูตรใหม่จำนวน 5 สูตร (I2A-E) และใช้สูตรเดิมเป็นกรรมวิธีควบคุม โดยใช้พันธุ์แตงกวา จำนวน 9 พันธุ์ ประกอบด้วยพันธุ์การค้า ไฉไล และบิ๊กซี และพันธุ์ลูกผสมจีน เบอร์ 3, 4, 5, 6, 7, 9 และ 11 ซึ่งการศึกษาอิทธิพลของ 2 ปัจจัย คือ พันธุ์และอาหารระยะที่ 1 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัสได้ผลดังนี้

รังไข่ของแตงกวาแต่ละพันธุ์มีความสามารถในการพัฒนาไปเป็น ELS ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{8, 144}$ = 4.08; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 10; ตารางที่ 14) โดยพบว่ารังไข่ของแตงกวาพันธุ์เบอร์ 7 และ 3 มีศักยภาพในการพัฒนาไปเป็น ELS ได้สูงที่สุด (87.71 เปอร์เซ็นต์) และต่ำที่สุด (40.37 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ ซึ่งการพัฒนาของรังไข่ไปเป็นแคลลัสให้ผลในทำนองเดียวกัน กล่าวคือ รังไข่ของแตงกวาต่างพันธุ์กันจะพัฒนาเป็นแคลลัสได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($F_{8, 144}$ = 2.48; $P < 0.05$; ตารางภาคผนวกที่ 11; ตารางที่ 14) โดยแตงกวาพันธุ์เบอร์ 3, 6, 7, บิ๊กซี, ไฉไล และเบอร์ 4 ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูงที่สุด (87.03, 84.39, 82.71, 80.45, 75.97 และ 75.42 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) ส่วนพันธุ์เบอร์ 5 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสต่ำที่สุด (52.50 เปอร์เซ็นต์) เมื่อพิจารณาแตงกวาพันธุ์เบอร์ 7 ที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพบว่า ลักษณะของเซลล์ ELS มีสีขาวขุ่นอมเขียวซึ่งเป็นลักษณะที่จะสามารถพัฒนาไปเป็นต้นได้ดี ลักษณะของแคลลัสมีสีเขียวอ่อน ที่บริเวณขอบของชิ้นเนื้อเยื่อมีสีน้ำตาลซึ่งอาจแสดงถึงความเป็นพิษของฮอร์โมน ในระยะเก็บข้อมูล (ในที่มืดอุณหภูมิ 25°ซ เป็นเวลา 3 สัปดาห์) เนื้อเยื่อยังสามารถพัฒนาเป็น ELS และแคลลัสได้ดี แต่เมื่อวางลงบนอาหารระยะที่ 2 ชิ้นเนื้อเยื่อค่อย ๆ ซีดเหลือง และมีสีน้ำตาลเพิ่มมากขึ้นแล้วตายไป ซึ่งแตงกวาพันธุ์อื่น ๆ ก็มีลักษณะคล้ายกันแต่พัฒนาเป็น ELS และแคลลัสได้ต่ำกว่าพันธุ์เบอร์ 7

เมื่อพิจารณาผลของอาหารระยะที่ 1 พบว่าอาหารสูตร I2 และ I2 ดัดแปลงแต่ละสูตรสามารถชักนำให้เกิด ELS ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($F_{5, 144}$ = 2.60; $P < 0.05$; ตารางภาคผนวกที่ 10; ตารางที่ 15) ซึ่งอาหารสูตร I2E สามารถชักนำให้เกิด ELS ได้สูงที่สุด (78.99 เปอร์เซ็นต์) ส่วนอาหารสูตร I2A และ I2B มีศักยภาพในการชักนำให้เกิด ELS ได้ต่ำที่สุด (52.69 และ 60.17 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) เช่นเดียวกันกับการเกิดแคลลัส ซึ่งอาหารสูตร I2 และ I2 ดัดแปลงแต่ละสูตรสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($F_{5, 144}$ = 2.26; $P < 0.05$; ตารางภาคผนวกที่ 11; ตารางที่ 15) โดยอาหารสูตร I2C และ I2E มีศักยภาพในการชักนำให้เกิดแคลลัสได้สูงที่สุด (83.40 และ 83.43 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) ส่วนอาหารสูตร I2A สามารถชักนำการเกิดแคลลัสได้ต่ำที่สุด (65.50 เปอร์เซ็นต์)

และเมื่อเปรียบเทียบปฏิสัมพันธ์ระหว่าง 2 ปัจจัย คือ พันธุ์และอาหารระยะที่ 1 พบว่าพันธุ์และอาหารระยะที่ 1 ไม่มีปฏิสัมพันธ์ต่อการเกิด ELS และแคลลัส ($F_{40, 144}$ = 1.40; $P > 0.05$; ตารางภาคผนวกที่ 10; $F_{40, 144}$ = 1.44; $P > 0.05$; ตารางภาคผนวกที่ 11; ตารางที่ 16 ตามลำดับ)

ตารางที่ 14 ผลของพันธุ์แตงกวาต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัส

พันธุ์	ELS (%)	แคลลัส (%)
ไฉไล	76.30 ± 7.04 ab[a]	75.97 ± 6.62 a
3	40.37 ± 8.37 d	87.03 ± 5.84 a
4	75.42 ± 9.43 ab	75.42 ± 9.43 a
5	55.34 ± 9.71 cd	52.50 ± 10.55 b
6	81.21 ± 5.60 ab	84.39 ± 5.09 a
7	87.71 ± 5.62 a	82.71 ± 7.08 a
9	61.04 ± 8.49 bcd	67.92 ± 8.51 ab
11	71.74 ± 5.60 abc	71.33 ± 5.75 ab
บิ๊กซี	78.59 ± 6.78 ab	80.45 ± 6.61 a

[a] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE ตัวอักษรที่ต่างกันในแถวแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05 จากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 15 ผลของอาหารระยะที่ 1 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัสในแตงกวาทั้ง 9 พันธุ์

อาหารระยะที่ 1	ELS (%)	แคลลัส (%)
I2	62.45 ± 7.25 ab[a]	65.89 ± 6.69 ab
I2A	59.69 ± 6.77 b	65.50 ± 6.67 b
I2B	60.17 ± 6.92 b	67.76 ± 7.09 ab
I2C	77.69 ± 5.53 ab	83.40 ± 5.21 a
I2D	75.61 ± 6.15 ab	81.83 ± 5.63 ab
I2E	78.99 ± 5.89 a	83.43 ± 5.10 a

[a] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE ตัวอักษรที่ต่างกันในแถวแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05 จากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 16 อิทธิพลของพันธุ์ และอาหารระยะที่ 1 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัสในแตงกวา จำนวน 9 พันธุ์

พันธุ์	อาหารระยะที่ 1	ELS (%)	แคลลัส (%)
ไฉไล	I2	58.33 ± 25.00[a]	63.33 ± 21.34
	I2A	66.67 ± 19.25	66.67 ± 19.25
	I2B	83.93 ± 13.79	83.93 ± 13.79
	I2C	84.79 ± 10.71	84.79 ± 10.71
	I2D	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
	I2E	64.06 ± 23.71	57.12 ± 23.71
3	I2	41.67 ± 22.05	58.33 ± 30.05
	I2A	60.24 ± 22.96	72.40 ± 16.61
	I2B	32.41 ± 8.83	100.00 ± 0.00
	I2C	31.25 ± 14.43	100.00 ± 0.00
	I2D	25.00 ± 14.43	87.50 ± 12.50
	I2E	50.00 ± 28.87	100.00 ± 0.00
4	I2	66.67 ± 33.33	66.67 ± 33.33
	I2A	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
	I2B	6.25 ± 6.25	6.25 ± 6.25
	I2C	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
	I2D	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
	I2E	95.83 ± 4.17	95.83 ± 4.17
5	I2	40.00 ± 40.00	40.00 ± 40.00
	I2A	NA[b]	NA
	I2B	43.75 ± 25.77	43.75 ± 25.77
	I2C	65.63 ± 11.83	50.00 ± 28.87
	I2D	75.00 ± 25.00	75.00 ± 25.00
	I2E	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00

ตารางที่ 16 อิทธิพลของพันธุ์ และอาหารระยะที่ 1 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัสในแตงกวา จำนวน 9 พันธุ์ (ต่อ)

พันธุ์	อาหารระยะที่ 1	ELS (%)	แคลลัส (%)
6	I2	93.75 ± 6.25	93.75 ± 6.25
	I2A	56.67 ± 26.67	91.67 ± 8.33
	I2B	79.17 ± 12.50	79.17 ± 12.50
	I2C	72.50 ± 16.01	72.50 ± 16.01
	I2D	91.67 ± 8.33	91.67 ± 8.33
	I2E	81.25 ± 18.75	81.25 ± 18.75
7	I2	58.33 ± 30.05	58.33 ± 30.05
	I2A	75.00 ± 25.00	75.00 ± 25.00
	I2B	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
	I2C	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
	I2D	88.54 ± 7.86	63.54 ± 22.27
	I2E	93.75 ± 6.25	93.75 ± 6.25
9	I2	58.33 ± 30.05	69.44 ± 19.44
	I2A	44.44 ± 5.56	61.11 ± 20.03
	I2B	50.00 ± 0.00	75.00 ± 25.00
	I2C	62.50 ± 23.94	62.50 ± 23.94
	I2D	62.50 ± 23.94	66.67 ± 23.57
	I2E	78.13 ± 21.88	75.00 ± 25.00
11	I2	61.29 ± 14.38	61.29 ± 14.38
	I2A	74.17 ± 3.44	74.17 ± 3.44
	I2B	54.38 ± 23.68	51.88 ± 24.65
	I2C	88.13 ± 5.14	88.13 ± 5.14
	I2D	77.08 ± 17.80	77.08 ± 17.80
	I2E	75.42 ± 8.75	75.42 ± 8.75

ตารางที่ 16 อิทธิพลของพันธุ์ และอาหารระยะที่ 1 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัสในแตงกวาจำนวน 9 พันธุ์ (ต่อ)

พันธุ์	อาหารระยะที่ 1	ELS (%)	แคลลัส (%)
บิ๊กซี	I2	66.25 ± 19.72	66.25 ± 19.72
	I2A	82.50 ± 11.81	82.50 ± 11.81
	I2B	89.58 ± 6.25	89.58 ± 6.25
	I2C	100.00 ± 0.00	96.88 ± 3.13
	I2D	60.72 ± 24.31	75.00 ± 25.00
	I2E	72.50 ± 24.28	72.50 ± 24.28

[a] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE ตัวอักษรที่ต่างกันในแถวแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05 จากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

[b] ไม่สามารถบันทึกข้อมูลได้เนื่องจากเกิดการปนเปื้อนทั้งหมด

การศึกษาอิทธิพลของพันธุ์ อาหารระยะที่ 1 และอาหารระยะที่ 2

หลังจากย้ายรังไข่ลงบนอาหารเพาะเลี้ยงระยะที่ 2 แล้ว จึงมีปัจจัยการทดลองเพิ่มขึ้นอีก 1 ปัจจัย คือ อาหารระยะที่ 2 จำนวน 3 สูตร (D2, D2+ และ D2++) ทำการศึกษาการเกิด ELS และแคลลัส โดยพิจารณาจาก 3 ปัจจัย คือ พันธุ์ อาหารระยะที่ 1 และ 2 เก็บผลการทดลองจากพันธุ์แตงกวาเพียง 4 พันธุ์ คือ พันธุ์ไฉไล, เบอร์ 3, 4 และบิ๊กซี เนื่องจากพันธุ์เบอร์ 5, 6, 7, 9 และ 11 มีการปนเปื้อนสูงจึงไม่สามารถเก็บผลการทดลองในอาหารระยะที่ 2 ซึ่งจากการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS ระหว่างพันธุ์พบว่ารังไข่ของแตงกวาแต่ละพันธุ์มีความสามารถในการพัฒนาไปเป็น ELS ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($F_{3,\ 137} = 2.53$; $P > 0.05$; ตารางภาคผนวกที่ 12; ตารางที่ 17) โดยรังไข่ของแตงกวาพันธุ์ไฉไล, เบอร์ 3, 4 และบิ๊กซี สามารถพัฒนาไปเป็น ELS ได้เท่ากับ 49.68, 48.47, 60.42 และ 77.82 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งการพัฒนาของรังไข่ไปเป็นแคลลัสให้ผลในทำนองเดียวกัน กล่าวคือ รังไข่ของแตงกวาต่างพันธุ์กันจะพัฒนาเป็นแคลลัสได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($F_{3,\ 207} = 1.19$; $P > 0.05$; ตารางภาคผนวกที่ 13; ตารางที่ 17) โดยรังไข่ของแตงกวาพันธุ์ไฉไล, 3, 4 และบิ๊กซี สามารถพัฒนาไปเป็นแคลลัส ได้เท่ากับ 49.68, 66.33, 62.50 และ 77.40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อพิจารณาเนื้อเยื่อแตงกวาพบว่า เซลล์ ELS ของแตงกวาพันธุ์เบอร์ 13 มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นต้นได้ดีกว่าพันธุ์อื่นอีก 3 พันธุ์ กล่าวคือ เซลล์ ELS มีลักษณะเป็น nodular shape มีสีขาวอมเหลืองขนาดเล็ก และเพิ่มขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อวางครบกำหนดระยะเวลาในอาหารระยะที่ 2 (ในที่สว่าง อุณหภูมิ 25°ซ เป็นเวลา 3 สัปดาห์)

เมื่อพิจารณาผลของอาหารสูตร I2 แต่ละสูตรต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS พบว่าอาหารสูตร I2 แต่ละสูตร มีศักยภาพในการชักนำให้เกิด ELS ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{5,\ 137} = 4.96$; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 12; ตารางที่ 18) โดยอาหารสูตร I2A สามารถชักนำการเกิด ELS ได้สูงที่สุด (83.06 เปอร์เซ็นต์) รองลงมาคือ อาหารสูตร I2 และ I2D (76.04 และ 70.95 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) ส่วนอาหารสูตร

I2B และ I2E สามารถชักนำการเกิด ELS ได้ต่ำที่สุด (43.16 และ 37.27 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) ซึ่งการเกิดแคลลัสให้ผลไปในทำนองเดียวกัน คือ อาหารสูตร I2 แต่ละสูตร มีความสามารถในการชักนำให้เกิดแคลลัสได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{5, 137}$ = 4.87; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 13; ตารางที่ 18) โดยพบว่าอาหารสูตร I2, I2A และ I2D สามารถชักนำการเกิดแคลลัสได้สูงที่สุด (80.21, 83.06 และ 75.68 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) ส่วนอาหารสูตร I2B และ I2E มีศักยภาพในการชักนำให้เกิดแคลลัสได้ต่ำที่สุด (48.29 และ 42.82 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) ซึ่งจากการพิจารณาลักษณะการเจริญของเนื้อเยื่อในอาหารระยะนี้ พบว่าอัตราการเกิด ELS และแคลลัสในอาหารสูตร I2A และ I2B ต่ำกว่าอาหารสูตร I2E ชิ้นรังไข่มีลักษณะขาวซีดเจริญช้า พบ ELS กระจายตัวอยู่บนชิ้นรังไข่ การเปลี่ยนแปลงเป็นแคลลัสค่อนข้างสังเกตยากในระยะแรก แต่พบว่ามีการพัฒนาเป็น ELS ดีขึ้นในช่วงที่มีการย้ายลงในอาหารระยะที่ 2 ELS มีลักษณะเป็นเม็ดกลมสีเขียวอ่อน และสีขาวเกาะกันอย่างหลวม ๆ กระจายบนชิ้นรังไข่ ซึ่ง ELS ดังกล่าวมีลักษณะเดียวกับ ELS ที่พบในอาหารสูตร I2, I2C และ I2D แต่อาหารสูตร I2D เมื่อวางบนอาหารนานเกิน 1 สัปดาห์ จะเริ่มเห็นการเปลี่ยนแปลงของชิ้นรังไข่จนมีลักษณะเป็น friable callus บริเวณกลางชิ้นมีสีน้ำตาลดำ ลามออกมาถึงส่วนนอกของชิ้นและหยุดการพัฒนา แตกต่างจากรังไข่ที่พัฒนาเป็น ELS ในอาหารสูตร I2E ซึ่งมี 2 ลักษณะ คือ ลักษณะแรกเป็นก้อนสีขาวขุ่นอมเขียวซึ่งอาจพัฒนาไปเป็นต้นต่อไป ส่วนลักษณะที่ 2 เป็นเม็ดใสสีเขียวภายในประกอบด้วยน้ำเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งไม่สามารถพัฒนาไปเป็นต้น โดยพบ ELS ทั้งสองลักษณะเกิดขึ้นในปริมาณมากเบียดกันเต็มชิ้นรังไข่แตงกวาในอาหารสูตร I2E ซึ่งทำให้ ELS ไม่สามารถพัฒนาต่อได้และตายในระยะเวลาต่อมา

จากการพิจารณาอาหารระยะที่ 2 ทั้ง 3 สูตร ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS พบว่าอาหารทั้ง 3 สูตร มีความสามารถชักนำให้เกิด ELS ได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($F_{2, 137}$ = 0.06; $P > 0.05$; ตารางภาคผนวกที่ 12; ตารางที่ 19) โดยพบว่าอาหารระยะที่ 2 ทั้ง 3 สูตร (D2, D2+ และ D2++) สามารถชักนำให้เกิด ELS ได้เท่ากับ 61.40, 55.80 และ 62.32 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในทำนองเดียวกัน การเกิดแคลลัสในอาหารทั้ง 3 สูตรไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($F_{2, 137}$ = 0.18; $P > 0.05$; ตารางภาคผนวกที่ 13; ตารางที่ 19) ซึ่งอาหารแต่ละสูตร คือ D2, D2+ และ D2++ มีศักยภาพในการชักนำให้เกิดแคลลัสได้เท่ากับ 66.18, 62.68 และ 64.44 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม เนื้อเยื่อที่พัฒนาผ่านอาหารสูตร I2A เมื่อย้ายรังไข่ลงในอาหารระยะที่ 2 พบว่าเนื้อเยื่อสามารถเจริญเปลี่ยนรูปร่าง และพัฒนาเป็นเอ็มบริโอมากกว่าอาหารสูตรอื่น

จากการพิจารณาปฏิสัมพันธ์ระหว่าง 2 ปัจจัย คือ พันธุ์กับอาหารระยะที่ 1 พันธุ์กับอาหารระยะที่ 2 และอาหารระยะที่ 1 กับ 2 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS พบว่าพันธุ์กับอาหารระยะที่ 1 มีปฏิสัมพันธ์ต่อการเกิด ELS อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{15, 137}$ = 2.97; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 12; ตารางที่ 20) ส่วนพันธุ์กับอาหารระยะที่ 2 และอาหารระยะที่ 1 กับ 2 ไม่มีปฏิสัมพันธ์ต่อการเกิด ELS ($P > 0.05$; ตารางภาคผนวกที่ 12; ตารางที่ 21) ซึ่งการเกิดแคลลัสให้ผลเช่นเดียวกันกับการเกิด ELS โดยพันธุ์กับอาหารระยะที่ 1 มีปฏิสัมพันธ์ต่อการเกิดแคลลัสอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($F_{15, 137}$ = 2.83; $P < 0.01$; ตารางภาคผนวกที่ 13; ตารางที่ 20) ส่วนปฏิสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์กับอาหารระยะที่ 2 และอาหารระยะที่ 1 กับอาหารระยะที่ 2 ไม่มีอิทธิพลต่อการเกิดแคลลัส ($P > 0.05$; ตารางภาคผนวกที่ 13; ตารางที่ 21)

ส่วนปฏิสัมพันธ์ระหว่าง 3 ปัจจัย คือ พันธุ์ อาหารระยะที่ 1 และ 2 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัส พบว่าไม่มีปฏิสัมพันธ์ระหว่างทั้ง 3 ปัจจัยต่อการเกิด ELS และแคลลัส ($P > 0.05$; ตารางภาคผนวกที่ 12 และ 13; ตารางที่ 21)

ตารางที่ 17 ผลของพันธุ์แตงกวาต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัส

พันธุ์	ELS (%)	แคลลัส (%)
ไฉไล	49.68 ± 6.71[a]	49.68 ± 6.71
3	48.47 ± 6.85	66.33 ± 6.58
4	60.42 ± 6.98	62.50 ± 6.90
บิ๊กซี	77.82 ± 4.99	77.40 ± 4.98

[a] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE

ตารางที่ 18 ผลของอาหารระยะที่ 1 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัสในแตงกวา 4 พันธุ์

อาหารระยะที่ 1	ELS (%)	แคลลัส (%)
I2	76.04 ± 7.89 ab[a]	80.21 ± 7.82 a
I2A	83.06 ± 6.28 a	83.06 ± 6.28 a
I2B	43.16 ± 7.52 c	48.29 ± 7.59 b
I2C	58.54 ± 7.79 bc	65.24 ± 7.45 ab
I2D	70.95 ± 7.35 ab	75.68 ± 6.88 a
I2E	37.27 ± 7.60 c	42.82 ± 7.81 b

[a] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE ตัวอักษรที่ต่างกันในแถวแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05 จากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 19 ผลของอาหารระยะที่ 2 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัสในแตงกวา 4 พันธุ์

อาหารระยะที่ 2	ELS (%)	แคลลัส (%)
D2	61.40 ± 5.60[a]	66.18 ± 5.46
D2+	55.80 ± 5.81	62.68 ± 5.62
D2++	62.32 ± 5.54	64.44 ± 5.52

[a] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE ตัวอักษรที่ต่างกันในแถวแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05 จากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 20 อิทธิพลของพันธุ์ และอาหารระยะที่ 1 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัสในแตงกวา 4 พันธุ์

พันธุ์	อาหารระยะที่ 1	ELS (%)	แคลลัส (%)
ไฉไล	I2	95.00 ± 5.00 ab[a]	95.00 ± 5.00 abc
	I2A	71.43 ± 18.44 abc	71.43 ± 18.44 abc
	I2B	46.67 ± 15.87 bcd	46.67 ± 15.87 cde
	I2C	45.45 ± 15.74 bcd	45.45 ± 15.74 cde
	I2D	71.43 ± 18.44 abc	71.43 ± 18.44 abc
	I2E	11.81 ± 6.84 d	11.81 ± 6.84 de
3	I2	50.00 ± 0.00 bcd	100.00 ± 0.00 a
	I2A	75.00 ± 16.37 abc	75.00 ± 16.37 abc
	I2B	27.78 ± 14.70 cd	50.00 ± 16.67 bcde
	I2C	36.36 ± 15.21 cd	54.55 ± 15.75 abcd
	I2D	65.63 ± 15.63 abc	87.50 ± 8.18 abc
	I2E	45.45 ± 15.75 bcd	63.64 ± 15.21 abc
4	I2	71.43 ± 18.44 abc	71.43 ± 18.44 abc
	I2A	100.00 ± 0.00 a	100.00 ± 0.00 a
	I2B	5.00 ± 5.00 d	5.00 ± 5.00 e
	I2C	50.00 ± 18.90 bcd	62.50 ± 18.30 abc
	I2D	72.73 ± 14.08 abc	72.73 ± 14.08 abc
	I2E	92.86 ± 7.14 ab	92.86 ± 7.14 abc
บิ๊กซี	I2	75.00 ± 13.44 abc	75.00 ± 13.44 abc
	I2A	88.64 ± 6.18 ab	88.64 ± 6.18 abc
	I2B	91.67 ± 5.69 ab	91.67 ± 5.69 abc
	I2C	100.00 ± 0.00 a	97.73 ± 2.27 ab
	I2D	72.73 ± 14.08 abc	72.73 ± 14.08 abc
	I2E	8.33 ± 8.33 d	8.33 ± 8.33 e

[a] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE ตัวอักษรที่ต่างกันในแถวแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05 จากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 21 อิทธิพลของพันธุ์ อาหารระยะที่ 1 และ 2 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัสในแตงกวา 4 พันธุ์

พันธุ์	อาหารระยะที่ 1	อาหารระยะที่ 2	ELS (%)	แคลลัส (%)
ไฉไล	I2	D2	75.00 ± 0.00[a]	75.00 ± 0.00
		D2+	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
		D2++	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
	I2A	D2	66.67 ± 33.33	66.67 ± 33.33
		D2+	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
		D2++	50.00 ± 50.00	50.00 ± 50.00
	I2B	D2	66.67 ± 33.33	66.67 ± 33.33
		D2+	33.33 ± 33.33	33.33 ± 33.33
		D2++	41.67 ± 25.00	41.67 ± 25.00
	I2C	D2	33.33 ± 33.33	33.33 ± 33.33
		D2+	50.00 ± 28.87	50.00 ± 28.87
		D2++	50.00 ± 28.87	50.00 ± 28.87
	I2D	D2	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
		D2+	66.67 ± 33.33	66.67 ± 33.33
		D2++	66.67 ± 33.33	66.67 ± 33.33
	I2E	D2	18.75 ± 18.75	18.75 ± 18.75
		D2+	8.33 ± 8.33	8.33 ± 8.33
		D2++	8.33 ± 8.33	8.33 ± 8.33
3	I2	D2	NA[b]	NA
		D2+	50.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
		D2++	50.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
	I2A	D2	66.67 ± 33.33	66.67 ± 33.33
		D2+	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
		D2++	66.67 ± 33.33	66.67 ± 33.33
	I2B	D2	16.67 ± 16.67	50.00 ± 28.87
		D2+	0	33.33 ± 33.33
		D2++	66.67 ± 33.33	66.67 ± 33.33

ตารางที่ 21 อิทธิพลของพันธุ์ อาหารระยะที่ 1 และ 2 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัสในแตงกวา 4 พันธุ์ (ต่อ)

พันธุ์	อาหารระยะที่ 1	อาหารระยะที่ 2	ELS (%)	แคลลัส (%)
3	I2C	D2	25.00 ± 25.00	50.00 ± 28.87
		D2+	25.00 ± 25.00	20.00 ± 28.87
		D2++	66.67 ± 33.33	66.67 ± 33.33
	I2D	D2	37.50 ± 37.50	100.00 ± 0.00
		D2+	66.67 ± 33.33	83.33 ± 16.67
		D2++	83.33 ± 16.67	83.33 ± 16.67
	I2E	D2	33.33 ± 33.33	33.33 ± 33.33
		D2+	50.00 ± 28.87	75.00 ± 25.00
		D2++	50.00 ± 28.87	75.00 ± 25.00
4	I2	D2	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
		D2+	66.67 ± 33.33	66.67 ± 33.33
		D2++	50.00 ± 50.00	50.00 ±50.00
	I2A	D2	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
		D2+	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
		D2++	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
	I2B	D2	16.67 ± 16.67	16.67 ± 16.67
		D2+	0	0
		D2++	0	0
	I2C	D2	66.67 ± 33.33	66.67 ± 33.33
		D2+	33.33 ± 33.33	66.67 ± 33.33
		D2++	50.00 ± 50.00	50.00 ± 50.00
	I2D	D2	75.00 ± 25.00	75.00 ± 25.00
		D2+	66.67 ± 33.33	66.67 ± 33.33
		D2++	75.00 ± 25.00	75.00 ± 25.00
	I2E	D2	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
		D2+	75.00 ± 25.00	75.00 ± 25.00
		D2++	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00

ตารางที่ 21 อิทธิพลของพันธุ์ อาหารระยะที่ 1 และ 2 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัสในแตงกวา 4 พันธุ์ (ต่อ)

พันธุ์	อาหารระยะที่ 1	อาหารระยะที่ 2	ELS (%)	แคลลัส (%)
บิ๊กซี	I2	D2	75.00 ± 25.00	75.00 ± 25.00
		D2+	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
		D2++	62.50 ± 23.94	62.50 ± 23.94
	I2A	D2	87.50 ± 12.50	87.50 ± 12.50
		D2+	87.50 ± 8.33	87.50 ± 8.33
		D2++	91.67 ± 12.50	91.67 ± 12.50
	I2B	D2	87.50 ± 8.33	87.50 ± 8.33
		D2+	91.67 ± 0.00	91.67 ± 0.00
		D2++	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
	I2C	D2	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
		D2+	100.00 ± 0.00	91.67 ± 8.33
		D2++	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
	I2D	D2	75.00 ± 25.00	75.00 ± 25.00
		D2+	66.67 ± 33.33	66.67 ± 33.33
		D2++	75.00 ± 25.00	75.00 ± 25.00
	I2E	D2	25.00 ± 25.00	25.00 ± 25.00
		D2+	0	0
		D2++	0	0

[a] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE

[b] ไม่สามารถบันทึกข้อมูลได้ เนื่องจากการปนเปื้อน

2.3 การทดลองเปรียบเทียบสูตรอาหารเพาะเลี้ยง ช่วงที่ 3

การศึกษาอิทธิพลของพันธุ์ อาหารระยะที่ 1 อาหารระยะที่ 2 และอาหารระยะที่ 3

จากผลการศึกษาอิทธิพลของอาหารเพาะเลี้ยงในช่วงที่ 2 โดยใช้พันธุ์แตงกวา จำนวน 9 พันธุ์ (ไฉไล, เบอร์ 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11 และบิ๊กซี) พบว่าพันธุ์แตงกวาแต่ละพันธุ์มีการตอบสนองต่ออาหารเพาะเลี้ยงได้แตกต่างกัน พันธุ์ที่เกิดจำนวน ELS และแคลลัสได้ดีที่สุด คือ พันธุ์เบอร์ 7 แต่เนื่องจากแตงกวาพันธุ์ดังกล่าวและอีก 6 พันธุ์ (เบอร์ 3, 4, 5, 6, 9, และ 11) เป็นพันธุ์ที่มีเมล็ดจำนวนจำกัด และพันธุ์เบอร์ 5, 6, 7, 9, และ 11 มีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์สูง จึงไม่สามารถเก็บข้อมูลในอาหารระยะที่ 2 ได้ ดังนั้นในการทดลองช่วงที่ 3 นี้ จึงใช้พันธุ์แตงกวา จำนวน 2 พันธุ์ คือ ไฉไล และบิ๊กซี เป็นปัจจัยที่ 1 ส่วนปัจจัยที่ 2 คือ อาหารระยะที่ 1 ซึ่งผลการทดลองที่ผ่านมา พบว่าองค์ประกอบบางอย่างในสูตรอาหารระยะนี้มีผลทำให้การเจริญเติบโตของ

เนื้อเยื่อผิดปกติ เนื้อเยื่อที่ส่วนขอบและตรงกลางมีสีคล้ำจนถึงดำ ทำให้เนื้อเยื่อเริ่มตาย ซึ่งลักษณะนี้จะพบมากในอาหารที่มี melissyl alcohol (MA) แทบทุกสูตร สอดคล้องกับการทดลองของ Hoagland (1980) ซึ่งรายงานว่า MA หรือ triacontanol ความเข้มข้นประมาณ 0.001 M (438.8 มก./ล) ช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช ขณะที่ความเข้มข้นสูงจะยับยั้งการเจริญเติบโต ดังนั้นการทดลองนี้จึงปรับสูตรอาหารระยะที่ 1 โดยใช้สูตรอาหาร I2 สูตรใหม่ จำนวน 3 สูตร (I2B+, I2C+ และ I2F) ที่ใส่ MA ความเข้มข้น 0.02 มก./ล ลดลง 100 เท่า จากสูตรปกติ (I2B และ I2C) และใช้อาหารสูตร I2 เป็นสูตรอาหารควบคุม ปัจจัยที่ 3 คือ อาหารระยะที่ 2 ซึ่งแบ่งเป็น 2 ทรีตเมนท์ ประกอบด้วย ทรีตเมนท์ที่ 1 ใช้อาหารสูตร MST3+ และ MST3++ ทรีตเมนท์ที่ 2 ใช้อาหารสูตร D2+++ ซึ่งการแบ่งทรีตเมนท์ลักษณะนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเกิด ELS และแคลลัสจากอาหารสูตร MST3+ และ MST3++ (อาหารสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระยะที่ 3) เปรียบเทียบกับอาหารสูตร D2+++ (อาหารสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระยะที่ 2 ตามปกติ) และปัจจัยที่ 4 คือ อาหารระยะที่ 3 จำนวน 2 สูตร (MST3+ และ MST3++) ซึ่งจากผลการทดลองเปรียบเทียบระหว่างพันธุ์ต่อเปอร์เซ็นการเกิด ELS และแคลลัส พบว่ารังไข่ของแตงกวาทั้งสองพันธุ์สามารถพัฒนาไปเป็น ELS ได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($F_{1, 123}$ = 0.41; P > 0.05; ตารางภาคผนวกที่ 14; ตารางที่ 22) โดยแตงกวาพันธุ์ไฉไลและบิ๊กซีมีเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS เท่ากับ 43.38 และ 48.20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เช่นเดียวกันกับการเกิดแคลลัสของแตงกวาทั้งสองพันธุ์ที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($F_{1, 123}$ = 1.09; P > 0.05; ตารางภาคผนวกที่ 15; ตารางที่ 22) โดยพบว่ารังไข่ของแตงกวาพันธุ์ไฉไลและบิ๊กซีมีอัตราการเกิดแคลลัส เท่ากับ 58.64 และ 37.20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาที่อาหารระยะที่ 1 ต่อเปอร์เซ็นการเกิด ELS พบว่าอาหารระยะที่ 1 แต่ละสูตรมีศักยภาพในการชักนำให้เกิด ELS ได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($F_{3, 123}$ = 1.20; P > 0.05; ตารางภาคผนวกที่ 14; ตารางที่ 23) โดยอาหารระยะที่ 1 สูตร I2, I2B+, I2C+ และ I2F สามารถชักนำการเกิด ELS ได้เท่ากับ 51.49, 41.76, 48.68 และ 38.99 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในทำนองเดียวกัน พบว่าอาหารระยะที่ 1 แต่ละสูตรสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($F_{3, 123}$ = 0.69; P > 0.05; ตารางภาคผนวกที่ 15; ตารางที่ 23) โดยอาหารสูตร I2, I2B+, I2C+ และ I2F มีศักยภาพในการชักนำการเกิดแคลลัสได้เท่ากับ 64.66, 59.13, 67.67 และ 58.22 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าสูตรอาหาร I2 สูตรใหม่ ทั้ง 3 สูตร (I2B+, I2C+ และ I2F) ที่ใส่ MA ความเข้มข้น 0.02 มก./ล ลดลง 100 เท่า ให้ผลไม่แตกต่างจากสูตรอาหาร I2 ปกติ ที่ไม่ใส่ MA

และจากการแบ่งอาหารระยะที่ 2 เป็น 2 ทรีตเมนท์ เพื่อเปรียบเทียบสูตรอาหารที่ใช้ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS พบว่าแต่ละทรีตเมนท์มีอิทธิพลต่อการเกิด ELS แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($F_{1, 123}$ = 4.11; P < 0.05; ตารางภาคผนวกที่ 14; ตารางที่ 24) โดยพบว่าทรีตเมนท์ที่ 2 (อาหารสูตร D2+++) มีศักยภาพในการชักนำการเกิด ELS ได้ดีกว่าทรีตเมนท์ที่ 1 (อาหารสูตร MST3+ และ MST3++) โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS เท่ากับ 52.12 และ 38.63 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อพิจารณาการเกิดแคลลัส พบว่าให้ผลเช่นเดียวกันกับการเกิด ELS ($F_{1, 123}$ = 6.52; P < 0.05; ตารางภาคผนวกที่ 15; ตารางที่ 24) โดยทรีต-เมนท์ที่ 2 สามารถชักนำการเกิดแคลลัสได้ดีกว่าทรีตเมนท์ที่ 1 (68.99 และ 56.05 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) ซึ่งการเพาะเลี้ยงรังไข่แตงกวาบน

อาหารระยะที่ 2 สูตร D2+++ หลังจากเพาะเลี้ยงในอาหารระยะที่ 1 ครบตามกำหนด มีส่วนช่วยในการพัฒนาเนื้อเยื่อรังไข่ให้เจริญไปเป็น ELS และแคลลัสที่สมบูรณ์ ELS มีสีขาวขุ่นอมเขียว พัฒนาเป็นโครงสร้างที่มีรูปร่าง nodular shape อย่างชัดเจน และแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร D2+++ มีลักษณะเซลล์ขยายขนาดใหญ่ขึ้น สีเขียวอมเหลือง ซึ่งแตกต่างจากเนื้อเยื่อแตงกวาที่เพาะเลี้ยงในทรีตเมนท์ที่ 1 ซึ่งพบว่าเนื้อเยื่อเริ่มต้นยังคงมีชีวิตแต่ไม่เจริญ

เมื่อพิจารณาการเกิด ELS บนรังไข่แตงกวาในอาหารระยะที่ 3 พบว่าอาหารระยะที่ 3 ทั้งสองสูตรสามารถชักนำการเกิด ELS ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($F_{1,\ 123}$ = 5.65; P < 0.05; ตารางภาคผนวกที่ 14; ตารางที่ 25) โดยอาหารสูตร MST3++ สามารถชักนำการเกิด ELS ได้ดีกว่าอาหารสูตร MST3+ (50.99 และ 39.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) แต่จำนวนการเกิดแคลลัสไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($F_{1,\ 123}$ = 1.08; P > 0.05; ตารางภาคผนวกที่ 15; ตารางที่ 25) ซึ่งอาหารทั้งสองสูตร (MST3+ และ MST3++) สามารถชักนำการเกิดแคลลัสได้เท่ากับ 59.49 และ 65.51 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม การเพาะเลี้ยงชิ้นเนื้อเยื่อในอาหารระยะที่ 3 นี้นานเกิน 1 เดือน เนื้อเยื่อจะเริ่มปนเปื้อนและตาย

และจากผลของการวิเคราะห์ปฏิสัมพันธ์ต่อการเกิด ELS และแคลลัสของรังไข่แตงกวาระหว่าง 2 ปัจจัย คือ พันธุ์กับอาหารระยะที่ 1 พันธุ์กับอาหารระยะที่ 2 พันธุ์กับอาหารระยะที่ 3 อาหารระยะที่ 1 กับ 2 อาหารระยะที่ 1 กับ 3 อาหารระยะที่ 2 กับ 3 ปฏิสัมพันธ์ระหว่าง 3 ปัจจัย คือ พันธุ์ อาหารระยะที่ 1 และ 2, พันธุ์ อาหารระยะที่ 1 และ 3, พันธุ์ อาหารระยะที่ 2 และ 3, อาหารระยะที่ 1, 2 และ 3 และปฏิสัมพันธ์ระหว่าง 4 ปัจจัย คือ พันธุ์ อาหารระยะที่ 1, 2 และ 3 พบว่าไม่มีปฏิสัมพันธ์กันระหว่าง 2, 3 และ 4 ปัจจัยต่อการเกิด ELS และแคลลัสของเนื้อเยื่อรังไข่แตงกวา (P > 0.05; ตารางภาคผนวกที่ 14 และ 15; ตารางที่ 27) ยกเว้น พันธุ์กับอาหารระยะที่ 2 ซึ่งมีปฏิสัมพันธ์ต่อการเกิดแคลลัสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($F_{1,\ 123}$ = 5.00; P < 0.05; ตารางภาคผนวกที่ 15; ตารางที่ 26)

หลังจากเพาะเลี้ยงในอาหารระยะที่ 3 นานประมาณ 2 เดือน จึงย้ายเนื้อเยื่อลงเพาะเลี้ยงในอาหาร MS0 จนพัฒนาเป็นต้นสมบูรณ์ เพื่อนำไปทดสอบในการทดลองส่วนที่ 3 ต่อไป

ตารางที่ 22 ผลของพันธุ์แตงกวาต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัส

พันธุ์	ELS (%)	แคลลัส (%)
ไฉไล	43.38 ± 3.20 [a]	58.64 ± 3.73
บิ๊กซี	48.20 ± 4.08	37.20 ± 4.30

[a] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE

ตารางที่ 23 ผลของอาหารระยะที่ 1 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัสในแตงกวาทั้งสองพันธุ์

อาหารระยะที่ 1	ELS (%)	แคลลัส (%)
I2	51.49 ± 5.12 [a]	64.66 ± 5.88
I2B+	41.76 ± 4.55	59.13 ± 5.83
I2C+	48.68 ± 5.47	67.67 ± 5.13
I2F	38.99 ± 5.01	58.22 ± 5.74

[a] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE

ตารางที่ 24 ผลของอาหารระยะที่ 2 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัสในแตงกวาทั้งสองพันธุ์

อาหารระยะที่ 2	ELS (%)	แคลลัส (%)
T1[a]	38.63 ± 3.05 b[b]	56.05 ± 3.43 b
T2	52.12 ± 3.93 a	68.99 ± 4.38 a

[a] T1= MST3+ และ MST3++; T2 = D2+++

[b] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE ตัวอักษรที่ต่างกันในแถวแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05 จากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 25 ผลของอาหารระยะที่ 3 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัสในแตงกวาทั้งสองพันธุ์

อาหารระยะที่ 3	ELS (%)	แคลลัส (%)
MST3+	39.75 ± 3.55 b[a]	59.49 ± 4.19
MST3++	50.99 ± 3.52 a	65.51 ± 3.76

[a] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE ตัวอักษรที่ต่างกันในแถวแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05 จากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 26 อิทธิพลของพันธุ์ และอาหารระยะที่ 2 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสในแตงกวาทั้งสองพันธุ์

พันธุ์	อาหารระยะที่ 2	แคลลัส (%)
ไฉไล	MST3+[a]	57.37 ± 6.15 ab[b]
	MST3++	61.99 ± 5.92 ab
	D2+++	60.97 ± 6.06 ab
บิ๊กซี	MST3+	45.83 ± 8.10 b
	MST3++	58.65 ± 7.21 ab
	D2+++	77.67 ± 6.11 a

[a] MST3+ และ MST3++ = T1; D2+++ = T2

[b] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE ตัวอักษรที่ต่างกันในแถวแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติในระดับ 0.05 จากการเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 27 อิทธิพลของพันธุ์ อาหารระยะที่ 1, 2 และ 3 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัสในแตงกวาทั้งสองพันธุ์

พันธุ์	อาหารระยะที่ 1	อาหารระยะที่ 2	อาหารระยะที่ 3	ELS (%)	แคลลัส (%)
ไฉไล	I2	MST3+ [a]	MST3+	36.17 ± 11.10 [b]	57.55 ± 14.15
		MST3++	MST3++	33.52 ± 9.93	60.10 ± 18.43
		D2+++	MST3+	50.59 ± 17.58	61.26 ± 18.43
		D2+++	MST3++	43.06 ± 15.88	47.22 ± 19.80
	I2B	MST3+	MST3+	32.83 ± 5.11	62.79 ± 11.48
		MST3++	MST3++	47.68 ± 4.67	74.56 ± 9.42
		D2+++	MST3+	48.01 ± 13.97	65.97 ± 18.24
		D2+++	MST3++	53.45 ± 14.32	74.69 ± 11.95
	I2C	MST3+	MST3+	50.72 ± 12.60	58.34 ± 9.83
		MST3++	MST3++	50.74 ± 8.29	64.80 ± 4.29
		D2+++	MST3+	39.28 ± 16.43	61.92 ± 17.45
		D2+++	MST3++	69.29 ± 14.10	62.00 ± 18.51
	I2F	MST3+	MST3+	19.84 ± 6.12	50.81 ± 16.37
		MST3++	MST3++	21.50 ± 5.60	48.48 ± 11.36
		D2+++	MST3+	38.63 ± 16.30	48.33 ± 21.44
		D2+++	MST3++	57.38 ± 17.36	66.33 ± 19.76
บิ๊กซี	I2	MST3+	MST3+	30.84 ± 7.78	32.83 ± 13.65
		MST3++	MST3++	60.30 ± 18.38	63.94 ± 18.45
		D2+++	MST3+	79.33 ± 11.55	100.0 ± 0.00
		D2+++	MST3++	78.14 ± 8.17	94.33 ± 3.92
	I2B	MST3+	MST3+	29.17 ± 14.73	45.31 ± 21.56
		MST3++	MST3++	36.95 ± 13.08	40.28 ± 14.23
		D2+++	MST3+	34.45 ± 14.29	57.78 ± 23.63
		D2+++	MST3++	48.09 ± 20.75	45.14 ± 20.89
	I2C	MST3+	MST3+	39.55 ± 20.08	59.55 ± 20.20
		MST3++	MST3++	48.33 ± 21.44	77.22 ± 12.16
		D2+++	MST3+	28.67 ± 17.91	72.00 ± 19.56
		D2+++	MST3++	66.39 ± 5.05	90.00 ± 10.00

ตารางที่ 27 อิทธิพลของพันธุ์ อาหารระยะที่ 1, 2 และ 3 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัสในแตงกวาทั้งสองพันธุ์ (ต่อ)

พันธุ์	อาหารระยะที่ 1	อาหารระยะที่ 2	อาหารระยะที่ 3	ELS (%)	แคลลัส (%)
บิ๊กซี	I2F	MST3+	MST3+	39.26 ± 11.96	45.51 ± 12.53
		MST3++	MST3++	38.52 ±11.89	49.49 ± 9.72
		D2+++	MST3+	35.72 ± 23.69	71.43 ± 24.05
		D2+++	MST3++	65.75 ± 13.14	95.46 ± 4.55

[a] MST3+ และ MST3++ = T1; D2+++ = T2

[b] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE

2.4 การทดลองเปรียบเทียบสูตรอาหารเพาะเลี้ยง ช่วงที่ 4

การศึกษาอิทธิพลของพันธุ์ และอาหารเพาะเลี้ยงระยะที่ 1

จากการทดลองเปรียบเทียบอาหารเพาะเลี้ยงสูตรต่าง ๆ เพื่อนำสูตรอาหารที่เหมาะสมมาใช้ชักนำเนื้อเยื่อรังไข่แตงกวาให้เจริญเป็นต้นที่สมบูรณ์ พบว่าอาหารที่มีผลต่อการพัฒนาของเนื้อเยื่อรังไข่ไปเป็น ELS และแคลลัส คือ อาหารระยะที่ 1 ดังนั้นในการทดลองนี้จึงนำสูตรอาหาร I2 มาปรับปรุงเพื่อให้ได้ ELS แคลลัส และยอดกลุ่มที่พร้อมจะเจริญเป็นต้นที่สมบูรณ์มากขึ้น รวมทั้งใช้สูตรอาหารที่มีรายงานมาก่อนเพื่อเปรียบเทียบ รวมสูตรอาหารที่ใช้ทดลองทั้งหมดจำนวน 5 สูตร (I2G, $I2G_{MA}$, I3, I7 และ I8) ใช้พันธุ์แตงกวาการค้า จำนวน 2 พันธุ์ คือ ไฉไลและบิ๊กซีเพื่อผลิตสายพันธุ์แท้ เนื่องจากเป็นพันธุ์ที่ตอบสนองต่อการเพาะเลี้ยงรังไข่ได้ดี ส่วนอาหารระยะที่ 2 และ 3 ใช้สูตร D2+++ และ MST3++ ตามลำดับ ซึ่งเป็นสูตรอาหารที่รังไข่แตงกวาสามารถพัฒนาไปเป็น ELS และแคลลัสได้ดีที่สุด และจากการทดลองเปรียบเทียบระหว่างพันธุ์ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS แคลลัส และยอดกลุ่ม พบว่ารังไข่แตงกวาทั้งสองพันธุ์สามารถพัฒนาไปเป็น ELS แคลลัส และยอดกลุ่มได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$; ตารางภาคผนวกที่ 16, 17 และ 18; ตารางที่ 28) โดยรังไข่ของแตงกวาพันธุ์ไฉไล สามารถพัฒนาไปเป็น ELS แคลลัส และยอดกลุ่มได้เท่ากับ 66.13, 86.95 และ 5.95 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนพันธุ์บิ๊กซีได้เท่ากับ 65.35, 83.09 และ 9.08 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาอิทธิพลของอาหารระยะที่ 1 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS แคลลัส และยอดกลุ่ม พบว่าอาหารระยะที่ 1 แต่ละสูตรมีศักยภาพในการชักนำการเกิด ELS แคลลัส และยอดกลุ่มได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$; ตารางภาคผนวกที่ 16, 17 และ 18; ตารางที่ 29) และจากการวิเคราะห์ปฏิสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์กับอาหารระยะที่ 1 พบว่าพันธุ์กับอาหารระยะที่ 1 ไม่มีปฏิสัมพันธ์ต่อการเกิด ELS แคลลัส และยอดกลุ่ม ($P > 0.05$; ตารางภาคผนวกที่ 16, 17 และ 18; ตารางที่ 30)

ซึ่งจากการสังเกตผลของสูตรอาหารระยะที่ 1 ทั้ง 5 สูตรต่อการกระตุ้นให้เซลล์พร้อมที่จะพัฒนาและเปลี่ยนแปลงเป็นอวัยวะต่าง ๆ เมื่อย้ายมาเพาะเลี้ยงในอาหารระยะที่ 2 และ 3 และสามารถพัฒนาไปเป็นพืชต้นใหม่ได้โดยตรงในอาหารสูตร MS0 ดังแสดงในภาพที่ 1 และ 2 พบว่าอาหารระยะที่ 1 สูตร I8 จะเกิด ELS สูงที่สุด 72.53 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสูตรอื่น โดยลักษณะของ ELS มี 2 แบบ คือ

ลักษณะเป็นเซลล์สีขาวขุ่นและเซลล์ใสจับตัวกันแน่นเต็มชิ้นรังไข่ อาหารที่พัฒนาเป็นแคลลัสได้สูงที่สุด คือ อาหาร I3 (88.54 เปอร์เซ็นต์) (ตารางที่ 29) รังไข่แตงกวามีการเปลี่ยนรูปร่างและมีขนาดใหญ่ขึ้น มีสีเหลืองอมเขียว แต่สูตรอาหารที่ช่วยให้เซลล์พร้อมที่จะพัฒนาเป็นยอดเมื่อย้ายลงในอาหารระยะที่ 2 และ 3 ได้สูงที่สุดคือ อาหาร $I2G_{MA}$ (13.81 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งมีข้อสังเกตว่า แตงกวาสามารถเจริญเป็นต้นใหม่ได้หลังจาก ELS พัฒนาเปลี่ยนแปลงเป็นอวัยวะต่าง ๆ โดยพบว่าความสามารถในการเกิดต้นขึ้นอยู่กับสูตรอาหารระยะที่ 1 แม้ว่าอาหาร I8 (MS + TDZ 0.04 มก./ล + melissyl alcohol 0.02 มก./ล + casein hydrolyzate 500 มก./ล) จะให้เปอร์เซ็นต์การเกิด ELS สูงสุด แต่ไม่ได้ให้อัตราการเกิดยอดสูงที่สุด ส่วนสูตรอาหารที่ชักนำให้เกิดยอดสูงที่สุดคือ $I2G_{MA}$ (MS + TDZ 1 มก./ล + BA 1 มก./ล + melissyl alcohol 0.02 มก./ล + glutamine 800 มก./ล + casein hydrolyzate 500 มก./ล) ทั้งนี้อาจเนื่องจากอาหารสูตร I8 ไม่ได้เติม BA ซึ่งเป็นไซ-โตไคนินชนิดหนึ่ง และ/หรือใช้ TDZ ความเข้มข้นต่ำกว่าสูตร $I2G_{MA}$ 25 เท่า ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Pathirana et al. (2011) ที่พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นปัจจัยสำคัญต่อการชักนำต้น gentian ที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูและโอวุล โดยอาหารที่มีองค์ประกอบของ NAA และ BA จะช่วยกระตุ้นการเกิดแคลลัสและการชักนำต้นได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ Selvaraj et al. (2007) รายงานว่าอาหาร MS ที่เติม NAA 1.34 µM (0.25 มก./ล) + BA 8.88 µM (1.80 มก./ล) + zeatin 0.91 µM (0.48 มก./ล) + L-glutamine 136.85 µM (20 มก./ล) กระตุ้นการเกิดยอดกลุ่มของแตงกวาได้ เมื่อพิจารณาที่อาหาร $I2G_{MA}$ ซึ่งกระตุ้นการเกิดยอดกลุ่มได้ดี พบว่ามี casein hydrolyzate เป็นองค์ประกอบด้วย สอดคล้องกับผลการทดลองของ Ahmad and Anis (2005) ซึ่งรายงานว่าอาหารที่เหมาะสมในการเกิดยอดกลุ่มของแตงกวา คือ อาหาร MS ที่ใส่ BA 1.0 µM (0.20 มก./ล) และ casein hydrolyzate 200 มก./ล อย่างไรก็ตาม พบว่าอาหาร $I2G_{MA}$ ให้เปอร์เซ็นต์การเกิด ELS ต่ำกว่าอาหาร I8 1.13 เท่า แม้ว่า ELS ที่เกิดบนอาหาร $I2G_{MA}$ จะมีทั้ง 2 ลักษณะ คือ เป็นเม็ดสีขาวขุ่นอมเขียวพร้อมที่จะพัฒนาเป็นต้นและเป็นเม็ดใส เช่นเดียวกับอาหาร I8 แต่ ELS ที่ได้มีจำนวนน้อยกว่าและเกาะกันแบบหลวม ๆ ไม่เกิด ELS จำนวนมากจนเต็มชิ้นรังไข่เหมือน ในอาหาร I8 ทำให้สามารถขยายขนาดใหญ่ขึ้นได้เมื่อย้ายลงในอาหารระยะที่ 2 (D2+++) สามารถสังเกตการเปลี่ยนแปลงรูปร่างในแบบต่าง ๆ ได้อย่างชัดเจน และสามารถเกิดยอดได้ดีกว่า เมื่อย้ายลงบนอาหารระยะที่ 3 เซลล์ที่พัฒนาเป็นอวัยวะต่าง ๆ จะเริ่มชัดเจนขึ้นและสามารถสังเกตเห็นยอด ส่วนรังไข่แตงกวาที่เจริญเป็นแคลลัสจะไม่สามารถพัฒนาเป็นต้นได้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Shail and Robinson (1987) ซึ่งเพาะเลี้ยงโอวุลของ squash (*C. pepo*) พบว่ามีอัตราการชักนำต้นจากแคลลัสต่ำ ส่วนการนำโอวุลลูกผสมระหว่าง *C. pepo* × *C. ecuadorerensis* มาเพาะเลี้ยงหลังผสม 24-72 ชั่วโมง พบว่าสามารถสร้างแคลลัสได้ดี แต่ไม่มีการพัฒนาต้นเช่นกัน ผลการทดลองนี้บ่งชี้ว่าสูตรอาหารที่พัฒนาขึ้นใหม่คือ I2G และ $I2G_{MA}$ ส่งเสริมให้เกิดเปอร์เซ็นต์ยอดกลุ่มสูงกว่าสูตรอาหารที่มีรายงานมาก่อน (I7) ประมาณ 2.5-7 เท่า

เมื่อพิจารณาที่พันธุ์ พบว่าพันธุ์ไฉไล เกิด ELS (66.13 เปอร์เซ็นต์) และแคลลัส (86.95 เปอร์เซ็นต์) สูงกว่าพันธุ์บิ๊กซีเพียงเล็กน้อยและไม่แตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตามลักษณะการพัฒนาของเนื้อเยื่อของทั้งสองพันธุ์แตกต่างกัน โดยชิ้นรังไข่ของแตงกวาพันธุ์ไฉไล มีลักษณะชิ้นที่เรียวยาวแต่เล็ก เมื่อวางเพาะเลี้ยงจะพัฒนาเป็น ELS จำนวนมาก ลักษณะสีขาวขุ่นอมเขียวและเม็ดใสเบียดกันแน่น แคลลัสมีสีเหลืองอมเขียวขยาย

ขนาดใหญ่ขึ้น ซึ่งแม้ว่าลักษณะของ ELS และแคลลัสดังกล่าวจะคล้ายกับพันธุ์บิ๊กซี แต่ต่างกันที่ลักษณะชิ้นรังไข่ของพันธุ์บิ๊กซีมีขนาดใหญ่และอ้วนกว่า เกิด ELS และแคลลัสน้อยกว่า โดยจะเกิด ELS จำนวนมากแต่จะเกาะกันแบบหลวม ๆ กระจายอยู่เต็มชิ้นรังไข่ เป็น ELS ที่แข็งแรงพร้อมที่จะพัฒนา ส่วนแคลลัสมีลักษณะเป็นสีเขียวอมเหลือง ขยายขนาดใหญ่ขึ้นและเปลี่ยนรูปร่าง แต่ไม่มีการการพัฒนาเปลี่ยนแปลงเป็นอวัยวะต่าง ๆ เมื่อนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารระยะที่ 2 และ 3 ดังที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Ślusarkiewicz-Jarzina and Ponitka (2007) ซึ่งพบว่าความถี่ของการเกิด ELS และความเขียวของต้นข้าวโอ๊ตในอาหารเหลว อาหารแข็ง และอาหารกึ่งเหลวกึ่งแข็งที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูขึ้นอยู่กับจีโนไทป์

ตารางที่ 28 ผลของพันธุ์แตงกวาต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS แคลลัส และยอดกลุ่ม

พันธุ์	ELS (%)	แคลลัส (%)	ยอดกลุ่ม (%)
ไฉไล	66.13 ± 3.31[a]	86.95 ± 1.49	5.95 ± 1.39
บิ๊กซี	65.35 ± 3.04	83.09 ± 3.04	9.08 ± 3.73

[a] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE

ตารางที่ 29 ผลของอาหารระยะที่ 1 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS แคลลัส และยอดกลุ่มในแตงกวาทั้งสองพันธุ์

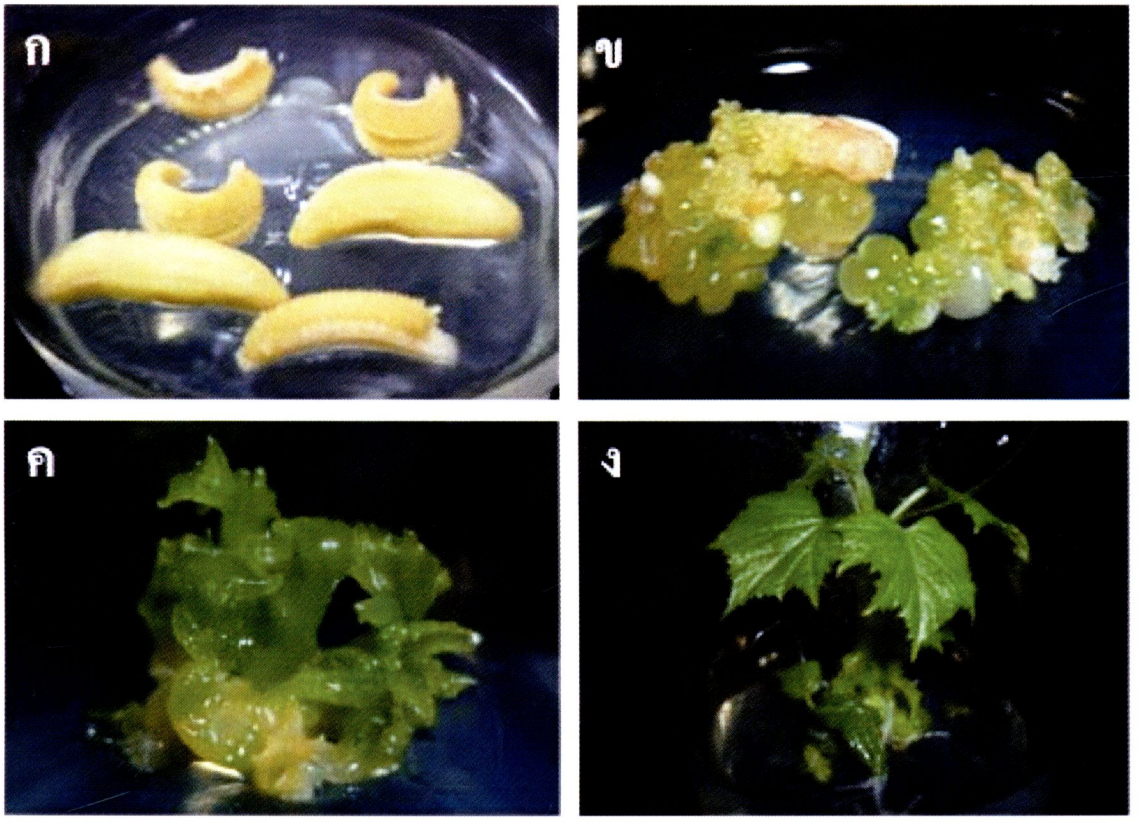
อาหารระยะที่ 1	ELS (%)	แคลลัส (%)	ยอดกลุ่ม (%)
I2G	61.15 ± 6.69[a]	86.05 ± 2.68	13.27 ± 5.60
$I2G_{MA}$	64.39 ± 5.88	80.79 ± 5.99	13.81 ± 7.06
I3	63.14 ± 5.52	88.54 ± 2.17	1.15 ± 0.54
I7	67.51 ± 4.94	87.48 ± 2.74	2.77 ± 1.16
I8	72.53 ± 4.14	82.48 ± 3.56	6.18 ± 2.39

[a] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE

ตารางที่ 30 อิทธิพลของพันธุ์ และอาหารระยะที่ 1 ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS แคลลัส และยอดกลุ่มในแตงกวาทั้งสองพันธุ์

พันธุ์	อาหารระยะที่ 1	ELS (%)	แคลลัส (%)	ยอดกลุ่ม (%)
ไฉไล	I2G	66.87 ± 8.60[a]	85.46 ± 3.57	12.17 ± 4.69
	$I2G_{MA}$	63.57 ± 8.43	88.67 ± 3.16	6.62 ± 3.45
	I3	60.98 ± 7.47	88.95 ± 3.46	1.54 ± 0.80
	I7	65.41 ± 6.84	83.47 ± 4.11	2.61 ± 1.38
	I8	73.83 ± 6.29	88.19 ± 3.51	6.79 ± 3.10
บิ๊กซี	I2G	54.87 ± 11.00	86.69 ± 4.59	14.48 ± 11.29
	$I2G_{MA}$	65.22 ± 8.61	72.91 ± 11.37	21.01 ± 13.68
	I3	65.29 ± 8.45	88.12 ± 2.98	0.76 ± 0.76
	I7	70.07 ± 7.48	92.38 ± 3.27	2.96 ± 2.04
	I8	71.24 ± 5.67	77.37 ± 6.02	5.57 ± 3.80

[a] ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± SE



ภาพที่ 1 ลักษณะของแคลลัส (ก) ELS (ข) ยอดกลุ่ม (ค) และต้น (ง) ที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงรังไข่แตงกวา

ภาพที่ 2 ต้นแตงกวาพันธุ์ไฉไลที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงรังไข่ และย้ายปลูกในกระถาง ขนาด 4 นิ้ว

ส่วนที่ 3 การตรวจสอบแตงกวาสายพันธุ์แท้

จากการทดลองเปรียบเทียบสูตรอาหารเพาะเลี้ยง ช่วงที่ 3 พบว่าได้ต้นแตงกวาที่สมบูรณ์และรอดชีวิตหลังการย้ายปลูกจำนวน 10 ต้น เป็นต้นที่ได้จากพันธุ์ไฉไล จำนวน 4 ต้น และพันธุ์บิ๊กซี จำนวน 6 ต้น โดยมีรายละเอียดสูตรอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงในระยะต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 31 แม้ว่าการเพาะเลี้ยงรังไข่แตงกวาในสูตรอาหาร I2 ตามด้วย MST3+ / MST3++ และ MS0 จะมีแนวโน้มให้ต้นสมบูรณ์สูงกว่าสูตรอื่น ๆ แต่เนื่องจากต้นที่ได้ทั้งหมดมีจำนวนน้อย จึงยังไม่สามารถสรุปผลการทดลองอย่างชัดเจนได้ และสำหรับการทดลองเปรียบเทียบสูตรอาหารเพาะเลี้ยง ช่วงที่ 4 แม้ว่าจะมีแนวโน้มได้ต้นเพิ่มขึ้น แต่ไม่สามารถบันทึกข้อมูล และดำเนินการตรวจสอบต้นได้ เพราะสิ้นสุดระยะการวิจัยของโครงการก่อน

ตารางที่ 31 จำนวนต้นแตงกวาพันธุ์ไฉไลและบิ๊กซีที่ได้จากการเพาะเลี้ยงรังไข่ในสูตรอาหารต่าง ๆ

พันธุ์	สูตรอาหาร	จำนวนต้น
ไฉไล	I2 – MST3+ – MS0	3
	I2C – D2++ – MST3+ – MS0	1
บิ๊กซี	I2 – MST3++ – MS0	4
	I2 – D2++ – MST3+ – MS0	1
	I2 – D2++ – MST3++ – MS0	1

3.1 การตรวจสอบต้นสายพันธุ์แท้ (ดับเบิลแฮพลอยด์) โดยการนับจำนวนโครโมโซม

การเพาะเลี้ยงรังไข่แตงกวาทั้งสองพันธุ์ (ไฉไลและบิ๊กซี) ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตรต่าง ๆ สามารถชักนำให้เกิดต้นได้ทั้งหมด 10 ต้น เมื่อนำมาพิสูจน์เอกลักษณ์ต้นสายพันธุ์แท้ โดยการตรวจสอบจำนวนชุดโครโมโซม พบว่าได้ต้นแฮพลอยด์ ($2n = x = 7$) 3 ต้น ดับเบิลแฮพลอยด์ ($2n = 2x = 14$) 6 ต้น และทริพลอยด์ ($2n = 3x = 21$) 1 ต้น คิดเป็น 30, 60 และ 10 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 32) แสดงว่าเกิดการเพิ่มชุดโครโมโซมตามธรรมชาติ (spontaneous chromosome doubling) ได้ในสัดส่วนค่อนข้างสูง ซึ่งมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันกับงานวิจัยของ Diao et al. (2009) ซึ่งได้ต้นดับเบิลแฮพลอยด์จากการเพาะเลี้ยงรังไข่แตงกวา 82.5% อย่างไรก็ตาม Gémes-Juhász et al. (2002) พบว่าต้นที่ชักนำได้จากการเพาะเลี้ยงรังไข่แตงกวาส่วนใหญ่ (87.7%) เป็นต้นแฮพลอยด์ ซึ่งความแตกต่างดังกล่าวอาจเป็นผลมาจากความแตกต่างทางพันธุกรรมของพันธุ์ที่นำมาใช้ทดลอง

ตารางที่ 32 จำนวนโครโมโซมและการปรากฏแถบ ISSR ของต้นแตงกวาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงรังไข่

ต้น	จำนวนโครโมโซม	แถบ ISSR (bp)									
		ISSR 808	ISSR 809					ISSR 811		ISSR 834	
		300	130	170	185	225	375	325	400	190	275
DBC[a]	14	-	+[b]	+	+	+	+	-	+	+	+
C1	7	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+
C2	14	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+
C3	7	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+
C4	21	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-
DBB	14	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B1	14	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+
B2	14	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+
B3	14	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-
B4	14	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+
B5	14	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+
B6	7	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+

[a] DBC = DNA bulk ของต้น donor พันธุ์ไฉไล; C1-C4 = ต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงรังไข่ของพันธุ์ไฉไลต้นที่ 1-4; DBB = DNA bulk ของต้น donor พันธุ์บิ๊กซี; B1-B6 = ต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงรังไข่ของพันธุ์บิ๊กซีต้นที่ 1-6

[b] + = ปรากฏแถบ ISSR; - = ไม่ปรากฏแถบ ISSR

3.2 การตรวจสอบต้นสายพันธุ์แท้โดยใช้เครื่องหมาย ISSR

จากการใช้ไพรเมอร์ ISSR จำนวน 4 ไพรเมอร์ (ISSR 808, 809, 811 และ 834) ในการประเมินต้นแตงกวาที่พัฒนามาจากการเพาะเลี้ยงรังไข่จำนวน 10 ต้น ซึ่งเป็นต้นที่ได้จากพันธุ์ไฉไล จำนวน 4 ต้น (C1-C4) และพันธุ์บิ๊กซี จำนวน 6 ต้น (B1-B6) พบว่าทั้ง 4 ไพรเมอร์ให้แถบดีเอ็นเอซึ่งแตกต่างกัน (polymorphic DNA bands) ระหว่างดีเอ็นเอรวมที่สกัดได้จากพันธุ์ไฉไลหรือบิ๊กซีซึ่งใช้เป็น donor plants รวมกัน จำนวน 6 ต้น (donor DNA bulk; DBC สำหรับพันธุ์ไฉไล และ DBB สำหรับพันธุ์บิ๊กซี) และต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงรังไข่แตงกวาพันธุ์ไฉไลหรือบิ๊กซี โดยไพรเมอร์ ISSR 808, 809, 811 และ 834 ให้แถบ ISSR ที่แตกต่างกันจำนวน 1 (300 bp), 5 (130, 170, 185, 225, 375 bp), 2 (325, 400 bp) และ 2 (190, 275 bp) แถบตามลำดับ ตารางที่ 32 แสดงการมีและไม่มีแถบ ISSR ขนาดต่าง ๆ ในต้นแตงกวาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงรังไข่ทั้ง 10 ต้น เปรียบเทียบกับ donor plants พบว่าการใช้ทั้งสี่ไพรเมอร์ร่วมกันช่วยให้สามารถแยกความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างต้นดับเบิลแฮพลอยด์กับ donor plants ซึ่งมีโครโมโซม 2 ชุดเท่ากันได้ทุกต้น และพบการกระจายตัวของดีเอ็นเอในบริเวณ ISSR ทั้งสิบตำแหน่งในต้นดับเบิลแฮพลอยด์ทั้งหกต้น แสดงว่าต้นดับเบิลแฮพลอยด์เหล่านี้มีพันธุกรรมแตกต่างกัน แม้ว่าต้นดังกล่าวจำนวน 5 ใน 6 ต้นจะพัฒนามาจากรังไข่ของพันธุ์บิ๊กซีเช่นเดียวกัน แต่พัฒนามาจากโอวุลที่มีการกระจายตัวของดีเอ็นเอจากการแบ่งตัวแบบไมโอซิสต่างกัน แล้วจึงเกิดจากการเพิ่มชุดโครโมโซมตามธรรมชาติ นอกจากนี้พบว่ารูปแบบแถบ ISSR ไม่มีความสัมพันธ์กับจำนวนชุดโครโมโซม ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า ISSR เป็นเครื่องหมายที่มีประสิทธิภาพในการคัดเลือกต้นดับเบิลแฮพลอยด์ สอดคล้องกับ Doi et al. (2010) ซึ่งรายงานว่าเครื่องหมาย ISSR เป็นประโยชน์ในการจำแนกต้นดับเบิลแฮพลอยด์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูของ gentian แม้ว่าต้นแตงกวาดับเบิลแฮพลอยด์ที่ได้จะมีศักยภาพในการนำมาใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์สำหรับผลิตลูกผสม แต่เนื่องจากสิ้นสุดระยะเวลาการวิจัยก่อน จึงยังไม่สามารถประเมินความต้านทานโรคราน้ำค้างของต้นดับเบิลแฮพลอยด์ดังกล่าวได้