# บทที่ 3

# ผลการทดลอง

1. การศึกษาลักษณะของ *P. noctilucae*

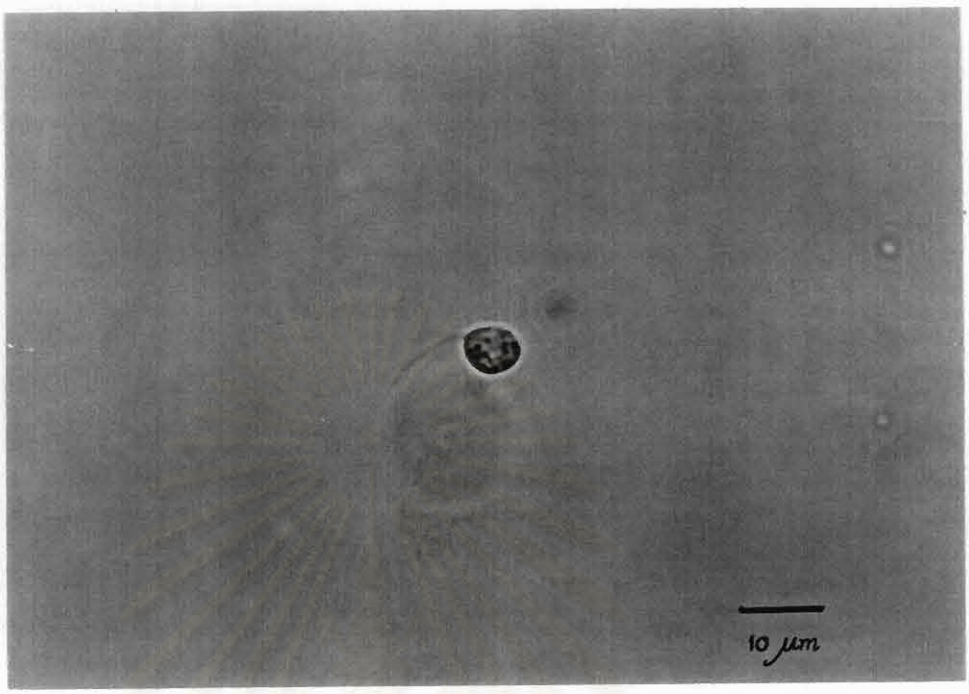
ตัวอย่างเซลล์ของ *P. noctilucae* ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อชุดควบคุม ทำการศึกษาเมื่อเซลล์อยู่ในระยะที่มีการเพิ่มจำนวนเซลล์แบบ exponential phase อายุประมาณ 9 วัน

1.1 ลักษณะของ *P. noctilucae* ที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบ compound microscope

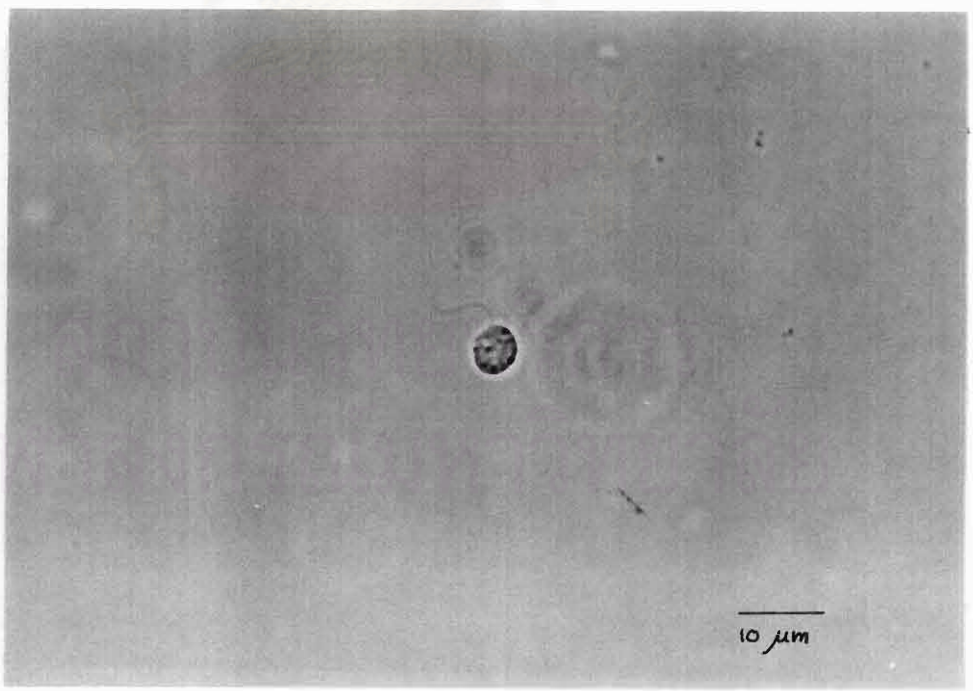
ลักษณะเซลล์ของ *P. noctilucae* จากการเลี้ยงในห้องทดลองมีรูปร่างกลมค่อนข้างรี เคลื่อนที่เร็วและลักษณะการเคลื่อนที่จะหมุนเป็นเกลียว ขนาดเซลล์กว้างประมาณ 3.35±0.30 ไมครอน ยาวประมาณ 5.49±0.66 ไมครอน (ภาคผนวก ก) ทางด้านหัวของเซลล์มีแส้ 1 เส้น มีความยาวประมาณ 7.50±0.21 ไมครอน ภายในเซลล์ประกอบด้วยคลอโรพลาสต์ขนาดใหญ่เป็นรูปเกือกม้า มีจุดรับแสง (eye spot) 1 อัน (รูปที่ 3-1) ส่วน *P. noctilucae* จากธรรมชาติมีรูปร่างกลมค่อนข้างรีเช่นกัน เคลื่อนที่เร็วและลักษณะการเคลื่อนที่หมุนเป็นเกลียว (รูปที่ 3-2)

1.2 ลักษณะของ *P. noctilucae* ที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบ electron microscope (SEM)

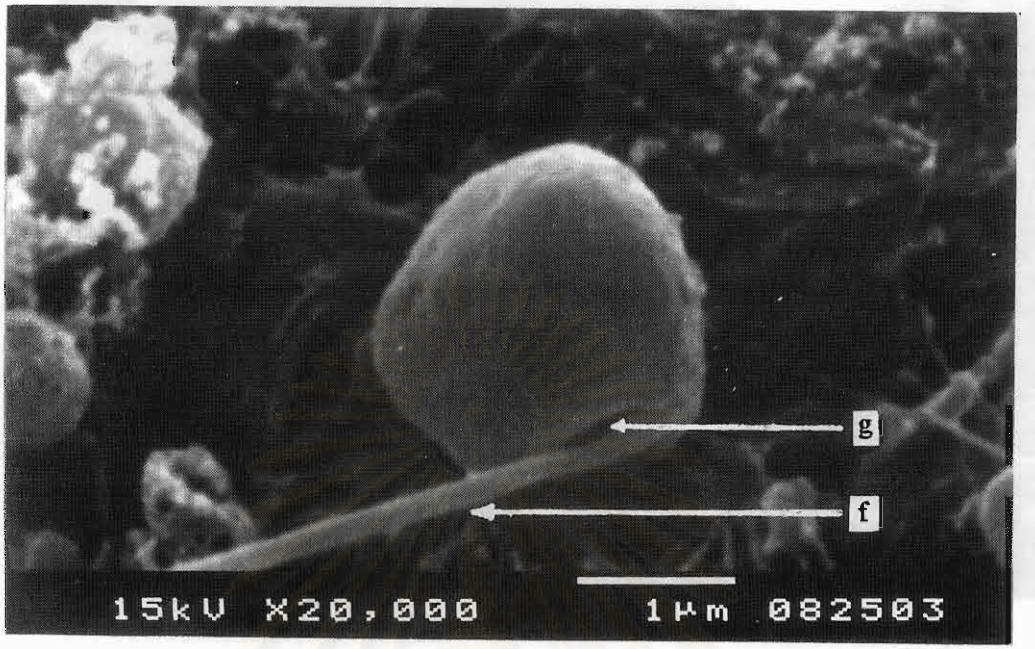
จากการศึกษาพบว่า เซลล์ *P. noctilucae* ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการมีรูปร่างกลมค่อนข้างรีนั้นตัวเซลล์จะแบนทางด้านข้าง ผิวภายนอกของเซลล์มีลักษณะเรียบ บริเวณด้านหัวของเซลล์มีร่องลึกลงไปเป็นแอ่งซึ่งร่องลึกนี้เป็นจุดกำเนิดของแส้ (รูปที่ 3-3) และแส้มีความยาวกว่าความยาวของเซลล์ (รูปที่ 3-4) ในบางเซลล์พบขนขนาดเล็กบนแส้ด้วย เนื่องจากขนขนาดเล็กบนแส้นี้มีขนาดเล็กและเปราะบางมากจึงอาจหลุดหายไปในขณะที่เตรียมตัวอย่าง ทำให้ในบางเซลล์ไม่พบขนขนาดเล็กบนแส้ (รูปที่ 3-5 และ 3-6) ส่วนลักษณะเซลล์ *P. noctilucae* จากธรรมชาตินั้นเซลล์แบนทางด้านข้าง ลักษณะผิวเซลล์เรียบ บริเวณด้านหัวของเซลล์เป็นจุดกำเนิดของแส้ และแส้มีความยาวมากกว่าความยาวเซลล์ (รูปที่ 3-7)




**รูปที่ 3-1** ลักษณะเซลล์ของ *P. noctilucae* จากการเพาะเลี้ยง

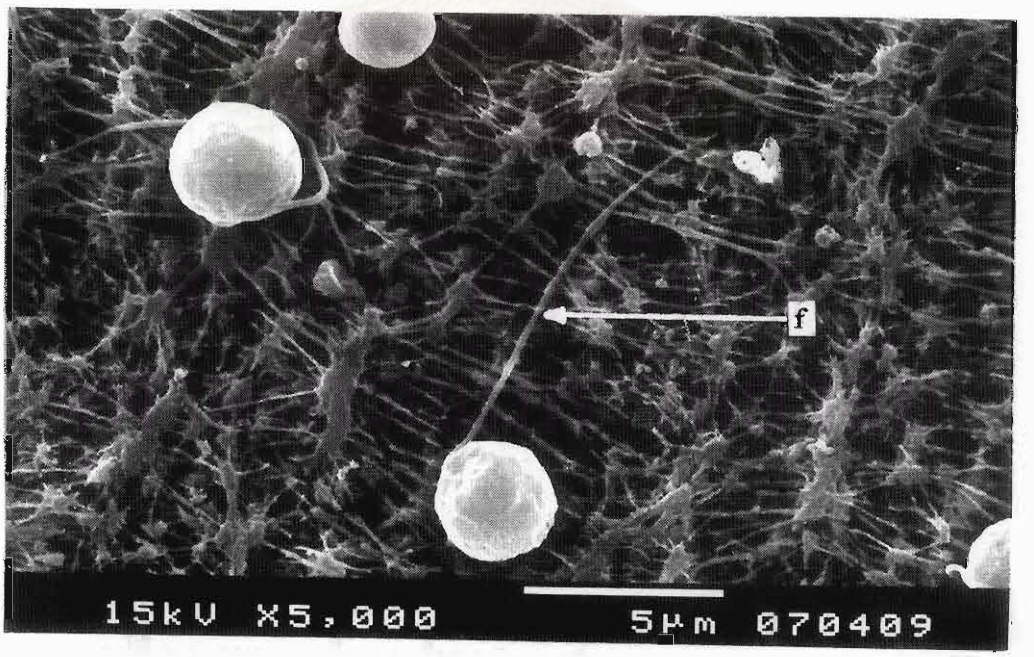



**รูปที่ 3-2** ลักษณะเซลล์ของ *P. noctilucae* จากธรรมชาติ



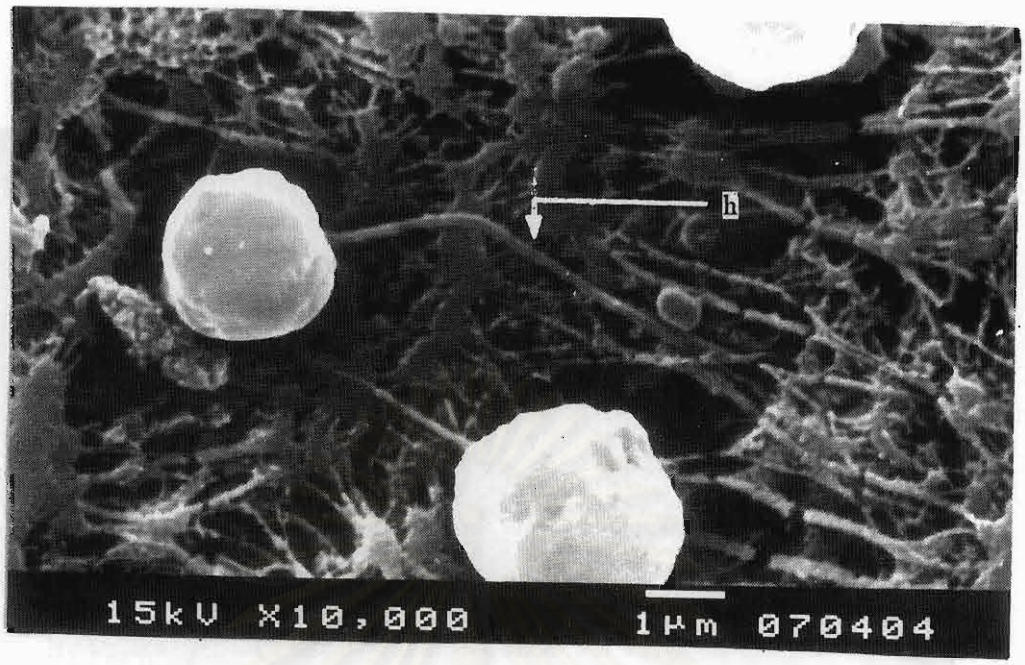

**รูปที่ 3-3** เซลล์ *P. noctilucae* แสดงให้เห็นร่องลึกทางด้านหัวของเซลล์ซึ่งเป็นจุดกำเนิดแส้

g = groove f = flagellum



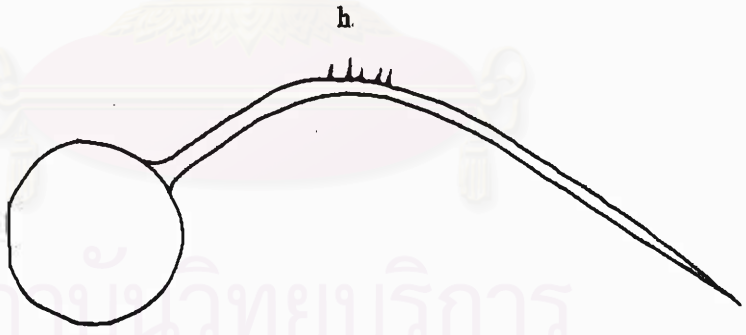

**รูปที่ 3-4** เซลล์ *P. noctilucae* ขยายให้เห็นแส้ที่มีความยาวมากกว่าความยาวของเซลล์

f = flagellum




**รูปที่ 3-5** เซลล์ *P. noctilucae* ขยายให้เห็นขนเล็กๆ (hair) บนผิวแส้

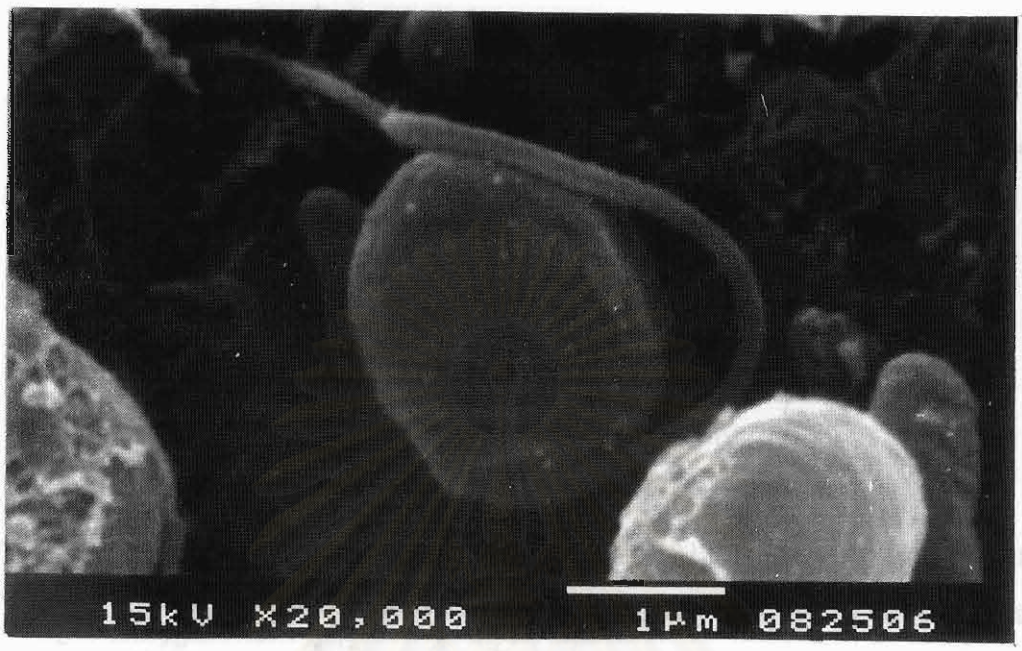
h = hair




**รูปที่ 3-6** ขนขนาดเล็กบนแส้ของ *P. noctilucae*

h = hair

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย




**รูปที่ 3-7** ลักษณะเซลล์ *P. noctilucae* จากธรรมชาติ ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบ electron microscope (SEM)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. การศึกษาการแบ่งเซลล์ของ *P. noctilucae* ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบ compound microscope (รูปที่ 3-8)

1. ระยะ interphase

ระยะนี้เซลล์ของ *P. noctilucae* และคลอโรพลาสต์ภายในเซลล์มีขนาดใหญ่กว่าเซลล์ปกติ และเซลล์ไม่เคลื่อนที่

2. ระยะ prophase

ระยะ early prophase คลอโรพลาสต์มีขนาดใหญ่ สังเกตเห็นนิวเคลียสอยู่ภายในคลอโรพลาสต์ และเห็นส่วนของอายสปอตชัดเจน เมื่อเข้าสู่ระยะ late prophase ส่วนของคลอโรพลาสต์รวมตัวอยู่ตรงกลางเซลล์ เซลล์ไม่มีการเคลื่อนที่

3. ระยะ metaphase

เมื่อเข้าสู่ระยะ early metaphase ส่วนของคลอโรพลาสต์เริ่มแบ่งเป็น 2 ส่วน ในระยะนี้ไม่เห็นนิวเคลียสเป็นรูปร่างชัดเจน และในระยะ late metaphase สังเกตเห็นนิวเคลียสอยู่ในส่วนของคลอโรพลาสต์ชัดเจน เซลล์ไม่มีการเคลื่อนที่

4. ระยะ anaphase

ระยะ early anaphase เซลล์ *P. noctilucae* คอดเป็น 2 ส่วนตรงกลางเซลล์ คลอโรพลาสต์แบ่งเป็น 2 ส่วน และเคลื่อนที่ไปอยู่คนละด้านของเซลล์ เมื่อเข้าสู่ระยะ late anaphase สังเกตเห็นส่วนของผนังเซลล์ (cell wall) กั้นตรงกลางเซลล์โดยแบ่งคลอโรพลาสต์ออกเป็น 2 ส่วน เซลล์ไม่มีการเคลื่อนที่

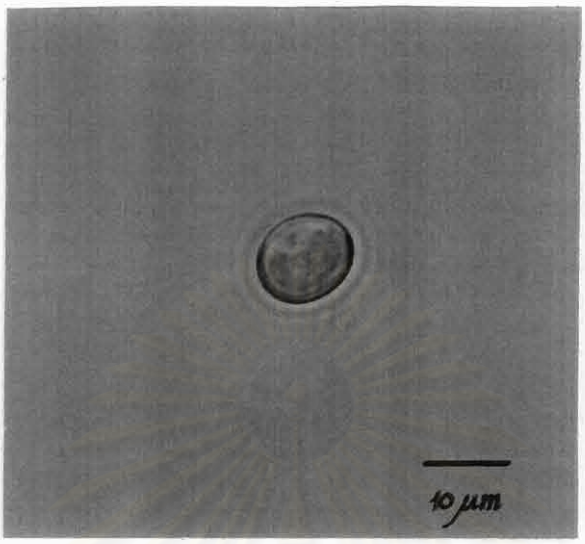
5. ระยะ telophase

ระยะ early telophase เซลล์คอดมองเห็นชัดเจน ไซโตพลาสซึมแบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนของผนังเซลล์ยังไม่แบ่งเซลล์ออกเป็น 2 เซลล์โดยสมบูรณ์ เมื่อการแบ่งเซลล์เข้าสู่ระยะ late telophase การแบ่งไซโตพลาสซึมเสร็จสมบูรณ์ได้เซลล์ใหม่ 2 เซลล์ เซลล์ไม่มีการเคลื่อนที่ และไม่เห็นแส้

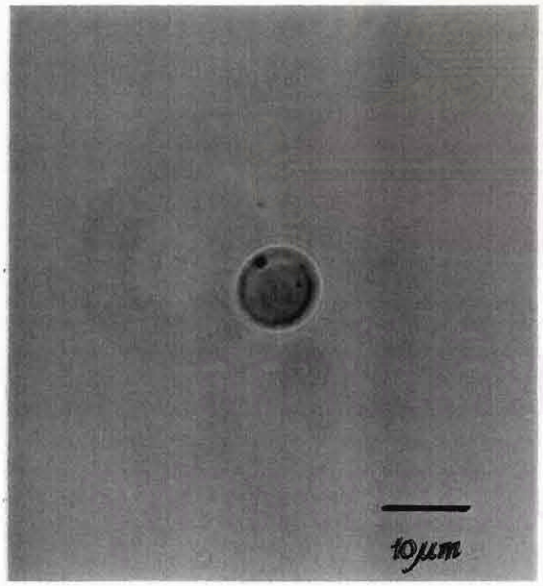
3. การศึกษาช่วงความเข้มแสงที่เหมาะสมต่อการเติบโตของ *P. noctilucae*

ในการทดลองเบื้องต้นเพื่อหาช่วงความเข้มแสงที่เหมาะสมต่อการเติบโตของ *P. noctilucae* นั้นได้เลี้ยง *P. noctilucae* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชุดควบคุม โดยเลี้ยงที่ความเข้มแสง 2 ระดับ คือ 3,000 ลักซ์ และ 5,000 ลักซ์ ผลการทดลองพบว่า *P. noctilucae* เติบโตได้ดีที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตเฉลี่ยเท่ากับ $0.19\pm0.01$ ต่อวัน ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) กับ *P. noctilucae* ที่เลี้ยงที่ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ ที่มีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตเฉลี่ยเท่ากับ $0.18\pm0.2$ (รูปที่ 3-9) เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตเฉลี่ยของ *P. noctilucae* ที่

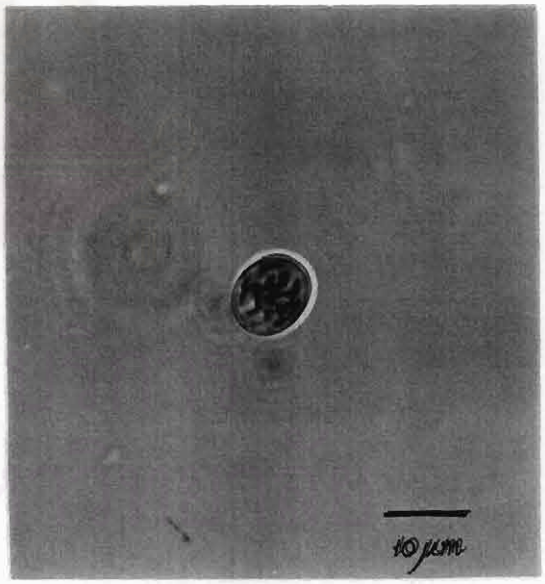
**รูปที่ 3-8** การแบ่งเซลล์ของ *P. noctilucae*



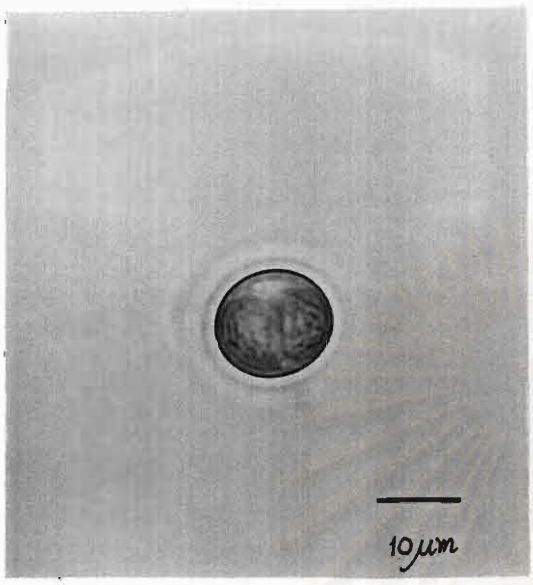

**(a)** ระยะ interphase



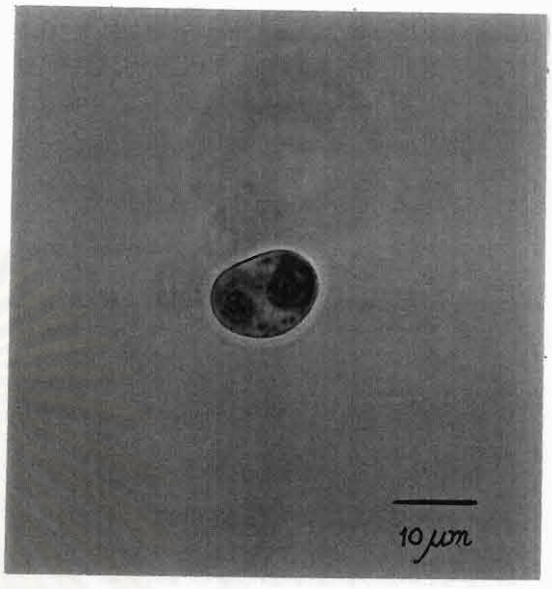

**(b)** ระยะ early prophase



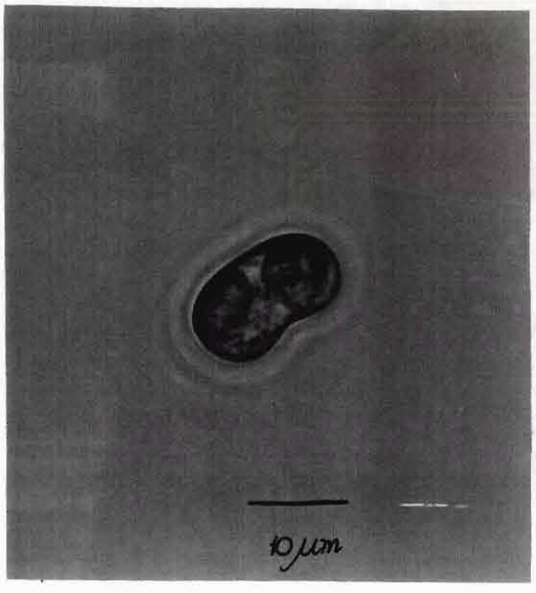

**(c)** ระยะ late prophase



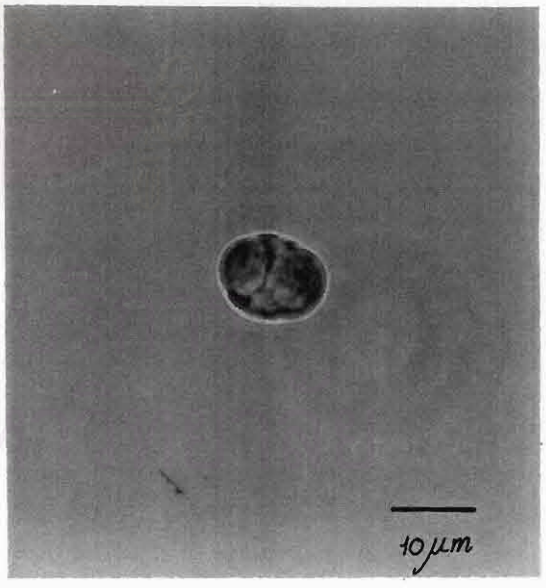

(d) ระยะ early metaphase



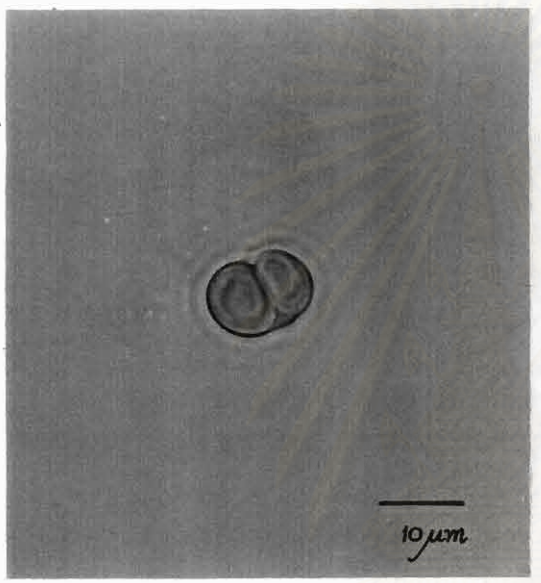

(e) ระยะ late metaphase



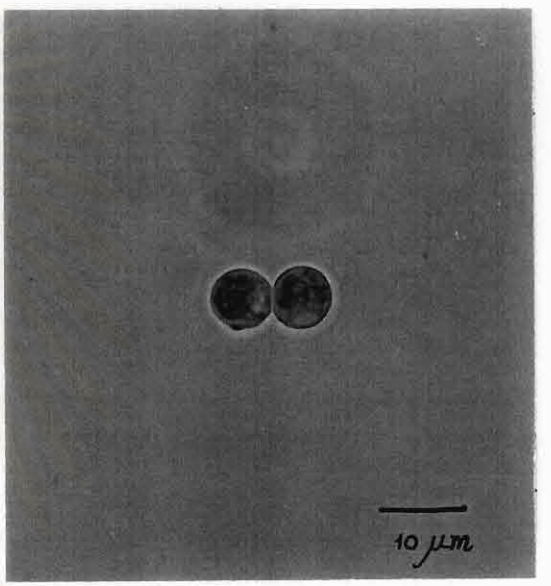

(f) ระยะ early anaphase




(g) ระยะ late anaphase



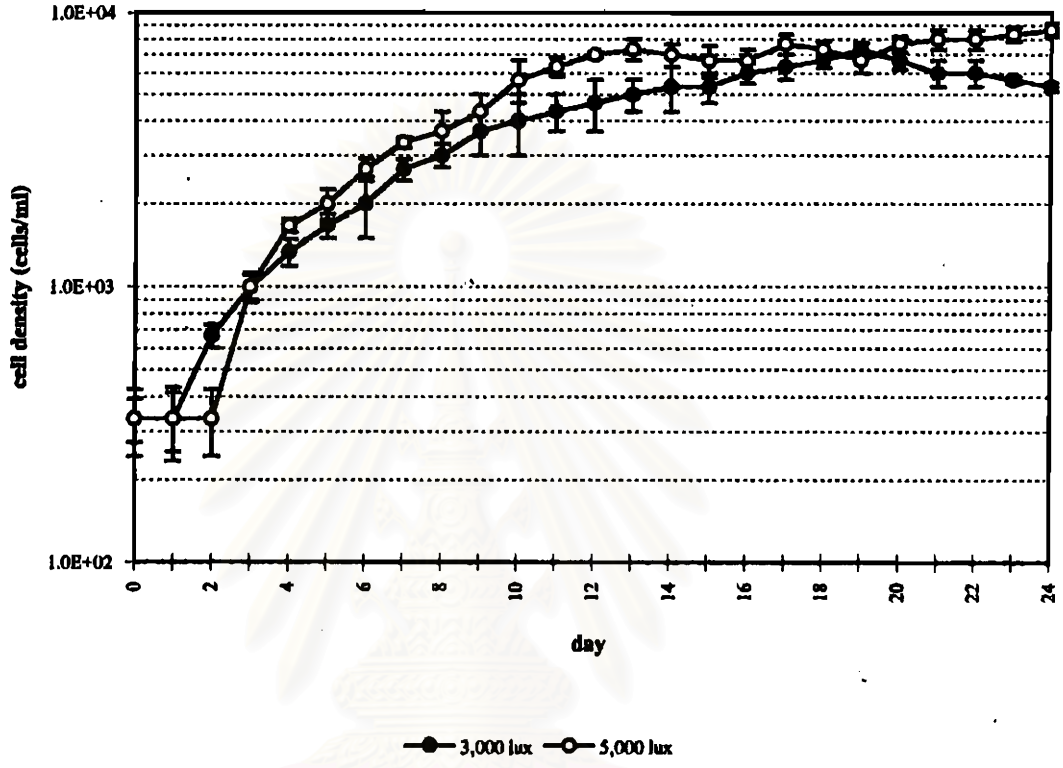

(h) ระยะ early telophase




(i) ระยะ late telophase

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

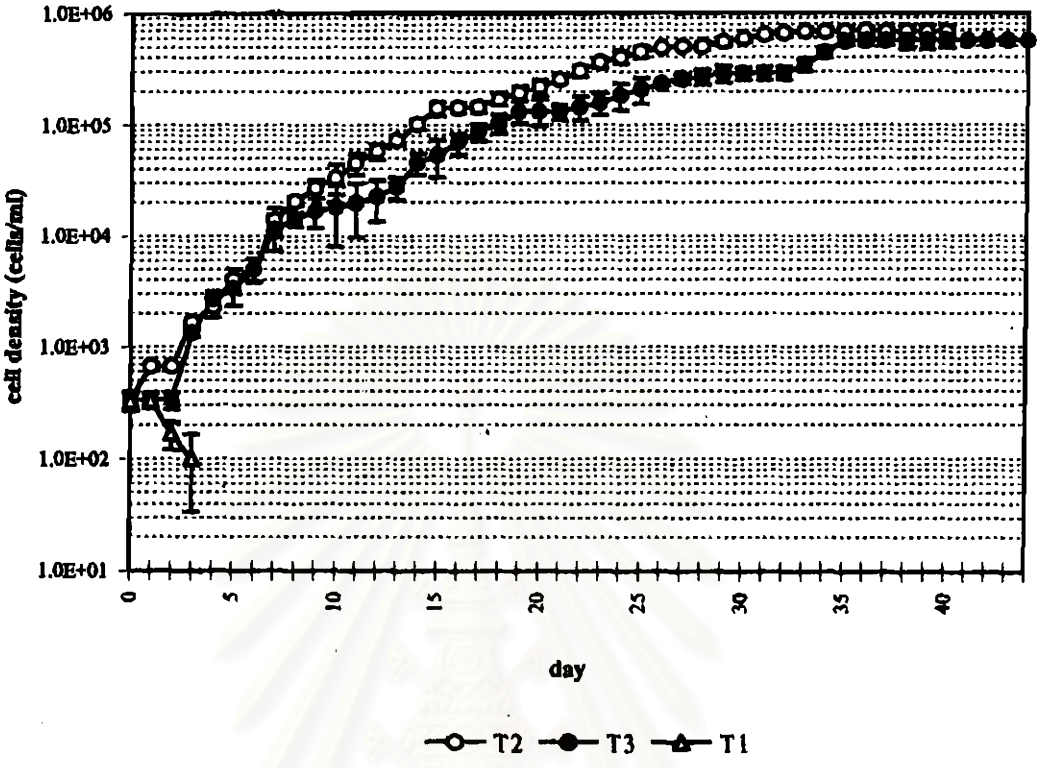
ระดับความเข้มแสง 5,000 ลักซ์นั้นให้ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตที่มากกว่าดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจึงทดลองที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์




**รูปที่ 3-9** การเติบโตของ *P. noctilucae* ที่ระดับความเข้มแสงสองระดับ

4. การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเติบโตของ *P. noctilucae*

การทดลองเลี้ยง *P. noctilucae* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชุดควบคุม โดยเลี้ยงที่อุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 10±2, 20±2 และ 28±2 องศาเซลเซียส จากการทดลองพบว่าที่อุณหภูมิ 10±2 องศาเซลเซียส *P. noctilucae* ไม่มีการเพิ่มจำนวนเซลล์จากจำนวนเซลล์เริ่มต้นเป็นเวลาประมาณ 2 วัน หลังจากนั้นเซลล์ *P. noctilucae* จะตายหมด และ *P. noctilucae* ที่อุณหภูมิ 20±2 องศาเซลเซียสมีการเติบโตได้ดีกว่าที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส โดยที่อุณหภูมิ 20±2 องศาเซลเซียส มีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตเฉลี่ยเท่ากับ 0.28±0.06 ต่อวัน จำนวนเซลล์สูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ $6.85X10^3$±666.66 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส *P. noctilucae* มีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตเท่ากับ 0.21±0.03 ต่อวัน จำนวนเซลล์สูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ $5.62X10^3$±666.66 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 3-10)




**รูปที่ 3-10** อิทธิพลของอุณหภูมิต่อการเติบโตของ *P. noctilucae*
T1 อุณหภูมิ 10±2 องศาเซลเซียส T3 อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส
T2 อุณหภูมิ 20±2 องศาเซลเซียส

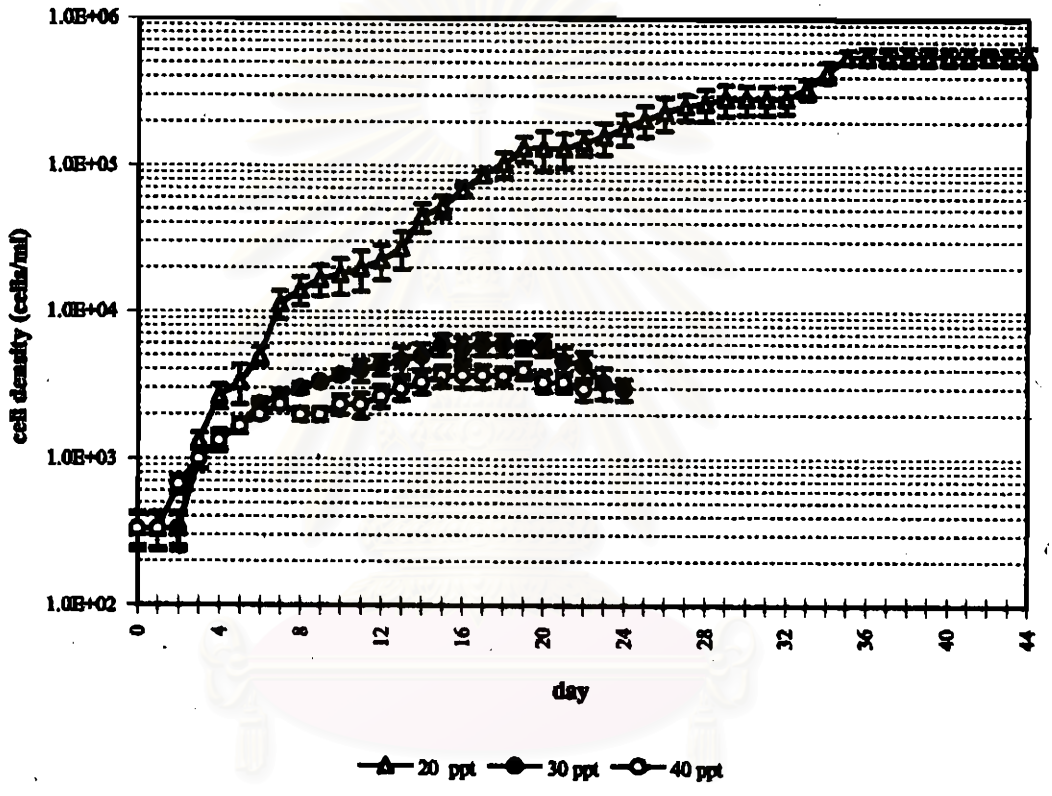
5. การศึกษาผลของความเป็นกรด-เบสต่อการเติบโตของ *P. noctilucae*

จากการทดลองเลี้ยง *P. noctilucae* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชุดควบคุม โดยมีการปรับค่าความเป็นกรด-เบสเป็น 2 ระดับ คือ 4.5 และ 8.0 พบว่า *P. noctilucae* มีชีวิตและเติบโตได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการปรับค่าความเป็นกรด-เบสให้เท่ากับ 4.5 โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตเฉลี่ยเท่ากับ 0.21±0.03 ต่อวัน ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการปรับค่าความเป็นกรด-เบสให้เท่ากับ 8.0 *P. noctilucae* ตายทันทีเมื่อใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ

6. อิทธิพลของความเค็มต่อการเติบโตของ *P. noctilucae*

จากการทดลองเลี้ยง *P. noctilucae* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชุดควบคุม โดยมีการปรับค่าความเค็มเป็น 3 ระดับ คือ 20 ส่วนในพัน 30 ส่วนในพัน และ 40 ส่วนในพัน พบว่า *P. noctilucae* เติบโตได้ดีที่ระดับความเค็มของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 20 ส่วนในพัน โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตเฉลี่ยเท่ากับ 0.21±0.03 ต่อวัน และมีจำนวนเซลล์เฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ $5.62X10^{5}$±666.66 เซลล์ต่อมิลลิลิตร รอง

ลงมาได้แก่ ที่ระดับความเค็มเท่ากับ 30 ส่วนในพัน ซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตเฉลี่ยเท่ากับ 0.16±0.03 ต่อวัน จำนวนเซลล์เฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ $6.0X10^3$±166.66 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และที่ระดับความเค็มของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 40 ส่วนในพัน มีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตเฉลี่ยเท่ากับ 0.14±0.03 ต่อวัน จำนวนเซลล์เฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ $3.67X10^3$±0.00 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 3-11) จากการสังเกตพบว่า *P. noctilucae* ที่เลี้ยงที่ความเค็ม 40 ส่วนในพัน มีการเคลื่อนที่ช้ากว่าที่ความเค็ม 20 และ 30 ส่วนในพัน

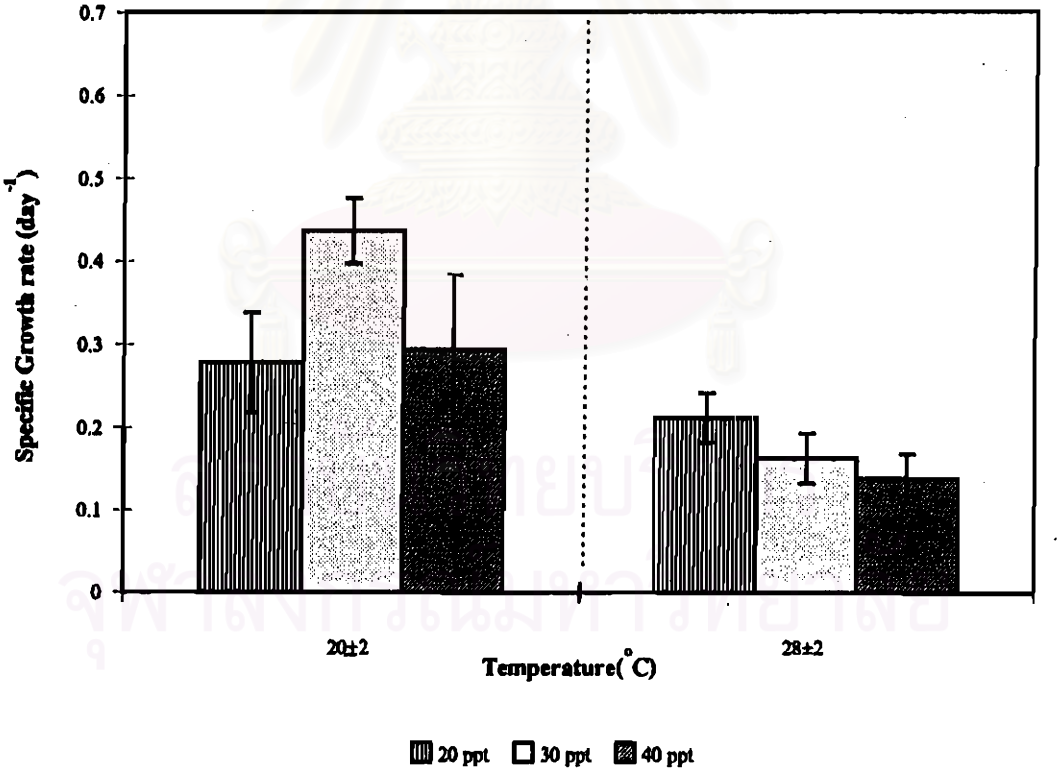



รูปที่ 3-11 อิทธิพลของความเค็มต่อการเติบโตของ *P. noctilucae*

7. อิทธิพลร่วมของอุณหภูมิ และความเค็มต่อการเติบโตของ *P. noctilucae*

จากการทดลองเลี้ยง *P. noctilucae* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชุดควบคุม โดยทำการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 2 ระดับ คือ 20±2 องศาเซลเซียส และ 28±2 องศาเซลเซียส โดยแต่ละอุณหภูมิปรับความเค็มของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 3 ระดับ คือ 20 ส่วนในพัน 30 ส่วนในพัน และ 40 ส่วนในพัน ผลการทดลองพบว่า *P. noctilucae* เติบโตได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 20±2 องศาเซลเซียส เมื่อความเค็มของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 30 ส่วนในพัน โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตเฉลี่ยเท่ากับ 0.44±0.04 ต่อวันและจำนวนเซลล์สูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ $6.85X10^3$±500.00 เซลล์ต่อมิลลิลิตร รองลงมาได้แก่ที่ระดับความเค็มของ

อาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 40 ส่วนในพัน มีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตเฉลี่ยเท่ากับ 0.29±0.09 ต่อวัน จำนวนเซลล์สูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ $1.1X10^{4}$±166.66 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และที่ความเค็มของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 20 ส่วนในพัน มีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตเฉลี่ยเท่ากับ 0.28±0.06 ต่อวัน จำนวนเซลล์สูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ $6.85X10^{3}$±666.66 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ส่วนที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส *P. noctilucae* มีการเติบโตตามลำดับดังนี้ ที่ความเค็มของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 20 ส่วนในพัน มีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตเฉลี่ยเท่ากับ 0.21±0.03 ต่อวัน จำนวนเซลล์สูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ $5.62X10^{3}$±666.66 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ที่ระดับความเค็มของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 30 ส่วนในพัน มีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตเฉลี่ยเท่ากับ 0.16±0.03 ต่อวัน จำนวนเซลล์สูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ $6.0X10^{3}$±166.66 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และที่ระดับความเค็ม 40 ส่วนในพัน มีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตเฉลี่ยเท่ากับ 0.14±0.03 ต่อวัน จำนวนเซลล์สูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ $3.67±10^{3}$±0.00 เซลล์ต่อมิลลิลิตร(รูปที่ 3-12)




**รูปที่ 3-12** อิทธิพลร่วมของอุณหภูมิ และความเค็มต่อการเติบโตเฉลี่ยของ *P. noctilucae*

8. อิทธิพลร่วมของความเค็ม ปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และอุณหภูมิต่อการเติบโตของ *P. noctilucae*

เนื่องจากปัจจัยทั้ง 4 ปัจจัยมีปฏิสัมพันธ์กัน การที่จะบ่งชี้ว่าปัจจัยระดับใดมีผลต่อการเติบโตของ *P. noctilucae* ดีกว่านั้นไม่สามารถบอกได้ แต่เพื่อความเข้าใจขออธิบายโดยแบ่งตามระดับความเค็มดังนี้

8.1 ระดับความเค็มของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 20 ส่วนในพัน

*P. noctilucae* ที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 20±2 องศาเซลเซียส เติบโตได้ดีกว่า *P. noctilucae* ที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส ในทุกระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารที่แปรเปลี่ยนไป โดย *P. noctilucae* ที่เติบโตดีที่สุดนั้นเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมความเข้มข้นของ $NH_4Cl$ เท่ากับ 2 mM และความเข้มข้นของ $K_2HPO_4$ เท่ากับ 0.05 mM มีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตเฉลี่ยเท่ากับ 0.55±0.04 ต่อวัน และจำนวนเซลล์เฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ $7.40X10^5$±0.00 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 3-11) ส่วน *P. noctilucae* ที่เติบโตดีที่สุดเมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส นั้นเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมความเข้มข้นของ $NH_4Cl$ เท่ากับ 2 mM และความเข้มข้นของ $K_2HPO_4$ เท่ากับ 0.05 mM มีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตเฉลี่ยเท่ากับ 0.28±0.04 ต่อวัน และจำนวนเซลล์เฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ $5.90X10^5$±0.00 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 3-2)

เมื่อเติม $NH_4Cl$ ในอาหารเลี้ยงเชื้อให้คงที่เท่ากับ 0.5 มิลลิโมล และเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ $K_2HPO_4$ 3 ระดับ คือ 0.05, 0.1 และ 1 มิลลิโมล พบว่า ที่อุณหภูมิ 20±2 องศาเซลเซียส *P. noctilucae* มีแนวโน้มการเติบโตลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ $K_2HPO_4$ ส่วนที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส *P. noctilucae* มีแนวโน้มการเติบโตเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของ $K_2HPO_4$ เพิ่มขึ้น (รูปที่ 3-13)

เมื่อเติม $NH_4Cl$ ในอาหารเลี้ยงเชื้อให้คงที่เท่ากับ 1 มิลลิโมล และเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ $K_2HPO_4$ 3 ระดับ คือ 0.05, 0.1 และ 1 มิลลิโมล พบว่า ที่อุณหภูมิ 20±2 องศาเซลเซียส *P. noctilucae* มีแนวโน้มการเติบโตเพิ่มขึ้นที่ระดับความเข้มข้นของ $K_2HPO_4$ เท่ากับ 0.05 และ 0.1 มิลลิโมล แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ $K_2HPO_4$ เท่ากับ 1 มิลลิโมล การเติบโตของ *P. noctilucae* มีแนวโน้มลดลง (รูปที่ 3-13) ส่วน *P. noctilucae* ที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส มีแนวโน้มการเติบโตลักษณะเดียวกับ *P. noctilucae* ที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 20±2 องศาเซลเซียส (รูปที่ 3-13)

เมื่อเติม $NH_4Cl$ ในอาหารเลี้ยงเชื้อให้คงที่เท่ากับ 2 มิลลิโมล และเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ $K_2HPO_4$ 3 ระดับ คือ 0.05, 0.1 และ 1 มิลลิโมล พบว่า ที่อุณหภูมิ 20±2 องศาเซลเซียส *P. noctilucae* มีแนวโน้มการเติบโตลดลงที่ระดับความเข้มข้นของ $K_2HPO_4$ เท่ากับ 0.05 และ 0.1 มิลลิโมล แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ $K_2HPO_4$ เท่ากับ 1 มิลลิโมล การเติบโตของ

*P. noctilucae* แสดงแนวโน้มไม่ชัดเจน ส่วนที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส *P. noctilucae* มีแนวโน้มการเติบโตลดลงเมื่อความเข้มข้นของ $K_2HPO_4$ เพิ่มขึ้น (รูปที่ 3-13)

ตารางที่ 3-1 ผลของธาตุอาหารไนโตรเจน และฟอสฟอรัสต่อการเติบโตของ *P. noctilucae* ที่ระดับความเค็ม 20 ส่วนในพัน อุณหภูมิ 20±2 องศาเซลเซียส

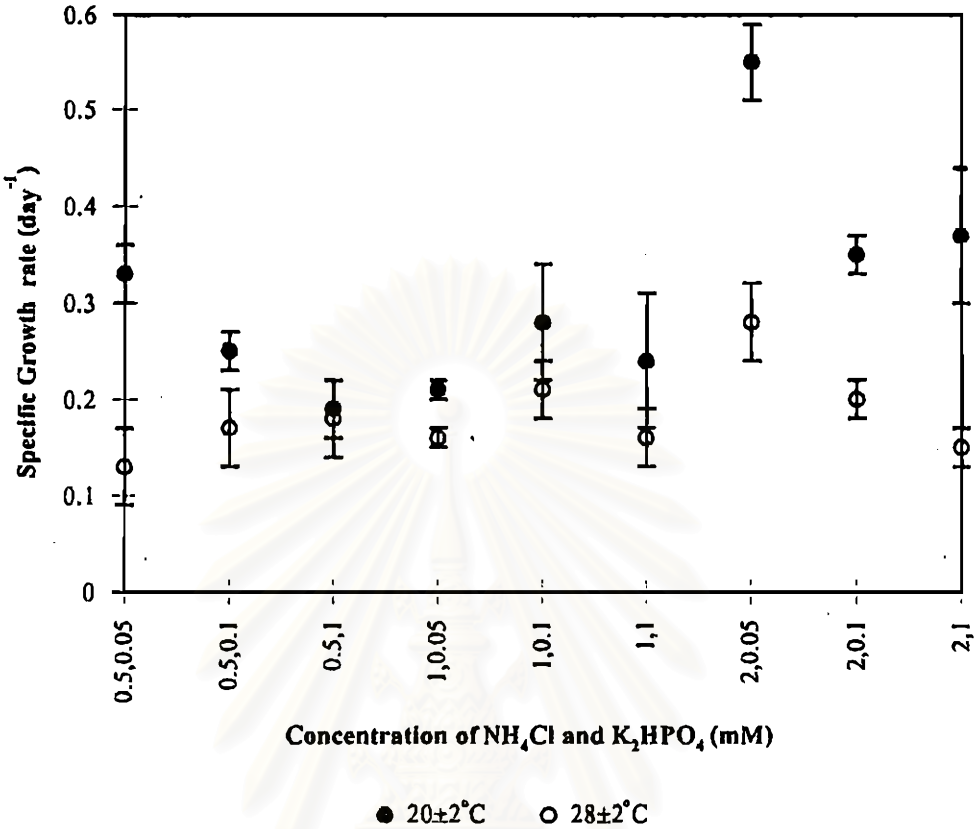
| $HN_4Cl$ (mM) | $K_2HPO_4$ (mM) | max. cell no. (cells/ml) | exponential phase (day) |
|---|---|---|---|
| 0.5 | 0.05 | $6.38\times10^5 \pm 333.33$ | 28 |
| 0.5 | 0.1 | $6.30\times10^5 \pm 666.66$ | 23 |
| 0.5 | 1 | $6.05\times10^5 \pm 333.33$ | 23 |
| 1 | 0.05 | $6.66\times10^5 \pm 333.33$ | 29 |
| 1 | 0.1 | $6.85\times10^5 \pm 666.66$ | 29 |
| 1 | 1 | $7.47\times10^5 \pm 666.66$ | 23 |
| 2 | 0.05 | $7.40\times10^5 \pm 0.00$ | 30 |
| 2 | 0.1 | $7.44\times10^5 \pm 333.33$ | 25 |
| 2 | 1 | $6.51\times10^5 \pm 1000.00$ | 26 |

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3-2 ผลของธาตุอาหารไนโตรเจน และฟอสฟอรัสต่อการเติบโตของ *P. noctilucae* ที่ระดับความเค็ม 20 ส่วนในพัน อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส

| $HN_4Cl$ (mM) | $K_2HPO_4$ (mM) | max. cell no. (cells/ml) | exponential phase (day) |
|---|---|---|---|
| 0.5 | 0.05 | $5.58\times10^5 \pm 666.66$ | 24 |
| 0.5 | 0.1 | $5.18\times10^5 \pm 0.00$ | 26 |
| 0.5 | 1 | $5.60\times10^5 \pm 0.00$ | 26 |
| 1 | 0.05 | $5.25\times10^5 \pm 1000.00$ | 23 |
| 1 | 0.1 | $5.62\times10^5 \pm 666.66$ | 24 |
| 1 | 1 | $5.72\times10^5 \pm 0.00$ | 23 |
| 2 | 0.05 | $5.90\times10^5 \pm 0.00$ | 21 |
| 2 | 0.1 | $5.84\times10^5 \pm 666.66$ | 23 |
| 2 | 1 | $5.80\times10^5 \pm 333.33$ | 25 |

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย




**รูปที่ 3-13** อิทธิพลร่วมของธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และอุณหภูมิต่อการเติบโตของ *P. noctilucae* ที่ระดับความเค็ม 20 ส่วนในพัน

### 8.2 ระดับความเค็มของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 30 ส่วนในพัน

*P. noctilucae* ที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 20±2 องศาเซลเซียส เติบโตได้ดีกว่า *P. noctilucae* ที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส โดยเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมความเข้มข้นของ $NH_4Cl$ เท่ากับ 0.5 mM และความเข้มข้นของ $K_2HPO_4$ เท่ากับ 1 mM มีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตเฉลี่ยเท่ากับ 0.45±0.05 ต่อวัน และจำนวนเซลล์เฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ $1.13X10^4$±333.33 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 3-3) ส่วน *P. noctilucae* ที่เติบโตดีที่สุดเมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส นั้นเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมความเข้มข้นของ $NH_4Cl$ เท่ากับ 2 mM และความเข้มข้นของ $K_2HPO_4$ เท่ากับ 0.05 mM มีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตเฉลี่ยเท่ากับ 0.19±0.04 ต่อวัน และจำนวนเซลล์เฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ $4.33X10^3$±0.00 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 3-4)

เมื่อเติม $NH_4Cl$ ในอาหารเลี้ยงเชื้อให้คงที่เท่ากับ 0.5 มิลลิโมล และเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ $K_2HPO_4$ 3 ระดับ คือ 0.05, 0.1 และ 1 มิลลิโมล พบว่า ที่อุณหภูมิ 20±2 องศาเซลเซียส

*P. noctilucae* มีแนวโน้มการเติบโตเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ $K_2HPO_4$ ส่วนที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส *P. noctilucae* มีแนวโน้มการเติบโตในลักษณะเดียวกับ *P. noctilucae* ที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 20±2 องศาเซลเซียส (รูปที่ 3-14)

เมื่อเติม $NH_4Cl$ ในอาหารเลี้ยงเชื้อให้คงที่เท่ากับ 1 มิลลิโมล และเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ $K_2HPO_4$ 3 ระดับ คือ 0.05, 0.1 และ 1 มิลลิโมล พบว่า ที่อุณหภูมิ 20±2 องศาเซลเซียส *P. noctilucae* มีแนวโน้มการเติบโตเพิ่มขึ้นที่ระดับความเข้มข้นของ $K_2HPO_4$ เท่ากับ 0.05 และ 0.1 มิลลิโมล แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ $K_2HPO_4$ เท่ากับ 1 มิลลิโมล การเติบโตของ *P. noctilucae* มีแนวโน้มลดลง ส่วน *P. noctilucae* ที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส แสดงแนวโน้มการเติบโตไม่ชัดเจนเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ $K_2HPO_4$ (รูปที่ 3-14)

เมื่อเติม $NH_4Cl$ ในอาหารเลี้ยงเชื้อให้คงที่เท่ากับ 2 มิลลิโมล และเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ $K_2HPO_4$ 3 ระดับ คือ 0.05, 0.1 และ 1 มิลลิโมล พบว่า ที่อุณหภูมิ 20±2 องศาเซลเซียส *P. noctilucae* มีแนวโน้มการเติบโตลดลงที่ระดับความเข้มข้นของ $K_2HPO_4$ เท่ากับ 0.05 และ 0.1 มิลลิโมล แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ $K_2HPO_4$ เท่ากับ 1 มิลลิโมล การเติบโตของ *P. noctilucae* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ส่วนที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส *P. noctilucae* มีแนวโน้มการเติบโตในลักษณะเดียวกับ *P. noctilucae* ที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 20±2 องศาเซลเซียส (รูปที่ 3-14)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3-3 ผลของธาตุอาหารไนโตรเจน และฟอสฟอรัสต่อการเติบโตของ *P. noctilucae* ที่ระดับความเค็ม 30 ส่วนในพัน อุณหภูมิ 20±2 องศาเซลเซียส

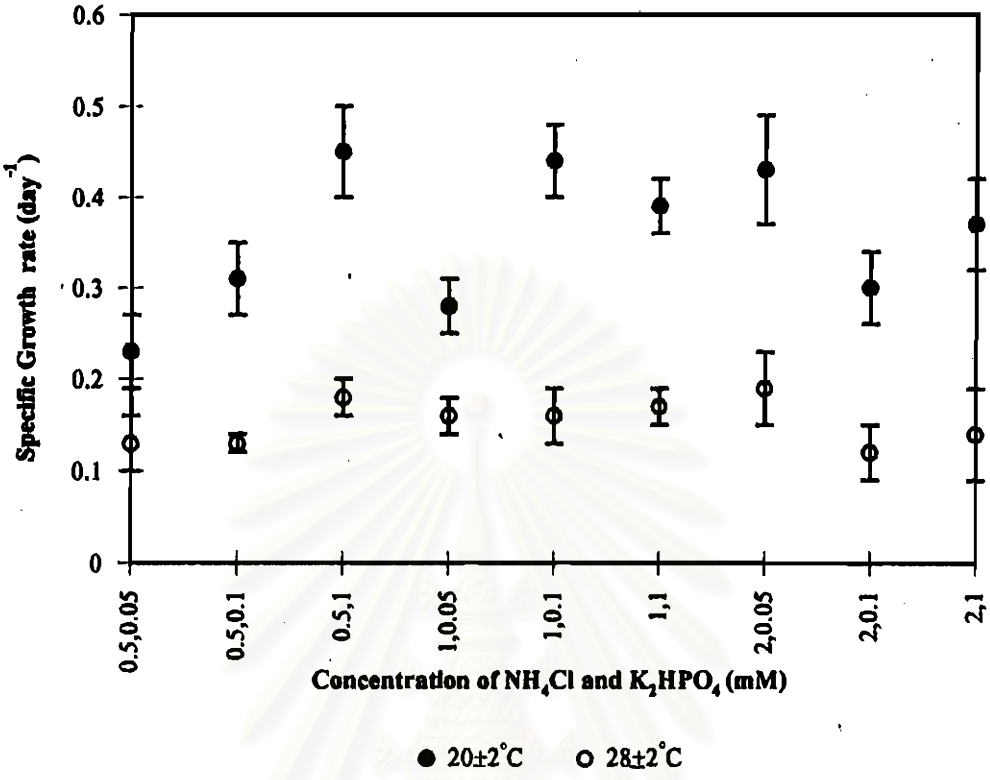
| $HN_4CL$ (mM) | $K_2HPO_4$ (mM) | max. cell no. (cells/ml) | exponential phase (day) |
|---|---|---|---|
| 0.5 | 0.05 | $1.07\times10^4 \pm 666.66$ | 7 |
| 0.5 | 0.1 | $1.00\times10^4 \pm 0.00$ | 5 |
| 0.5 | 1 | $1.13\times10^4 \pm 333.33$ | 6 |
| 1 | 0.05 | $1.50\times10^4 \pm 333.33$ | 8 |
| 1 | 0.1 | $1.13\times10^4 \pm 333.33$ | 7 |
| 1 | 1 | $1.50\times10^4 \pm 0.00$ | 6 |
| 2 | 0.05 | $1.17\times10^4 \pm 666.66$ | 7 |
| 2 | 0.1 | $9.67\times10^3 \pm 0.00$ | 7 |
| 2 | 1 | $1.40\times10^4 \pm 0.00$ | 6 |

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3-4 ผลของธาตุอาหารไนโตรเจน และฟอสฟอรัสต่อการเติบโตของ *P. noctilucae* ที่ระดับความเค็ม 30 ส่วนในพัน อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส

| $HN_4Cl$ (mM) | $K_2HPO_4$ (mM) | max. cell no. (cells/ml) | exponential phase (day) |
|---|---|---|---|
| 0.5 | 0.05 | $4.33\times10^3 \pm 0.00$ | 7 |
| 0.5 | 0.1 | $5.33\times10^3 \pm 0.00$ | 7 |
| 0.5 | 1 | $4.33\times10^3 \pm 0.00$ | 6 |
| 1 | 0.05 | $5.67\times10^3 \pm 333.33$ | 8 |
| 1 | 0.1 | $6.00\times10^3 \pm 166.66$ | 8 |
| 1 | 1 | $6.67\times10^3 \pm 0.00$ | 6 |
| 2 | 0.05 | $4.33\times10^3 \pm 0.00$ | 4 |
| 2 | 0.1 | $5.67\times10^3 \pm 0.00$ | 8 |
| 2 | 1 | $5.67\times10^3 \pm 0.00$ | 7 |

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย




**รูปที่ 3-14** อิทธิพลร่วมของธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และอุณหภูมิต่อการเติบโตของ *P. noctilucae* ที่ระดับความเค็ม 30 ส่วนในพัน

8.3 ระดับความเค็มของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 40 ส่วนในพัน

ผลการทดลองพบว่า *P. noctilucae* ที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 20±2 องศาเซลเซียส เติบโตได้ดีกว่า *P. noctilucae* ที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส โดยเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมความเข้มข้นของ $NH_4Cl$ เท่ากับ 2 mM และความเข้มข้นของ $K_2HPO_4$ เท่ากับ 0.05 mM มีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตเฉลี่ยเท่ากับ 0.40±0.03 ต่อวัน และจำนวนเซลล์เฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ $1.5X10^4$±0.00 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 3-5) ส่วน *P. noctilucae* ที่เติบโตดีที่สุดเมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส นั้นเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมความเข้มข้นของ $NH_4Cl$ เท่ากับ 2 mM และความเข้มข้นของ $K_2HPO_4$ เท่ากับ 0.05 mM มีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตเฉลี่ยเท่ากับ 0.20±0.02 ต่อวัน และจำนวนเซลล์เฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ $6.67X10^3$±333.33 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 3-6)

เมื่อเติม $NH_4Cl$ ในอาหารเลี้ยงเชื้อให้คงที่เท่ากับ 0.5 มิลลิโมล และเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ $K_2HPO_4$ 3 ระดับ คือ 0.05, 0.1 และ 1 มิลลิโมล พบว่า ที่อุณหภูมิ 20±2 องศาเซลเซียส *P. noctilucae* มีแนวโน้มการเติบโตเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ $K_2HPO_4$ ส่วนที่อุณหภูมิ

28±2 องศาเซลเซียส *P. noctilucae* มีแนวโน้มการเติบโตลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ $K_2HPO_4$ (รูปที่ 3-15)

เมื่อเติม $NH_4Cl$ ในอาหารเลี้ยงเชื้อให้คงที่เท่ากับ 1 มิลลิโมล และเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ $K_2HPO_4$ 3 ระดับ คือ 0.05, 0.1 และ 1 มิลลิโมล พบว่า ที่อุณหภูมิ 20±2 องศาเซลเซียส *P. noctilucae* มีแนวโน้มการเติบโตลดลงตามความเข้มข้นของ $K_2HPO_4$ ที่เพิ่มขึ้น ส่วน *P. noctilucae* ที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส แสดงแนวโน้มการเติบโตไม่ชัดเจนเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ $K_2HPO_4$ (รูปที่ 3-15)

เมื่อเติม $NH_4Cl$ ในอาหารเลี้ยงเชื้อให้คงที่เท่ากับ 2 มิลลิโมล และเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ $K_2HPO_4$ 3 ระดับ คือ 0.05, 0.1 และ 1 มิลลิโมล พบว่า ที่อุณหภูมิ 20±2 องศาเซลเซียส *P. noctilucae* มีแนวโน้มการเติบโตลดลงตามความเข้มข้นของ $K_2HPO_4$ ที่เพิ่มขึ้น ส่วนที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส *P. noctilucae* มีแนวโน้มการเติบโตลดลงที่ระดับความเข้มข้นของ $K_2HPO_4$ เท่ากับ 0.05 และ 0.1 มิลลิโมล แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ $K_2HPO_4$ เท่ากับ 1 มิลลิโมล การเติบโตของ *P. noctilucae* แสดงแนวโน้มไม่ชัดเจน (รูปที่ 3-15)

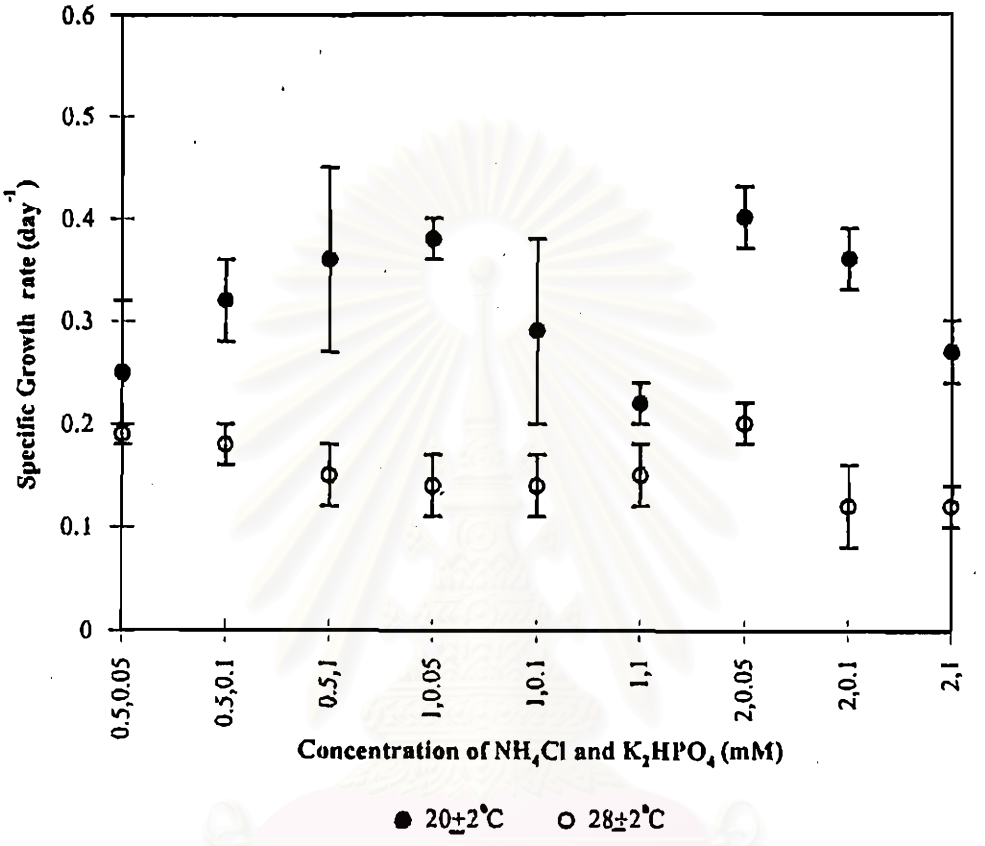
ตารางที่ 3-5 ผลของธาตุอาหารไนโตรเจน และฟอสฟอรัสต่อการเติบโตของ *P. noctilucae* ที่ระดับความเค็ม 40 ส่วนในพัน อุณหภูมิ 20±2 องศาเซลเซียส

| $HN_4CL$ (mM) | $K_2HPO_4$ (mM) | max. cell no. (cells/ml) | exponential phase (day) |
|---|---|---|---|
| 0.5 | 0.05 | $1.00\times10^4 \pm 333.33$ | 7 |
| 0.5 | 0.1 | $9.33\times10^3 \pm 0.00$ | 9 |
| 0.5 | 1 | $1.73\times10^4 \pm 333.33$ | 6 |
| 1 | 0.05 | $1.67\times10^4 \pm 666.66$ | 12 |
| 1 | 0.1 | $1.10\times10^4 \pm 166.66$ | 7 |
| 1 | 1 | $9.67\times10^3 \pm 0.00$ | 6 |
| 2 | 0.05 | $1.50\times10^4 \pm 0.00$ | 13 |
| 2 | 0.1 | $1.43\times10^4 \pm 0.00$ | 9 |
| 2 | 1 | $1.37\times10^4 \pm 0.00$ | 7 |

ตารางที่ 3-6 ผลของธาตุอาหารไนโตรเจน และฟอสฟอรัสต่อการเติบโตของ *P. noctilucae* ที่ระดับความเค็ม 40 ส่วนในพัน อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส

| $HN_4Cl$ (mM) | $K_2HPO_4$ (mM) | max. cell no. (cells/ml) | exponential phase (day) |
|---|---|---|---|
| 0.5 | 0.05 | $6.67\times10^3 \pm 0.00$ | 7 |
| 0.5 | 0.1 | $4.67\times10^3 \pm 333.33$ | 5 |
| 0.5 | 1 | $9.00\times10^3 \pm 0.00$ | 5 |
| 1 | 0.05 | $5.67\times10^3 \pm 0.00$ | 6 |
| 1 | 0.1 | $3.67\times10^3 \pm 0.00$ | 6 |
| 1 | 1 | $6.67\times10^3 \pm 0.00$ | 7 |
| 2 | 0.05 | $6.67\times10^3 \pm 333.33$ | 7 |
| 2 | 0.1 | $5.33\times10^3 \pm 0.00$ | 5 |
| 2 | 1 | $6.00\times10^3 \pm 333.33$ | 7 |

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย




**รูปที่ 3-15** อิทธิพลร่วมของธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และอุณหภูมิต่อการเติบโตของ *P. noctilucae* ที่ระดับความเค็ม 40 ส่วนในพัน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย