

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและวิจารณ์

5.1 ความหลากหลายทางชีวภาพชนิดของเชื้อรา บริเวณนาทุ่งร้าง จังหวัดสมุทรสาคร

ความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อราบนผักโก้งกางใบเล็ก ใบโก้งกางใบเล็ก ชากใบโก้งกางใบเล็ก ใบแสมขาวที่ร่วงหล่น เมล็ดแสมขาว เมล็ดแสมทะเล และดินเลน บริเวณนาทุ่งร้าง ตำบลโคกขาม อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสาคร พศ.2552-2554 ด้วยวิธีการแยกเชื้อราทางอ้อม 2 วิธี คือ Dilution Plate method และ Soil Plate method พบเชื้อรา ทั้งหมด 43 ไอโซเลต 16 สกุล ดังตารางที่ 4

ความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อราบนผักโก้งกางใบเล็ก ใบโก้งกางใบเล็ก ชากใบโก้งกางใบเล็ก ใบแสมขาวที่ร่วงหล่น เมล็ดแสมขาว และเมล็ดแสมทะเล 12, 12, 15, 12, 6 และ 1 ตามลำดับ

ความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อราดินเลน ใน 3 ฤดูกาล คือ ฤดูฝน ฤดูหนาว และฤดูร้อน จำแนกได้ ดังนี้

ความหลากหลายทางชีวภาพชนิดของเชื้อราดินเลน บริเวณนาทุ่งร้างในฤดูฝน พบเชื้อราทั้งหมด จำนวน 9 ชนิด ได้แก่ *A. flavus*, *T. viride*, *T. hamatum*, *T. harzianum*, *T. atroviride*

ความหลากหลายทางชีวภาพชนิดของเชื้อราดินเลน บริเวณนาทุ่งร้างใน ฤดูหนาว พบเชื้อราทั้งหมด จำนวน 14 ชนิด ได้แก่ *A. foetidus*, *A. tubingensis*, *A. niger*, *A. ficuum*, *A. fumigatus*, *A. carbonarius*, *A. japonicas*, *T. viride*, *T. hamatum* และ *T. harzianum*

ความหลากหลายทางชีวภาพชนิดของเชื้อราดินเลน บริเวณนาทุ่งร้างในฤดูร้อน พบเชื้อราทั้งหมด จำนวน 17 ชนิด ได้แก่ *A. foetidus*, *A. tubingensis*, *A. niger*, *A. ficuum*, *A. fumigatus*, *A. carbonarius*, *A. japonicas*, *A. flavus*, *T. viride*, *T. hamatum*, *T. harzianum*, *T. atroviride*

ความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อราที่พบบนตัวอย่างใบไม้ที่ร่วงหล่น ผักโก้งกาง เมล็ดแสมและดินเลน บริเวณนาทุ่งร้าง ตำบลโคกขาม อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสาคร จัดเป็นเชื้อรา Subdivision Deuteromycotina Subdivision Zygomycotina ทั้งหมด 43 ไอโซเลต 16 สกุล ได้แก่ สกุล *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma* ซึ่งความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อราบนตัวอย่างใบไม้ที่ร่วงหล่น ผักโก้งกาง เมล็ดแสมและดินเลนข้างต้น พบว่าความหลากหลายทางชีวภาพเชื้อรามีความสัมพันธ์กับความหลากหลายทางชีวภาพเชื้อราที่พบที่รัฐฟลอริดาตอนใต้ของ

สหรัฐอเมริกา (Fell *et al* 1990) ป่าชายเลนจังหวัดระนอง พบความหลากหลายทางชีวภาพเชื้อรา 101 ชนิด (โสภณา, 2544) บริเวณปากแม่น้ำท่าจีน ตำบลบางหญ้าแพรก จังหวัดสมุทรสาคร พบความหลากหลายทางชีวภาพเชื้อรา 49 ชนิด (Sukhan, 2001) บริเวณป่าชายเลนธรรมชาติและป่าปลูก บริเวณปากแม่น้ำท่าจีน ตำบลโคกขาม จังหวัดสมุทรสาคร พบความหลากหลายทางชีวภาพเชื้อรา 31 ชนิด (สุกาญจน์, 2553)

ความหลากหลายทางชีวภาพเชื้อราที่เหล่านี้นับชนิดจัดเป็นเชื้อราที่ช่วยย่อยสลายซากพืช (Saprobe fungi) ได้แก่ *A. flavus*, *A. fumigatus* และความหลากหลายทางชีวภาพเชื้อราบางชนิด จัดเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ (Antagonistic fungi) ได้แก่ *Trichoderma* sp. ที่คอยดูธาตุอาหารหลัก N P K ให้กับต้นไม้บริเวณป่าชายเลนให้เจริญเติบโตดีขึ้นกว่าปกติ หากระบบนิเวศป่าชายเลนมีเชื้อราปฏิปักษ์ที่หลากหลายชนิด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพเชื้อราดินเลน บริเวณป่าชายเลนธรรมชาติของสุกาญจน์ (2550), โสภณา (2544) และ Kuthubutheen (1984) เนื่องจากผลการศึกษาปัจจัยทางกายภาพของดินเลน บริเวณนาทุ่งร้าง ตำบลบางหญ้าแพรก จังหวัดสมุทรสาคร มีปริมาณธาตุอาหาร ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โปรแตสเซียม ค่าความเป็นกรดและด่าง (pH) ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำกร่อย (DO) และค่าความเค็ม (Salinity) ไม่แตกต่างกับที่สุกาญจน์ (2550), โสภณา (2544) ศรีนทร์ (2536) และ Kuthubutheen (1984) ได้ศึกษาไว้ ทำให้ความหลากหลายทางชีวภาพเชื้อรา บริเวณนาทุ่งร้าง ตำบลโคกขาม จังหวัดสมุทรสาคร จึงมีความหลากหลายทางชีวภาพเชื้อราไม่แตกต่างกัน

5.2 คุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อรา บริเวณนาทุ่งร้าง ตำบลโคกขาม จังหวัดสมุทรสาคร

คุณสมบัติทางชีวเคมีความหลากหลายทางชีวภาพเชื้อรา บริเวณนาทุ่งร้าง ตำบลโคกขาม จังหวัดสมุทรสาคร เกี่ยวกับการผลิตเอนไซม์ Laccase, Peroxidase และ Xylanase โดยการเพาะเลี้ยงบนอาหารเทียมสูตรหลักของเชื้อรา พบว่าเฉพาะเชื้อราปฏิปักษ์ *T. viride*, *T. hazianum*, *T. hamatum* สามารถผลิตเอนไซม์ Laccase, Peroxidase, Xylanase ได้ นั้นแสดงว่าเชื้อราดังกล่าวสามารถย่อยสลาย lignocellulose ได้แก่ เซลลูโลส (cellulose), เฮมิเซลลูโลส (hemicelluloses) และ ลิกนิน (linin) ดังเห็นได้จากการทดสอบการผลิตเอนไซม์ เชื้อรา *T. viride*, *T. hazianum*, *T. hamatum* สามารถผลิตเอนไซม์ Laccase โดย ABTS (2,2-azino-bis(3-ethybenz-thiazoline-6-sulfonate) เป็น mediator ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีบนอาหารเทียมจากสีใสเป็นสีเขียว จากคุณสมบัติทางเคมีของ ABTS พบว่าเป็น subunit ของลิกนินและเป็นสารพวก non-phenolic ซึ่ง Bourbonnais และคณะ 1995 ได้ศึกษาคุณสมบัติของเอนไซม์ laccase พบว่ามีคุณสมบัติคล้ายกับ phenol-oxidizing enzyme ซึ่งเอนไซม์ชนิดนี้จะทำปฏิกิริยา oxidation กับ phenolic group ของ

ลิกนิน นอกจากนี้ ได้ศึกษาปฏิกิริยาของ laccase พบว่าสามารถทำปฏิกิริยากับ phenolic subunit ของลิกนิน อย่างไรก็ดีตามเอนไซม์ laccase สามารถย่อยสลายโครงสร้างของลิกนิน ซึ่งประกอบด้วย ส่วนของ phenolic และ nonphenolic ได้ จากคุณสมบัติทั่วไปของเอนไซม์ laccase ซึ่งเป็น extracellular non-heat ที่มีทองแดงเป็นองค์ประกอบและมีประสิทธิภาพในการเกิดปฏิกิริยา oxidation ของลิกนิน (Kirk and Shimada, 1985)

การทดสอบการผลิตเอนไซม์ peroxidase เชื้อราปฏิปักษ์ *T. viride*, *T. hazianum*, *T. hamatum* บนอาหารหลัก Azure-B พบว่าเชื้อราปฏิปักษ์สามารถย่อยสลาย lignocellulose ทำให้สีอาหารหลักเปลี่ยนสีอาหารจากสีน้ำเงินเป็นสีใสรอบ inoculum เนื่องจากเชื้อราสร้างเอนไซม์ peroxidase ได้แก่ lignin-peroxidase และ Mn-peroxidase ได้ (Kirk and Shimada, 1985)

การทดสอบการผลิตเอนไซม์ Xylanase เชื้อราปฏิปักษ์ *T. viride*, *T. hazianum*, *T. hamatum* บนอาหาร xylan agar เมื่อผ่านการ flood plate ด้วยสารละลายไอโอดีน จะให้สีเหลือง บนอาหารเทียม พบว่าเชื้อราสามารถย่อยสลายลิกนิน (lignin) และ hemicelluloses ได้ (Kirk and Shimada, 1985)

การตรวจสอบลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อรา โดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีบนอาหารหลัก Azure agar, ABTS agar และ Xylan agar พบว่าเชื้อรา 40 isolates จัดเป็น Brown rot (BR) ส่วนเชื้อราปฏิปักษ์ 3 ชนิด ได้แก่ *T. hamatum*, *T. hazianum* และ *T. viride* มีคุณสมบัติเป็นเชื้อรา กลุ่ม White rot fungi (WR) เนื่องจากสีอาหาร Azure agar เปลี่ยนแปลงจากสีน้ำเงินเป็นสีใส อาหาร ABTS agar เปลี่ยนแปลงจากสีใสเป็นสีเขียว และอาหาร Xylan agar เปลี่ยนจากสีใสเป็นสีน้ำตาลแดง นั้นแสดงว่าเชื้อราปฏิปักษ์ ได้แก่ *T. hamatum*, *T. hazianum* และ *T. viride* สามารถผลิต เอนไซม์ Peroxidase, Laccase และ Hemicellulolytic สำหรับย่อยสลาย lignocellulose ได้แก่ เซลลูโลส (cellulose) เฮมิเซลลูโลส (hemicelluloses) และลิกนิน (linin) ได้ โดยเชื้อรา *T. viride* สามารถผลิตเอนไซม์ Peroxidase, Laccase และ Xylanolytic ได้มากที่สุด รองลงมาได้แก่ *T. hazianum* และ *T. hamatum* ตามลำดับ

5.3 การเจริญเติบโตของกล้าไม้เบิกนำป่าชายเลน ด้วยการชักนำการเจริญเติบโตด้วยหัวเชื้อรา

ปฏิปักษ์สด *Trichoderma*

การเพาะต้นกล้าไม้เบิกนำป่าชายเลน เช่น โกงกางใบเล็ก (*Rhizophora apiculata*) บริเวณ นาทุ่งร้าง ตำบลโคกขาม จังหวัดสมุทรสาคร ระหว่าง พ.ศ. 2552 - 2553 ด้วยการชักนำการเจริญเติบโตด้วยหัวเชื้อราปฏิปักษ์สด จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ *T. viride*, *T. hazianum* และ *T. hamatum* ด้วยวิธีการใช้หัวเชื้อราปฏิปักษ์สด 3 วิธี ได้แก่

1. การใส่หัวเชื้อราปฏิปักษ์สดผสมกับดินเลน พบว่าต้นกล้าโก่งกางใบเล็กที่ใส่หัวเชื้อราปฏิปักษ์สด *T. viride* อัตรา 1 : 2 ไม่ใส่รำ มีการเจริญเติบโตต้นกล้าดีที่สุด รองลงมา ต้นกล้าโก่งกางใบเล็กที่ใส่หัวเชื้อราปฏิปักษ์สด *T. hazianum* และ *T. hamatum* ตามลำดับ

2. การใส่หัวเชื้อราปฏิปักษ์สดที่โคนต้น พบว่าการเจริญเติบโตของต้นกล้าไม้โก่งกางใบเล็กที่ใส่หัวเชื้อราปฏิปักษ์สด *Trichoderma* แต่ละชนิดที่โคนต้น น้ำหนัก 40 กรัมต่อต้น จำนวนสปอร์แขวนลอย 3.2×10^{10} cfu/ml พบว่าต้นกล้าไม้ที่ใส่หัวเชื้อราปฏิปักษ์สด *T. viride*, มีการเจริญเติบโตของจำนวนใบ ขนาดลำต้น ความสูงลำต้น และระบบรากค้ำยัน ดีที่สุด รองลงมา ได้แก่ ต้นกล้าที่ใส่หัวเชื้อราปฏิปักษ์สด *T. hazianum*, *T. hamatum* ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นว่าต้นกล้าไม้โก่งกางใบเล็กที่ใส่หัวเชื้อราปฏิปักษ์สดมีการเจริญเติบโตมากกว่าต้นกล้าควบคุม(ไม่ใส่หัวเชื้อราปฏิปักษ์) 2-3 เท่า

3. การรดน้ำหัวเชื้อราปฏิปักษ์สด พบว่าการเจริญเติบโตของต้นกล้าไม้โก่งกางใบเล็ก เมื่อรดน้ำหัวเชื้อราปฏิปักษ์สด *Trichoderma* จำนวนสปอร์แขวนลอย 2×10^{10} cfu/ml ปริมาตร 400 มิลลิลิตร บ่มที่บริเวณน้ำท่วมนาน 6 เดือน พบว่าต้นกล้าไม้ที่ใส่หัวเชื้อราปฏิปักษ์ *T. viride*, มีการเจริญเติบโตของจำนวนใบ ขนาดลำต้น ความสูงลำต้น และระบบรากค้ำยัน ดีที่สุด รองลงมา ได้แก่ ต้นกล้าที่ใส่หัวเชื้อราปฏิปักษ์สด *T. hazianum*, *T. hamatum* ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นว่าต้นกล้าไม้โก่งกางใบเล็กที่ใส่หัวเชื้อราปฏิปักษ์สดมีการเจริญเติบโตมากกว่าต้นควบคุม(ไม่ใส่หัวเชื้อราปฏิปักษ์) 2-3 เท่า

5.4 การเจริญเติบโตต้นโก่งกางที่เพาะด้วยหัวเชื้อราปฏิปักษ์สด *Trichoderma* บริเวณนาทุ่งร้าง ตำบลโคกขาม จังหวัดสมุทรสาคร

การเจริญเติบโตต้นกล้าโก่งกางใบเล็ก และโก่งกางใบใหญ่ ที่เพาะด้วยหัวเชื้อราปฏิปักษ์สด *Trichoderma* จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ *T. viride* *T. hazianum* *T. hamatum* ด้วยวิธีการใช้หัวเชื้อราปฏิปักษ์สด *Trichoderma* 3 วิธี ได้แก่ การผสมหัวเชื้อราปฏิปักษ์สดกับดิน การรดน้ำหัวเชื้อราปฏิปักษ์สด และการใส่หัวเชื้อราปฏิปักษ์สดที่โคนต้น บริเวณนาทุ่งร้าง ตำบลโคกขาม จังหวัดสมุทรสาคร ระหว่าง พ.ศ. 2553-2554 ปรากฏผลการศึกษาดังนี้

5.4.1.การผสมหัวเชื้อราปฏิปักษ์สดกับดิน

การเจริญเติบโตของต้นกล้าโก่งกางใบเล็กที่เพาะด้วยหัวเชื้อราปฏิปักษ์สด *Trichoderma*

จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ *T. viride* *T. hazianum* *T. hamatum* โดยการผสมหัวเชื้อราปฏิปักษ์สดกับดิน อัตรา 1:2 และ 1:3 มีเชื้อราปฏิปักษ์ในดินเท่ากับ 5×10^6 cfu/ml นำดินกล้าโก่งกางใบเล็กดังกล่าว อายุ 6 เดือน ไปปลูกบริเวณนาทุ่งร้าง ตำบลโคกขาม จังหวัดสมุทรสาคร วัดการเจริญเติบโตของดิน โก่งกางใบเล็ก นาน 16 เดือน ระหว่าง พ.ศ. 2553-2554 เปรียบเทียบกับต้นควบคุมที่ไม่ใส่หัวเชื้อราปฏิปักษ์ พบว่าต้นโก่งกางใบเล็กที่ใส่หัวเชื้อราปฏิปักษ์ *T. viride* 1:2 ไม่ใส่รำ มีการเจริญเติบโตของจำนวนใบ ขนาดลำต้น ความสูงลำต้น และระบบรากค้ำยัน ดีที่สุด รองลงมาพบว่าต้นโก่งกางใบเล็กที่ใส่หัวเชื้อราปฏิปักษ์ *T. hazianum* *T. hamatum* ตามลำดับ ส่วนต้นควบคุมที่ไม่ใส่หัวเชื้อราปฏิปักษ์มีการเจริญเติบโตน้อยที่สุด (ตารางที่ 4)

5.4.2 การรดน้ำหัวเชื้อราปฏิปักษ์

การเจริญเติบโตของต้นกล้าโก่งกางใบเล็กที่เพาะด้วยหัวเชื้อราปฏิปักษ์สด *Trichoderma* จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ *T. viride* *T. hazianum* *T. hamatum* โดยการรดน้ำหัวเชื้อราปฏิปักษ์สด 2×10^{10} cfu/ml ปริมาตร 400 มิลลิลิตร ที่โคนต้นทุกวันในช่วงเย็น ช่วงปลายฝนต้นหนาว ปริมาตรน้ำหัวเชื้อราปฏิปักษ์ทั้งหมดที่ใช้รดต้นกล้า 20 ลิตร บ่มต้นกล้าโก่งกางใบเล็ก บริเวณที่น้ำท่วมถึง ตำบลโคกขาม จังหวัดสมุทรสาคร นาน 6 เดือน นำต้นกล้าโก่งกางใบเล็กไปปลูกบริเวณนาทุ่งร้าง ตำบลโคกขาม จังหวัดสมุทรสาคร วัดการเจริญเติบโตของดินโก่งกางใบเล็ก นาน 6 เดือน เปรียบเทียบกับต้นควบคุมที่ไม่ใส่หัวเชื้อราปฏิปักษ์สด พบว่าต้นโก่งกางใบเล็กที่ใส่หัวเชื้อราปฏิปักษ์สด *T. viride* โดยการรดหัวเชื้อราปฏิปักษ์สด มีการเจริญเติบโตของจำนวนใบ ขนาดลำต้น ความสูงลำต้น และระบบรากค้ำยัน ดีที่สุด รองลงมาพบว่าต้นโก่งกางใบเล็กที่ใส่หัวเชื้อราปฏิปักษ์สดโดยการรดหัวเชื้อราปฏิปักษ์สด *T. hazianum* *T. hamatum* ตามลำดับ ส่วนต้นควบคุมที่ไม่ใส่หัวเชื้อราปฏิปักษ์สดมีการเจริญเติบโตน้อยที่สุด (ตารางที่ 5)

5.4.3 การใส่หัวเชื้อราปฏิปักษ์สดที่โคนต้น

การเจริญเติบโตของต้นกล้าโก่งกางใบใหญ่ที่เพาะด้วยหัวเชื้อราปฏิปักษ์สด *Trichoderma* จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ *T. viride* *T. hazianum* *T. hamatum* โดยการใส่หัวเชื้อราปฏิปักษ์สดโคนต้น 2×10^{10} cfu/ml น้ำหนัก 40 กรัมต่อต้น บ่มต้นกล้าโก่งกางใบใหญ่นาน 6 เดือน นำต้นกล้าโก่งกางใบใหญ่ไปปลูก บริเวณนาทุ่งร้าง ตำบลโคกขาม จังหวัดสมุทรสาคร พบว่าต้นกล้าที่ใส่เชื้อราปฏิปักษ์สด *T. viride*, มีการเจริญเติบโตของจำนวนใบ ความสูงลำต้น ขนาดลำต้น และ

ระบบรากค้ำยัน รองลงมา ได้แก่ ต้นกล้าที่ใส่เชื้อราปฏิปักษ์สด *T. hazianum*, *T. hamatum* ตามลำดับ ส่วนต้นควบคุมที่ไม่ใส่หัวเชื้อราปฏิปักษ์สดมีการเจริญเติบโตน้อยที่สุด (ตารางที่ 5)

จากการศึกษาการเจริญเติบโตต้นกล้าไม้เบิกนำที่เพาะด้วยหัวเชื้อราปฏิปักษ์สดทั้ง 3 วิธี ได้แก่ การผสมกับดินเลน การใส่ที่โคนต้น และการรดที่โคน พบว่าต้นกล้าไม้เบิกนำโก่งกางใบเล็กที่เพาะด้วยการใส่หัวเชื้อราปฏิปักษ์สดที่โคนต้น เมื่อนำไปปลูกบริเวณนาทุ่งร้าง ตำบลโคกขาม จังหวัดสมุทรสาครมีการเจริญเติบโตดีที่สุด รองลงมาการผสมกับดินเลน และการรดที่โคนต้น ตามลำดับ เนื่องจากเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* ที่เกาะที่รากค้ำยันจะคอยดูดธาตุอาหารจากดินเลน บริเวณนาทุ่ง เพื่อรากไม้เบิกนำจะดูดไปใช้ในการเจริญเติบโตทำให้ต้นไม้เบิกนำที่มีเชื้อราปฏิปักษ์ที่รากมีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าต้นควบคุม(ต้นที่ไม่มีเชื้อราปฏิปักษ์ที่ราก) 2-3 เท่า ดังผลการศึกษาข้างต้น(ภาพที่ 45)

5.5 การย่อยสลายของใบโก่งกางและใบแสม บริเวณนาทุ่งร้าง ตำบลโคกขาม จังหวัดสมุทรสาคร

การย่อยสลายใบไม้เบิกนำ ได้แก่ ใบโก่งกางใบใหญ่ (*R. mucronata*), ใบโก่งกางใบเล็ก (*R. apiculata*), ใบแสมขาว(*A. alba*) และใบแสมทะเล(*A. marina*) บริเวณนาทุ่งร้าง ตำบลโคกขาม จังหวัดสมุทรสาคร พ.ศ. 2552-2553 จำนวน 2 แปลง ได้แก่ แปลงที่ปลูกด้วยกล้าไม้ที่เพาะด้วยเชื้อราปฏิปักษ์ และแปลงที่ปลูกด้วยกล้าไม้ที่ไม่ใส่เชื้อราปฏิปักษ์(ควบคุม) อายุ 8 เดือน (ภาพที่ 47) พบว่าการย่อยสลายใบไม้เบิกนำ บริเวณแปลงที่ปลูกด้วยกล้าไม้ที่เพาะด้วยเชื้อราปฏิปักษ์ ใบโก่งกางใบเล็กและใบโก่งกางใบใหญ่ ถูกย่อยสลายลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ของใบไม้ทั้งหมด ใช้เวลาประมาณ 3 เดือน และถูกย่อยสลายหมดใช้เวลา 8 เดือน ใบแสมขาวและใบแสมทะเล ถูกย่อยสลายลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ของใบไม้ทั้งหมด ใช้เวลาประมาณ 2 เดือน และถูกย่อยสลายหมดใช้เวลา 6 เดือน ส่วนแปลงที่ปลูกด้วยกล้าไม้ที่ไม่ใส่เชื้อราปฏิปักษ์(ควบคุม) ใบโก่งกางใบเล็กและใบโก่งกางใบใหญ่ ถูกย่อยสลายลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ของใบไม้ทั้งหมด ใช้เวลาประมาณ 4 เดือน และถูกย่อยสลายหมดใช้เวลา 8 เดือน ใบแสมขาวและใบแสมทะเล ถูกย่อยสลายลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ของใบไม้ทั้งหมด ใช้เวลาประมาณ 3 เดือน และถูกย่อยสลายหมดใช้เวลา 6 เดือน (ตารางที่ 6-7)

5.6 การย่อยสลายของใบโก่งกาง และใบแสมทะเล (*A. marina*) ด้วยเชื้อรา

การย่อยสลายใบโก่งกางใบใหญ่ (*R. mucronata*), ใบโก่งกางใบเล็ก (*R. apiculata*), ใบแสมขาว (*A. alba*) และใบแสมทะเล (*A. marina*) น้ำหนัก 0.1-0.3 กรัม ด้วยเชื้อราที่พบบนซากโก่งกางใบเล็ก ใบโก่งกางใบใหญ่ ใบแสมขาว และใบแสมทะเล จำนวน 3 สกุล ได้แก่ *Aspergillus niger* (Av21) *Trichoderma viride* (Ay8) และ *Penicillium* sp. (Dv19) พบว่าอัตราส่วนเชื้อรา

Penicillium sp. ค่อน้ำหนักใบไม้โกองกางเท่ากับ 1:150 ส่วนอัตราส่วนเชื้อรา *Aspergillus niger* ค่อน้ำหนักแสมเท่ากับ 1:75 สามารถย่อยสลายใบไม้เบิกนาให้กลายเป็นน้ำตาลกลูโคสได้ดีที่สุด เนื่องจากเชื้อราเหล่านี้จะถูกที่ชักนำให้มีการสร้างเอนไซม์ cellulose, hemicellulas, laccase ในอาหาร FB ที่อายุ 4 วัน ปริมาตร 5, 10 และ 15 มิลลิลิตร ดังผลการศึกษา ดังนี้ เชื้อรา *Penicillium* sp. 15 มิลลิลิตร สามารถย่อยสลายเซลลูโลสในใบโกองกางใบเล็กและโกองกางใบใหญ่น้ำหนัก 0.1 กรัม ให้ปริมาณน้ำตาลดีที่สุดเท่ากับ 50 กรัม/ลิตร รองลงมาได้แก่ เชื้อรา *Aspergillus niger* และ *Trichoderma viride* ให้ปริมาณน้ำตาล 48 และ 40 กรัม/ลิตร ตามลำดับ แต่เชื้อรา *Aspergillus niger* 15 มิลลิลิตรสามารถย่อยสลายเซลลูโลสในใบแสมขาว และใบแสมทะเล น้ำหนัก 0.3 กรัม สามารถย่อยสลายให้ปริมาณน้ำตาลดีที่สุดเท่ากับ 49.5 กรัม/ลิตร รองลงมาได้แก่ เชื้อรา *Penicillium* sp. และ *Trichoderma viride* ให้ปริมาณน้ำตาล 48 และ 42 กรัม/ลิตร ตามลำดับ

5.7 การย่อยสลายวัสดุเหลือใช้ด้วยเชื้อรา *Trichoderma*

1. ฟางข้าว

เชื้อรา *Trichoderma* 3 ชนิด ได้แก่ *T. hamatum*, *T. harzianum* และ *T. viride* จำนวน 8 แบบ คือ *T. hamatum*, *T. harzianum*, *T. viride*, *T. hamatum* + *T. harzianum*, *T. hamatum* + *T. viride*, *T. harzianum* + *T. viride* และ *T. hamatum* + *T. harzianum* + *T. viride* และ ชุดควบคุม เพื่อย่อยสลาย cellulose 2% น้ำต้มฟาง พบว่าสามารถย่อยสลาย lignocellulose ได้แก่ เซลลูโลส (cellulose), เฮมิเซลลูโลส (hemicelluloses) และลิกนิน (linin) ซึ่งเป็นองค์ประกอบในฟางข้าว ให้กลายเป็นน้ำตาลกลูโคสได้ โดยเชื้อรา *T. viride* สามารถย่อยสลายฟางข้าวได้ดีที่สุด รองลงมาได้แก่ *T. harzianum* และ *T. hamatum* ตามลำดับ เนื่องจาก เชื้อรา *T. viride* สามารถหลั่งเอนไซม์ Peroxidase, Laccase และ Xylanase ได้มากที่สุด 4.542857 เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อราดินเลนที่ 5 วัน รองลงมาได้แก่ *T. harzianum* 3.932143 และ *T. hamatum* 3.796854 g/l ตามลำดับ ดังตารางที่ 26-27 ภาพที่ 54-55 เนื่องจากคุณสมบัติทางชีวเคมีเชื้อราดิน บรเวณนาทุ่งร้าง ตำบลโคกขาม จังหวัดสมุทรสาคร เกี่ยวกับการผลิตเอนไซม์ laccase, peroxidase และ xylanase โดยการเพาะเลี้ยงบนอาหารเทียมสูตรหลัก ของเชื้อราดินเลนทั้งหมดพบว่าเฉพาะเชื้อราดินเลน *Trichoderma viride*, *T. harzianum*, *T. hamatum* สามารถผลิตเอนไซม์ laccase, peroxidase, xylanase ได้ นั้นแสดงว่าเชื้อราดังกล่าวสามารถย่อยสลาย lignocellulose ได้แก่ เซลลูโลส (cellulose) เฮมิเซลลูโลส (hemicelluloses) และลิกนิน (linin) ดังเห็นได้จากการทดสอบการผลิตเอนไซม์เชื้อรา *Trichoderma viride*, *T. harzianum*, *T. hamatum* สามารถผลิตเอนไซม์ Laccase โดย ABTS (2,2-azino-bis(3-ethylbenz-thiazoline-6-sulfonate) เป็น mediator ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีบนอาหารเทียมจากสีใสเป็นสีเขียว จากคุณสมบัติทางเคมีของ ABTS พบว่าเป็น subunit ของลิกนินและเป็น

สารพวก non-phenolic ซึ่ง Bourbonnais และคณะ 1995 ได้ศึกษาคุณสมบัติของเอนไซม์ laccase พบว่ามีคุณสมบัติคล้ายกับ phenol-oxidizing enzyme ซึ่งเอนไซม์ชนิดนี้จะทำปฏิกิริยา oxidation กับ phenolic group ของลิกนิน นอกจากนี้ ได้ศึกษาปฏิกิริยาของ laccase พบว่าสามารถทำปฏิกิริยากับ phenolic subunit ของลิกนิน อย่างไรก็ตามเอนไซม์ laccase สามารถย่อยสลายโครงสร้างของลิกนิน ซึ่งประกอบด้วยส่วนของ phenolic และ nonphenolic ได้ จากคุณสมบัติทั่วไปของเอนไซม์ laccase ซึ่งเป็น extracellular non-heam ที่มีทองแดงเป็นองค์ประกอบและมีประสิทธิภาพในการเกิดปฏิกิริยา oxidation ของ ลิกนิน (Kirk and Shimada, 1985)

ปฏิกิริยาการผลิตเอนไซม์จะมากหรือน้อยสามารถตรวจสอบได้จากการเกิด zone รอบ inoculums บนอาหารแข็ง ABTS agar โดยดูขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ zone สีเขียว พบว่า ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ zone สีเขียว *Trichoderma viride* มากที่สุด รองลงมา ได้แก่ *T. hazianum*, *T. hamatum* ตามลำดับ

การทดสอบการผลิตเอนไซม์ peroxidase เชื้อรา *Trichoderma viride*, *T. hazianum*, *T. hamatum* บนอาหารหลัก Azure-B พบว่าเชื้อราสามารถย่อยสลาย lignocellulose ทำให้สีอาหารหลักเปลี่ยนสีอาหารจากสีน้ำเงินเป็นสีใสรอบ inoculum เนื่องจากเชื้อราสร้างเอนไซม์ peroxidase ได้แก่ lignin-peroxidase และ Mn-peroxidase ได้ (Kirk and Shimada, 1985)

การทดสอบการผลิตเอนไซม์ lytanase เชื้อรา *Trichoderma viride*, *T. hazianum*, *T. hamatum* บนอาหาร xylan agar เมื่อผ่านการ flood plate ด้วยสารละลายไอโอดีน จะให้สีเหลืองบนอาหารเทียม พบว่าเชื้อราสามารถย่อยสลายลิกนิน (lignin) hemicelluloses (Kirk and Shimada, 1985)

ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยสลายเชื้อราปฏิปักษ์ *T. viride*, *T. hazianum*, *T. hamatum* พบว่าเชื้อราปฏิปักษ์ *T. viride* สามารถย่อยสลาย lignocellulose ซึ่งเป็นสารประกอบ ในฟางข้าวได้มากที่สุด รองลงมา ได้แก่ *T. hazianum*, *T. hamatum* ตามลำดับ

5.8 การบูรณาการองค์ความรู้งานวิจัย

จากการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับความหลากหลายทางชีวภาพเชื้อรา การเจริญเติบโตกล้าไม้ และ ต้นไม้ การย่อยสลายสลายใบไม้ (สนิท, 2547 สุกาญจน์, 2550) ปริมาณธาตุอาหาร (วิจารณ์, 2550) ปัจจัยทางกายภาพ การร่วนหล่น (จิรศักดิ์, 2542) การลดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Meepol, 2002) อื่นๆ สามารถใช้เป็นดัชนีในการจัดการฟื้นฟูป่าชายเลน บริเวณนาทุ่งร้าง ตำบลโคกขาม จังหวัดสมุทรสาคร ให้สมดุลธรรมชาติใช้ระยะเวลา 4-5 ปี โดยการปลูกด้วยกล้าไม้เบิกนำที่เพาะด้วยหัวเชื้อราปฏิปักษ์สดหรืออัดเม็ด *T. viride* เนื่องจากกล้าไม้ที่เพาะด้วยหัวเชื้อราปฏิปักษ์สดหรืออัดเม็ดสามารถเจริญเติบโต เช่น จำนวนใบ ความสูง ลำต้น และรากค้ำยัน มีการเจริญเติบโตดีกว่าต้นควบคุม 2-3 เท่า ดังนั้นเมื่อทำการเปรียบเทียบความหลากหลายทางชีวภาพเชื้อรา การเจริญเติบโต

กล้าไม้ และต้นไม้ การย่อยสลายสลายใบไม้ ปริมาณธาตุอาหาร ปัจจัยทางกายภาพ การลดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ อื่นๆกับป่าชายเลนที่สมดุลธรรมชาติ บริเวณตำบลบางหญ้าแพรก จังหวัดสมุทรสาคร หรือป่าชายเลน จังหวัดระนอง จะเห็นว่ามี ความใกล้เคียงกัน แต่ระยะเวลาในการฟื้นฟูแตกต่างกันดังรูปที่ 45 ดังนั้นจึงควรฟื้นฟูป่าชายเลน บริเวณนาทุ่งร้าง บริเวณอื่นๆของประเทศไทย ด้วยกล้าไม้เบิกนำที่เพาะด้วยหัวเชื้อราปฏิปักษ์สดหรืออัดเม็ด *T. viride* เพื่อให้เชื้อราปฏิปักษ์ สดหรืออัดเม็ด *T. viride* ชักนำการเจริญเติบโต การลดธาตุอาหารจากระบบนิเวศป่าชายเลน บริเวณนาทุ่งร้าง ได้ดีขึ้น(Frank, 2005)