

Table1 Biochemistry of fungi at abandoned shrimp farms produced Peroxidase Laccase and Hemicellulolytic degraded lignocellulose such as cellulose, hemicelluloses and lignin

Order	Fungi	Biochemistry	Enzyme		
			Peroxidase	Laccase	Hemicellulolytic
1.	<i>T. hamatum</i>	White Rot	+	+	++
2.	<i>T. harzianum</i>	White Rot	+	+	++
3.	<i>T. viride</i>	White Rot	+	+++	++

Note: - = no reaction + = weak reaction ++ = strong reaction +++ = very strong reaction

2.2 ประสิทธิภาพของเชื้อรา Trichoderma ในการย่อยสลาย Lignocelluloses

ประสิทธิภาพเชื้อราปีปักช์ในการย่อยสลาย Lignocelluloses เช่น Cellulose พบว่า เชื้อรา *Trichoderma viride* สามารถย่อย Cellulose ให้กลไยเป็นน้ำตาลได้ดีที่สุด มีค่าเท่ากับ 4.54 g/l รองลงมา ได้แก่ *T. harzianum* และ *T. hamatum* ตามลำดับ มีค่าเท่ากับ 3.93 และ 3.79 g/l ตามลำดับ และเชื้อรา *T. viride* สามารถหลังเข้ม Peroxidase, Laccase และ Xylanase (Hemicellulolytic) ได้ดีที่สุด (Figure 1)

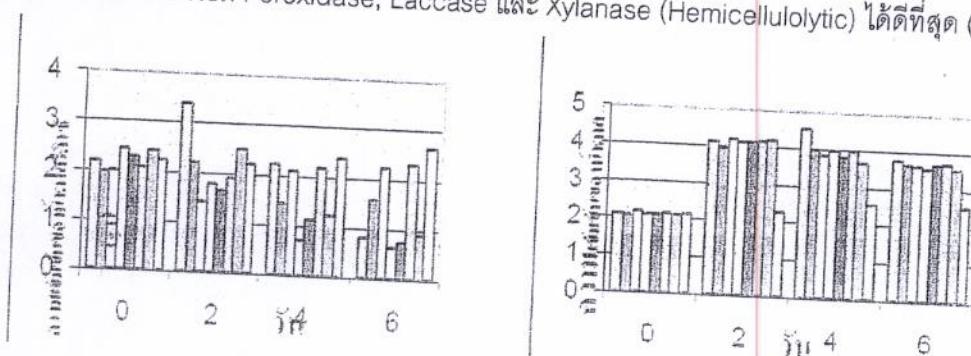


Figure1 Total reducing sugar and total sugar (g/l) degraded cellulose at 35 °C

3. การเจริญเติบโตกล้าไม้ในกระบวนการเลือกตัวแยกกระทำข้องเชื้อราปีปักช์

กล้าไม้ในกระบวนการใบเลือกที่เพาะตัวโดยเชื้อราปีปักช์ทดสอบใน ขั้นตอน 1:3 และ 1:2 โดยนำหนัก พบว่า กล้าไม้ในกระบวนการใบเลือกที่ใส *Trichoderma viride* 2.4×10^7 cfu/gm. สามารถเจริญเติบโตได้ในบริเวณน้ำหุ้นร้าง จังหวัดสมุทรสาครดีกว่าต้นควบคุม 2 - 3 เท่า และมีเปอร์เซ็นต์การครอบคล้าไม้สูงมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่กล้าไม้ในกระบวนการใบเลือกที่ใสเชื้อรา *T. harzianum* และ *T. hamatum* ตามลำดับ ดัง Figure 2-3 เนื่องจากระบบราชของกล้าไม้ในกระบวนการใบเลือกที่ใสเชื้อราปีปักช์ *T. viride* มีจำนวนรากมากกว่าชุดควบคุม ดังนั้น จึงทำให้กล้าไม้ในกระบวนการใบเลือกสามารถดูดซุกอาหารหลักจากดินเล่นได้มากกว่าปกติ ส่งผลให้กล้าไม้มีการเจริญเติบโตของขนาดลำต้น ความสูงลำต้น และจำนวนใบมากกว่าชุดควบคุม (Frank, 2005; Kleifeld and Chet,

1992) ประกอบกับเชื้อราปีร์บีกซ์ *Trichoderma viride* สามารถสร้างเอนไซม์ Peroxidase และ Hemicellulolytic ย่อยสลายลิคโนเซลลูโลสได้ดีที่สุด Figure 1 (Kirk and Shimada, 1985) นอกจากนี้พบว่า กล้าไม้ที่ได้เชื้อราปีร์บีกซ์ *Trichoderma viride* “ไม่เกิดโรคใบบุดอันเกิดจากเชื้อรา *Fusarium* sp.” ได้ เมื่อเปรียบเทียบกับแบล็งค์คูม ดัง Figure 6 (จิราเดช, 2534; ศากาณุจัน แคลคูลัส, 2550)

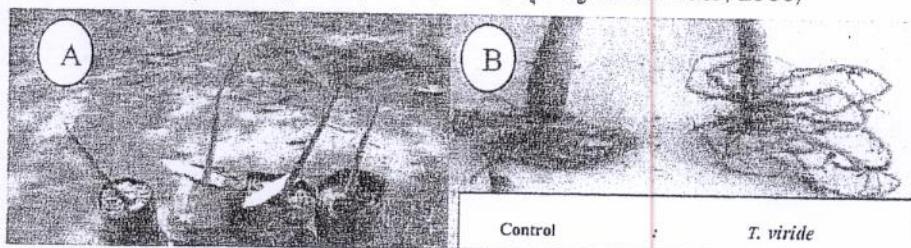


Figure2 A. *R. apiculata* seeding : control groups, *T. viride*, *T. hazianum*, *T. hamatum* respectively
 B. Root of *R. apiculata* seeding

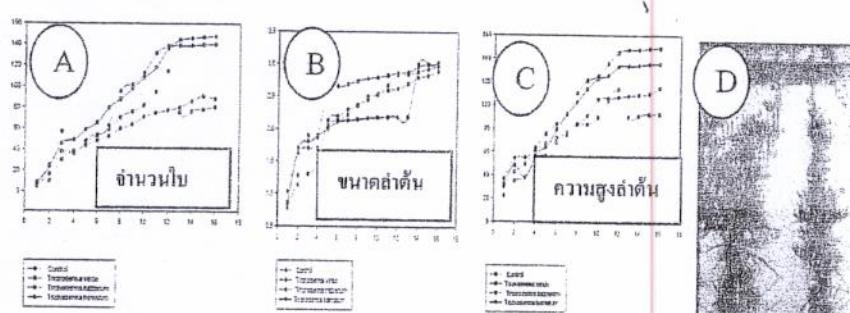


Figure3 *R. apiculata* trees growth at abandoned shrimp farms, Samut Sakhon province
 A. number leaf B. stem size C. height of stem
 D. prop root of *R. apiculata* trees that put *T. viride* : control

សរប់នូវការណ៍នៃការងារ

ความหลากหลายทางชีวภาพเชื้อราก บนผักโภคภัณฑ์และแสเม บริเวณนาทุ่งร้าง จังหวัดสมุทรสาคร ระหว่าง พ.ศ. 2550 - 2552 พน.เชื้อราก Subdivision Deuteromycotina ทั้งหมด 56 isolates ได้แก่ *Aspergillus* และ *Trichoderma* เมื่อศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อรากปฏิปักษ์ *T. viride*, *T. harzianum*, และ *T. hamatum* พบร้าเป็นเชื้อรากปฏิปักษ์คุณ White Rot ที่สามารถสร้างเอนไซม์ Laccase, Peroxidase และ Xylanase ได้ ซึ่ง เอนไซม์ดังกล่าวสามารถย่อยสลาย Lignocellulose จำพวก เชลโลโลส (Cellulose), เมมเซลูโลส Hemicelluloses) และลิกนิน(Liginin) ได้ ในด้านประสิทธิภาพการย่อยสลาย Lignocellulose พบร้า เชื้อราก *T. viride* สามารถย่อยสลาย cellulose ให้น้ำตาลทั้งหมดมีค่า 4.54 g/l รองลงมา ได้แก่ *T. harzianum*, *T. hamatum* ให้น้ำตาลทั้งหมดมีค่า 3.93 และ 3.79 g/l ตามลำดับ ส่วนการศึกษาการเจริญเติบโตกล้าไม้ โภคภัณฑ์ที่ผลิตด้วยเชื้อรากปฏิปักษ์กับดินเล่น อัตราส่วน 1:3 และ 1:2 โดยนำหัวนัก พบร้ากล้าไม้โภคภัณฑ์ไปเลี้กที่ผลิตด้วยเชื้อรากปฏิปักษ์กับดินเล่น อัตราส่วน 1:3 และ 1:2 โดยนำหัวนัก สามารถเจริญเติบโตได้มากกว่าในแปลงควบคุม 2-3 เท่า และมีเปอร์เซ็นต์การรอดต้นกล้าสูงมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ *T. harzianum* และ *T. hamatum* ตามลำดับ ดัง Figure 4 นอกจากนี้ กล้าไม้โภคภัณฑ์ที่ใส่เชื้อรากปฏิปักษ์ผสมดิน ไม่เกิดเป็นโรคใบจุด เนื่องจากเชื้อราก *Fusarium* sp. ดัง Figure 6

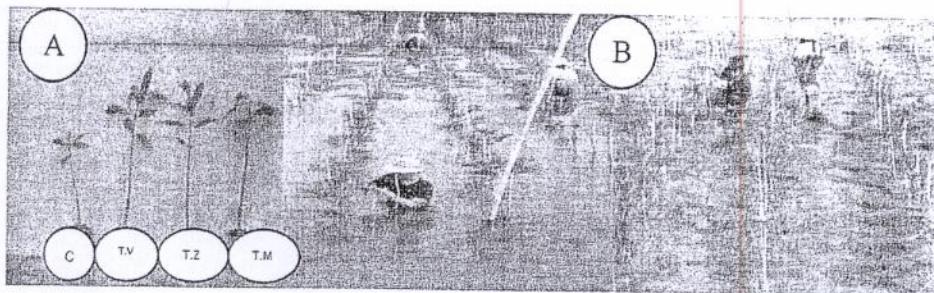


Figure4 A. *R. apiculata* seeding

B. *R. apiculata* growth at abandoned shrimp farms, Samut Sakhorn province

ข้อเสนอแนะ

ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาวิจัยนี้สามารถนำไปศึกษาวิจัยต่ออยอดในด้านต่างๆ ดังนี้ 1. ทางด้านการจัดการระบบนิเวศป่าชายเลนแบบยั่งยืน (Aksornkoae, 1991; Fell and Master, 1980; สุกัญจน์, 2552) โดยนำเชื้อราปฏิปักษ์สตด Trichoderma ผลิตเป็นหัวเชื้อราปฏิปักษ์ในรูปผง สารละลาย และอัดเม็ด (Figure 5) ที่สะดวกต่อการนำไปใช้ประโยชน์ของเกษตรกรและสามารถเก็บรักษาหัวเชื้อได้นาน เพิ่มการเจริญเติบโตของพืชให้สูงกว่าปกติ 2-7 เท่า (Frank, 2005) นอกจากนี้หัวเชื้อราปฏิปักษ์สามารถควบคุมโรคจากเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคได้ ดัง Figure 6 (จิระเดช, 2534; สุกัญจน์ และคณะ, 2550; สุกัญจน์, 2552) 2. ด้านอุดหนากรรณ ใช้หัวเชื้อราปฏิปักษ์ในรูปผง สารละลาย และอัดเม็ด ย่อยสลาย lignocelluloses ในกระบวนการผลิตเชathanออล (ยศนันท์ และคณะ, 2548) 3. ด้านการเกษตร โดยใช้หัวเชื้อราปฏิปักษ์ในรูปผง สารละลาย และอัดเม็ด ย่อยสลาย lignocelluloses จากวัสดุเหลือใช้ เช่น เปลือกหญ้า ฟางข้าว เศษผัก ให้กล้ายเป็นผุย ที่เพิ่มค่าชาตุอาหาร N P K ในดินได้มากกว่าปกติ (บุญคง และคณะ, 2545)

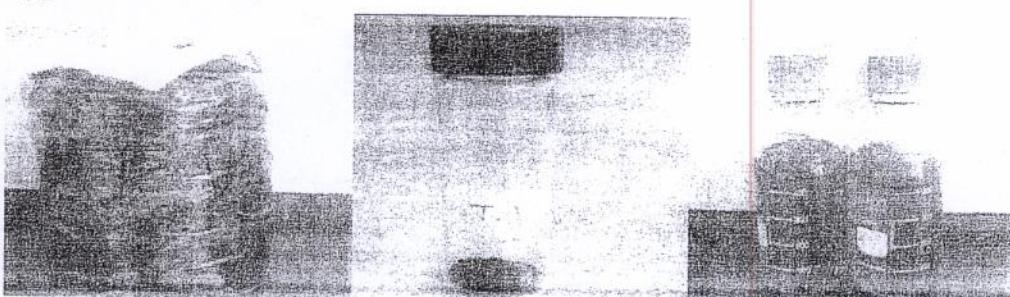


Figure5 Antagonistic fungi in spawn, powder and solution

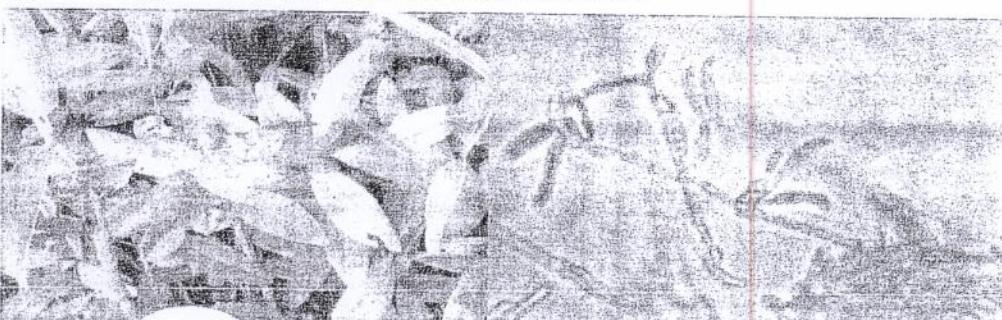


Figure6 Pathogenic on *R. apiculata* trees due to *Fusarium* sp. at abandoned shrimp farms, Samut Sakhorn province

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จได้ด้วยดี ข้าพเจ้าขอขอบคุณ สถาบันวิจัยแห่งชาติที่ให้เงินสนับสนุนเงินงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2553 ท่านศาสตราจารย์ ดร. สนิท อักษรแก้ว และรองศาสตราจารย์ ดร. เลขา มาโนช ที่ประสิทธิ์ ประสานความรู้ และขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม สถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 7 (สมุทรสาคร) และโครงการแก้ไขปัญหาการกัดเซาะและฟื้นฟูพื้นที่ชายฝั่งทะเล พื้นที่นาภั้งร้าง อำเภอโคกขาม จังหวัดสมุทรสาคร โดยการมีส่วนร่วมของประชาชน ที่เอื้ออำนวยสถานที่จริง

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

จีระเดช แฉ่มสว่าง และวรรณวิไล เกษมนรา. 2534. การผลิตการทดสอบคุณภาพของผงเชื้อรา

Trichoderma harzianum. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ชริดา บุกหุด, จำรัส แก้วแรมเรือน, วารินี พลสาร และอรุณญา พิมพ์มงคล. 2548. การย่อยสลายแกลบและฟางข้าวด้วยเชื้อเห็ดไวนิลหรือที่นักเล่นไทน์ส. ในการประชุมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสุรนารี. นครราชสีมา.

ยศนันท์ พรมโชคดีกุล, อรุณี วีโนน และธีรวัฒน์ บุญทวีคุณ. 2548. การคัดเลือกเชื้อราที่ผลิตเอนไซม์อยสลายลิกนิน เพื่อการใช้ประโยชน์. ในการประชุมความหลากหลายทางชีวภาพด้านป่าไม้และสัตว์ป่า. เพชรบุรี.

เลขา มาโนช. 2540. rainin' และดิน ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ
สนิท อักษรแก้ว. 2541. โครงการ: การพื้นฟูและพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนเพื่อสังคมและเศรษฐกิจอย่างยั่งยืนของประเทศไทย ในรายงานความก้าวหน้าของโครงการฯ ในรอบ 12 เดือน (ปีที่ 2.) เมธิคัลอาดูส, กรุงเทพฯ.

สุกาญจน์ รัตนเดศนุสรณ์, วัชรพล วรเศษฐพงษ์ และอัชฎานันท์ รัตนเดศนุสรณ์. 2550. ประสิทธิภาพเชื้อราปฏิปักษ์จากตินเลนในการควบคุมโรคเน่าในผักและผลไม้ที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี, ปทุมธานี.

สุกาญจน์ รัตนเดศนุสรณ์. 2552. ความหลากหลายทางชีวภาพเชื้อราบนผักโภคภัณฑ์และสมช้ำ: การใช้ประโยชน์เชื้อรา *Trichoderma viride* หารสาภาครจัดการป่าไม้ 3(5): 50-62

สุกาญจน์ รัตนเดศนุสรณ์ 2552. การใช้ประโยชน์เชื้อราปฏิปักษ์จากตินเลนในการควบคุมโรคเน่า บนโภคภัณฑ์และสมช้ำ. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี, ปทุมธานี.

ไสกนา วงศ์ทอง. 2544. ความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อราชนิดสูงในป่าชายเลน ณ สถานีวิจัยทรัพยากรชายฝั่งระนอง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

- วิจารณ์ ม.พล. 2550. การเดบต์และผลผลิตชากรื้อของใบโงกงาใบใหญ่ที่ปลูกในพื้นที่นาทุ่งร้าง
สำนักอนุสัตต์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี. ในการประชุมวิชาการระบบนิเวศป่าชายเลนแห่งชาติ “ป่าชาย
เลน : ราชธานีเศรษฐกิจพอเพียงของชุมชนชายฝั่ง” วันที่ 12-14 กันยายน 2550 จังหวัดเพชรบุรี
กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, กรุงเทพฯ.
บุญถ่อง บันพานิช ข้าวลา ยุทธชัยย่างกุล ศิมาลักษณ์ ดิษฐ์สวัสดิ์เกทญ์ ดาวิวรรณ เศรษฐีธรรม
และการนา ชัยคำรงค์กุล. 2545. การกำจัดขยะมูลฝอยชุมชนโดยวิธีการทำปุ๋ยหมักแบบใช้สารเร่ง.
ศูนย์อนามัยถึงแวดล้อมเขต 6 ขอนแก่น กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. ขอนแก่น.
- Aksornkoae, S.1991. Soils and forestry studies. The integrated multidisciplinary survey
and research programme of the Ranong mangrove ecosystem. UNDP/UNESCO Regional
Mangrove Ecosystem. Final Report.
- Bourbonnais, R. and M.G. Paice 1995. Enzymatic delignification of kraft pulp using laccase and a
mediator. *Tappi J.* 79(6):199-04
- Fell, J. M. and I. M. Master. 1980. The associated and potential role of fungi in mangrove detrial System.
Bol. Mar. 23:257-63.
- Frank, A. B. 2005. Mycorrhizae: the challenge to evolutionary and ecology theory *Mycorrhiza*,
15(4): 277-81
- Ito,T. and A. Nakagiri,1997. A Mycofloral study on mangrove mud in Okinawa, Japan : IFO res
Commun. 18: 32-9.
- Kirk, T. K. and D. Cullen. 1980. Enzymology and molecular genetics of wood degradation by white-rot
fungi, pp. 273-307. In R. A. young and M. Akhtar, eds. Environmentally Friendly Technologies
for the Pulp and Paper Industry. John Wiley&Sons, Inc., Canada.
- Kirk, T. K. and Shimada. 1985. Lignin Biodegradation: The microorganisms involved and the physiology
and biochemistry of degradation by white rot fungi, In T. Higuchi, ed Biosynthesis and
Biodegradation of wood components. Academic Press, London.
- Kleinfeld, O and J. Chet 1992 *Trichoderma hazianum* interaction with plants and effects on
growth Response, *Plants and Soil* 144 (3) : 267-72
- Kongamol, S. 2001. Decomposition Rates and Associated Degradation Fungi on mangrove Leaf Litters
of *Rhizophora apiculata* and *A. alba* at Thachine estuary Samut Sakhon Province. PhD Thesis.
Kasatsart University.
- Tangnu, S. K. 1982. Process development for ethanol production basec on enzymatic hydrolysis of
cellulosic biomass. *Process Biochemistry*. May/June: 36-49.
- Warcup,J.M. 1950. The soil -plate Method for isolation of fungi from soil nature, *Lond.*106-117



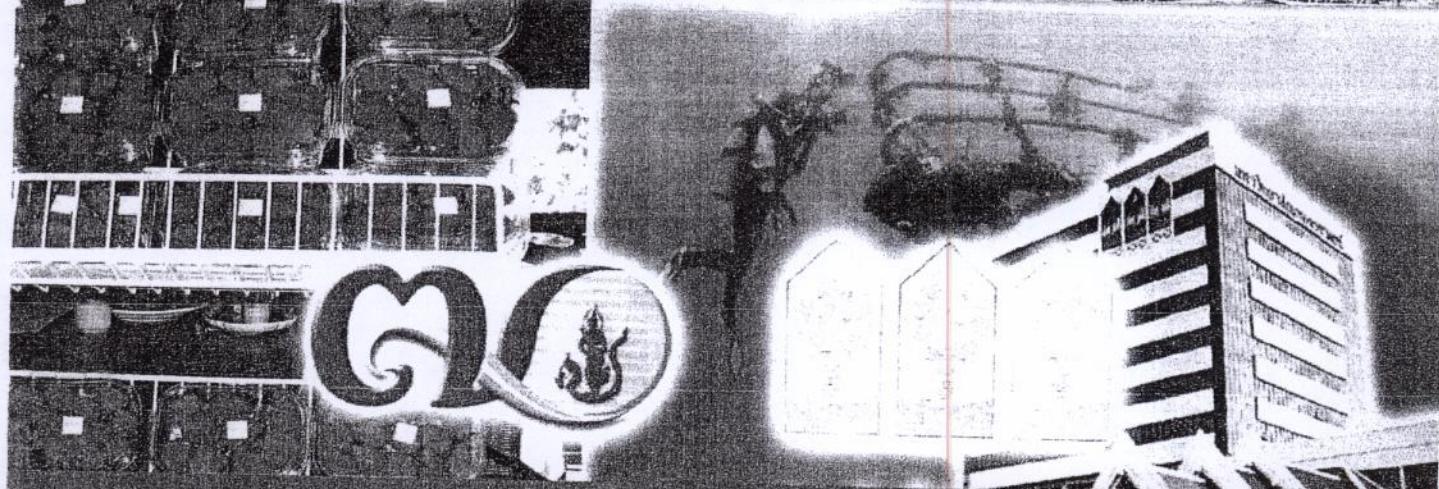
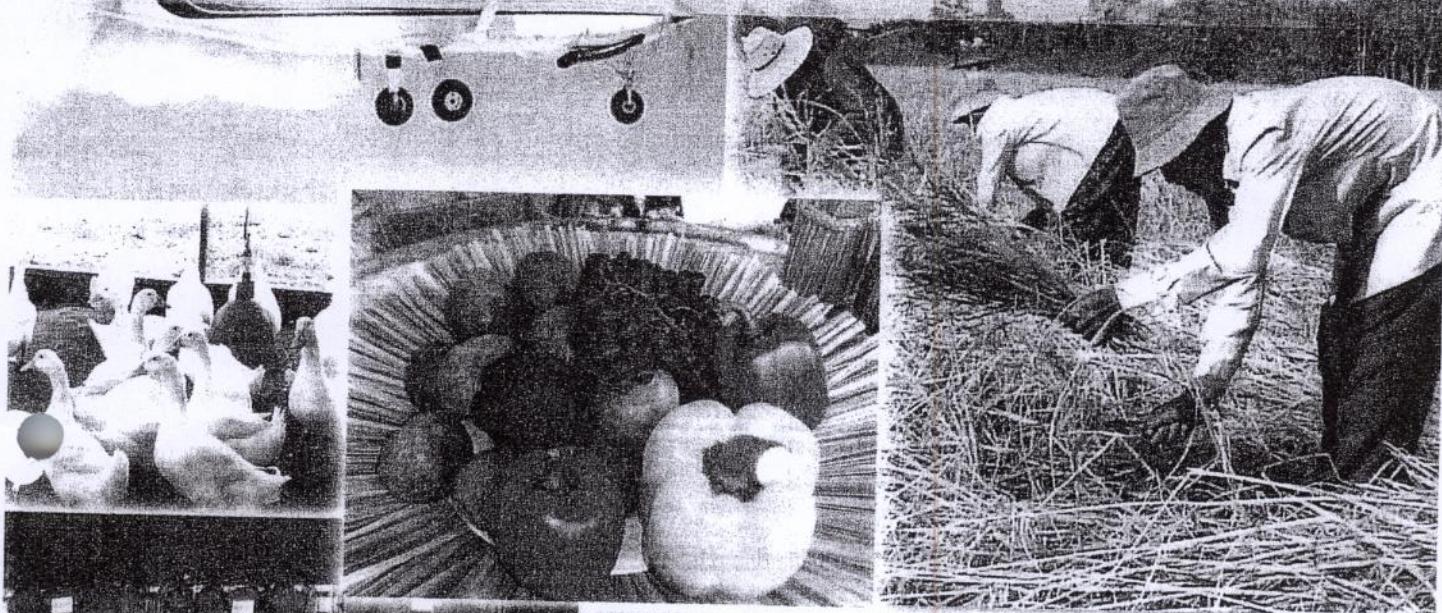
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ขอเชิญส่งผลงานวิจัยเข้าร่วม

ใน

การประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ ๔๙

The 49th Kasetsart University Annual Conference

วันที่ ๑ - ๕ กุมภาพันธ์ ๒๕๕๘



ลงทะเบียนย่อแล้วเรื่องเติมพ่านระบบลงทะเบียนออนไลน์ได้ที่ <http://annual.psd.ku.ac.th>
หมดเขต註冊ย่อแล้วเรื่องเติม กায์ในวันคุกร์ที่ ๒๗ ตุลาคม ๒๕๕๘



คบฯ ๕๕

บันทึกข้อความ

27 ส.ค. 2553

สำนักงาน สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี โทร. 02-5494179-80

ที่ ศธ 0578.07/พ.เดย

วันที่ 27 ธันวาคม 2553

เรื่อง ขออนุมัตินำเสนอผลงานทางวิชาการ เรื่อง การใช้เชื้อรานปฎิปักษ์เพื่อปรับปรุงคุณภาพกล้าไม้

เรียน คณบดีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (ผ่านรองคณบดีฝ่ายวิชาการและวิจัย)

หนังสือรับทราบเบิกจ่าย
เลขที่รับ 824

วันที่ 27 ส.ค. 2553

ด้วยข้าพเจ้า ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุกานันต์ รัตนเลิศนุสรณ์ อ้างอิงถ้าข่าววิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มีความประสงค์จะเดินทางไปนำเสนอผลงานวิจัยในรูปแบบไปสัมมนา ในการประชุมวิชาการ ครั้งที่ 49 ระหว่างวันที่ 1-4 ธันวาคม 2554 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเป็นการเผยแพร่ความรู้ ความลึกซึ้งทางวิชาการและเทคโนโลยี ให้กับวิชาชีววิทยา และนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์ในการพัฒนาทางเศรษฐกิจและสังคมของประเทศไทย รายละเอียดดังเอกสารที่แนบมาพร้อมหนังสือฉบับนี้ ดังนี้ ข้าพเจ้าจึงได้ขออนุมัติเข้าร่วมประชุมวิชาการ ครั้งที่ 49 ระหว่างวันที่ 1-4 ธันวาคม 2554 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน โดยขอเบิกค่าใช้จ่ายจากงบประมาณโครงการวิจัย ปี 2553 ของผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุกานันต์ รัตนเลิศนุสรณ์ สำหรับเข้าร่วมประชุมวิชาการดังนี้

- | | |
|-----------------------|-----------|
| 1. ก่าจัดท่องไปสัมมนา | 1,200 บาท |
| 2. ก่าที่พัก | 500 บาท |
| รวม | 1,700 บาท |

(หนึ่งพันเจ็ดร้อยบาทถ้วน)

จึงเรียนมาเพื่อโปรดพิจารณาอนุมัติ จักขอนบุญยิ่ง

สุกานันต์ รัตนเลิศนุสรณ์

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุกานันต์ รัตนเลิศนุสรณ์)

อาจารย์ประจำสาขาวิชาชีววิทยา

ด้วย

ลงวันที่ ๒๗ ๘.๘.๕๓

๑๗๔๐๙๐๔๖๖ ๖๔๐๗๔๐๙๐๙๖๖ ๑๗๔๐๙๐๙๖๖

วันที่ ๒๗ ๘.๘.๕๓

๒๗๐๘๕๓

๒๕๕๓ ต้นหน้า

๒๗๐๘๕๓

๑๗๔๐๙๐๙๖๖

๑๗๔๐๙๐๙๖๖

การใช้เชื้อราปฎิปักษ์เพื่อปรับปรุงคุณภาพกล้าไม้
Using Antagonistic Fungi for Improve Seeding Plant Quality

สุกานันท์ รัตนเลิศนสรม¹

Sukhan Rattanaloeadhusorn^{1*}

บทคัดย่อ

การศึกษาเชื้อราปฎิปักษ์ จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ *Trichoderma viride*, *Trichoderm hazianum*, และ *Trichoderm hamatum* บนผักโภคภัยไปเล็กและแสมขาว พบร้า เชื้อราปฎิปักษ์ *T. viride* สามารถสร้างเอนไซม์ Peroxidase, Laccase และ Xylanase และสามารถย่อยสลาย lignocellulose ให้น้ำตาลมีค่าเท่ากับ 4.54 g/l รองลงมาได้แก่ *T. harzianum* และ *T. hamatum* ให้น้ำตาลมีค่าเท่ากับ 3.93 และ 3.79 g/l ตามลำดับ เมื่อทดลองนำเชื้อราปฎิปักษ์ *Trichoderma* แต่ละชนิด ผสมกับดินเลน สำหรับเพาะกล้าไม้โภคภัย (*Rhizophora apiculata*) แล้วน้ำก้าไม้ขาว 6 เดือนไปปีกุ้ง บริเวณนาทุ่งร้าง จังหวัดสมุทรสาคร พบร้า กล้าไม้โภคภัยไปเล็กที่ใส่เชื้อราปฎิปักษ์ *T. viride* 2.4×10^7 cfu/gm มีการเจริญเติบโตดีที่สุด โดยมีขนาดลำต้น ความสูงลำต้น และจำนวนใบติกว่าตุ่ดควบคุม 2 - 3 เท่า รองลงมา ได้แก่ *T. harzianum* และ *T. hamatum* ตามลำดับ

คำสำคัญ : *Trichoderma viride*, *Trichoderm hazianum*, *Trichoderm hamatum*, *Rhizophora apiculata*

ABSTRACT

The study of antagonistic fungi 3 species; *Trichoderma viride*, *Trichoderm hazianum*, and *Trichoderm hamatum*, on *Rhizophora apiculata* ligumes and *Avicennea alba* seeds, indicated that the *T. viride* could produce the best Peroxidase, Laccase and Xylanase. They were able to digest lignocelluloses, and then produced most glucose in the amount of 4.54 g/l, followed by *T. hazianum* and *T. hamatum* which could provide glucose in amount 3.93 and 3.79 g/l respectively. The seeding of *Rhizophora apiculata* were nursed with antagonistic fungi mixing with muddy soil were planted at abandoned shrimp farms in mangrove forest, Samut Sakhon Province. The results indicated that the seedlings of *Rhizophora apiculata*, 6 month age which was infected with *T. viride* in amount of 2.4×10^7 cfu/gm had the best growth rate with diameter, height and number of caves more than the control set of 2 - 3 times, followed by *T. harzianum*, *T. hamatum* respectively.

Key words : *Trichoderma viride*, *Trichoderm hazianum*, *Trichoderm hamatum*, *Rhizophora apiculata*
E-mail: sukhanrat@hotmail.com

¹ สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ปทุมธานี ๑๒๑๑๐

¹ Program in Biology, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Pathuthani 12110

คำนำ

ความหลากหลายทางชีวภาพเชื้อราบริเวณป่าชายเลน บนวัสดุ (Substrates) เช่น ดินเลน ใบไม้ ฝักและเมล็ด พぶ เชื้อราก Subdivision Deuteromycotina ได้แก่ *Aspergillus* sp. *Penicillium* sp. *Trichoderma harzianum* *T. hamatum* และ *T. viride* (Kongamol, 2001; Fell and Master, 1980; โภغا, 2544,) เชื้อรากง ชนิดซึ่งอยู่อย่างเดียวกันที่มีลักษณะคล้ายคลึงกัน เช่น *Aspergillus* sp. *Penicillium* sp. เป็นส่วนประกอบหลักในเซลลูโลส (lignocelluloses) เป็นส่วนประกอบหลักในเซลลูโลส (Cellulose) เยมิเซลลูโลส (Hemicelluloses) และลิกนิน (Lignin) ให้ถูกเป็นน้ำตาลกลูโคส และธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ ธาตุในโครงสร้าง พอสฟอรัส โปรटีน เซเรียม แคลเซียม กัลบคุณค่าระบบในเชิงป่าชายเลนได้ (วิจารณ์, 2550; สนิท, 2541; Ito and Nakagiri, 1997) เชื้อรากงชนิดจัดเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ (Antagonistic fungi) เช่น *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp. ซึ่งช่วยในการลดธาตุอาหารของพืชได้ดี ส่งผลให้กล้าไม่มีการเจริญเติบโตได้กว่าปกติ (Frank 2005) นอกจากนี้กล้าไม้ที่ได้เชื้อราปฏิปักษ์มีความทนทานต่อเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรค เช่น *Fusarium* sp. *Aspergillus* sp. *Penicillium* sp. บนต้นไม้ กองการและแสม์ได้ (ฤกษ์ 2550 จิระเดช 2534) ดังนั้นจึงได้ศึกษาวิจัยการใช้เชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp ผสมกับดินเลนสำหรับใช้ในการเพาะกล้าไม้ป่าชายเลน ก่อนที่จะนำไปปลูกในป่าชายเลนที่เสื่อมโทรม เช่น นาทุ่งร้าง ให้คืนสู่สมดุลตามธรรมชาติรวดเร็วขึ้น ดันไม่มีความทนทานต่อโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ ลดการใช้สารเคมีฆ่าเชื้อราในระบบในเชิงป่าชายเลน ส่งผลให้ทรัพยากรธรรมชาติที่ได้จากป่าชายเลน เช่น สัตว์น้ำ พืช และอื่นๆ ปราศจากสารเคมีตกค้างในห่วงโซ่อุปทาน และระบบในเชิงป่าชายเลนที่มีการจัดการอย่างยั่งยืน

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ความหลากหลายทางชีวภาพเชื้อราก

สูตรเก็บฝักใบ กองการใบเล็ก และแสม์ขาว บริเวณนาทุ่งร้าง จังหวัดสมุทรสาคร ระหว่าง พ.ศ. 2550 - 2552 ได้ทำการแยกเชื้อรากบนสูตรเก็บใบ กองการใบเล็ก และแสม์ขาว ด้วยวิธีการทางอ้อม 2 วิธีคือ Dilution plate method และ Soil plate method (เลขา, 2540; Warcup, 1950) หลังจากนั้นศึกษาลักษณะทางสรีระวิทยา สัณฐานวิทยาบนอาหาร Culture media และจำแนกชนิดเชื้อราก บนที่กําลังและชนิดเชื้อราก

2. สมบัติทางชีวเคมีของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma*

2.1 การสร้างเอนไซม์ของเชื้อราปฏิปักษ์

นำเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* 3 ชนิด ได้แก่ *T. viride*, *T. harzianum* และ *T. hamatum* เสียบบนอาหาร Malt Extract Agar (MEA) อายุ 5 วัน ทดสอบคุณสมบัติการสร้างเอนไซม์ 3 ชนิด คือ Peroxidase, Lassase และ Xylanase โดยสังเกตการเปลี่ยนสีบนอาหาร Azure-B Agar Clearance, ABTS Agar และ xylan Agar ตามลำดับ จำนวน 3 รีด (Kirk and Shimada, 1985) บันทึกการเปลี่ยนสีบนอาหารมาก ปานกลาง และน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

2.2. ประสิทธิภาพของเชื้อราก *Trichoderma* ในการย่อยสลาย Lignocelluloses

ได้วางแผนการทดลองแบบ RCBD (Randomized Complete Block Design) ศึกษาการย่อยสลาย lignocelluloses ได้แก่ Cellulose ด้วยเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* จำนวน 8 ชุด ดังนี้ *T. harzianum*, *T. hamatum*, *T. viride*, *T. harzianum* + *T. hamatum*, *T. harzianum* + *T. viride*, *T. hamatum* + *T. viride*,

T. hamatum + *T. viride* + *T. harzianum* และ control ที่เลี้ยงบนอาหาร Fahraeus agar บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน ขนาด 0.5 เซนติเมตร จำนวน 15 ชิ้น ใส่ในอาหารเหลว Fahraeus broth ปริมาตร 200 มิลลิลิตร เดิม 2% cellulose centrifuge ที่ 200 rpm บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส นาน 6 วัน(ชรีดา และคณะ 2548) ตรวจสอบปริมาณน้ำตาลรัฐวิธีและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ 0, 2, 4 และ 6 วัน ทำการทดลองสูตรละ 3 ชิ้น นำค่าปริมาณน้ำตาลมาเขียนกราฟเด็น เพื่อศึกษาว่าเชื้อราปฎิปักษ์ชนิดใดมีประสิทธิภาพ ในการย่อยสลาย Lignocelluloses

3. การเจริญเติบโตกล้าไม้โภคภัยใบเล็กด้วยเชื้อราปฎิปักษ์

นำเชื้อราปฎิปักษ์ 3 ชนิด ได้แก่ *T. harzinum*, *T. hamatum* และ *T. viride* ผสมกับดินเลนอัตราส่วน 1 : 3 และ 1 : 2 โดยนำหัวงูบรรจุใส่ถุงเพาะกล้าไม้ ขนาด 3 x 7 นิ้ว ถุงละ 500 กรัม อัดดินเลนให้แน่น จำนวน 50 ถุงต่อหนึ่งสูตร นับจำนวนโคโลนี (cfu/ml) บนอาหาร Rose Bengal agar (RBA) นำฝักโภคภัยใบเล็กที่คลุกเคลือด้วยเชื้อราปฎิปักษ์ นาน 1 วัน ปักฝักโภคภัยใบเล็กลงในถุงเพาะ วางถุงเพาะไว้ที่มน้ำห่าวมถึง บันทึกการเจริญเติบโตของกล้าไม้โภคภัยใบเล็ก ได้แก่ จำนวนใบ ขนาดลำต้น ความสูง และเปอร์เซ็นต์การรอดต้นกล้า ทุกเดือน นำกล้าไม้โภคภัยใบเล็ก อายุ 6 เดือน ไปปลูกบริเวณนาทุ่งร้าง จังหวัดสมุทรสาคร บันทึกการเจริญเติบโตของต้นกล้าโภคภัยใบเล็ก โดยเฉพาะ จำนวนใบ ขนาดลำต้น ความสูงและเปอร์เซ็นต์การรอดของกล้าไม้ ทุกเดือน

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ความหลากหลายทางชีวภาพเชื้อรา

ความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อราบนฝักโภคภัยใบเล็กและแสมขาว บริเวณนาทุ่งร้าง จังหวัดสมุทรสาคร ระหว่างปี 2550 - 2552 พบ.เชื้อรา Subdivision Deteromycotina ทั้งหมด 56 isolates 2 สกุล 12 ชนิด ได้แก่ *Aspergillus* 8 ชนิด และ *Trichoderma* 4 ชนิด ประกอบด้วย *A. foetidus*, *A. tubingensis*, *A. niger*, *A. ficuum*, *A. fumigatus*, *A. carbonarius*, *A. japonicas*, *A. flavus*, *T. viride*, *T. hamatum*, *T. harzianum*, *T. atroviride*

2. คุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อราปฎิปักษ์

2.1 การสร้างเอนไซม์ของเชื้อราปฎิปักษ์ *Trichoderma* โดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีบนอาหารหลัก Azure agar, ABTS agar และ Xylan agar พบ.ว่า เชื้อราปฎิปักษ์ 3 ชนิด ได้แก่ *T. hamatum*, *T. harzianum* และ *T. viride* มีคุณสมบัติเป็นเชื้อราคลุ่ม White rot fungi (WR) เมื่อจาก *T. hamatum*, *T. harzianum* และ *T. viride* เปลี่ยนสีอาหาร Azure agar จากสีน้ำเงินเป็นสีขาว และเปลี่ยนสีอาหาร ABTS agar จากสีใสเป็นสีเขียว และเปลี่ยนสีอาหาร Xylan agar จากสีใสเป็นสีน้ำตาลแดง ผลตั้งกล้าแม่สดงว่า เชื้อรา *T. hamatum*, *T. harzianum* และ *T. viride* สามารถสร้างเอนไซม์ Peroxidase, Laccase และ Xylanase สำหรับย่อยสลาย lignocellulose อันได้แก่ เอลูโซลูต (Cellulose) เยมิเซลูโลส (Hemicelluloses) และลิกนิน (Lignin) ได้ โดยเชื้อรา *T. viride* สามารถสร้างเอนไซม์ Peroxidase, Laccase และ Xylanase ได้ตั้งแต่ต้น รองลงมา ได้แก่ *T. harzianum* และ *T. hamatum* ลดหลั่นกันตามลำดับ ดัง Table 1