รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

ขวัญใจ ของขันปอนด์. 2535. ผลของ vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi ต่อการเจริญเติบโตของพืช. วิทยาปฏิบัติ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ทัศนีย์ อัตตะปันหน์, จงรักษ์ จันทร์เจริญสุข และ สุรเดช จินดากานนท์. 2532. การวิเคราะห์ดินและพืช. พิมพ์ครั้งที่ 5. ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 171 หน้า

เยื้นใจ วสุวัต, ออมทรัพย์ นพอมรบดี และ ภูษิต วิวัฒนวงศ์วนา. 2521. การศึกษาผลของเชื้อราเอนโดไมโคไรซ่าต่อการเจริญเติบโตและการดูดธาตุอาหารของข้าวโพด. รายงานผลการทดลองประจำปี กองวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ :135-139

ระพีพรรณ ชีวะธนรักษ์. 2528. ชนิดและการแพร่กระจายของเชื้อราเวสิคูลาร์ อาร์บัสคูลาร์ไมโคไรซ่า ในดินต่างๆและผลที่มีต่อการเจริญของข้าวโพด วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2528

ศิริเพ็ญ เวชชการัฆย์, อรัญญา ดันดิบัณฑพร และ วิรัช ธรรมวิบูลย์. 2535. คู่มือการฝึกอบรมหลักสูตรจุลทรรศน์อิเลคตรอนสำหรับงานวิทยาศาสตร์ชีวภาพ. ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 105 หน้า

สมิท ลวดทอง. 2527. ข้าวโพดและการจัดการ. ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 243 หน้า

ส่งเสริมการเกษตร, กรม. รายงานผลการดำเนินงานโครงการส่งเสริมและพัฒนาข้าวโพดประจำปี 2538. กรุงเทพมหานคร : กองแผนงานและโครงการพิเศษ, 2538 (อัดสำเนา)

ออมทรัพย์ นพอมรบดี. 2528. การใช้เชื้อรา วี-เอ ไมโคไรซ่าเพิ่มผลผลิตพืชตระกูลถั่ว. วารสารวิชาการเกษตร 1 : 57-62

_____., สุภาพร ธรรมสุระกุล และ สมเพชร เจริญสุข. 2533. คู่มือการจำแนกเชื้อรา วี-เอไมโคไรซ่า. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. 94 หน้า

ภาษาอังกฤษ

Abbott,L.K,and Robson,A.D. 1984. The effect of VA mycorrhizae on plant growth.In Powell,C.L., and Bagyaraj,D.J.(eds.), VA mycorrhiza, 113-130. Florida : CRC Press.

_____, Robson, A.D., and Gazy, C. 1992. Selection of inoculant vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. In Norris, J.R., Read, D.J., and Varma, A.K. (eds.), Methods in Microbiology Vol.24, 1-22. London : Academic Press.

Aldwell,F.E.B.,and Hall,I.R. 1986. Monitoring spread of Glomus mosseae through soil in infested with Acaulospora leavis using serological and morphological techniques, Trans.Br.Mycol.Soc.87: 131-134, cited by Perotto,S.,1992. Use of Monoclonal antibodies to study mycorrhiza. In Norris,J.R., Read,D.J., and Varma,A.K. (eds.), Methods in Microbiology Vol.24, 221-249. London : Academic Press.

An, Z.Q., Shan, T., and Wang, H.G. 1993. Mycorrhizal fungi in relation to growth and mineral nutrition of apple seedling. Scientia Horticulturae 54 : 275-285

Bagyaraj, D.J., and Manjunath, A. 1980. Response of crop plants to VA mycorrhizal inoculation in an unsterile indian soil.New Phytol. 85 : 35-36.

_____. 1991. Ecology of vesicular-arbuscular mycorrhizae. In Arora,D.K., Rai Bharat, Mukerji,K.G.,and Krudson, G.R.(eds.), Handbook of Applied Mycology Vol.1, 1-34. New York : Mercel Dekker Inc.

Bagyaraj,D.J. 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizae : Application in agriculture. In Norris,J.R., Read,D.J., and Varma,A.K.(eds.), Methods in Microbiology Vol.24,359-373.London :Academic Press.

Bakshi, B.K. 1974. Mycorrhiza and its role in forestry. Forest Research Institute College, Dehradun. 86 P.

Becard,G., and Fortin,J.A. 1988. Early events of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation on Ri-TDNA tranformed roots. New Phytol. 108 : 211-218

Berch S.M. 1986. Acaulospora sporocarpic (Endogone, Zygomycotina.) Mycotaxon. 23 : 409-418

Bonfante Fasolo, P. 1984. Anatomy and morphology of VA mycorrhizae. In Powell, C.L., and Bagyaraj, D.J. (eds.), VA mycorrhiza, 6-33. Florida : CRC Press.

Brown,M.F.,and King.E.J. 1982. Morphology and histology of vesicular-arbuscular mycorrhizae. A. Anatomy and cytology. In N.C.Schenck(ed.),Methods and Principles of Mycorrhizal Research, 15-22. St. Paul. MN. : Am. Phytopathol. Soc. Publication.

Brown, M.B., Luis, E.M., Sabiniano, O.S., and Castro, A.M. 1993. Host and potting medium for mass inoculation production.Philliphine J. of Biotech. V 3 (1) : 83-85

Cooper,K.M. 1984. Physiology of VA mycorrhizal association. In Powell, C.L., and Bagyaraj,D.J.(eds.), VA mycorrhiza, 155-165 Florida: CRC Press.

Cox,G.,and Tinker,P.B., 1977. Translocation and transfer to nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas. 1. The arbuscule and phosphorus transfer : a quantitative ultrastructural study. New Phytol. 77 : 371-378

Davis,R.M.,Menge,J.A.,and Zentyer,G.A. 1978. Influence of vesicular arbuscular mycorrhizae on Phytophthora root rot on three crop plants.Phytopathol. 68: 1614-1617

Feldmann F, and Idczak, E. 1992. Inoculum production of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for use in tropical nurseries, In. Norris,J.R., Read,D.J., and Varma,A.K.(eds.), Methods of Microbiology. V.24, 339-357. London : Academic Press.

Ferguson, J.J., and Woodland, S.H. 1982. Increase and maintenance of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi : Production of endomycorrhizal inoculum. In N.C. Schenck (ed.), Methods and Principles of Mycorrhizal Research, 47-54. St. Paul. MN. : Am. Phytopathol. Soc. Publication.

Gerdemann, J.W., and Nicolson, T.H. 1963. Spores and mycorrhizal Endogone extracted from soil by wet sieving and decanting. Trans. Br. Mycol. Soc. 46 : 235-244

_____, J.W. and Trappe, J.M. 1974. The Endogonaceae in the Pacific Northwest. Mycologia Mem. No.5 76 P.

Giovannetti, M., Tosi, C., Torre, C., and Zazzerini, A. 1991. Histological, physiological and biochemical interaction between vesicular-arbuscular mycorrhizae and Thielaviopsis basicola in tobacco plants. J. of Phytopathol. V 13 (4) : 265-274

Green,N.E.,Graham,H.O., and Schenck,N.C. 1976.The influence of pH on the germination of vesicular arbuscular mycorrhiza spores. Mycologia 68 : 929-933

Hacskaylo, E. 1971. Mycorrhizae, Proceeding 1 st North America Conf. on mycorrhizal April 1969., อ้างถึงใน ออมทรัพย์ นพอมรบดี, 2533. การจำแนกเชื้อราวี-เอไมโคไรซา. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย

Hall, I.R. 1984. Taxonomy of VA mycorrhizal fungi. In Powell, C.L., and Bagyaraj,D.J.(eds.), VA mycorrhiza, 57-94. Florida : CRC Press.

Harley, J.L. 1972. The biology of mycorrhiza. London : Leonard Hill. 334 P.

Hayman, D.S. 1970. Endogone spore numbers in soil and vesicular-arbuscular mycorrhiza in wheat was influenced by season and soil treatments. Trans. Br. Mycol. Soc. 54 : 55-63

Ilag,L.L., Rosales,A.M., and Mew,T.W. 1987. Use of endomycorrhizal fungus to challenge Rhizoctonia infection in selected field crops. Philippine Phytopathol. V 23 (1-2) : 33-34

Johnson, C.M., Stout, P.R., Broyer, T.C., and Carlton, A.B. 1957. Comparative chlorine requirements of different plant species. Plant and Soil 8 : 337-353

Jayachandran,K., Schwab,A.P., and Hetrick,B.A.D. 1992. Mineralization of organic phosphorus by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Soil Biol. Biochem. 24 (9) : 897-903

Jeffries, P. and Dodd. J.C. 1991. The use of mycorrhizal inoculants in forestry and agriculture,In Arora,D.K.,Rai Bharat,Mukerji,K.G., and Krudson, G.R. (eds.), Handbook of Applied Mycology Vol.1, 155-185. New York : Mercel Dekker Inc.

Kellam,M.K., and Schenck,N.C. 1980. Interaction between a vesicular arbuscular mycorrhiza fungus and root knot nematodes on soybean. Phytopatholo. 70: 293-296

Khan, A.G. 1972. The effect of vesicular arbuscular mycorrhizal associations on growth of cereals. 1 Effect on maize growth. New Phytol. 71:613-619

Kough, J.N., Malajezuk, N., and Linderman, R.G. 1983. Use of indirect immunofluorescent technique to study the vesicular-arbuscular fungus Glomus epigaeum and other Glomus species. New Phytol. 94 : 57-62, อ้างถึงใน ออมทรัพย์ นพอมรบดี, 2533. การจำแนกเชื้อรา วี-เอไมโคไรซา. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย

Kruckelman, H.W. 1975. Effect of fertilizers, soil, soiltillage and plant species on the frequency of Endogone chlamydospores and mycorrhizal infection in arable soil. In F.E. Sander. (ed.), Endomycorrhizas, 511-525. University of Leeds, England.

Lambert, D.S., Cole, H., and Baker, D.E. 1980. Adaptation of vesicular-arbuscular mycorrhizae to edaphic factor. New Phytol. 85 : 513-520

Lidia, S.W., 1982. Spore germination of vesicular-arbuscular. In N.C. Schenck (ed.), Methods and Principles of Mycorrhizal Research, 81-82. St. Paul. MN. : Am. Phytopathol. Soc. Publication.

Luis, E.M. 1987. Endomycorrhiza for increased production of selected agriculture crops : survival of endomycorrhizal inoculation under various environmental conditions. Biotech. 1987 : 19-20

McArthur, D.A.J., and Knowles, N.R. 1993. Influence of vesicular arbuscular mecorrhizal fungi on the response of potato of phosphorus deficiency. Pl. Physiol. 101: 147-160

McGraw, A.C., and Schenck, N.C. 1980. Growth stimulation of citrus, ornamental and vegetable crops by select mycorrhizal fungi. Proc. of the Florida State Hort. Soc. 13 : 201-205

Mellocen, W.D., and Cole, H. 1979. Influence of zinc on development of the endomycorrhizal fungus Glomus mosseae and it mediation of phosphorus uptake by Glycine max " Amsoy 71". Agric. Environ. 4 (4) : 245-256, cited by Nopamornbodi, O, and Vasuvat, Y.

1989. Role of VA mycorrhizae in the phosphorus nutrition of economic leguminous crops in Thailand, Bangkok: Soil Science Division. Department of Agriculture.

Menge, J.A. 1984. Inoculum production. In Powell, C.L., and Bagyaraj, D.J. (eds.), VA mycorrhiza, 187-203. Florida : CRC Press.

Mosse,B. 1981. Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Research for Tropical Agriculture. Res. Bull. No. 194 : 82 P

Nopamornbodi, O. and Vasuvat, Y. 1989. Role of VA mycorrhizae in the phosphorus nutrition of economic leguminous crops in Thailand. Bangkok : Soil Science Division. Department of Agriculture.

O'Keefe, D.M., and Sylvia, D.M. 1991. Mechanisms of the vesicular-arbuscular mycorrhizal plant-growth response. In Arora,D.K., Rai Bharat, Mukerji,K.G., and Krudson,G.R.(eds.), Handbook of Applied Mycology Vol.1:35-70. New York:Mercel Dekker Inc.

Pacovsky,R.S,Bethlenfalvay,G.J.,and Paul,E.A.1986. Comparison between P-fertilized and mycorrhizal plant. Crop Sci. 26:151-156

Pascua, C.M., and Milagrosa, S.P. 1989. Mycorrhiza as biological control agent of some pathogens on white patato. Philippine J. of Crop Sc. V 14 : 35-37

Perotto, S., Malavasi, F., and Butcher, G.W. 1992. Use of monoclonal antibodies to study mycorrhiza : Present applications and perspectives. In Norris, J.R., Read, D.J., and Varma, A.K. (eds.), Methods in Microbiology Vol.24, 221-248. London : Academic Press.

Phillip, J.M., and Hayman, D.S. 1970. Improved proceeding for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment for infection. Tran. Br. Mycol. Soc. 55 (1) : 158-161

Powell,C.L. 1975. Potassium uptake by endotropic mycorrhizas. In Sanders,F.E., Mosse,B.,and Tinker,P.B.(eds.), Endomycorrhizas., 461-468. London: Academic Press.

Rosendahl, S., and Sen, R. 1992. Isozyme analysis of mycorrhizal fungi and their mycorrhiza. In Norris,J.R., Read,D.J., and Varma,A.K. (eds.), Methods in Microbiology Vol.24, 169-194. London : Academic Press.

Ross, J.P., and Harper, J.A. 1970. Effect of Endogone mycorrhiza on soybean yields. Phytopathol. 60 : 1552-1556

_____. 1971.Effect of phosphate fertilization on yield of mycorrhizal and non mycorrhizal soybeans. Phytopathol. 61: 1400-1403

Sander, F.E., and Tinker, P.B. 1973. Phosphate flow into infected mycorrhizal roots, Pestic. Sci. 4 : 385-495

Sayre,J.D. 1955. Mineral nutrition of crops. In Sprague,G.F.(ed.) Corn and corn improvement.,293-314. New York :Academic Press.

Schenck, N.C., and Schroder, V.N. 1974. Temperature response of Endogone mycorrhiza on soybean roots. Mycologia 66 : 600-605

_____., and G.S. Smith. 1982. Additional new and unreported species of mycorrhizal fungi (Endogonaceae) from Florida. Mycologia 74 : 77-92

_____.,Spain, J.L., Steverding, E., and Howelar, R.H. 1984. Several new and unreported vesicular-arbuscular mycorrhizae fungi (Endogonaceae) from Colombia. Mycologia 76 : 685-699

Sen, R., and Hepper, C.M. 1986. Characterization of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi (Glomus spp.) by selective enzyme staining follow polyacrylamide gel electrophoresis, cited by Rosendahl,S.,

and Sen, R. 1992. Isozyme analysis of mycorrhizal fungi and their mycorrhiza. In Norris,J.R., Read,D.J., and Varma,A.K. (eds.), Methods in Microbiology Vol.24, 169-194. London : Academic Press.

Singh, M., and Tilak, K.V.B.R. 1992. Inoculation of sorghum (Sorghum bicolor) with Glomus versiforme under field conditions. Trop. Agric. V. 69(4) : 323-326

Smith and Skipper. 1979. Comparison of method to extract spores of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. Soil Sci. Soc. Amer.J. 43 : 722-725

Sreenivasa, M.N., and Bagyraj, D.J. 1989. Suitable form and level of phosphorus for mass production of the VA mycorrhizal fungi, Glomus fasciculatum, Zbl. Mikrobiol. 144 : 34-36, cited by Bagyraj,D.J. 1991. Ecology of vesicular-arbuscular mycorrhizae. In Arora,D.K., Rai Bharat, Mukerji,K.G., and Krudson,G.R.(eds.), Handbook of Applied Mycology Vol.1, 1-34. New York : Mercel Dekker Inc.

Trappe, J.M. 1977. Three new Endogonaceae : Glomus constrictus, Sclerocystis clevispora and Acaulospora scrobiculata. Mycologia 6 : 359-366

_____. 1982. Synoptic key to the ganera and species of Zygomycetes (vesicular-arbuscular) mycorrhizal fungi. Phytopathol. 72:1-24

_____. and Schenck, N.C. 1982. Taxonomy of the fungi endomycorrhiza. A vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. In N.C. Schenck (ed.), Methods and Principles of Mycorrhizal Research, 1-9. St.Paul.MN. : Am. Phytopathol. Soc. Publication.

Wang, H., Parent, S., Gosselin, A., and Desfardins, Y. 1993. Vesicular-arbuscular mycorrhizal peat-base substrates enhance symbiosis

establishment and growth of three micropropagated species. J. Am. Soc. Hort. Sci. V.118 : 896-901

Wright, S.F., Morton, J.B., and Sworobuk, J.E. 1987. Identification of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi by using monoclonal antibodies in enzymelinked immunosorbent assay. Appl. Environ. Microbiol. 53 : 2222-2225

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก 1

Wet sieving and decanting technique

Gerdemann and Nicolson, 1963

(ปรับปรุงจาก Gerdemann, 1955)

1. ผสมดิน 250 กรัม ในน้ำ 1000 มิลลิลิตร กวนเบาๆ และตั้งทิ้งไว้ 2-3 นาที ให้เศษดินทรายตกตะกอน
2. รินของเหลวผ่านตะแกรงร่อนดิน ขนาด 425, 250, 100 และ 45 ไมครอน ตามลำดับ
3. ผสมน้ำลงในดินที่เหลืออยู่ และทำซ้ำข้อ 1 และข้อ 2
4. ล้างสิ่งที่ติดอยู่บนตะแกรงร่อนชั้นต่างๆ ให้แน่ใจว่า เศษตะกอนชิ้นเล็กๆ ได้ผ่านช่องตะแกรงนั้นๆ ไปหมดแล้ว
5. นำเศษตะกอนบนตะแกรงร่อนดินแต่ละชั้น ไปตรวจหาสปอร์โดยกล้องจุลทรรศน์แบบ Stereoscopic microscope

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก 2

Sucrose centrifugation

(ดัดแปลงจาก Smith และ Skipper, 1979)

1. ผสมดิน 250 กรัม ในน้ำ 1000 มิลลิลิตร กวนเบาๆ แล้วเทของเหลวผ่านตะแกรงขนาด 425 ไมครอน เก็บน้ำที่ผ่านจากตะแกรงดังกล่าว ใส่ในภาชนะ เพิ่มน้ำ ผสมให้เข้ากันแล้วทำซ้ำ เทของเหลวที่ผ่านตะแกรงดังกล่าว ใส่ใน centrifuge tube
2. นำ centrifuge tube ไปหมุนเหวี่ยงที่ 2000 รอบต่อนาที นาน 4 นาที เทของเหลวส่วนบนทิ้ง
3. เติมสารละลายน้ำตาล ความเข้มข้น 454 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร กวนเบาๆให้เข้ากัน
4. นำไปหมุนเหวี่ยงอีกครั้ง ที่ความเร็ว 4000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที
5. เทส่วนของเหลวลงบนตะแกรงขนาด 45 ไมครอน หรือ 63 ไมครอน ล้างตะกอนที่ติดบนตะแกรงด้วยน้ำ เพื่อล้างสารละลายน้ำตาลออก
6. ล้างสิ่งที่ติดอยู่บนตะแกรงด้วยน้ำสะอาด และรวบรวมเพื่อนำไปตรวจหาสปอร์ โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบ Stereoscopic microscope

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก 3

Ringer's solution (Schenck, 1982)

NaCl	6	g/l
$CaCl_2$	0.1	g/l
KCl	0.1	g/l

ปรับ pH สุดท้าย ให้ได้ 7.0 ด้วย 0.1 N NaOH

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก 4

Clearing and staining method

(Phillips and Hayman, 1970)

1. ล้างตัวอย่างรากด้วยน้ำให้สะอาด
2. ต้มรากใน 10% โปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 15-60 นาที
3. รินโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ ออก ล้างรากด้วยน้ำสะอาด 3-4 ครั้ง
4. แช่รากใน lactophenol trypan blue นาน 1-24 ชั่วโมง
5. ก่อนนำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ อาจแช่ใน lactophenol อีกครั้งหนึ่ง เพื่อล้างสีส่วนเกินออก
6. ตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก 5

lactophenol trypan blue

กรดแลคติก	100	มิลลิลิตร
กลีเซอรอล	100	มิลลิลิตร
น้ำ	100	มิลลิลิตร
สีย้อม trypan blue	0.15	กรัม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก 6

DICOTOMOUS KEY FOR SEPARATION OF GENERA by SCHENCK (1937)

1a Spores produced as chlamydospores 2
1b Spores not produced as chlamydospores 3
2a Sporocarps only with spores radiating from a central core of hyphae ..... *SCLEROCYSTIS*
2b Spores formed singly in soil or in sporocarps; if in sporocarps, spores not radiating from a central core of hyphae ..... *GLOMUS*
3a Azygospores formed near or below a swollen hyphal tip 4
3b Azygospores formed on a swollen hyphal tip 5
4a Spore formed laterally on hypha below a swollen hyphal tip ..... *ACAULOSPORA*
4b Spore formed within the hypha below swollen hyphal tip ..... *ENTROPHOSPORA*
5a Spore with 2 or more wall groups, the inner containing a coriaceous or membraneous wall ..... *SCUTELLOSPORA*
5b Spore of only 1 wall group, auxiliary cells echinulate or finely papillate ..... *GIGASPORA*

SYNOPTIC KEY FOR SEPARATION OF GENERA

Genera included in key : 1) *Acaulospora;* 2) *Entrophospora;* 3) *Gigaspora;* 4) *Scutellospora;* 5) *Glomus;* 6) *Sclerocystis*

SPOROCARPS

Spores in sporocarps 1, 5, 6
Spores in a sporocarp arranged around a central core of compact hyphae 6
Spores in the sporocarp with a pedicel or attached to a swollen hyphal tip 1
Spores occur singly in soil 1, 2, 3, 4, 5

HYPHAE

Spore formed singly on a swollen hyphal tip (bulbous suspensor) 3, 4
Spore formed singly and laterally on tapered hyphae leading to a swollen hyphal tip (hyphal terminus, sporiferous saccule) 1
Spore formed singly within tapered hyphae leading to a swollen hyhal tip (hyphal terminus, sporiferous saccule) 2
Spore formed from a swollen hyphal tip 5, 6
Spores borne in or on hyphae 1, 2, 5, 6
Spores with no hyphal attachments 1, 2, 3, 4, 5
Spores with a small hyphal swelling attached 3, 4, 5
Spores attached laterally to hyphae 1, 3, 4, 5

SPORE WALLS

Spores with 1 wall group 1, 3, 5, 6
Spores with 2 or more wall groups 1, 2, 4, 5, 6
Outer spore wall pitted 1, 4, 5
Spore with coriaceous inner wall 4
Spore with an amorphous wall 1, 4
Spore walls hyaline to yellow 1, 2, 3, 4, 5
Spores light brown to black 1, 2, 4, 5, 6

ภาคผนวก 7

Polyvinyl lactic acid

Polyvinyl alcohol	1.66	กรัม
น้ำ	10.0	มิลลิลิตร
กรดแลคติก	10.0	มิลลิลิตร
กลีเซอรอล	1.0	มิลลิลิตร

ละลาย polyvinyl alcohol ในน้ำและกรดแลคติก

หลังจากนั้นค่อยๆเติม กลีเซอรอล โดย กวนเบาๆตลอดเวลาที่เติมกลีเซอรอล

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก 8

Spore surface disinfestation method

Linda, S.W., 1982

(Mosse, 1962 และ Mertz และคณะ, 1979)

1. นำสปอร์ ล้างใน 2% (W/V) Chloramin T ผสมกับ 0.05% Tween 20 นาน 20 นาที แล้วล้างด้วยน้ำสะอาดที่ปราศจากเชื้อ 3-4 ครั้ง
2. แช่สปอร์ที่ล้างน้ำสะอาดแล้ว (จากข้อ 1) ในสารละลายสเตรปโตมัยซิน ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัม ต่อ มิลลิลิตร นาน 20 นาที แล้วแช่ในสารละลายเจนตามัยซิน ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม ต่อ มิลลิลิตร ในเวลาต่อมาอีก 20 นาที
   หรือ แช่สปอร์ในสารละลายผสมของสเตรปโตมัยซิน ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัม ต่อ มิลลิลิตร กับเจนตามัยซิน 100 ไมโครกรัม ต่อ มิลลิลิตร นาน 20 นาที
   หรือ แช่ในสารละลายสเตรปโตมัยซิน 200 ไมโครกรัม ต่อ มิลลิลิตร เพียงอย่างเดียว นาน 20 นาที
   วิธีข้างต้น สามารถเก็บสปอร์ได้นาน 2-3 สัปดาห์ โดยปราศจากการปนเปื้อนใดๆ
3. สปอร์ที่ฆ่าเชื้อแล้ว ใช้ inoculate กับรากพืชได้ทันที หรือ อาจเก็บไว้ในสารละลายผสมยาปฏิชีวนะ ได้นาน 2-3 สัปดาห์

หรืออาจทำ spore surface disinfestation method โดย แช่สปอร์ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ ซึ่งเตรียมโดยใช้ 5% โซเดียมไฮโปคลอไรด์ (Clorox) เจือจางด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อในอัตราส่วน 1:9 แช่สปอร์นาน 2-3 นาที หลังจากนั้นล้างโซเดียมไฮโปคลอไรด์ออกให้สะอาดด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ 3-4 ครั้ง

ภาคผนวก 9

Surface sterilization of the host plant

(Root surface sterilization)

(Feldmann และ Idczak, 1992)

1. ล้างรากให้สะอาด โดยใช้น้ำไหลแรงๆชะดินออกจากราก
2. ฆ่าเชื้อที่ผิวรากที่ล้างสะอาดแล้ว ด้วย 10% (W/V) Chloramin T นาน 2 นาที แล้วล้างด้วยน้ำสะอาดที่ปราศจากเชื้อ 3-4 ครั้ง

   หรือฆ่าเชื้อที่ผิวราก โดยแช่รากใน 2% โซเดียมไฮโปคลอไรด์ นาน 2 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำสะอาดที่ปราศจากเชื้อ 3-4 ครั้ง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก 10

Seed surface sterilization

(ขวัญใจ ชองชันปอนด์, 2535)

แช่เมล็ดใน 5% clorox นาน 5 นาที ล้างด้วยน้ำสะอาดที่ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ 3 ครั้ง แล้วนำไปแช่ใน 70% เอทิลแอลกอฮอล์ นาน 1 นาที ล้างด้วยน้ำสะอาดที่ฆ่าเชื้อแล้วอีก 3 ครั้ง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก 11

Johnson's nutrient solution (JNS)

(Johnson, C.M. และคณะ, 1957)

- Formula

Macronutrients

1.0 M KNO_3	6.0 ml/l
1.0 M $Ca(NO_3)_2.4H_2O$	4.0 ml/l
1.0 M $NH_4H_2PO_4$	2.0 ml/l
1.0 M $MgSO_4.7H_2O$	1.0 ml/l

Micronutient

50 mM KCl	1.0 ml/l
25 mM H_3BO_3	1.0 ml/l
2.0 mM $MnSO_4.H_2O$	1.0 ml/l
2.0 mM $ZnSO_4.7H_2O$	1.0 ml/l
0.5 mM $CuSO_4.5H_2O$	1.0 ml/l
0.5 mM H_2MoO_4	1.0 ml/l
20 mM Fe-EDTA	1.0 ml/l

ให้ Johnson's nutrient solution (อัตราต่อกระถาง บรรจุดินปลูก 10 กก.) วันเว้นวัน ดังนี้

1. ภายใน 2 สัปดาห์ หลังจากปลูก - 1/6 strength JNS, ไม่มี P 100 ml
2. สัปดาห์ที่ 2-4 - 1/4 strength JNS, 1/6 P* 200 ml
3. สัปดาห์ที่ 4-6 - 1/4 strength JNS, 1/6 P* 400 ml
4. สัปดาห์ที่ 6-8 - 1/2 strength JNS, 1/4 P* 600 ml
5. สัปดาห์ที่ 8-12 - 1/4 strength JNS, 1/4 P* 600 ml
6. สัปดาห์ที่ 12 - ไม่ให้ปุ๋ยหรือน้ำ ปล่อยให้ดินแห้ง

เมื่อดินแห้งแล้วตัดส่วนต้นออก ดินและรากพืชเก็บไว้ใช้เป็น inoculum

P* - Recommended phosphorus addition

ภาคผนวก 12

การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในพืช

1. การย่อยสลายตัวอย่างพืช (Digestion)

โดยชั่งตัวอย่างพืช 200-400 กรัม ใส่ในหลอดทดลองขนาด 75 มล. เติม H_2SO_4-Na_2SO_4-Se mixture ลงไป 5 มล. digest บน digest apparatus ให้มีอุณหภูมิในช่วง 360-400 องศาเซลเซียส ย่อยจนได้สารละลายใส จึงตั้งทิ้งไว้ให้เย็น ปรับปริมาตรให้ได้ 50 มล. ด้วยน้ำกลั่น ตั้งทิ้งไว้ เก็บสารละลาย (aliquot) ใส่ไว้ในขวดพลาสติกมีฝาปิด

2. การวิเคราะห์ปริมาณ (Determination)

- ใช้วิธี Kjeldahl Method

Nitrogen โดยไปเปด aliquot 5 มล. ลงใน flask เติม 40% NaOH ลงไป 5 มล. ทำการกลั่น ดักเก็บแอมโมเนียที่กลั่นได้ด้วยสารละลาย boric acid 5 มล. ที่บรรจุใน flask กลั่นจนสารละลายใน flask ที่บรรจุ boric acid มีปริมาตร 30 มิลลิลิตร นำไปไตเตรทด้วย 0.01 N H_2SO_4 แล้วคำนวณ % N ในพืช

$$\% \text{ N ในพืช} = \frac{\text{ml. ของกรดที่ใช้} \times \text{N. ของกรดที่ใช้ไตเตรท} \times 0.014 \times 50 \times 100}{\text{น้ำหนักพืชตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์} \times \text{ml ของ aliquot}}$$

- ใช้วิธี Vanado-molybdate yellow colour method

Phosphorus ไปเปด aliquot 3 มล. ใส่ใน test tube เติมน้ำกลั่นอีก 3 มล. เติม 5% ammonium molybdate 1 มล. และเติม 0.25% ammonium metavanadate 1 มล. เขย่าทิ้งไว้ 20 นาที จึงนำไปวัดความเข้มของสีเหลืองด้วย Spectrophotometer

$$\% \text{ P. ในพืช} = \frac{\text{ppm of ppm from std.curve} \times 8 \times 50 \times 10^{-6} \times 100}{\text{น้ำหนักพืชตัวอย่าง} \times \text{ปริมาตรของ aliquot}}$$

Potassium - วิเคราะห์หาปริมาณ K โดยใช้ Atomic absorption spectrophotometer เทียบกับ ppm. จาก standard curve

ภาคผนวก 13

การเตรียมตัวอย่าง (specimen) เพื่อศึกษาลักษณะโครงสร้างโดยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope, SEM)

1. ทำความสะอาดตัวอย่าง ให้มีฝุ่น เศษดิน หรืออื่นๆ ติดน้อยที่สุด ตัวอย่างรากพืช ตัดตามขวางและตามยาวเป็นชิ้นเล็ก ขนาดตั้งแต่ ชิ้นละ 0.5 มิลลิเมตร ถึง 1-2 มิลลิเมตร
2. Fixation fix ตัวอย่างด้วย 2.5% Glutaraldehyde ค้างคืน ที่อุณหภูมิ 4·C
3. ล้างตัวอย่าง 0.1 M Phosphate buffer pH 7.4 3-4 ครั้ง
4. Dehydration โดยนำมาแช่ในเอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้นจากต่ำไปสูง คือ จาก 30% 40% 50% 60% 70% 85% 95% นาน 10 นาที ต่อครั้ง และ 100% 2 ครั้ง
5. Drying โดยวิธี critical point drying (CPD) โดยใช้ liquid carbondioxide เป็น transitional fluids
6. Mounting และ coating mounting คือ การติดตัวอย่างบนแท่นติดตัวอย่าง (stub) โลหะ แล้วนำไปฉาบผิว (coating) ด้วยทองภายใต้ภาวะสูญญากาศ
7. SEM observation ทางจอทีวีของเครื่อง และบันทึกหลักฐานโดยการถ่ายภาพที่ปรากฏบนจอด้วยฟิล์มเนกาทีฟ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก 14

ตารางวิเคราะห์ผลการทดลองหาปริมาณ inoculum ที่เหมาะสมต่อการติดเชื้อในรากข้าวโพดพันธุ์คาร์กิลล์ 922 ของรา Acaulospora sp.สายพันธุ์ 2

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design มี 4 ซ้ำ 5 วิธีการ

	Rep1	Rep2	Rep3	Rep4
T1(ไม่ใส่ราวี่เอไมโคไรซ่า)	2.00	0.00	0.00	0.00
T2(inoculum 25 กรัม)	42.00	34.00	48.00	59.00
T3(inoculum 50 กรัม)	71.00	76.00	68.00	60.00
T4(inoculum 100 กรัม)	75.00	78.00	81.00	83.00
T5(inoculum 200 กรัม)	75.00	72.00	80.00	88.00
Rep Totals	265.00	260.00	277.00	290.00
Rep Means	53.00	52.00	55.00	58.00

Analysis of variance for Acaulospora sp.สายพันธุ์ 2

SV	DF	SS	MS	F
Rep (R)	3	108	36	<1
Treatment(T)	4	17585	4396	96.55**
Error	12	546	46	
Total	19	18239		

CV = 12.4%

** = significant at 1% level

ภาคผนวก 14 (ต่อ)

Table of treat (T) means for Acaulospora sp.สายพันธุ์ 2

(ave. over 4 reps)

Treat	Ranks	Means
T1(ไม่ใส่ราวีเอไมโคไรซ่า)	5	0.50 c
T2(inoculum 25 กรัม)	4	45.75 b
T3(inoculum 50 กรัม)	3	68.75 a
T4(inoculum 100 กรัม)	1	79.25 a
T5(inoculum 200 กรัม)	2	78.75 a
Mean		54.60

ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย DMRT

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียน

นางชวนพิศ สีมาขจร เกิดวันที่ 20 พฤษภาคม พ.ศ.2500 ที่อำเภอบางกอกน้อย กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อ พ.ศ.2535 ปัจจุบันรับราชการที่สถาบันวิจัยหม่อนไหม กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย