

อนุกรมวิธานและชีววิทยาของไส้เดือนฝอยสกุล *Radopholus*Taxonomy and Biology of *Radopholus*นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด<sup>1/</sup> ช่อทิพย์ ศัลยพงษ์<sup>2/</sup><sup>1/</sup>กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช<sup>2/</sup>สำนักควบคุมวัสดุการเกษตร

## รายงานความก้าวหน้า

แยกได้ไส้เดือนฝอยสกุล *Radopholus* จากรากพรรณไม้ในฟาร์มผลิตเขตกรุงเทพมหานคร นำไปผ่านกระบวนการรักษาสภาพ โดยการดองน้ำออกจากตัวไส้เดือนฝอยและแทนที่ด้วยกลีเซอริน จากนั้นนำตัวเต็มวัยเพศเมีย-เพศผู้ไปทำสไลด์ถาวรเพื่อวัดขนาดลำตัวภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และถ่ายภาพ ผลการวัดขนาดตัวเต็มวัยเพศเมีย L = 650.5 (576.0-722.0) ไมครอน; W = 21.2 (21.0-22.0) ไมครอน; Stylet = 20.6 (18.0-24.0) ไมครอน; tail = 60.3 (55.0-65.0) ไมครอน; ค่าสัดส่วน a = 30.7 (26.6-32.8); b = 8.9 (7.9-10.6); c = 10.8 (10.1-12.2); % Vulva = 55.0 (52.1-58.9) % เมื่อนำขนาดสัดส่วนและภาพถ่ายเปรียบเทียบกับ Key ไส้เดือนฝอย สามารถจำแนกในเบื้องต้นเป็น ชนิด (species) *Radopholus similis* จากศึกษาการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอย *R. similis* ใน ขึ้นแครอทสภาพปลอดเชื้อ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 22 และ 32 °C พบว่า ไส้เดือนฝอยเจริญเติบโตครบวงจรชีวิตจากตัวเต็มวัยถึงตัวเต็มวัย ใช้เวลา 28 และ 20 วัน ที่อุณหภูมิตามลำดับ โดยพบไส้เดือนฝอยระยะตัวอ่อนในวันที่ 10 ที่อุณหภูมิ 22 °C และวันที่ 5 ที่อุณหภูมิ 32 °C หลังจากเพาะเลี้ยงบน ขึ้นแครอท อุณหภูมิที่สูงขึ้นมีผลต่อการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอยได้เร็วกว่าอุณหภูมิต่ำ

## คำนำ

ไส้เดือนฝอยสกุล *Radopholus* เป็นไส้เดือนฝอยกักกันที่มีความสำคัญและพบในเขตร้อนและเขตกึ่งร้อนทั่วโลก (Fogain, 2000) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแหล่งที่มีการปลูกกล้วย ประเทศที่พบ ได้แก่ ทุกประเทศในทวีปแอฟริกา บางประเทศในทวีปเอเชีย อเมริกากลางและใต้ ประเทศคิวบา ออสเตรเลีย หลายประเทศในทวีปยุโรป และในสหรัฐอเมริกา *Radopholus* ชนิดที่มีความสำคัญคือ *R. similis* มีการกระจายตัวในเขตภาคตะวันออกเฉียงใต้ของประเทศเปรูโตริโก และในรัฐฮาวาย (Sipes and Delate, 1996) มีพืชอาศัยมากกว่า 600 ชนิด (Uchida *et al.*, 2003) แต่พืชอาศัยที่สำคัญได้แก่

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-02-10-54

กล้วย และส้มที่ปลูกในเขตร้อน โดยกล้วยจัดเป็นพืชอาศัยที่สำคัญอันดับหนึ่งของไส้เดือนฝอยชนิดนี้ ซึ่งพบว่ากล้วยเกือบทุกสายพันธุ์สามารถเป็นพืชอาศัยของ *R. similis* พืชชนิดอื่นๆ ที่จัดเป็นพืชอาศัย ได้แก่ มะพร้าว ชิง ปาล์ม อะโวคาโด กาแฟ พริกไทย อ้อย ชา พืชผักและไม้ดอกไม้ประดับ หญ้า และวัชพืชหลายชนิด

ไส้เดือนฝอย *R. similis* สามารถครบวงจรชีวิตได้ภายในส่วนของ cortex พืช วงจรชีวิตของ *R. similis* ในพืชพวกส้ม พบว่า ตัวอ่อนฟักออกจากไข่ภายในระยะเวลา 3 ถึง 7 วัน และไส้เดือนฝอยครบวงจรชีวิตภายใน 18 ถึง 20 วัน ที่ 24 ถึง 26 องศาเซลเซียส (Evan *et al.*, 1993) วงจรชีวิตของ *R. similis* จะนานมากขึ้นเมื่ออุณหภูมิต่ำลง ตัวเมียของไส้เดือนฝอย *R. similis* จะวางไข่โดยเฉลี่ย 2 ฟองต่อวัน โดยทั่วไปแล้ว *R. similis* ต้องการตัวผู้เพื่อการผสมพันธุ์ แต่อย่างไรก็ตาม ในบางครั้งพบว่าตัวเมียของไส้เดือนฝอยสามารถออกไข่ได้โดยไม่มีการผสมพันธุ์จากตัวผู้ (parthenogenesis) ตัวผู้ของไส้เดือนฝอยชนิดนี้ไม่มีการเข้าทำลายและดูดกินน้ำเลี้ยงจากรากพืช (Evan *et al.*, 1993)

ไส้เดือนฝอย *R. similis* จัดเป็นศัตรูพืชแบบ migratory endoparasite และทำให้เกิดโรค spreading decline ในพืชพวกส้ม (Duncan and Cohn, 1990) โดยอาการดังกล่าวมักเกิดขึ้นหลังจากไส้เดือนฝอยเข้าทำลายรากแล้วหนึ่งปี ส้มที่ถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลายจะมีจำนวนใบและการเจริญเติบโตลดลง สีของใบมีการเปลี่ยนแปลงในลักษณะซีดลง และเกิดอาการ dieback ของกิ่งส้ม ใบของส้มอาจเหี่ยวในเวลากลางวันแต่จะกลับเป็นปกติเมื่อเวลาได้รับน้ำหรือเมื่อฝนตก ส้มให้ผลผลิตลดลงและผลที่ได้มีขนาดเล็กและมีลักษณะเหมือนขาดธาตุอาหาร ในรัฐฟลอริดาพบว่าไส้เดือนฝอย *R. similis* ทำให้ผลผลิตของส้มโอลดลง 50 ถึง 80 เปอร์เซ็นต์ ในส่วนของส้มเขียวหวานพบว่าไส้เดือนฝอยมีส่วนทำให้ผลผลิตลดลง 40 ถึง 70 เปอร์เซ็นต์ ในพืชพวกอะโวคาโดก็เช่นเดียวกันพบว่าผลผลิตลดลงเมื่อถูกไส้เดือนฝอยชนิดนี้เข้าทำลาย เมื่อทำการขุดรากที่ระดับความลึก 2.5 ฟุตจากระดับผิวดินพบว่า 30 เปอร์เซ็นต์ของรากหาอาหาร (feeder roots) ได้ถูกทำลาย และเมื่อขุดลงไปลึกมากกว่านั้นพบว่า 90 เปอร์เซ็นต์ของรากที่พบได้ถูกทำลายโดยไส้เดือนฝอย ในกล้วยพบว่า การเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย *R. similis* ทำให้เกิดอาการโคนล้มของต้นกล้วยโดยเฉพาะอย่างยิ่งต้นที่กำลังให้ผลผลิต เนื่องจากระบบรากได้ถูกทำลาย ในส่วนของรากพบว่าเกิดอาการเน่า (lesion) สีน้ำตาลหรือสีดำที่บริเวณจุดที่ไส้เดือนฝอยเข้าทำลาย เมื่อไส้เดือนฝอยเคลื่อนที่ผ่านชั้น cortex ของรากพืชทำให้เกิดโพรง และเปิดทางให้เชื้อโรคในดิน เช่น รา *Fusarium oxysporum* และ *Rhizoctonia solani* เข้าทำลายรากพืชซึ่งทำให้เกิดอาการรุนแรงมากยิ่งขึ้น (Sipes *et al.*, 2001)

ในประเทศไทย ไส้เดือนฝอย *R. similis* สร้างปัญหาให้กับพืชส่งออก โดยมีการตรวจพบปนเปื้อนไปกับพรรณไม้ส่งออกไปสหภาพยุโรป ทำให้เกิดการเผาทำลายพืช ณ ประเทศปลายทางส่งผลกระทบต่อ การส่งออกของเกษตรกรผู้ปลูกเป็นอย่างยิ่งในขณะนี้ ณ ปัจจุบัน การศึกษาด้านอนุกรมวิธานและชีววิทยา เป็นงานวิจัยพื้นฐานที่มีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งที่นักอนุกรมวิธานต้องทำการจัดจำแนกไส้เดือนฝอยซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องทางการเกษตร เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานที่เป็นองค์ความรู้สำหรับการพัฒนาด้านอื่นๆ ต่อไป

วัตถุประสงค์ของการทดลอง เพื่อจำแนกชนิดและศึกษาวงจรชีวิตของไส้เดือนฝอยสกุล *Radopholus* ที่เก็บได้จากพรรณไม้ น้ำส่งออกในฟาร์มผลิต

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. เครื่อง Ultrasonic ความถี่ 50 kHz. ใช้แยกไส้เดือนฝอยออกจากรากพืช
2. สารเคมีสำหรับใช้ในกระบวนการเตรียมไส้เดือนฝอย ได้แก่ TAF, 40 % formaldehyde, tri-ethanolamine, glycerine, 95 % ethanol และน้ำกลั่น
3. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ 40 °ซ
4. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (Stereo microscope) และกำลังขยายสูง (Compound microscope) พร้อมกล้องถ่ายภาพดิจิทัล
5. วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องแก้วสำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการไส้เดือนฝอย
6. ชิ้นแครอทสำหรับใช้เพาะเลี้ยงขยายไส้เดือนฝอย

### วิธีการ

11.1 การศึกษารูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยใช้ Light microscope (LM)

นำไส้เดือนฝอยระยะตัวอ่อน ตัวเต็มวัยเพศเมียและเพศผู้ ฆ่าด้วยน้ำอุ่น (50 °ซ) เป็นเวลา 2 นาที เติมน้ำยา fixative (TAF, 7 ml of 40 % formaldehyde, 2 ml tri-ethanolamine, 91 ml distilled water) นำไปเก็บที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นแช่ไส้เดือนฝอยลงใน solution I (20 parts 95 % ethanol, 1 part glycerine, 79 parts distilled water) นำไปวางใน desiccator ที่มี 95 % ethanol บรรจุอยู่ วางไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 35 °ซ เป็นเวลา 12 ชม. เพื่อดึงน้ำออกจากตัวไส้เดือนฝอยซ้ๆ และมีการแทนที่ด้วยกลีเซอริน จากนั้นเติม solution II (5 parts of glycerine, 95 parts of 95 % ethanol) ลงไป นำไปไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 40 °ซ เป็นเวลา 3 ชม. กลีเซอรินจะเข้าแทนที่น้ำในตัวไส้เดือนฝอย สามารถเห็นอวัยวะสำคัญภายในตัวไส้เดือนฝอยได้ชัดเจน แช่ไส้เดือนฝอยลงในหยดกลีเซอรินบนสไลด์แก้ว หนูนด้วยใยแก้วก่อนปิดทับด้วย cover slip และซิล ด้วยน้ำยาซิลสไลด์ ถ่ายภาพรูปร่างลักษณะและวัดขนาดสัดส่วนภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง โดยวัดส่วนต่างๆ ดังนี้

ตัวเต็มวัยเพศผู้ : ความยาวลำตัว (L); ความกว้างลำตัว(W); หลอดดูดอาหาร; ความยาววัดจากหัวถึง excretory pore (EP); ความยาววัดจากหัวถึง esophagus (ES); ความยาวหาง (Tail); ความกว้างบริเวณ anus; ความยาว spicule และความยาว gubernaculum

ตัวเต็มวัยเพศเมีย : ความยาวลำตัว (L); ความกว้างลำตัว(W); หลอดดูดอาหาร; ความยาววัดจากหัวถึง excretory pore (EP); ความยาววัดจากหัวถึง esophagus (ES); ความยาวหาง (Tail); ความกว้างบริเวณ anus และ % vulva

นำมาคำนวณค่าสัดส่วน (ratio) โดยใช้ De Man's formula (Poinar, 1986) ดังนี้

Ratio : a = L/W; b = L/ES; c = L/Tail; d = EP/ES; e = EP/Tail

และคำนวณค่าพารามิเตอร์ตามวิธีการของ Nguyen (1993) ดังนี้

$D\% = EP/ES \times 100$ ;  $E\% = EP/Tail \times 100$

การบันทึกข้อมูล ถ่ายภาพรูปร่างลักษณะที่สำคัญของไส้เดือนฝอยระยะตัวอ่อน ตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่างๆ ค่าการวัดขนาดสัดส่วนและรูปร่างลักษณะสำคัญของไส้เดือนฝอย นำไปเปรียบเทียบกับ key

11.2 ศึกษาการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอย *Radopholus* ในชิ้นส่วนพืชที่อุณหภูมิ 2 ระดับ

1. เตรียมหัวเชื้อไส้เดือนฝอย *R. similis* ทำการล้างฆ่าเชื้อที่ผิวโดยแช่ในสาร 0.1% hyamine เป็นเวลา 15 นาที และแช่ล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อซ้ำ 2 ครั้ง

2. เตรียมวุ้น 1.5 % (วุ้นผง 15 กรัม + น้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร) หนึ่งฆ่าเชื้อ นำไปเทลงในจานเพาะเลี้ยง (Petri dish) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ปริมาตรวุ้นเท่ากับ 1 ใน 4 ของความสูงจานเพาะ ในสภาพปลอดเชื้อ

3. เตรียมชิ้นส่วนพืช (แครอท) โดยนำหัวแครอทปอกเปลือกให้สะอาด และหั่นตามขวางของหัวให้เป็นชิ้นวงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร ทำการล้างด้วยแอลกอฮอล์ 70 % โดยวิธีการจุ่ม และจุ่มล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อซ้ำ 2 ครั้ง วางผึ่งชิ้นแครอทให้แห้งในตู้ปลอดเชื้อ ประมาณ 30 นาที จากนั้นใช้ปากคีบฆ่าเชื้อ คีบชิ้นแครอทวางลงบนอาหารวุ้นบริเวณกลางจาน ได้เป็นจานอาหารเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอย

4. การเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอยในชิ้นแครอท นำไส้เดือนฝอย (จากข้อ 1) จำนวน  $100 \pm 10$  ตัว/น้ำกลั่น 50 ไมโครลิตร หยดลงบนชิ้นแครอทในจานอาหารเพาะเลี้ยงที่เตรียมไว้ (จากข้อ 3) โดยปฏิบัติในตู้ปลอดเชื้อ จากนั้นหุ้มจานเพาะเลี้ยงด้วยกระดาษอลูมิเนียมฟรอยด์ เก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิ 22 และ 32 °C

การบันทึกข้อมูล ตรวจการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอยโดยบันทึกการเปลี่ยนแปลงเป็นระยะต่างๆ แต่ละอุณหภูมิ ทุก 5 วัน

### เวลาและสถานที่

ระยะเวลา 3 ปี เริ่มตั้งแต่เดือนตุลาคม 2553 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2556

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การจำแนกชนิดไส้เดือนฝอย *Radopholus* ที่แยกได้จากพรรณไม้น้ำสกุล *Anubias* จากฟาร์มผลิตพรรณไม้น้ำส่งออกเขตกรุงเทพมหานคร โดยพิจารณาจากรูปร่างลักษณะและขนาดสัดส่วนของไส้เดือนฝอยระยะตัวเต็มวัยเพศผู้-เพศเมีย ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Light microscope (LM)

### รูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ในทุกระยะการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอย *R. similis* มีรูปร่างลักษณะคล้ายตัวหนอน (vermiform) ไม่มีสี และมีความยาวลำตัวยาวกว่า 1 มม. แบ่งแยกเป็นเพศผู้และเพศเมีย (sexual dimorphism) อาศัยอยู่ในดินและรากพืช

#### ขนาดและรูปร่างลักษณะของตัวเต็มวัยเพศผู้

มีขนาดความยาวลำตัว 500-600 ไมครอน (0.50-0.60 ไมครอน) รูปร่างพอมบางกว่าเพศเมีย ส่วนหัวโค้งมนกลมและยกขึ้น ประกอบด้วยรอยย่น 4 รอย หลอดดูดอาหาร (stylet) พอม เรียวเล็ก ความยาว 12-13 ไมครอน มี basal knob ขนาดเล็กมาก ไม่พบ median bulb และส่วนของ esophagus ลดขนาดลง มีส่วนหางเรียวและกลม บริเวณปลายหางมีอวัยวะสืบพันธุ์ (spicule) ยาว 17-19 ไมครอน มีเส้นข้างลำตัว (lateral line) 4 เส้น (ภาพที่ 1 A และ B)

#### ขนาดและรูปร่างลักษณะของตัวเต็มวัยเพศเมีย

มีขนาดความยาวลำตัว 650.5 (576.0-722.0) ไมครอน รูปร่างใหญ่กว่าเพศผู้ โดยมีความกว้างลำตัว 21.2 (21.0-22.0) ไมครอน ส่วนหัวโค้งมนแต่ไม่ยกขึ้น ประกอบด้วยรอยย่น 4 รอย หลอดดูดอาหารแข็งแรงมีความยาว 20.6 (18.0-24.0) ไมครอน มี basal knob กลม ส่วนของ esophagus ซ้อนทับลำไส้ทางด้านหลัง (dorsal) โดยมีค่าสัดส่วน  $a = 30.7$  (26.6-32.8);  $b = 8.9$  (7.9-10.6);  $c = 10.8$  (10.1-12.2) พบอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย (vulva) ในตำแหน่ง 55.0 (52.1-58.9) % ของความยาวลำตัว มีรังไข่ (ovary) 2 ข้าง ส่วนของ spermatheca มีลักษณะรี ส่วนหางเรียวยาวและบริเวณปลายหางมน มีเส้นข้างลำตัว 4 เส้น (ภาพที่ 1 C และ D)

เมื่อนำค่าการวัดขนาดสัดส่วนของไส้เดือนฝอยเปรียบเทียบกับ key มาตรฐาน และพิจารณาจากรูปร่างลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (Compound microscope) สามารถจัดจำแนก ตามลำดับของอนุกรมวิธาน

Order Tylenchida

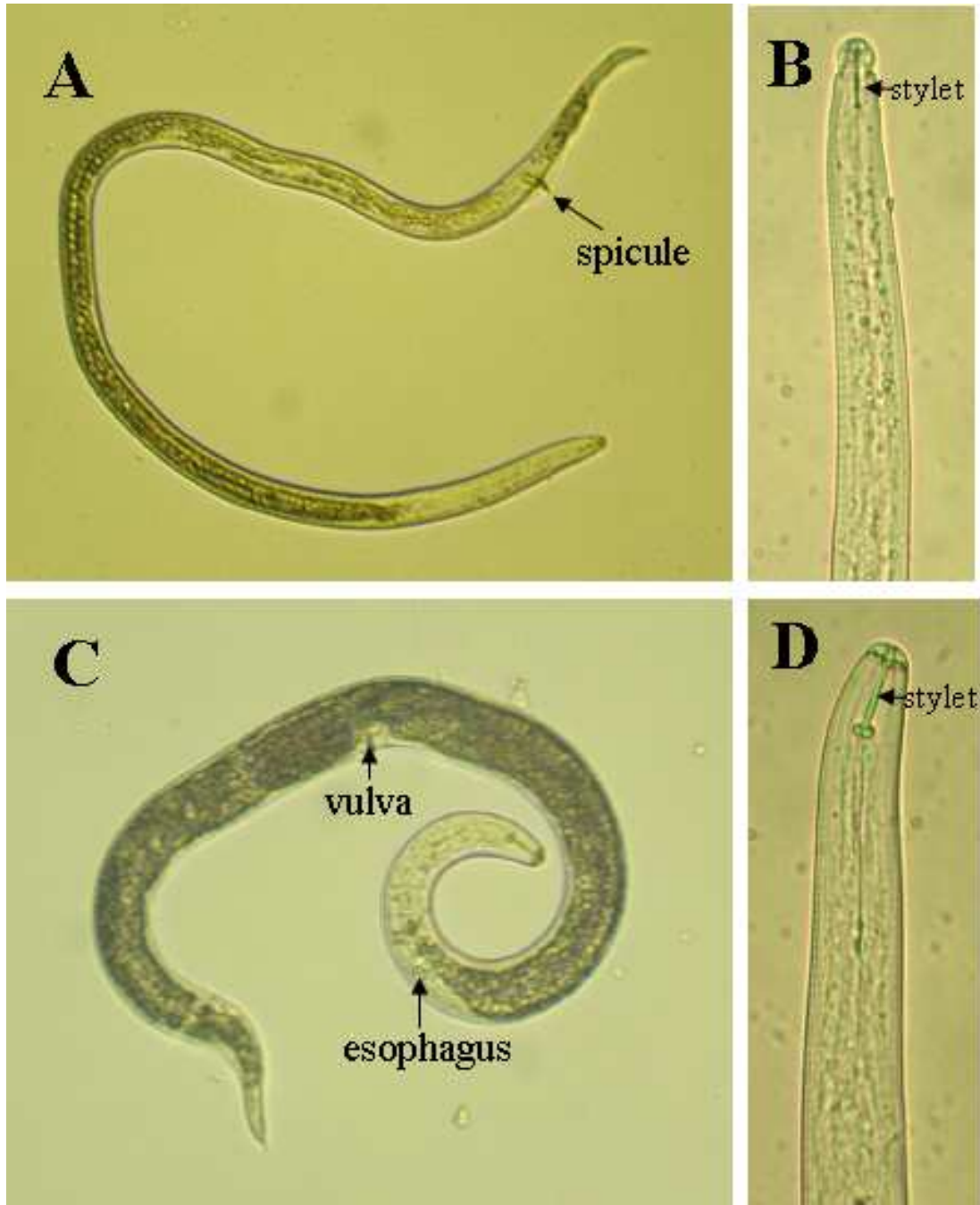
Sub order Tylenchina

Family Pratylenchidae

Sub family Pratylenchinae

Genus *Radopholus*

Species *similis*



ภาพที่ 1 ไส้เดือนฝอย *Radopholus similis* (Cobb, 1893) Thorne, 1949

- A) ลำตัวของตัวเต็มวัยเพศผู้
- B) ส่วนหัวของตัวเต็มวัยเพศผู้
- C) ลำตัวของตัวเต็มวัยเพศเมีย
- D) ส่วนหัวของตัวเต็มวัยเพศเมีย



## การเจริญเติบโตและวงจรชีวิต

ไส้เดือนฝอย *R. similis* เข้าทำลายรากพืชในลักษณะที่เรียกว่า migratory endoparasite สามารถเคลื่อนที่เข้าออกรากพืชได้ตลอดเวลา จึงพบตัวอ่อนและตัวเต็มวัยอยู่บริเวณออกรากพืช หรือในวัสดุปลูก ไส้เดือนฝอยจะเข้าไปอยู่อาศัยภายในราก โดยดูดกินน้ำเลี้ยงและแร่ธาตุอาหาร ของพืชที่จะลำเลียงไปเลี้ยงส่วนลำต้นเหนือดิน จากนั้นเจริญเติบโตและขยายพันธุ์จนครบวงจรชีวิต ภายในราก โดยตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่ และไข่มีการพัฒนาแบ่งเซลล์เป็นตัวอ่อนระยะที่ 1 ภายในไข่ และไข่ฟักเป็นตัวอ่อนระยะที่ 2 ไส้เดือนฝอยมีการเจริญเติบโตโดยวิธีการลอกคราบจากตัวอ่อนระยะที่ 2 เป็นระยะที่ 3 4 และเป็นตัวเต็มวัยเพศผู้หรือเพศเมีย ตามลำดับ จากการศึกษาการเจริญเติบโตของ *R. similis* ที่แยกได้จากพรรณไม้จากฟาร์มผลิตในเขตกรุงเทพมหานคร โดยเฉพาะเลี้ยงในชั้นแครอตสภาพปลอดเชื้อ ที่อุณหภูมิ 22 และ 32 °C พบว่า ไส้เดือนฝอยเจริญเติบโตครบวงจรชีวิตจากตัวเต็มวัยถึงตัวเต็มวัย ใช้เวลา 28 และ 20 วัน ที่อุณหภูมิตามลำดับ โดยพบไส้เดือนฝอยระยะตัวอ่อนในวันที่ 10 ที่อุณหภูมิ 22 °C และวันที่ 5 ที่อุณหภูมิ 32 °C หลังจากเพาะเลี้ยงบนชั้นแครอต อุณหภูมิที่สูงขึ้นมีผลต่อการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอยได้เร็วกว่าอุณหภูมิต่ำ

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ไส้เดือนฝอยสกุล *Radopholus* แยกได้จากพรรณไม้สกุล *Anubias* ในฟาร์มผลิตพรรณไม้ น้ำส่งออก เขตกรุงเทพมหานคร จากการศึกษารูปร่างลักษณะและวัดขนาดสัดส่วนของตัวเต็มวัยเพศผู้-เพศเมีย สามารถจัดจำแนกชนิด (species) เป็น *Radopholus similis* (Cobb, 1893) Thorne, 1949 และสามารถเจริญเติบโตได้ดีเมื่อเพาะเลี้ยงในชั้นแครอตสภาพปลอดเชื้อ โดยที่อุณหภูมิ 22 และ 32 °C พบว่า ไส้เดือนฝอยเจริญเติบโตครบวงจรชีวิตจากตัวเต็มวัยถึงตัวเต็มวัย ใช้เวลา 28 และ 20 วัน ตามลำดับ

## เอกสารอ้างอิง

- Duncan, L. W., and E. Cohn. 1990. Nematode parasites of citrus. Pp. 321-346 in M. Luc, R.A. Sikora, and J. Bridge, eds. Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture. CAB International, Wallingford, U.K.
- Evans, K., D.L. Trudgill, and J.M. Webster. 1993. Chapter 1. Extraction, Identification and Control of Plant Parasitic Nematodes. in Plant Parasitic Nematodes in Temperate Agriculture. CAB International, UK. 648 pages.
- Fogain, R. 2000. Effect of *Radopholus similis* on plant growth and yield of plantains (Musa, AAB). Nematology 32: 129-133.

- Sipes, B.S., D.P. Schmitt, and S.C. Nelson. 2001. Burrowing nematode, a major pest in the tropics. University of Hawaii, CTAHR Plant Disease Publication PD-21.
- Sipes, B.S., and K. M. Delate. 1996. Potential of biologically-derived nematicides for control of anthurium decline. *Nematropica* 26 : 171-175.
- Uchida, J.Y., B.S. Sipes, and C.Y. Kadooka. 2003. Burrowing nematode on anthurium: Recognizing symptoms, understanding the pathogen, and preventing disease. University of Hawaii, CTAHR Plant Disease Publication PD-24.
-