อนุกรมวิธานและชีววิทยาของไส้เดือนฝอยสกุล *Radopholus*

Taxonomy and Biology of *Radopholus*

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด[1/] ช่อทิพย์ ศัลยพงษ์[2/]

[1/]ผู้เชี่ยวชาญ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]กลุ่มบริการส่งออกสินค้าเกษตร สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร

บทคัดย่อ

เก็บรากไม้น้ำจากแหล่งผลิตไม้น้ำเขตนครราชสีมา จำนวน 50 ตัวอย่าง และทำการแยกได้ไส้เดือนฝอย *Radopholus* sp. จากรากไม้น้ำ โดยวิธีใช้คลื่นเสียงอัลทราโซนิกและปั่นราก นำไส้เดือนฝอยปลูกเลี้ยงในต้นพืชอาศัย (ไม้น้ำสกุล *Anubias* sp.) ในบ่อซีเมนต์ เป็นเวลา 2 เดือน ทำการแยกไส้เดือนฝอยออกจากรากพรรณไม้น้ำ และจัดทำสไลด์ถาวรตัวเต็มวัยเพศเมียเพื่อศึกษารูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยใช้ Light microscope (LM) พบว่า ตัวเต็มวัยเพศเมียมีขนาดมีขนาดความยาวลำตัว 550-880 ไมครอน (0.55-0.88 มม.) รูปร่างใหญ่กว่าเพศผู้ โดยมีความกว้างลำตัว 20-24 ไมครอน ส่วนหัวโค้งมนแต่ไม่ยกขึ้น ประกอบด้วยรอยย่น 4 รอย หลอดดูดอาหารแข็งแรงมีความยาว 16-21 ไมครอน (เฉลี่ย 18 ไมครอน) มี Basal knob กลม ส่วนของ esophagus ซ้อนทับลำไส้ทางด้านหลัง (Dorsal) พบอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย (Vulva) ในตำแหน่งกลางลำตัว โดยประมาณ 54 % ของความยาวลำตัว มีรังไข่ (Ovary) 2 ข้าง ส่วนของ Spermatheca มีลักษณะรี ส่วนหางเรียวยาวและบริเวณปลายหางมน มีเส้นข้างลำตัว 4 เส้น และตัวเต็มวัยเพศผู้มีขนาดความยาวลำตัว 500-600 ไมครอน (0.50-0.60 ไมครอน) รูปร่างผอมบางกว่าเพศเมีย ส่วนหัวโค้งมนกลมและยกขึ้น ประกอบด้วยรอยย่น 4 รอย หลอดดูดอาหาร (Stylet) ผอม เรียวเล็กความยาว 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 และจากการศึกษาวงจรชีวิตของไส้เดือนฝอย *Radopholus* ในชิ้นส่วนพืช (แครอท) สภาพปลอดเชื้อ พบว่าวงจรชีวิตจากตัวเต็มวัยเพศเมียสร้างไข่ ไข่ฟัก เป็นตัวอ่อนระยะที่ 1 ถึงระยะที่ 4 และเป็นตัวเต็มวัยเพศเมียรุ่นใหม่ ใช้เวลา 32 และ 26 วัน ที่อุณหภูมิ 22 และ 32 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

รหัสการทดลอง 03-04-54-04-01-02-10-54

คำนำ

ไส้เดือนฝอยสกุล *Radopholus* เป็นไส้เดือนฝอยกักกันที่มีความสำคัญและพบในเขตร้อนและเขตกึ่งร้อนทั่วโลก (Fogain, 2000) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแหล่งที่มีการปลูกกล้วย ประเทศที่พบได้แก่ ทุกประเทศในทวีปอัฟริกา บางประเทศในทวีปเอเชีย อเมริกากลางและใต้ ประเทศคิวบา ออสเตรเลีย หลายประเทศในทวีปยุโรป และในสหรัฐอเมริกา *Radopholus* ชนิดที่มีความสำคัญคือ *R. similis* มีการกระจายตัวในเขตภาคตะวันออกเฉียงใต้ของประเทศเปอร์โตริโก และในรัฐฮาวาย (Sipes and Delate, 1996) มีพืชอาศัยมากกว่า 600 ชนิด (Uchida *et al*., 2003) แต่พืชอาศัยที่สำคัญได้แก่ กล้วย และส้มที่ปลูกในเขตร้อน โดยกล้วยจัดเป็นพืชอาศัยที่สำคัญอันดับหนึ่งของไส้เดือนฝอยชนิดนี้ ซึ่งพบว่ากล้วยเกือบทุกสายพันธุ์สามารถเป็นพืชอาศัยของ *R. similis* พืชชนิดอื่นๆ ที่จัดเป็นพืชอาศัย ได้แก่ มะพร้าว ขิง ปาล์ม อะโวกาโด 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 ในส่วนของส้มเขียวหวานพบว่า ไส้เดือนฝอยมีส่วนทำให้ผลผลิตลดลง 40 ถึง 70 เปอร์เซ็นต์ ในพืชพวกอาโวกาโดก็เช่นเดียวกันพบว่า ผลผลิตลดลงเมื่อถูกไส้เดือนฝอยชนิดนี้เข้าทำลาย เมื่อทำการขุดรากที่ระดับความลึก 2.5 ฟุต จากระดับผิวดินพบว่า 30 เปอร์เซ็นต์ของรากหาอาหาร (feeder roots) ได้ถูกทำลาย และเมื่อขุดลงไปลึกมากกว่านั้นพบว่า 90 เปอร์เซ็นต์ของรากที่พบได้ถูกทำลายโดยไส้เดือนฝอย ในกล้วยพบว่าการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย *R. similis* ทำให้เกิดอาการโค่นล้มของต้นกล้วยโดยเฉพาะอย่างยิ่งต้นที่กำลังให้ผลผลิต เนื่องจากระบบรากได้ถูกทำลาย ในส่วนของรากพบว่าเกิดอาการเน่า (lesion) สีน้ำตาลหรือสีดำที่บริเวณจุดที่ไส้เดือนฝอยเข้าทำลาย เมื่อไส้เดือนฝอยเคลื่อนที่ผ่านชั้น cortex ของรากพืช ทำให้เกิดโพรง และเปิดทางให้เชื้อโรคในดิน เช่น รา *Fusarium oxysporum* และ *Rhizoctonia solani* เข้าทำลายรากพืชซึ่งทำให้เกิดอาการรุนแรงมากยิ่งขึ้น (Sipes *et al*., 2001)

ในประเทศไทย ไส้เดือนฝอย *R. similis* สร้างปัญหาให้กับพืชส่งออก โดยมีการตรวจพบปนเปื้อนไปกับพรรณไม้น้ำส่งออกไปสหภาพยุโรป ทำให้เกิดการเผาทำลายพืช ณ ประเทศปลายทาง ส่งผลกระทบต่อการส่งออกของเกษตรกรผู้ปลูกเป็นอย่างยิ่งในขณะนี้ ณ ปัจจุบัน การศึกษาด้านอนุกรมวิธานและชีววิทยา เป็นงานวิจัยพื้นฐานที่มีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งที่นักอนุกรมวิธานต้องทำ

การจัดจำแนกไส้เดือนฝอยซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องทางการเกษตร เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานที่เป็นองค์ความรู้สำหรับการพัฒนาด้านอื่นๆ ต่อไป

วัตถุประสงค์ของการทดลอง เพื่อจำแนกชนิดและศึกษาวงจรชีวิตของไส้เดือนฝอยสกุล *Radopholus* ที่เก็บได้จากพรรณไม้น้ำส่งออกในฟาร์มผลิต

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) พร้อมกล้องถ่ายภาพดิจิตอล
5. วัสดุ-อุปกรณ์ 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 จากนั้นเขี่ยไส้เดือนฝอยลงใน solution I (20 parts 95 % ethanol, 1 part glycerine, 79 parts distilled water) นำไปวางใน desiccator ที่มี 95 % ethanol บรรจุอยู่ วางไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 35 oซ เป็นเวลา 12 ชม. เพื่อดึงน้ำออกจากตัวไส้เดือนฝอยช้าๆ และมีการแทนที่ด้วยกลีเซอรีน จากนั้นเติม solution II (5 parts of glycerine, 95 parts of 95 % ethanol) ลงไป นำไปไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 40 °ซ เป็นเวลา 3 ชม. กลีเซอรีนจะเข้าแทนที่น้ำในตัวไส้เดือนฝอย สามารถเห็นอวัยวะสำคัญภายในตัวไส้เดือนฝอยได้ชัดเจน เขี่ยไส้เดือนฝอยลงในหยดกลีเซอรีนบนสไลด์แก้ว หนุนด้วยใยแก้วก่อนปิดทับด้วย 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 x 100; E% = EP/Tail x 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 และแช่ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อซ้ำ 2 ครั้ง

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

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

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

การบันทึกข้อมูล ตรวจการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอยโดยบันทึกการเปลี่ยนแปลงเป็นระยะต่างๆ แต่ละอุณหภูมิ ทุก 5 วัน

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา 3 ปี เริ่มตั้งแต่เดือนตุลาคม 2553 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2556

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การจำแนกชนิดไส้เดือนฝอย *Radopholus* ที่แยกได้จากพรรณไม้น้ำสกุล *Anubias* จากฟาร์มผลิตพรรณไม้น้ำส่งออกเขตจังหวัดนครราชสีมา โดยพิจารณาจากรูปร่างลักษณะและขนาดสัดส่วนของไส้เดือนฝอยระยะตัวเต็มวัยเพศผู้-เพศเมีย ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Light microscope

รูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยา

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

ขนาดและรูปร่างลักษณะของตัวเต็มวัยเพศผู้

มีขนาดความยาวลำตัว 500-600 ไมครอน (0.50-0.60 มิลลิเมตร) รูปร่างผอมบางกว่าเพศเมีย ส่วนหัวโค้งมนกลมและยกขึ้น ประกอบด้วยรอยย่น 4 รอย หลอดดูดอาหาร (stylet) ผอมเรียวเล็กความยาว 12-13 ไมครอน มี basal knob ขนาดเล็กมาก ไม่พบ median bulb และส่วน

ของ esophagus ลดขนาดลง มีส่วนหางเรียวและกลม บริเวณปลายหางมีอวัยวะสืบพันธุ์ (spicule) ยาว 17-19 ไมครอน มีเส้นข้างลำตัว (lateral line) 4 เส้น

ขนาดและรูปร่างลักษณะของตัวเต็มวัยเพศเมีย

มีขนาดความยาวลำตัว 550-880 ไมครอน (0.55-0.88 มิลลิเมตร) รูปร่างใหญ่กว่าเพศผู้ โดยมีความกว้างลำตัว 20-24 ไมครอน ส่วนหัวโค้งมนแต่ไม่ยกขึ้น ประกอบด้วยรอยย่น 4 รอย หลอดดูดอาหารแข็งแรงมีความยาว 16-21 ไมครอน (เฉลี่ย 18 ไมครอน) มี Basal knob กลม ส่วนของ esophagus ซ้อนทับลำไส้ทางด้านหลัง (Dorsal) พบอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย (Vulva) ในตำแหน่งกลางลำตัว โดยประมาณ 54 % ของความยาวลำตัว มีรังไข่ (Ovary) 2 ข้าง ส่วนของ Spermatheca มีลักษณะรี ส่วนหางเรียวยาวและบริเวณปลายหางมน มีเส้นข้างลำตัว 4 เส้น

เมื่อนำค่าการวัดขนาดสัดส่วนของไส้เดือนฝอยเปรียบเทียบกับ key มาตรฐาน และพิจารณาจากรูปร่างลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (Compound microscope) สามารถจัดจำแนก ตามลำดับของอนุกรมวิธาน

Order Tylenchida
Sub order Tylenchina
Family Pratylenchidae
Sub family Pratylenchinae
Genus *Radopholus*
Species *similis*

การเจริญเติบโตและวงจรชีวิต

ไส้เดือนฝอย *R. similis* เข้าทำลายรากพืชในลักษณะที่เรียกว่า migratory endoparasite สามารถเคลื่อนที่เข้าออกรากพืชได้ตลอดเวลา จึงพบตัวอ่อนและตัวเต็มวัยอยู่บริเวณนอกรากพืช หรือในวัสดุปลูก ไส้เดือนฝอยจะเข้าไปอยู่อาศัยภายในราก โดยดูดกินน้ำเลี้ยงและแร่ธาตุอาหาร ของพืชที่จะลำเลียงไปเลี้ยงส่วนลำต้นเหนือดิน จากนั้นเจริญเติบโตและขยายพันธุ์จนครบวงจรชีวิต ภายในรากโดยตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่ และไข่มีการพัฒนาแบ่งเซลล์เป็นตัวอ่อนระยะที่ 1 ภายในไข่ และไข่ฟักเป็นตัวอ่อนระยะที่ 2 ไส้เดือนฝอยมีการเจริญเติบโตโดยวิธีการลอกคราบจากตัวอ่อนระยะที่ 2 เป็นระยะที่ 3 4 และเป็นตัวเต็มวัยเพศผู้หรือเพศเมีย ตามลำดับ จากการศึกษาวงจรชีวิตของไส้เดือนฝอย *Radopholus* ในชิ้นส่วนพืช (แครอท) สภาพปลอดเชื้อ พบว่าวงจรชีวิตจากตัวเต็มวัยเพศเมียสร้างไข่ ไข่ฟัก เป็นตัวอ่อนระยะที่ 1 ถึงระยะที่ 4 และเป็นตัวเต็มวัยเพสเมียรุ่นใหม่ ใช้เวลา 32 และ 26 วัน ที่อุณหภูมิ 22 และ 32 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ไส้เดือนฝอยสกุล *Radopholus* แยกได้จากพรรณไม้น้ำสกุล *Anubias* ในฟาร์มผลิตพรรณไม้น้ำส่งออก เขตกรุงเทพมหานคร จากการศึกษารูปร่างลักษณะและวัดขนาดสัดส่วนของตัวเต็มวัยเพศผู้-เพศเมีย สามารถจัดจำแนกชนิด (species) เป็น *Radopholus similis* (Cobb, 1893) Thorne, 1949 และสามารถเจริญเติบโตได้ดีเมื่อเพาะเลี้ยงในชิ้นแครอทสภาพปลอดเชื้อ โดยที่อุณหภูมิ 22 และ 32 °ซ พบว่า ไส้เดือนฝอยเจริญเติบโตครบวงจรชีวิตจากตัวเต็มวัยถึงตัวเต็มวัย ใช้เวลา 32 และ 26 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.