การจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยสกุล *Radopholus* ทางสัณฐานวิทยา ในไม้ประดับส่งออก

ธิติยา สารพัฒน์ ไตรเดช ข่ายทอง
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ผลการตรวจวินิจฉัยไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในไม้ประดับเพื่อการส่งออกนี้ ระหว่าง ตุลาคม 2559 ถึง กันยายน 2560 รวมทั้งสิ้นจำนวน 450 ตัวอย่าง พบไส้เดือนฝอย Radopholus ในพืช 4 ชนิด ได้แก่ *Acorus* spp. *Anubias barteri* 'Broad Leaf' *Anubias nana* และ *Anubias* spp. เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณสามารถเพาะเลี้ยงได้เพียงแหล่งเดียวจากพืช *Anubias* spp.

คำหลัก : ไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ไม้ประดับส่งออก

คำนำ

ไส้เดือนฝอยสกุล Radopholus เป็นที่รู้จักตั้งแต่ปี 1890 เมื่อ Cobb ได้ทำการอธิบายเชื้อปรสิตที่เข้าทำลายรากกล้วยบนเกาะ Fiji ซึ่งในขณะนั้นได้จัดจำแนกเป็น *Tylenchus similis* (Cobb, 1893) ต่อมาในปี 1949 Thorne ได้จัดจำแนกใหม่อีกครั้ง โดยได้เสนอให้ใช้ชื่อสกุล Radopholus แทน Tylenchus และตั้งชื่อชนิดเป็น *R. similis* (Cobb, (1893) Thorne (1949))จากนั้นมีการตรวจพบการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยชนิดนี้เพิ่มขึ้น ในปี 1915 พบว่าเป็นสาเหตุของการเข้าทำลายอ้อยในรัฐฮาวาย ประเทศสหรัฐฯ และทำให้เกิดโรคในกล้วยของประเทศจาไมก้าต่อมาได้เกิดเหตุการณ์ทางประวัติศาสตร์ที่สำคัญ ประมาณปี 1928 ไส้เดือนฝอย *R. citrophilus* ทำให้เกิด “spreading decline” ในการปลูกส้มของรัฐฟลอริดา ประเทศสหรัฐฯ โดยทำให้ผลผลิตส้มลดลง 40 ถึง 70 เปอร์เซ็นต์ และใน grapefruits ซึ่งเป็นพืชในตระกูลส้มอีกชนิดหนึ่งผลผลิตลดลง 50 ถึง 80 เปอร์เซ็นต์ เหตุการณ์ในครั้งนี้เปรียบเสมือนจุดเริ่มต้นของมาตรการต่างๆในการควบคุมการระบาดของโรค โดยได้ออกมาตรการกักกันพืช ห้ามนำเข้าพืชที่มี *R. citrophilus* (*R. similis* citrus race) มีการจำกัดพื้นที่ในการแพร่ระบาดและมีความพยายามในการกำจัดไส้เดือนฝอยชนิดนี้ให้หมดไป

R. similis sensu lato ยังเป็นศัตรูสำคัญในการปลูกกล้วยในทวีป แอฟริกา ออสเตรเลีย อเมริกากลางและอเมริกาใต้ หมู่เกาะในทะเลแคริเบียน ซึ่งทำให้เกิดโรคตายพรายกล้วย ที่เรียกว่า “blackhead banana disease” หรือ “banana toppling disease” ทำให้เกิดการโค่นล้มของกล้วยในขณะออกเครือ เพราะเหง้าและระบบรากได้ถูก ไส้เดือนฝอยเข้าทำลาย ทำให้ไม่สามารถรับน้ำหนักของเครือกล้วยได้จึงโค่นล้มก่อนที่จะเก็บผลผลิตและด้วยเหตุของการแพร่กระจายเชื้อไปกับหน่อกล้วยทำให้แทบทุกภูมิภาค

รหัสการทดลอง 03-30-60-01-01-02-06-60

มีไส้เดือนฝอยชนิดนี้อีกทั้งไส้เดือนฝอยสกุล Radopholus มีพืชอาศัยมากกว่า 250 ชนิด ยกตัวอย่าง เช่น กล้วย ส้ม ขิง ปาล์ม กาแฟ พริกไทย อ้อย ชา ไม้ดอกไม้ประดับ เช่นหน้าวัว ฟิโลเดนดรอน (Haegman *et. al*., 2010)

ในปี 1953 มีการระบาดครั้งใหญ่ของโรคเหลืองพริกไทย (yellow disease of *Piper nigrum*) ซึ่งเกิดจาก *R. similis* ในการปลูกพริกไทยของประเทศอินโดนีเซียโดยเกิดความเสียหายเกือบ 90 เปอร์เซ็นต์ของการผลิตทั้งประเทศซึ่งความเสียหายครั้งนี้ได้สูญเสียต้นพริกไทยกว่า 22 ล้านต้น และมีการรายงานว่าแพร่กระจายไปในแหล่งปลูกพริกไทยอื่นๆได้แก่ อินเดีย พบว่า *R. similis* เป็นสาเหตุของโรค slow wilt ที่ทำให้ผลผลิตของพริกไทยลดลง (Roland,N.P and Maurice,M., 2006) (Ramana *et.al*, 1987)

แม้ว่าประเทศไทยไม่มีรายงานความเสียหายของพืชที่เกิดจากไส้เดือนฝอยสกุล Radopholus แต่พบว่าได้เกิดปัญหาการส่งออกพืชไปยังสหภาพยุโรป ถูกปฏิเสธการนำเข้าเนื่องจากมีการตรวจพบ *R. similis* ในพรรณไม้น้ำ *Anubias* spp. ในระหว่างปี พ.ศ 2550 ถึง 2551 ไม้น้ำจากประเทศไทยถูกเผาทำลายไป 11 ครั้ง ทำให้มีผลกระทบต่อผู้ส่งออกพรรณไม้น้ำของไทย (นุชนารถ, 2551)

ด้านการจัดจำแนกชนิดนั้นไส้เดือนฝอยเป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง มีรูปร่างคล้ายหนอนพยาธิ ตัวกลมเจริญเติบโตโดยการลอกคราบ มีทั้งการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กมาก ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ต้องมองภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และไส้เดือนฝอยสกุลนี้ ยังมีความหลากหลายของชนิดมากปัจจุบันพบว่ามี 30 ชนิด ซึ่งประเทศออสเตรเลียมีความหลากหลายมากถึง 25 ชนิด (Luc, 1987) จากการศึกษาของ Quénéhervé (2009) และTan *et. al.* (2010) คาดว่าความหลากหลายของไส้เดือนฝอย Radopholus ในออสเตรเลียมีสาเหตุเนื่องจากมีการแลกเปลี่ยนและเคลื่อนย้ายพืชที่ติดเชื้อมาจากภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และเป็นที่น่าสังเกตว่าในช่วงทศวรรษ ที่ผ่านมาได้มีรายงานในการพบชนิดใหม่ของไส้เดือนฝอยสกุลนี้หลายชนิด โดยพบว่ามีการพบชนิดใหม่ในเวียดนาม 3 ชนิด นิวซีแลนด์ 1 ชนิด ออสเตรเลีย 2 ชนิด และอินโดนีเซีย 1 ชนิด (Volcy, 2011)

นอกจากนี้พืชอาศัยที่แตกต่างกันก็พบว่าเป็นไส้เดือนฝอยสกุล Radopholus ต่างชนิดกัน เช่น พบว่า *R. musicola* เป็นศัตรูพืชสำคัญของการปลูกกล้วยในออสเตรเลีย *R. citri* และ *R. bridge* ทำให้เกิดต้นโทรมในส้ม *R. duriophilus* สาเหตุต้นโทรมของทุเรียนและ *R. arabacoffece* เป็นสาเหตุของต้นโทรมของกาแฟอาราบิก้า ซึ่งทั้งสองชนิดเป็นชนิดใหม่ (Trinh *et.al*,2004)

ในไทยในปี 2555(ค.ศ. 2012) นุชนารถได้ศึกษาอนุกรมวิธานของ Radopholus ในพรรณไม้น้ำสกุล Anubiasพบเพียงชนิดเดียวคือ *R. similis* จากการศึกษาของ Nguyen และคณะในปี 2003 ได้รายงานว่าพบไส้เดือนฝอยสกุล Radopholus ชนิดใหม่ในทุเรียน คือ *R. duriophilus* ซึ่งมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายกับ *R. similis* เป็นอย่างมากแต่แตกต่างในรายละเอียดทางสัณฐานวิทยา เช่น ตำแหน่งของ excretory pore ลักษณะของ phasmid ลักษณะของ bursa เป็นต้น และมีความแตกต่างอย่างชัดเจนทางชีวโมเลกุล และเป็นที่น่าสังเกตว่าเวียดนามเป็นประเทศเพื่อนบ้านของไทยแต่ไม่เคยมีรายงานว่าพบ *R. similis*

จากข้อมูลของ EPPO quarantine Pest ประเทศที่พบ *R. similis* ในเอเชีย ได้แก่ ประเทศบรูไน อินเดีย (บางรัฐ) อินโดนีเซีย ญี่ปุ่น (ไม่มีการยืนยัน) มาเลย์เซีย (รัฐ Peninsular) โอมาน ปากีสถาน ฟิลิปปินส์ ศรีลังกา เยเมน และรวมทั้งประเทศไทย

ซึ่งจะเห็นได้ว่าไส้เดือนฝอยสกุลนี้มีความเชื่อมโยงกับชนิดของพืชอาศัย ดังนั้นพืชต่างชนิดกันอาจจะพบไส้เดือนฝอยสกุล Radopholus ต่างชนิดกันได้ ซึ่งในประเทศไทยยังไม่ได้มีการสำรวจไส้เดือนฝอยสกุลนี้ในพืชที่หลากหลาย ดังนั้นงานวิจัยการจัดจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอย สกุล Radopholus ในไม้ประดับส่งออกมีประโยชน์อย่างยิ่งต่อการตรวจรับรองการปลอดภัยจากศัตรูพืช โดยเฉพาะไส้เดือนฝอยศัตรูพืช และ เป็นฐานข้อมูลอ้างอิงของประเทศไทยที่เป็นมาตรฐานสามารถสร้างความเชื่อมั่นให้แก่ประเทศผู้นำเข้าได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1.ไม้ประดับส่งออก

2.อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการไส้เดือนฝอย

วิธีการ

1. เก็บตัวอย่างพืชในไม้ประดับส่งออก เช่น กวักมรกรต ชวนชม พรรณไม้น้ำ เป็นต้น ซึ่งการเก็บตัวอย่างพืชมีเอกสารรับรองกำกับ (voucher specimens) ตาม ISPM No.6 อาทิ ชื่อวิทยาศาสตร์ของพืช สถานที่เก็บตัวอย่าง จำนวนต้นพืช พิกัดทางภูมิศาสตร์ วันเดือนปีที่เก็บ และชื่อผู้เก็บ เป็นต้น

1.1 ตัวอย่างต้นพืช

เก็บต้วอย่างต้นพืชใส่ถุงพลาสติกรัดปากถุงให้แน่นนำกลับมาตรวจที่ห้องปฏิบัติการ

1.2 ตัวอย่างดินปลูก

เก็บตัวอย่างดินบริเวณทรงพุ่มความลึกอยู่ในช่วงประมาณ 0-25 เซนติเมตร จำนวน 10 จุดต่อต้นคลุกเคล้ารวมกันแล้วเก็บตัวอย่าง500 กรัมนำใส่ถุงพลาสติกรัดปากถุงให้แน่นนำกลับมาตรวจที่ห้องปฏิบัติการ

1.3 ตัวอย่างวัสดุปลูก

ในตัวอย่างพืชที่เป็นไม้ประดับปลูกในวัสดุปลูก นำวัสดุปลูกคลุกเคล้ารวมกันแล้วเก็บตัวอย่าง500 กรัม นำใส่ถุงพลาสติกรัดปากถุงให้แน่นนำกลับมาตรวจที่ห้องปฏิบัติการ

2.การแยกเชื้อไส้เดือนฝอย

2.1 ตัวอย่างต้นพืชใช้ Ultrasonicator หรือ Baerman funnel method หรือ mist chamber method

2.2 ตัวอย่างดินและตัวอย่างวัสดุปลูกใช้วิธี Cobb sieving และ Baerman funnel method

3.การตรวจหาไส้เดือนฝอยสกุล Radopholus

ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำและหรือกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง

4.การเพาะเลี้ยงและเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอย

4.1 เพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณในชิ้นแครอท

เมื่อตรวจพบไส้เดือนฝอยแล้วใช้เข็มเขี่ยขนาดเล็กหรือไม้ไผ่เหลาให้ปลายเล็ก เขี่ยไส้เดือนฝอยแต่ละตัวลงในจานเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อและ streptomycin sulfate0.1 % หลังจากนั้น เขี่ยไส้เดือนฝอยแต่ละตัวลงในอาหารแครอท โดยใช้ระยะเวลาในการบ่มที่อุณหภูมิห้องประมาณ 1 เดือนเพื่อให้ไส้เดือนฝอยเจริญครบวงชีวิต 1 รอบ การเตรียมอาหารแครอท ฆ่าเชื้อผิวเปลือกของแครอท โดยการจุ่มลงในแอลกอฮอล์ 95เปอร์เซ็นต์แล้วเผาไฟจากนั้นปลอกเปลือกแครอทที่ไหม้ออก ตัดเป็นชิ้นหนาประมาณ 1 เซนติเมตร ใส่ในจานเลี้ยงเชื้อที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ทุกขั้นตอนทำงานอยู่ภายใต้สภาวะปลอดเชื้อ รอให้เกิดแคลลัสบนชิ้นแครอท ประมาณ 1-2 สัปดาห์จึงนำมาใช้ได้

4.2 เพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณในพืชอาศัย

นำไส้เดือนฝอยที่ได้ เพาะเลี้ยงในพืชอาศัยเดิมเช่น พบในกล้วยนำมาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในกล้วย พบในหน้าวัวนำมาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในหน้าวัว เป็นต้น

5.การทำสไลด์ไส้เดือนฝอย

ทำสไลด์ถาวรของไส้เดือนฝอยอย่างรวดเร็วตามวิธีการของ Alexander Y. Ryss ดังนี้ บรรจุไส้เดือนฝอยลงในหลอดmicrocentrifuge ซึ่งบรรจุในน้ำปริมาตร 10 µl และเตรียมหลอดบรรจุ formalin ปริมาตร 10 µl แช่ในน้ำที่อุณหภูมิ 95°C แล้วถ่ายลงในหลอดที่บรรจุไส้เดือนฝอยนำหลอดไส้เดือนฝอยที่ได้แช่ในน้ำที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 20-40 นาที จากนั้นนำออกมาไว้ที่อุณหภูมิห้องแล้วย้ายไส้เดือนฝอยใส่ในถ้วยนับตัวอย่าง จากนั้นเขี่ยไส้เดือนฝอยแต่ละตัวจากถ้วยนับตัวอย่างใส่ลงในสารละลาย glycerin + distilled water (1:20) บนสไลด์หลุมแล้วนำสไลด์ที่ได้วางบน hotplate ที่ 70°C นาน 15-20 นาที เมื่อน้ำระเหยหมดผิวของสารละลายจะเรียบและจะได้ไส้เดือนฝอยที่อยู่ใน anhydrous glycerinตรวจดูไส้เดือนฝอยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เมื่อไม่พบการหดตัวของผนังลำตัวไส้เดือนฝอย ก็สามารถนำไส้เดือนฝอยไปใช้ในการทำสไลด์ถาวรได้

5.1 การเตรียมสไลด์ถาวร

หลังจากผ่านการเตรียมตัวอย่างไส้เดือนฝอยแล้วนำมาวางลงในสไลด์โดยหยด glycerol ลงบนสไลด์แก้วเขี่ยไส้เดือนฝอยที่เตรียมไว้จัดเรียงเป็นแถวโดยใช้ไม้เขี่ยกดให้ทุกตัวติดกับผิวสไลด์อย่าให้ตัวลอยจัดเรียงให้สวยงามง่ายแก่การดูรายละเอียดต่างๆภายใต้กล้อง ก่อนปิด cover slip วาง glass rod ที่มีขนาดเท่าขนาดไส้เดือนฝอยไว้ขอบสไลด์แล้วปิด cover slip ยาแนวขอบด้วยยาทาเล็บให้สนิท

6.การเก็บรักษาสไลด์ถาวร

ควรเก็บไว้ในกล่องสไลด์ แยกแต่ละชนิดไว้โดยแต่ละกล่องมีป้ายบอกชนิดติดอยู่บนสันกล่อง ก่อนนำสไลด์เก็บควรแน่ใจว่ายาแนวขอบสไลด์แห้งสนิทดีแล้ว มิฉะนั้นเมื่อวางแนวตั้งจะทำให้ไส้เดือยฝอยไหลไปอยู่ที่ขอบสไลด์ ซึ่งจะทำให้เห็นรายละเอียดไม่ชัดเจน

7. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานของไส้เดือนฝอยสกุล Radopholus

โดยเปรียบเทียบกับเอกสารการจัดจำแนกชนิด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง โดยมีลักษณะสำคัญที่ต้องบันทึก อาทิ ความยาวและเส้นผ่านศูนย์กลาง ลำตัว ความสูงบริเวณริมฝีปาก เส้นผ่านศูนย์กลางของริมฝีปาก ความยาวของ stylet ความกว้างของฐานของ stylet ความยาวและเส้นผ่านศูนย์กลางของ oesophagus ค่า De Man's ratios เช่น ค่า a (อัตราส่วนของความยาวลำตัวต่อเส้นผ่านศูนย์กลางลำตัว) ค่า b(อัตราส่วนของความยาวลำตัวต่อความยาวของ oesophagus) ค่า c (อัตราส่วนของความยาวลำตัวต่อความกว้างของหาง) ค่า c^{0}(อัตราส่วนของความกว้างของหางต่อความกว้างลำตัว) เป็นต้น

- การบันทึกข้อมูล

8.เก็บสไลด์ถาวรของไส้เดือนฝอยสกุล Radopholus และมีเอกสารรับรองกำกับ (voucher specimens)ตาม ISPM No.6 ซึ่งมีรายละเอียด เช่น ชื่อวิทยาศาสตร์ของศัตรูพืชและพืชอาศัย สถานที่เก็บตัวอย่าง พิกัดทางภูมิศาสตร์ วันเดือนปีที่เก็บ และชื่อผู้เก็บ วันเดือนปีที่จำแนกชนิด และชื่อผู้จำแนกชนิด วันเดือนปีการพิสูจน์ยืนยัน และชื่อผู้พิสูจน์ยืนยัน เป็นต้น

9.บันทึกถ่ายภาพลักษณะทางสัณฐานของไส้เดือนฝอยสกุล Radopholusที่สำคัญภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง

10.วิเคราะห์ข้อมูลลักษณะทางสัณฐานของไส้เดือนฝอยสกุล Radopholus เพื่อจัดจำแนกชนิด

เวลาและสถานที่

ระหว่าง ตุลาคม 2559 ถึง กันยายน 2562

กลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการตรวจวินิจฉัยไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในไม้ประดับเพื่อการส่งออกนี้ ระหว่าง ตุลาคม 2559 ถึง กันยายน 2560 (Table 1) รวมทั้งสิ้นจำนวน 450 ตัวอย่าง พบไส้เดือนฝอย Radopholus 9 ครั้ง ในพืช 1. *Acorus* spp. พบ 2 ครั้ง 2. *Anubias barteri* 'Broad Leaf พบ 3 ครั้ง 3. *Anubias nana* พบ 1 ครั้ง และ 4. *Anubias* spp. พบ 3 ครั้ง เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณสามารถเพาะเลี้ยงได้เพียงแหล่งเดียวจากพืช *Anubias* spp. เนื่องจากจำนวนตัวไส้เดือนฝอยที่พบมีน้อยทำให้เกิดการสูญเสียระหว่างการเคลื่อนย้ายเชื้อลงจานเพาะเลี้ยง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการตรวจตัวอย่างพืชส่งออกจากแหล่งปลูกไม้ประดับส่งออก กรุงเทพฯ จังหวัดนครราชสีมา และจังหวัดฉะเชิงเทรา ทั้งหมด 450 ตัวอย่าง พบไส้เดือนฝอย Radopholus 9 ครั้ง นำไส้เดือนฝอยดังกล่าวเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณในอาหารแครอท ทำสไลด์ไส้เดือนฝอย ตรวจวินิจฉัยภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง เปรียบเทียบกับ เอกสารคำนิยามชนิดของไส้เดือนฝอยในสกุล Radopholus ที่มี 8 ชนิด จากไส้เดือนฝอยในสกุล Radopholus ที่มีทั้งสิ้น 30 ชนิด ได้แก่ 1. *Radopholus similis* 2. *R.citrophilus* 3. *R.duriophilus* 4. *R.allius* 5. *R.brassicae* 6. *R.nativus* 7. *R.arabocoffeae* และ 8. *R.musicola* แต่ยังไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นชนิดใด เนื่องจากลักษณะที่สามารถบ่งบอกชนิดได้ เช่น จำนวนของ cephalic annuli, incisures terminating, จำนวนเส้นข้างลำตัว และตำแหน่งของ excretory pore เป็นต้น ลักษณะเหล่านี้ไม่สามารถมองเห็นด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงปกติ แต่อย่างไรก็ตามลักษณะเหล่านี้จากเอกสารพบว่าสามารถมองเห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงที่มี Differential Interference Contrast ซึ่งกลุ่มวิจัยโรคพืชได้รับงบประมาณในการจัดซื้อกล้องในปีงบประมาณ 2561 ซึ่งเมื่อติดตั้งกล้องดังกล่าวแล้วคาดว่าจะสามารถจัดจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยดังกล่าวนี้ได้

คำขอบคุณ

-

เอกสารอ้างอิง

ธิติยา สารพัฒน์ และ ไตรเดช ข่ายทอง. 2556-2557.รายงานผลการตรวจไส้เดือนฝอยศัตรูพืช (Plant parasitic nematode diagnostic report).สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. กรมวิชาการเกษตร

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2551. Burrowing Nematode ศัตรูพืชกักกันของไม้น้ำส่งออก. **ข่าวอารักขาพืช** 3(3): 3.

_____2555. อนุกรมวิธานและชีววิทยาของไส้เดือนฝอยสกุล Radopholus. **รายงานความก้าวหน้า**. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช.

Cobb, N.A. 1915. ***Tylenchulus similis*, the cause of a root disease of sugarcane and banana**. J. Agric. Res. 4: 561-568.

Haegeman, A., A. Elsen, D. Dewaele and G. Gheysen. 2010. **Emerging molecular knowledge on *Radopholus similis*.an important nematode pest of banana**. Mol. PlantPathol. 11(3): 315-323.

Hooper, D.J. and K. Evans. 1993. Extraction identification and control of plant parasitic nematodes. *In* K. Evans, D.L. Trudgill and J.M. Webster. eds. **Plant parasitic nematodes in temperate agriculture**. CAB International, Wallingford, UK, pp.1-59.

Luc, M. 1987. Areappraisal of Tylenchina (Nemata). 7. The family Pratylenchidae Thorne, 1949. Rev. Nématol. 10(2): 203-218. J.B. Macgowan. 1982. The burrowing nematode infecting blackpepper. *In* Nematology Circular No.93, **Division of Plant Industry, Florida Department of Agriculture and Consumer Service**, http://www.freshfromflorida.com/pi/enpp/nema/nemacirc/nem093.pdf; consulted: November, 2011.

Nguyen, N.C., S.A. Subbotin, M. Madani, P. Trinh, and M. Qandmoens. 2003. ***Radopholus duriophilus*sp.n. (Nematoda: Pratylenchidae) from Western Highland of Vietnam**. International Journal of Nematology. 5(4): 549-558.

Quénéhervé, P. 2009. Integrated management of banana nematodes. pp.3-61. *In* A. Ciancio and K.G.Mukerji., eds. **Integrated managementof fruit crop sand forest nematodes. Springer**, Dordrecht, TheNetherlands.

Ramana, K.V., C. Mohandas and R. Balakrishan. 1987. Role of plant parasitic nematodes in the slow wilt diseaseComplex of black pepper) *Piper nigrum* L. in Kerala. **Indian Journal of Nematology** 17: 225-230

Roland, N.P and M. Moens. 2006. **Plant Nematode**. CABI. 447p.

Ryss, A.Y. 2003. Taxonomy, evolution and phylogeny of the genus *Radopholus* (didelphic species) according to morphological data, with a keytospecies (Nematoda: Tylenchida). **Zoo systematica Rossica** 11: 243–256.

Siddiqi, M.R. 1986. **Tylenchida: Parasites of plant sand insects**. Slough, UK, Commonw. Inst. Parasitol., *ix.* 645 p.

_____. 2000. **Tylenchida: parasites of plant sand insects**. 2nd ed. CABI Publishing UK, Wallingford GB. pp.353–358.

Tan, M., J. Cobon, E. Aitken and L.G.Cook. 2010. **Support for the"out-of-South east Asia" hypothesis for the origin of Australian populations of *Radopholus similis* (Cobb, 1893) Nematoda: Pratylenchidae**. Syst. Parasitol 77(3): 175-183.

Thorne, G. 1961. **Principles of nematology**. McGraw-HillBook Company, New York.

Trinh, P.Q., N.C. Nguyen, L. Waeyenberge, S.A. Subbotin, G. Karssen, and M. Moens. 2004. *Radopholus arabocoffeae* sp. n. (Nematoda: Pratylenchidae), a nematode pathogenic to Coffea arabica in Vietnam, and additional data on *R. duriophilus*. **International Journal of Nematology** 6(5): 681-693.

Volcy, C. 2011. Past and present of the nematode *Radopholus similis* (Cobb) Thorne with emphasis on Musa. **A review, Agron. Colomb**. 29(3).

Table 1 Plant parasitic nematode diagnostic : *Radopholus*

Plant name	Amount	*Radopholus*	No. of nematodes
Acorus spp.	10	2	(2)(15)
Aglaonema spp.	10	-	
Alternanthera spp.	10	-	
Ammania spp.	10	-	
Anubias barteri 'Broad Leaf'	10	3	(15)(2)(1)
Anubias barteri var. *barteri*	9	-	
Anubias coffefolia	4	-	
Anubias congensis	8	-	
Anubias lanceolata	4	-	
Anubias minima	8	-	
Anubias nana	9	1	(1)
Anubias spp.	10	3	(9)(1)(1)
Aponogeton spp.	4	-	
Bacopa spp.	5	-	
Barclaya spp.	4	-	
Bolbitis spp.	4	-	
Bucephalandra spp.	4	-	
Cabomba spp.	5	-	
Cardamine spp.	4	-	
Ceratophylum spp.	5	-	
Ceratopteris spp.	4	-	
Chlorophytum spp.	5	-	
Cordyline spp.	5	-	
Crinum spp.	4	-	
Cryptocoryne spp.	4	-	
Cyperus spp.	5	-	
Dracaena spp.	5	-	
Echinodorus spp.	4	-	
Eichhornia spp.	5	-	
Eleocharis spp.	5	-	
Elodea spp.	5	-	
Eustralis spp.	4	-	
Gratiola spp.	4	-	
Glossostigma spp.	5	-	
Gymnocoronis spp.	4	-	
Hemianthus spp.	4	-	
Hemigraphis spp.	5	-	
Hedyotis spp.	3	-	
Hemalomena spp.	4	-	
Heteranthera spp.	5	-	
Hydrocotyle spp.	5	-	

Table 1 Plant parasitic nematode diagnostic : *Radopholus* (Cont.)

Hygrophila spp.	5	-
Isoetes spp.	5	-
Lilaeopsis spp.	5	-
Limnophila spp.	5	-
Lindernia spp.	5	-
Lobelia spp.	5	-
Ludwigia spp.	5	-
Lysimachia spp.	5	-
Marsilea spp.	5	-
Mayaca spp.	5	-
Micranthemum spp.	5	-
Microsorium spp.	5	-
Monosolenium spp.	4	-
Myriophyllum spp.	4	-
Najas spp.	4	-
Nomaphila spp.	5	-
Nuphar spp.	2	-
Nymphaea spp.	5	-
Nymphooides spp.	4	-
Ophiopogon spp.	10	-
Pandanus spp.	2	-
Piptospatha spp.	4	-
Pista spp.	5	-
Pogostemon spp.	4	-
Polygonum spp.	5	-
Proserpinaca spp.	3	-
Rorippa spp.	4	-
Rotala spp.	5	-
Rununculus spp.	4	-
Sagittaria spp.	5	-
Samolus spp.	4	-
Salvinia spp.	4	-
Saururus spp.	5	-
Spathiphyllum spp.	5	-
Staurogyne spp.	4	-
Syngonium spp.	5	-
Trapa spp.	5	-
Trichocoronis spp.	4	-
Tonina spp.	4	-
Vallisneria spp.	10	-
Vesicularia spp.	10	-
Zamioculcus zamiifolia	20	-
Total	450	9