

Temperaturvariationers indflydelse på havrenematodens (*Heterodera avenae*) klækning

Ved Mogens Juhl

803. beretning fra Statens Forsøgsvirksomhed i Plantekultur

I beretningen bringes resultaterne af nogle forsøg, der fra 1963-1966 er udført ved Statens plantepatologiske Forsøgs zoologiske afdeling i Lyngby, vedrørende temperaturvariationers indflydelse på havrenematodens klækning med særlig henblik på forøget klækningsintensitet på tider, der ligger udenfor den normale klækningsperiode. Beretningen er udarbejdet af videnskabelig assistent *Mogens Juhl*, Statens plantepatologiske Forsøg.

Forstanderne ved Statens Forsøgsvirksomhed i Plantekultur

INDHOLDSFORTEGNELSE

	Side
I. Indledning	42
II. Litteraturgennemgang	42
III. Egne undersøgelser	44
Forsøgsbeskrivelse. Materiale	44
Metodik	56
IV. Gennemgang af forsøgsresultater	57
V. Konklusion	60
VI. Summary	61
VII. Litteraturhenvisning	62

I. Indledning

Heterodera avenae frigør mange larver i det tidlige forår såvel i nærværelse som under fraværelse af en værtplante, og larverne fortsætter med at blive klækkede i rigelig mængde indtil først i juni, da antallet daler til næsten nul.

Ved en lang række forsøgsopgaver er man imidlertid ikke tilfreds med denne ene årlige generation, men vil gerne arbejde kontinuerligt med mulighed for at igangsætte et forsøg på et hvilket som helst tidspunkt af året. Det kan f.ex. dreje sig om arbejdet med undersøgelse og afprøvning for resistens eller undersøgelser for forekomst af smitteracer for blot at nævne et par enkelte eksempler.

Hos visse af *Heterodera*arterne kan man inducere klækning ved hjælp af roddiffusater. Dette er imidlertid ikke tilfældet for havre-

nematodens vedkommende, hvorfor man må vælge andre veje. En af disse, og måske den mest nærliggende, er gennem varieret temperatur at forsøge at udløse den klækningsregulerende mekanisme, og således igangsætte en storstilet klækning.

II. Litteraturgennemgang

Franklin (1951) anfører i sin bog »The cyst-forming Species of *Heterodera*«, at uanset om man undersøger 14 dage gamle havreplanter sået om foråret eller om efteråret i havrenematodinficeret jord, vil man finde larver, som nær røddernes vækstpunkter er trængt ind i rødderne, hvor de har anbragt sig tæt op ad centralcyklinderen, men voksne individer vil ikke være at finde i den efterårssæede frilandsafgrøde før den følgende sommer. *Franklin*

meddeler endvidere resultaterne fra to forsøg udført af Goffart. I det ene dyrkede han havre vinteren over i inficeret jord i drivhus og fandt allerede i januar måned cyster på rødderne, men cyster, der kun havde opnået $\frac{2}{3}$ normalstørrelse, og som siden viste sig yderst ringe som smitemateriale. Af 700 cyster blandet i steriliseret jord genfandt han om efteråret kun 65, hvoraf kun syv med indhold af sunde larver.

I det andet forsøg dyrkede Goffart havre i drivhus om vinteren i jord inficeret med cyster, der alle var udviklede den foregående sommer. Han fandt larver i rødderne allerede i oktober, men dog ingen cyster før end den følgende juni. Ud fra disse forsøg blev draget den slutning, at friske cyster kræver en flere måneders hvileperiode for at udvikle sig til modenhed, mens ældre cyster – i hvert fald under drivhusforhold – udvikles fem måneder tidligere, end de ellers ville have gjort.

Tørrede cyster af *Heterodera avenae* anses for at besidde en kun ringe evne til klækning. Winslow (1955) fandt, at mere end 2.000 larver klækkedes fra cyster fundet i våd jord, hvorimod kun 7 larver klækkedes fra cyster i tørret jord. Hesling (1956) bekræftede Winslows resultat ved at udsætte cyster i vandbad, hvorfra overskudsvand blev fjernet, for udtørring i perioder på fra 1 til 16 timer. Han konstaterede en uformindsket klækning efter behandling i indtil 2 timer, men en reduktion efter 4 timer og slet ingen klækning efter 8-16 timers udtørring.

Duggan (1960) fandt, at jord med *Heterodera avenae*, som havde været lufttørret til støvtørhed i indtil 3 måneder, forårsagede kraftige angreb på havre (Sun II) mens *Heterodera avenae* fra jord, som havde været lufttørret i 6 måneder eller mere, ikke forårsagede angreb overhovedet. Når Duggan ikke opnår så effektiv en virkning ved lufttørring af jord, som Winslow og Hesling, mener han, at det skyldes, at tørring virker voldsommere, når cysterne fjernes fra jorden.

Hesling (1957) har tillige forsøgt at påvirke klækningen ved hjælp af forskellige roddiffusater, men uden resultat.

For kartoffelnematodens vedkommende, *Heterodera rostochiensis*, har Dunn (1954) fundet, at en temperaturforbehandling har en vidtgående indflydelse på larvefrigørelsen i nærværelse af roddifusat. Han fandt, at når kartoffelnematodcyster fra tilfældige markprøver blev forvarmede til 23°C i 35 døgn, var larvefrigørelsen i roddifusat 20-30 gange større, end når de var opbevarede ved 15°C, men når cysterne havde været opvarmede til 29°C, skete der mærkværdigvis ingenting før end 20 dage efter, at de var overført til 15°C, og betydelig klækning fandt da sted. Dunn skriver: »Det ser ud til, at variationen i temperaturen før og efter tilsætningen af roddifusat resulterer i helt forskellige klækningsmønstre, men cysterne må nødvendigvis holdes fugtige, for at temperaturpåvirkningen kan være virksom.«

Hos nogle *Heterodera*-arter klækkes flere larver, når cysterne udsættes for skiftende temperaturer, end når de opholder sig ved konstant optimum temperatur. Bishop (1953) viste med *Heterodera rostochiensis* og Wallace (1955) med *Heterodera schachtii*, at skiftende perioder med 24-25°C og 15°C resulterede i større klækning end konstant behandling ved 24-25°C. Wallace fandt, at 16 timer ved 15°C fulgt af 8 timer ved 24°C pr. dag i 5 dage fulgt af 10 dage ved en konstant temperatur på 15°C gav den største klækning hos *Heterodera schachtii*, hvorimod Bishop (1955) fandt, at en 5 timers periode på 15°C fem gange ugentligt virkede bedre end samme to gange ugentligt eller konstant temperatur (25°C), når larverne i øvrigt klækkedes i roddifusat.

Ifølge Winslow (1955) er temperaturoptimum for klækning af *Heterodera avenae* in vitro 20°C. Cotten (1962) fandt, at klækningen af *Heterodera avenae* i laboratoriet indtræffer som en reaktion på stigende temperaturer efter en periode med lav temperatur.

De seneste resultater, der foreligger over temperaturvariationers indflydelse på havrenematodens klækning, er fra Canada, hvor Fushtey og Johnson (1966) i første omgang måtte erkende ikke at have fået angreb på havreplanter, der blev dyrket i jord, som de havde

indsamlet tidligt i september og opbevaret i drivhus. Jorden indeholdt endda 50 cyster pr. 100 g, men under hele opbevaringsperioden havde temperaturen ikke været synderligt under 20°C. De anbragte nu smittede jord – også indsamlet i begyndelsen af september – ved 20, 7, 0 og $\pm 16^\circ\text{C}$ og fandt ved klækning i vand ved stuetemperatur, at $\pm 16^\circ\text{C}$ havde en decimerende virkning, 20°C var indifferent, hvorimod 0 og 4°C i 6 uger gav svagt forøget klækning. 12 uger ved 0°C forøgede klækningen betydeligt, men en behandling af 8 ugers varighed var bedre. Bedste resultat opnåede de ved opbevaring ved 7°C i 12 uger, idet antallet af klækkede larver efter 6 ugers klækning var ca. 26 gange større end klækningen efter ± 16 og 20°C-behandlingerne og ca. det dobbelte af klækningen efter behandling ved 0°C. 7°C i 8 uger gav nogenlunde samme klækning som 0°C i samme tidsrum. 7°C i 4 uger havde forholdsvis svag virkning.

Desuden udsatte Fushtey og Johnson jord, der havde været opbevaret ved 0°C i 12 uger, for forskellig klækningstemperatur over en periode på 8 uger og fandt størst klækning ved omkring 10-15°C. Der blev sammenlignet med klækningstemperaturer på 20 og 30°C. Ved 10°C opnåede de ca. 65% klækning, ved 15°C ca. 50% klækning. 20°C gav under 10% og 30°C ingen klækning overhovedet.

For oversigtens skyld skal her endvidere medtages en del af et skema hentet fra *Shepherd's* bog (1962): The emergence of larvae from cysts in the genus *Heterodera*:

Biologiske reaktioner hos cyster af *Heterodera avenae* overfor visse faktorer.

Klækning i vand: Moderat, omkr. 15% af det levende cysteindhold in vitro. I brakjord op til 60% reduktion af cysteindholdet mellem marts og juli.

Virkning af udtørring: Reduktion eller hæmning af klækning efter nogle få timers udtørring efter ekstraktion fra jorden eller efter 3 måneder i lufttørret jord.

Dvaletilstand: Reduceret frigørelse i efterårs- og vintermåneder in vitro.

Klækning i roddifusater: Ingen reaktion in vitro

på roddifusater hverken af vært- eller ikke værtplanter.

Det skal nævnes, at også andre klæknings-påvirkende faktorer kan komme på tale. Således har *Neal* (1959) påvist, at vitaminer, f.ex. vitamin B₆ spiller en rolle for klækningen af kartoffelnematoden, *Heterodera rostochiensis*. *Shepherd* (1965) har fundet, at visse metalioner, såsom zink- og cadmiumion samt visse andre, stimulerer klækningen af *Heterodera schachtii*, mens det modsatte godt kan være tilfældet for *Heterodera avenae*. Også farvestoffer kan virke klækningsstimulerende (*Shepherd*, 1962).

III. Egne undersøgelser

Forsøgsbeskrivelser

Indledende orienterende undersøgelse

Forsøgene indledtes med en mindre orienterende undersøgelse, der skulle vise, om der overhovedet var basis for nogen nævneværdig påvirkning af havrenematoden, *Heterodera avenae*, i vinterhalvåret i retning af øget klækning af larver ved hjælp af temperaturvariationer.

Til formålet blev der fra mark I, ved Statens plantepatologiske Forsøg, hentet smittede jord den 5. december 1963. Cysterne havde i marken været nedkølet til omkring 0°C (de øverste 2-3 cm jord var frosset og blev ikke benyttet). Cysterne blev udslemmet af den fugtige, utørrede jord og opbevaret ved 100% luftfugtighed i små glas, i hvis øverste ende der blev anbragt en tot fugtigt vat, inden glassene blev lukkede med en gummiprop.

Glassene med cyster, nummererede fra I-II samt IV og V anbragtes nu ved forskellige temperaturer. (Nummer III er smittede jord opbevaret i lukket plasticpose).

De anvendte temperaturbehandlinger er følgende:

- I. 22°C i 45 døgn
- II. 22°C i 10 » og 4°C i 35 døgn
- III. 4°C i 32 » » $\pm 10^\circ\text{C}$ i 13 » (jord i plasticpose)
- IV. 4°C i 10 » » $\pm 10^\circ\text{C}$ i 35 »
- V. 4°C i 13 » , $\pm 16^\circ$ i 28 døgn og $\pm 10^\circ\text{C}$ i 4 døgn

Den samlede behandlingstid har altså for

alle fem behandlinger været ens, nemlig 45 døgn (fra 6/12-63-20/1-64). Efter udløbet af denne periode blev også cysterne fra hold III slemmet ud af den fugtige jord.

5 × 10 otte cm potter, svarende til 10 potter pr. behandling, blev fyldt op med fint flodsand og anbragt i drivhuset. Hver potte smittedes med 20 cyster – lagt på en lille lap filterpapir, der anbragtes i pottens midte ca. 3 cm under den sluttelige sandoverflade. I halvdelen af potterne, 5 pr. behandling, anbragtes en havrekerne (stålhavre) ovenpå cysterne, der forinden var dækkede af et tyndt sandlag. De resterende potter forblev utilsåede.

Hensigten med experimentet var, gennem fem uger med en uges interval regnet fra fremspiringsdatoen for havren i de tilsåede potter, at undersøge en enkelt utilsået potte pr. behandling for larver i sandet og resterende antal larver i cysterne. Samtlige tilsåede potter blev undersøgt for larver i rødderne, larver i sandet og resterende larver (æg) i cysterne efter fem ugers forløb. Planternes fremspiring skete ca. 3/2. Der blev vækstperioden igennem vandet med en næringsopløsning en gang ugentlig for alle tilsåede potter.

Da cysterne var anbragt på en lille lap filterpapir, var det forholdsvis let at genfinde

Tabel 1. Klækningsforsøg med *Heterodera avenae* udsat for behandling med varierende temperaturer. Cyster hentet ind fra marken i december og opbevaret i glas med 100% luftfugtighed under behandlingen. Et enkelt hold cyster (hold III) under behandlingen opbevaret i jord i plasticpose

Behandling		20 cyster pr. potte					Gns. af 5 potter med havre*
		potter uden havre					
		1 potte pr. behandling og dato					
		dato					
		10/2	17/2	24/2	2/3	10/3	10/3
I 22°C i 45 døgn	Larver i rødder.....						16
	Larver i sand.....	1	6	4	14	3	44
	Æg og larver i cyster .	2450	1900	1738	1433	1930	1571
	Æg og larver i alt	2451	1906	1742	1447	1933	1631
II 22°C i 10 døgn 4°C i 35 døgn	Larver i rødder.....						247
	Larver i sand.....	3	97	66	163	791	41
	Æg og larver i cyster .	1947	2100	1900	1485	1890	1244
	Æg og larver i alt	1950	2197	1966	1648	2681	1532
III 4°C i 32 døgn ÷10°C i 13 døgn	Larver i rødder.....						84
	Larver i sand.....	1	14	10	66	45	80
	Æg og larver i cyster .	3700	2070	2165	2046	1800	1827
	Æg og larver i alt	3701	2084	2175	2112	1845	1991
IV 4°C i 10 døgn ÷10°C i 35 døgn	Larver i rødder.....						7
	Larver i sand.....	0	0	15	20	9	64
	Æg og larver i cyster .	2853	2370	1641	2210	2070	2101
	Æg og larver i alt	2853	2370	1656	2230	2079	2172
V 4°C i 13 døgn ÷16°C i 28 døgn ÷10°C i 4 døgn	Larver i rødder.....						6
	Larver i sand.....	0	0	0	0	0	24
	Æg og larver i cyster .	2620	1740	1444	1860	2020	2270
	Æg og larver i alt	2620	1740	1444	1860	2020	2300

*) Fremspiring ca. 3/2 1964.

Tabel 2. Klækningsforsøg med *Heterodera avenae* udsat for behandling med varierende temperaturer. Cyster hentet ind fra marken i december og opbevaret i glas med 100% luftfugtighed under behandlingen. Et enkelt hold cyster (hold III) under behandlingen opbevaret i jord i plasticpose

Behandling	Klækning i vand fra 20 cyster ved stuetemperatur																I alt	I alt	I alt	%	
	24/1	27/1	29/1	31/1	3/2	5/2	7/2	10/2	12/2	14/2	17/2	19/2	21/2	24/2	28/2	2/3	5-10/3	klæk- kede fra 20 cyster	ikke- klækkede fra 20 cyster		larver fra 20 cyster
I 22°C i 45 døgn	0	0	0	0	2	2	15	10	15	1	12	12	0	0	7	0	0	76	1931	2007	3,8
II 22°C i 10 » 4°C i 35 »	50	69	49	91	245	36	180	120	76	17	48	89	13	26	2	3	0	1114	1357	2471	45
III 4°C i 32 » ÷10°C i 13 »	0	0	0	0	13	5	24	33	33	6	19	28	20	24	0	2	0	207	1573	1780	11,6
IV 4°C i 10 » ÷10°C i 35 »	0	0	0	0	1	0	5	12	8	3	10	14	3	2	0	0	0	58	2041	2099	2,8
V 4°C i 13 » ÷16°C i 28 » ÷10°C i 4 »	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2791	2791	0

disse igen, selv om også Fennwickkanden måtte tages i brug. Larverne blev slemmet fra sandet ved at hælde dette i en skål og benytte kombineret spuling med en vandstrøm mod bunden og dekantering. Planterødderne blev ved frigørelsen fra sandet skyllet grundigt, og for tælling af larver i vævet blev de farvet med lactofenol-syrefuchsin.

Sideløbende med denne del af undersøgelsen, blev der i laboratoriet ved stuetemperatur hen- sat 20 cyster pr. behandling i syracuseglas til klækning i vand. Klækkede larver blev talt hveranden dag, medmindre der kom en søndag imellem, og cysterne overførtes hver gang til nye glas med friskt vand.

Resultaterne af denne undersøgelse fremgår af tabel 1 og 2 samt af fig. 1 og vil blive kommenteret under »Gennemgang af forsøgs- resultater«.

Vinterforsøg 1964

Den 17. januar blev der fra mark I på Statens plantepatologiske Forsøg taget jord ind, smittet med havrenematoder. Jorden var frosset til ca. 20 cm's dybde og blev lagt i drivhus ved 10-12°C for optøning og delvis tørring. Den var meget fugtig og klæg umiddelbart efter optøningen. Efter 7 dages henliggen, hvorunder jorden gentagne gange blev skovlet om og blandet, blev den sigtet, så sten og forskellige gamle rodrester m.v. blev fjernet.

Forsøget blev planlagt med i alt 14 forsøgs- led á 10 pletter med hver en havreplante til dyrkning i drivhus og undersøgelse for larver i rødderne 6 uger efter fremspiring. For enkelte af forsøgsleddene er der endvidere regnet med 10 planter til undersøgelse med en uges mellemrum indtil 6. uge. I et par enkelte tilfælde blev der taget 10 planter ud til undersøgelse hver anden uge.

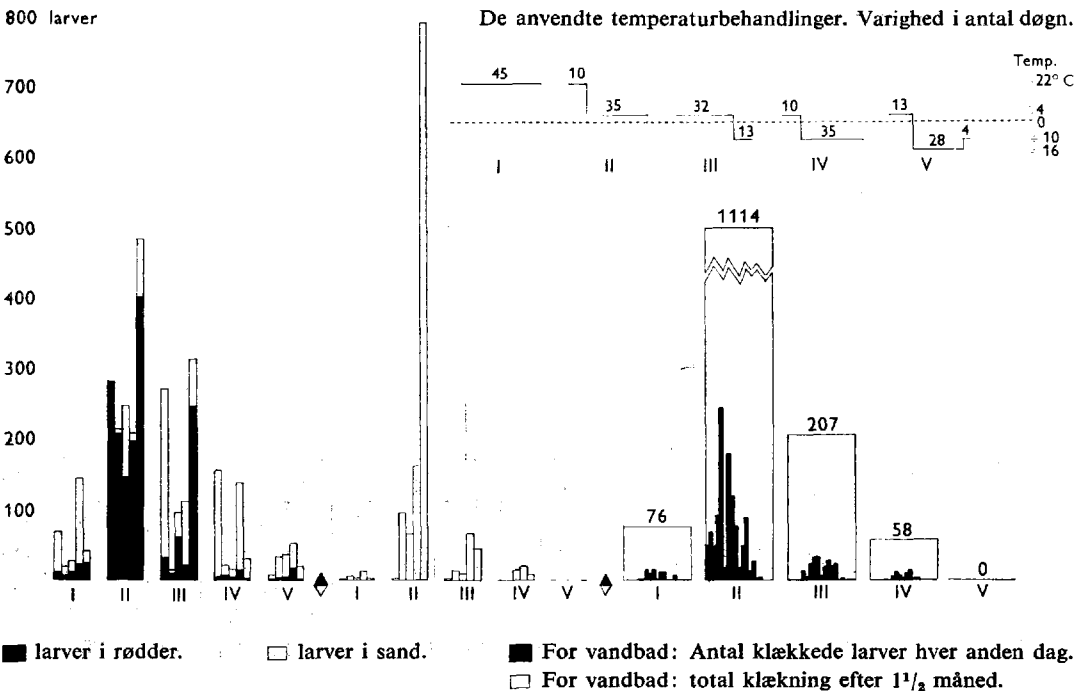


Fig. 1. *Heterodera avenae*. Klækning fra 20 cyster i sand med og uden havre samt i vandbad efter behandling med varierede temperaturer.

10 otte cm potter blev straks, da jorden var klar til behandling, fyldt op med den smittede jord, og en havrekerne (stålhavre) anbragt i hver. Resten af jorden fordeltes i lukkede plasticposer, der anbragtes ved de respektive forsøgstemperaturer. De blev pottet og tilsået efterhånden, som temperaturbehandlingen var tilendebragt.

Følgende temperaturvariationer er anvendt ved forsøget, hvis enkelte forsøgsled er nummererede med romertal:

Jordens smittegrad ca. 2.670 æg og larver pr. 250 cm³ jord.

Resultaterne fremgår af tabel 3 og fig. 2 og vil blive kommenteret under »Gennemgang af forsøgsresultater«.

Forårsforsøg 1964

Atter den 13. april blev der fra samme lokalitet som førhen taget smittet jord ind og lagt i drivhus, hvor den henlå i 4 døgn ved ca. 20°C til den var passende bekvem. Jorden blev i

- I. ca. 10°C i 7 døgn (drivhus)
- II. » 10°C i 10 » , 4°C i 10 døgn
- III. » 10°C i 10 » , 22°C i 6 »
- IV. » 10°C i 10 » , 22°C i 14 »
- V. » 10°C i 7 » , 22°C i 3 » og ÷10°C i 3 døgn
- VI. » 10°C i 7 » , 22°C i 5 » » ÷10°C i 5 »
- VII. » 10°C i 10 » , 22°C i 7 » » ÷10°C i 7 »
- VIII. » 10°C i 7 » , ÷10°C i 3 » » 22°C i 3 »
- IX. » 10°C i 7 » , ÷10°C i 5 » » 22°C i 5 »
- X. » 10°C i 10 » , ÷10°C i 7 » » 22°C i 7 »
- XI. » 10°C i 7 » , ÷20°C i 3 »
- XII. » 10°C i 7 » , ÷20°C i 10 »
- XIII. » 10°C i 14 » , ÷20°C i 3 »

250· larver pr. tiendedel cm³ rodvolumen

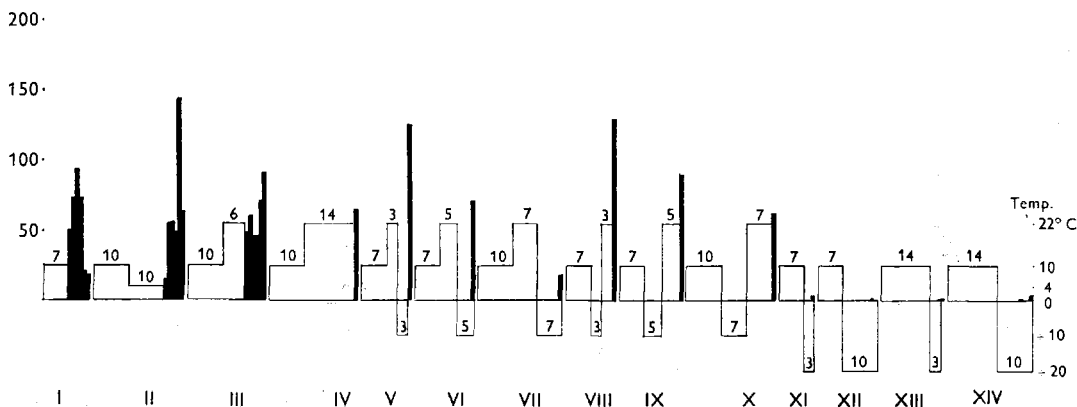


Fig 2. *Heterodera avenae*. Vinterforsøg 1964. Larver i havrerødder efter 1-6 ugers dyrkning i 8 cm potter i drivhus. Den smittede jord behandlet med varierede temperaturer. Varigheden i døgn af de anvendte temperaturer anført. Er kun en søjle anført viser denne antallet af larver efter 6. uge.

Tabel 3. Vinterforsøg 1964. Klækningsforsøg med *Heterodera avenae*. Varierende temperaturers indflydelse på havrenematodens angreb på stålhavre dyrket i 8 cm lerpotter i drivhus. 1 plante pr. potte. Jordens smittegrad ca. 2.670 æg og larver pr. 250 cm³ jord. Resultaterne gennemsnit af 10 planter

		Behandling													
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
		ca. 10°C i 7 »	ca. 10°C i 10 » 4°C i 10 »	ca. 10°C i 10 » 22°C i 6 »	ca. 10°C i 10 » 22°C i 14 »	ca. 10°C i 7 » 22°C i 3 » ÷ 10°C i 3 »	ca. 10°C i 7 » 22°C i 5 » ÷ 10°C i 5 »	ca. 10°C i 10 » 22°C i 7 » ÷ 10°C i 7 »	ca. 10°C i 7 » 22°C i 3 »	ca. 10°C i 7 » 22°C i 5 »	ca. 10°C i 10 » 22°C i 7 »	ca. 10°C i 7 » ÷ 20°C i 3 »	ca. 10°C i 7 » ÷ 20°C i 10 »	ca. 10°C i 14 » ÷ 20°C i 3 »	ca. 10°C i 14 døgn ÷ 20°C i 10 »
Fremspiringsdato		6/2	18/2	15/2	24/2	11/2	17/2	24/2	11/2	17/2	22/2	7/2	17/2	16/2	24/2
Rodvolumen i tiendedel cm ³	1.	0,48	0,80	0,91	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,80	¹⁰ 0,89
	2.	0,87	1,25	¹¹ 1,71	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1,14	¹¹ 1,38
	3.	2,19	1,80	2,06	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	4.	3,35	3,53	¹⁵ 5,09	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3,74	¹³ 7,1
	5.	5,83	¹⁵ 5,22	7,78	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	6.	9,90	¹⁸ 8,14	9,10	¹⁹ 9,10	6,87	¹⁷ 7,7	11,10	6,18	6,02	8,98	6,69	7,23	²⁷ 2,9	9,49
Larver pr. rod	1.	24	12	45	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	¹⁰ 0,4
	2.	63	68	¹¹⁰ 3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	¹⁰
	3.	204	62	95	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	4.	244	172	¹²³ 5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	¹⁰
	5.	122	¹⁷⁴ 8	556	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	6.	180	¹⁵¹ 2	833	¹⁵⁸ 9	866	¹⁵⁴ 9	197	806	540	555	17	3	¹⁵	32
Forholdstal	6.	21	59	96	68	100	63	23	93	62	64	2	0,3	0,6	4
Larver pr. tiendedel cm ³ rodvolumen	1.	50	15	49	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	¹⁰ 0,4
	2.	73	55	¹⁶⁰	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	¹⁰
	3.	93	56	46	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	4.	73	49	¹⁴⁶	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,5	¹⁰
	5.	21	¹⁴³	71	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	6.	18	¹⁶³	92	¹⁶⁵	126	¹⁷¹	18	130	90	62	3	0,4	¹⁰ 0,7	3
Forholdstal	6.	14	48	71	50	97	55	14	100	69	48	2	0,3	0,5	2

¹ Gns. af 9 planter. ² Gns. af 8 planter.

denne tid grundigt blandet, sigtet og befriet for sten og gamle rodrester m.v.

Forsøget blev planlagt med i alt 11 forsøgsled á 10 pletter med hver en havrekerne til dyrkning i drivhus og undersøgelse for larver i rødderne 6 uger efter kornets fremspiring. For 4 af forsøgsledene er der endvidere regnet med 10 planter til undersøgelse pr. uge indtil 6. uge.

Følgende temperaturvariationer er anvendt ved forsøget, hvis enkelte forsøgsled er nummererede med romertal:

- I. ca. 20°C i 4 døgn (drivhus)
- II. » 20°C i 4 » , 4°C i 10 døgn
- III. » 20°C i 4 » , 4°C i 2 » , 22°C i 2 døgn, 4°C i 2 døgn og 22°C i 2 døgn
- IV. » 20°C i 4 » , 22°C i 5 »
- V. » 20°C i 4 » , 22°C i 14 »
- VI. » 20°C i 4 » , 22°C i 3 » og ÷10°C i 3 døgn
- VII. » 20°C i 4 » , 22°C i 5 » » ÷10°C i 5 »
- VIII. » 20°C i 4 » , 22°C i 8 » » ÷10°C i 8 »
- IX. » 20°C i 4 » , ÷10°C i 3 » » 22°C i 3 »
- X. » 20°C i 4 » , ÷10°C i 5 » » 22°C i 5 »
- XI. » 20°C i 4 » , ÷10°C i 8 » » 22°C i 8 »

350 larver pr. tiendedel cm³ rodvolumen

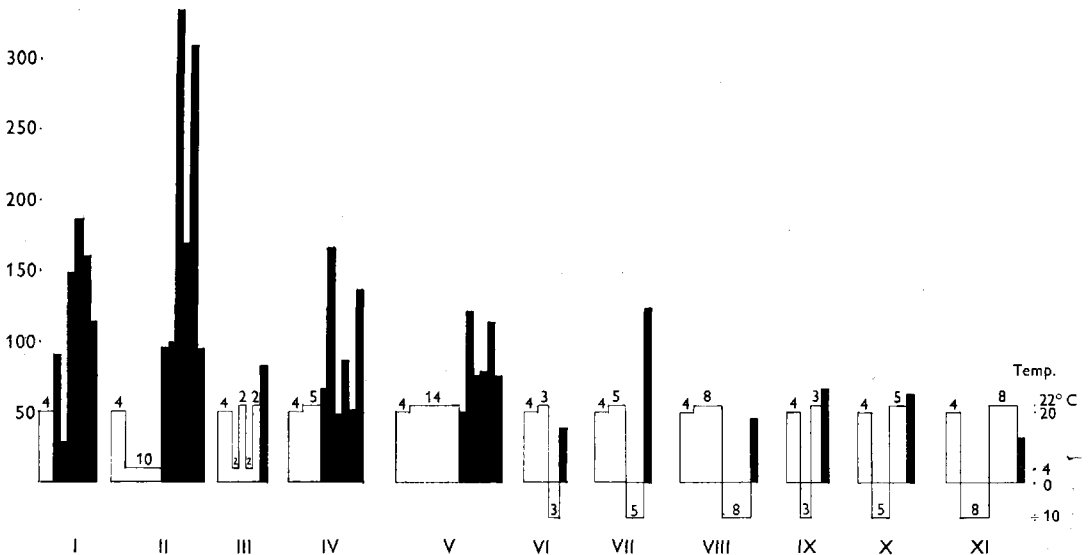


Fig. 3. *Heterodera avenae*. Forårsforsøg 1964. Larver i havrerødder efter 1-6 ugers dyrkning i 8 cm pletter i drivhus. Den smittede jord behandlet med varierede temperaturer. Varigheden i døgn af de anvendte temperaturer anført. Er kun en enkelt søjle anført, viser denne antallet af larver efter 6. uge.

Tabel 4. Forårssørg 1964. Klækningsforsøg med *Heterodera avenae*. Varierende temperaturers indflydelse på havrenematodens angreb på stålhavre dyrket i 8 cm lerpotter i drivhus. 1 plante pr. potte. Jordens smittegrad ca. 4800 æg og larver pr. 250 cm³ jord. Resultaterne gennemsnit af 10 planter

		Behandling										
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
		ca. 20° C i 4 »	ca. 20° C i 4 » 4° C i 10 »	ca. 20° C i 4 » 4° C i 2 » 22° C i 2 » 4° C i 2 » 22° C i 2 »	20° C i 4 » 22° C i 5 »	20° C i 4 » 22° C i 14 »	20° C i 4 » 22° C i 3 » ÷ 10° C i 3 »	20° C i 4 » 22° C i 5 » ÷ 10° C i 5 »	20° C i 4 » 22° C i 8 » ÷ 10° C i 8 »	20° C i 4 » ÷ 10° C i 3 » 22° C i 3 »	20° C i 4 » ÷ 10° C i 5 » 22° C i 5 »	20° C i 4 » ÷ 10° C i 8 » 22° C i 8 »
Fremspiringsdato		24/4	7/5	5/5	1/5	10/5	1/5	7/5	10/5	1/5	7/5	10/5
Rodvolumen i tiendedele cm ³	1.	0,86	0,99	—	0,93	0,99	—	—	—	—	—	—
	2.	0,87	¹ 1,01	—	1,24	1,62	—	—	—	—	—	—
	3.	0,90	¹ 1,99	—	2,11	¹³ 3,89	—	—	—	—	—	—
	4.	2,36	¹² 3,35	—	3,94	¹³ 3,29	—	—	—	—	—	—
	5.	3,18	¹³ 3,22	—	6,70	6,29	—	—	—	—	—	—
	6.	6,19	¹⁵ 5,13	²³ 4,48	5,87	5,80	4,71	5,58	4,35	7,08	5,35	4,53
Larver pr. rod	1.	78	95	—	63	50	—	—	—	—	—	—
	2.	24	¹ 101	—	206	197	—	—	—	—	—	—
	3.	134	¹⁶ 12	—	102	¹² 95	—	—	—	—	—	—
	4.	442	¹³ 99	—	343	¹² 61	—	—	—	—	—	—
	5.	501	¹⁹ 98	—	344	715	—	—	—	—	—	—
	6.	702	¹⁴ 85	² 290	803	439	183	705	194	473	337	146
Forholdstal	6.	87	60	36	100	55	23	88	24	59	42	18
Larver pr. tiendedel cm ³	1.	91	96	—	68	50	—	—	—	—	—	—
	2.	28	¹ 99	—	166	122	—	—	—	—	—	—
	3.	149	¹³ 35	—	48	¹⁷ 6	—	—	—	—	—	—
	4.	187	¹¹ 70	—	87	¹⁷ 9	—	—	—	—	—	—
	5.	161	¹³ 10	—	51	114	—	—	—	—	—	—
	6.	114	¹ 95	² 83	137	76	39	124	45	67	63	32
Forholdstal	6.	83	69	61	100	55	28	91	33	49	46	23

¹ Gns. af 9 planter. ² Gns. af 6 planter.

Vinterforsøg 1965

Den 26. januar 1965 blev der fra mark I henlagt smittet jord i drivhuset. Jorden blev blandet og sigtet som tidligere og var den 16. februar rede til fordeling i plasticposer for opbevaring ved de planlagte forsøgstemperaturer. Opholdet i drivhuset på 10°C – varierende fra 8-12°C.

Forsøget blev planlagt med 11 forsøgsled á 50 pletter med hver to havreplanter (stálhavre) til dyrkning i drivhus og undersøgelse for larver i rødderne 6 uger efter planternes fremspiring. Til forskel fra de tidligere udførte forsøg med kun 10 planter pr. forsøgsled er der her 100 planter, der alle fik lov at vokse i 6 uger, inden forsøget blev afbrudt. Jordens smittegrad ca. 5180 æg og larver pr. 250 cm³ jord.

Følgende temperaturvariationer er anvendt ved forsøget, hvis enkelte forsøgsled er nummerede med romertal:

- I. Dyrkning påbegyndt umiddelbart efter de 21 døgn i drivhuset ved ca. 10°C
- II. 4°C i 5 døgn
- III. 4°C i 10 »
- IV. 4°C i 15 »
- V. 22°C i 5 » , 4°C i 5 døgn
- VI. 22°C i 5 » , 4°C i 10 »
- VII. 22°C i 10 » , 4°C i 5 »
- VIII. 22°C i 10 » , 4°C i 10 »
- IX. 22°C i 5 »
- X. 22°C i 5 » , ÷6°C i 5 »
- XI. ÷6°C i 5 »
- XII. Som II : 4°C i 5 døgn.

I ovenstående oversigt samt i tabel 5 og figur 4, hvor resultaterne er vist, er de 21 døgn i drivhus ved 10°C udeladt. Forsøgsled XII er en gentagelse af forsøgsled II, hvorfor søjle II på fig. 4 er opstået som et gennemsnit af disse to forsøgsled.

Tabel 5. Vinterforsøg 1965. Klækningsforsøg med *Heterodera avenae*. Varierende temperaturers indflydelse på havrenematodens angreb på stálhavre dyrket i 6 uger i 8 cm lerpotter i drivhus. 2 planter pr. potte. 100 planter pr. forsøgsled. Jordens smittegrad ca. 5180 æg og larver pr. 250 m³ jord. Al jorden har henligget 21 døgn i drivhus ved ca. 10°C, inden behandlingen påbegyndtes.

Forsøgsled nr.	Behandling	Antal planter	Tørvægt af rodmasse i g	Antal nematoder i alt	Nematoder pr. plante	Nematoder pr. 0,5 g rod-tørv.	Forholdstal
I	Kun 21 døgn i drivhus ved ca. 10°C.	100	5,7085	63363	634	5550	65
II	4°C i 5 døgn	100	7,7692	119218	1192	7670	90
III	4°C i 10 »	100	9,3361	121219	1212	6490	77
IV	4°C i 15 »	100	8,3124	134917	1349	8120	96
V	22°C i 5 »	100	11,9515	165504	1655	6920	82
	4°C i 5 »						
VI	22°C i 5 »	100	9,5671	162505	1625	8490	100
	4°C i 10 »						
VII	22°C i 10 »	100	7,6791	108855	1089	7090	84
	4°C i 5 »						
VIII	22°C i 10 »	100	13,2050	140081	1401	5300	62
	4°C i 10 »						
IX	22°C i 5 »	100	8,3873	109691	1097	6540	77
X	22°C i 5 »	100	9,6130	108136	1081	5620	66
	÷ 6°C i 5 »						
XI	÷ 6°C i 5 »	100	7,4423	100273	1003	6740	79
XII	Som II: 4°C i 5 døgn	100	8,8332	100963	1010	5710	67

11000 larver pr. 0,5 g rod-tørvægt

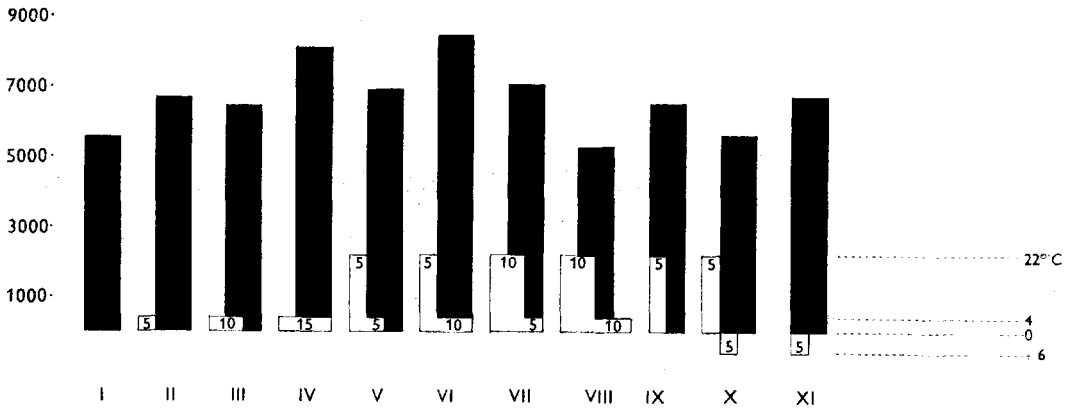


Fig. 4. *Heterodera avenae*. Larver i havrerødder efter 6 ugers dyrkning i 8 cm pottes i drivhus. Den smittede jord behandlet med varierede temperaturer. Varigheden i døgn af de anvendte temperaturer anført. Al jorden har forinden de viste behandlinger været opbevaret i 21 døgn i drivhus ved 8-12°C.

Forsøgsled I blev iværksat umiddelbart efter de 21 døgn henliggen af jorden.

Jorden til de øvrige forsøgsled blev i lukkede plasticposer anbragt ved de respektive temperaturer og blev pottet og tilsået efterhånden, som temperaturbehandlingerne tilendebragtes.

Resultaterne vil blive kommenteret under »Gennemgang af forsøgsresultater«.

Efterårsforsøg 1965

Den 13. oktober 1965 blev der hentet smittet jord fra mark I. Jorden var umiddelbart meget bekvem og blev derfor straks sigtet og grundigt blandet for derefter, den 16. oktober, i lukkede plasticposer at blive fordelt på de respektive forsøgstemperaturer.

Forsøget var planlagt med 13 forskellige temperaturbehandlinger, og i dette forsøg er behandlingstiden for samtlige 13 forsøgsled den samme, nemlig 20 døgn.

Også jorden til forsøgsled I, hvis behandling var drivhustemperatur i de samme 20 døgn, opbevarede i lukkede plasticposer. Temperaturen omkring disse svingede mellem 5 og 15°C; den første uge med daglige svingninger mellem 5 og 13°C, den følgende uge var temperaturen ret konstant med udsving mellem

9 og 11°C bortset fra et par dage, hvor den nåede op på godt 15°C. Den sidste uge lå temperaturen ret konstant på meget nær 10°C.

Følgende temperaturvariationer er anvendt ved forsøget, hvis enkelte forsøgsled er nummerede med romertal:

- I. Drivhus i 20 døgn. Gennemsnitstemperatur ca. 10°C
- II. 4°C i 20 døgn
- III. 4°C i 15 » , 22°C i 5 døgn
- IV. 4°C i 10 » , 22°C i 10 »
- V. 4°C i 5 » , 22°C i 15 »
- VI. 22°C i 20 » ,
- VII. 22°C i 15 » , 4°C i 5 »
- VIII. 22°C i 10 » , 4°C i 10 »
- IX. 22°C i 5 » , 4°C i 15 »
- X. 22°C i 10 » , ÷15°C i 10 »
- XI. ÷15°C i 20 » ,
- XII. ÷15°C i 10 » , 4°C i 10 »
- XIII. ÷15°C i 10 » , 22°C i 10 »

I ovenstående oversigt samt i tabel 6 og fig. 5, hvor resultaterne vises, er temperaturpåvirkningen i de 3 døgn i drivhuset, fra den 13.-16. oktober, ikke medregnet, men temperaturen svarede i øvrigt i disse dage til den, der var herskende i drivhuset i den første uge af 20 døgn perioden.

Tabel 6. Efterårsforsøg 1965. Klækningsforsøg med *Heterodera avenae*. Varierende temperaturs indflydelse på havrenematodens angreb på stålhavre dyrket i 6 uger i 8 cm lerpotter i drivhus. 2 planter pr. potte, 100 planter pr. forsøgsled. Jordens smittegrad ca. 4880 æg og larver pr. 250 cm³ jord. Al jorden har ligget 3 døgn i drivhus ved ca. 10° C, inden behandlingen påbegyndtes.

For- søgsled nr.	Behandling	Antal plan- ter	Tørvægt af rod- masse i g	Antal nematoder i alt	Nematoder pr. plante	Nematoder pr. 0,5 g rod-tørv.	For- holds- tal
I	Drivhus i 20 døgn ved gns. ca. 10° C	100	0,9903	20192	202	10190	78
II	4° C i 20 døgn	100	1,4130	20450	205	7240	56
III	4° C i 15 »	100	1,4014	36397	364	12990	100
	22° C i 5 »						
IV	4° C i 10 »	100	1,3525	19006	190	7030	54
	22° C i 10 »						
V	4° C i 5 »	100	1,5124	14552	146	4820	37
	22° C i 15 »						
VI	22° C i 20 »	100	1,4252	7620	76	2670	21
VII	22° C i 15 »	100	1,4697	23510	235	8000	62
	4° C i 5 »						
VIII	22° C i 10 »	100	1,4169	20870	209	7360	57
	4° C i 10 »						
IX	22° C i 5 »	90	1,5461	28982	322	9370	72
	4° C i 15 »						
X	22° C i 10 »	100	1,1839	897	9	380	2,8
	÷ 15° C i 10 »						
XI	÷ 15° C i 20 »	100	1,1092	1834	18	830	6,4
XII	÷ 15° C i 10 »	100	1,4147	1192	12	420	3,2
	4° C i 10 »						
XIII	÷ 15° C i 10 »	80	0,7287	412	5	280	2,2
	22° C i 10 »						

larver pr. 0,5 g rod-tørvægt

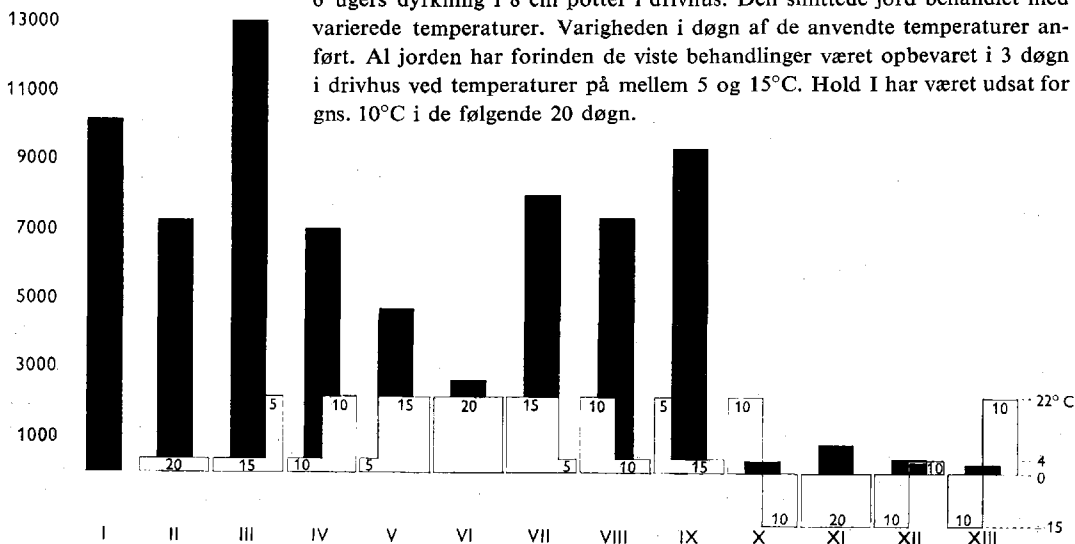


Fig. 5. *Heterodera avenae*. Efterårsforsøg 1965. Larver i havrerødder efter 6 ugers dyrkning i 8 cm potter i drivhus. Den smittede jord behandlet med varierede temperaturer. Varigheden i døgn af de anvendte temperaturer anført. Al jorden har forinden de viste behandlinger været opbevaret i 3 døgn i drivhus ved temperaturer på mellem 5 og 15° C. Hold I har været udsat for gns. 10° C i de følgende 20 døgn.

Straks efter temperaturbehandlingernes afslutning blev jorden pottet i otte cm lerpotter i drivhuset. 50 pletter à 2 planter, 100 planter pr. forsøgsled. For ikke at risikere spring i planterne blev der anvendt forspirede havrekerner, men også forspirede kerner kan være dårlige på grund af skimmelangreb, hvorfor følgende lille test udførtes på havrekerner lagt til spiring på fugtigt filtrerpapir i en petriskål.

	Antal spiret	Antal uspiret	Spiringsprocent	Bemærkning
I. Kernerne neddyppet i 10% sublimat i 15 min., derefter skyllet og lagt til spiring på fugtigt filtrerpapir i petriskål.....	44	10	81,5	Ingen svampevækst. Rodhår korte
II. Filtrerpapir fugtet med 1% sublimat.....	61	1	98,4	Let svampevækst. Rodhår ret lange
III. Filtrerpapir fugtet med 0,1% sublimat.....	60	0	100	Kraftig svampevækst. Rodhår lange

Fremgangsmåde nr. II blev benyttet ved spiringen af stålhavre til forsøget.

Alle planterne holdtes i vækst i 6 uger, hvorefter rødderne blev undersøgt for indhold af larver. Jordens smittegrad ca. 4 880 æg og larver pr. 250 cm³ jord.

Resultaterne kommenteres under »Gennemgang af forsøgsresultater«.

Klækningsforsøg, sommeren 1966

Endelig startedes ultimo juni 1966 et mindre

klækningsforsøg for at undersøge, hvorvidt den smittede jord havde mistet sin infektionsgrad efter længere tids opbevaring ved forskellig temperatur og fugtighed.

Følgende kombinationer blev sammenholdt:

- I Smittet jord opbevaret i plasticpose i køleskab ved ca. 4°C siden februar 1964.
- II Smittet jord opbevaret i plasticpose ved ca. 22°C siden december 1965.

III Smittet jord opbevaret i åben plasticpose i drivhus siden december 1965.

IV Som I, men anbragt ved stuetemperatur de sidste 14 dage.

Forsøget blev udført i drivhus i otte cm lerpotter med stålhavre som værtplante. Materialet var ret sparsomt, derfor temmelig få planter pr. forsøgsled. Planternes rødder blev undersøgt for indhold af larver 6 uger efter fremspiringen. Jordens smittegrad var i alle tilfælde rundt regnet 5 000 æg og larver pr. 250 cm³ jord.

Tabel 7. Klækningsforsøg juni-juli 1966 med *Heterodera avenae*. Indflydelsen af langtidsopbevaring og jordfugtighed på larvernes angreb på stålhavre dyrket i 6 uger i 8 cm lerpotter i drivhus. Jordens smittegrad ca. 5000 æg og larver pr. 250 cm³ jord

	I	II	III	IV
Jordfugtighed, pct.....	13,4	24,8	3,0	13,4
Antal planter i forsøget.....	19	16	17	18
Tørvægt af rodmasse i gram.....	1,4746	1,1834	1,0812	1,1929
Antal nematoder i alt.....	2854	9147	4425	205
Nematoder pr. plante, gns.....	150	572	260	11
Nematoder pr. 0,5 g rod-tørvægt ...	970	3860	2050	90

ad I. Smittet jord opbevaret i plasticpose ved ca. 4°C siden februar 1964.

ad II. Smittet jord opbevaret i plasticpose ved ca. 22°C siden december 1965

ad III. Smittet jord opbevaret i åben plasticpose i drivhus siden december 1965

ad IV. Som I men anbragt ved stuetemperatur de sidste 14 dage.

Resultaterne fremgår af tabel 7 og fig. 6.

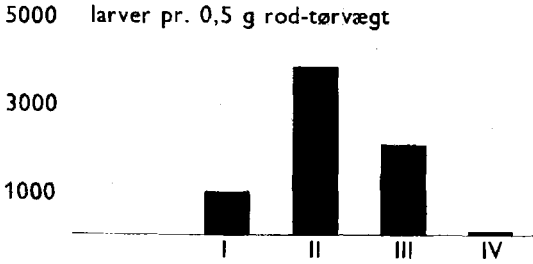


Fig. 6. *Heterodera avenae*. Klækningsforsøg juni-juli 1966

Vandindholdet, der er opført i tabel 7, er et udtryk for tilstanden umiddelbart før, forsøget blev startet.

Kommentarer følger under »Gennemgang af forsøgsresultater«.

Metodik

Kvantitative undersøgelser for nematoder lider stadig under ofte at være et meget tidskrævende arbejde, med mindre man for tilfældet råder over en egnet metode, der kan lette tællearbejdet. Tællearbejdet er stadig det primære, men man kan hjælpe sig ved at tælle flere eller færre af det totale antal, dersom metoden synes tilstrækkelig sikker.

I den netop omtalte forsøgsrække er den kvantitative side af de to forsøg i 1964 gennemført ved simpelthen at tælle samtlige larver i alle rødder. Dette kunne gøres, fordi rodmassen af den enkelte plante kun var af størrelsesordenen 1 cm³. Rodmassen blev bestemt ved at fjerne resterne af den gamle kerne, trykke rødderne af mellem stykker af filterpapir og sænke de enkelte rødder ned i et passende måleglas med vand og aflæse rumfangsforøgelsen.

Det meget ringe antal planter – hvert resultat fra de to forsøg i 1964 er et gennemsnit af kun 10 planter – giver ikke den ønskede sikkerhed for de opnåede forsøgsresultater, hvad der tydeligt afspejles i histogrammerne på fig. 2 og 3. For at mindske usikkerheden blev planteantallet i de følgende forsøg øget til 100 pr. forsøgs-

led, men dette gjorde det samtidig nødvendigt at udarbejde en ny metodik for larvetællingen.

Alene af hensyn til selve tællearbejdet er rødderne kogt i lactofenol-syrefuchsin, hvorved de og eventuelle nematoder farves røde. En efterfølgende skylning i vand fjerner overskud af farve samt en del af den af rødderne optagne farve, hvorimod nematoderne bevarer en kraftig rødfarvning, der dog efterhånden kan forsvinde, når rødderne gennem flere timer holdes fugtede af vand med alkalisk reaktion, hvorfor der som regel er tilsat et par dråber iseddike til vandet, hvormed rødderne holdes fugtige under tællearbejdet. På denne måde kan også farve, der er forsvundet på grund af alkalisk reaktion genvindes. Til farvning kan også anvendes kogning i lactofenol-cottonblue.

Efter farvningen klippes rødderne i småstykker af nogle få mm's længde, så de er lettere at håndtere under stereomikroskopet.

Ved afbrydelsen af forsøgene blev jorden løsnet fra pottetvæggen, så planterne let kunne tages ud, hvorefter rødderne forsigtigt, men grundigt blev skyllet i vand for at blive frigjorte for jordrester m.v. samt små kvartskorn. Med et antal af 10 rødder pr. glas blev rødderne fra hvert forsøgsled fordelt på 10 glas (ialt 100 rødder), hvori der hældtes 4 % formalin, så rødderne kunne opbevares, til der senere var tid til at undersøge dem.

Ved larvetællingerne blev rodmassen i hvert sådant glas med 10 rødder benyttet som en enhed, i hvilken man ønskede at bestemme larveantallet. De anførte resultater for de to forsøg i 1965 er alle gennemsnit af 10 sådanne bestemmelser.

Imidlertid er det ganske uoverkommeligt at tælle samtlige larver i så store rodmasser. Der må på en eller anden måde udtages en prøve, som kan være repræsentativ for hele rodmassen.

I første omgang blev det forsøgt at lave en sugepipette af to glasrør med sådanne dimensioner, at det ene netop passede inden i det andet og lukket i den øverste ende, som et stemmel kunne bevæges op og ned i det andet, hvis indvendige diameter var 7 mm, en lysning der

netop var tilstrækkelig lille til at hindre det op-sugede vand i at løbe ud igen, men også stor nok til at tillade de klippede rødder at blive suget med op uden for stor risiko for sammenhobning ved munden.

De ti rødder fra et glas blev farvede, klippede og sammen med vand fyldt i et bægerglas til bestemt rumfang. Under samtidig omrøring ved hjælp af en vibrator, blev der med sugepipetter udtaget to prøver af bestemt rumfang, i hvilke larver blev talt.

Metoden viste sig at have to væsentlige ulemper: 1. Resultaterne fra to udtagne prøver af samme rodmasse kunne af og til udvise meget store afvigelser og 2. ved at sammenligne resultaterne fra de udtagne prøver med de resultater, der fremkom ved at tælle samtlige larver i rodmassen, hvorfra prøverne var udtaget, viste det sig, at for mindre værdier grupperede prøve-resultaterne sig pænt lige omkring den fundne værdi, men for større værdier øgedes spredningen, og for de største værdier var der udpræget tendens til, at prøveresultaterne lå under de fundne værdier. Metoden måtte således kasseres.

Ved hjælp af en ny analysevægt blev det muligt at benytte den metode, der i øvrigt er anvendt ved disse forsøg. Efter farvning og klipning blev rodmassen under omrøring hældt ud på et i forvejen vejlet filterpapir i en büchnertragt, som vandet blev suget fra. At det sker under omrøring skyldes, at der blandt og på rodstumperne befinder sig en del nydannede cyster, og at de løsrevne af disse ønskes jævnt fordelt i rodmassen. Med en pincet blev der taget udpluk, og de samlede udpluk udgjorde den prøve, hvori der skulle tælles larver. (Der har for nemheds skyld hele tiden været tale om larver, men cyster og hanner blev naturligvis også talt med). Resten af rodmassen blev i filterpapiret tørret ved 100°C i 24 timer og vejlet. Efter tælling af larver i den udtagne prøve, blev denne hældt over på et filterpapir af kendt vægt og ligeledes tørret ved 100°C i 24 timer og vejlet. Da nu således både vægten af rodprøven og vægten af den samlede rodmasse (rodprøve + resterende rodmasse) er kendt, lige-

som antallet af larver i rodprøven, er det såre enkelt at beregne det totale antal larver i rødderne, eller som det er anført i tabellerne: antal nematoder pr. 0, 5 g rod-tørsvægt.

Naturligvis kan det indvendes, at der ved rødderne hænger en del kvartskorn, der ikke er blevet fjernet, og som vil blive vejlet med, og at vægten af disse betyder forholdsvis mere efter rodmassens tørring. Det er også rigtigt, men mængden er trods alt så ringe, at det må anses for ret betydningsløst, når blot rødderne er blevet omhyggeligt rensede efter udtagningen fra potterne. Dertil kommer, at en stor del af de vedhængende kvartskorn efterlades som bundfald efter kogning af rødderne og således ikke når med over i büchnertragten, ligesom den fejl, der opstår, virker i samme retning ved alle beregningerne. Sammenlignet med variationen imellem de enkelte planter kan en sådan fejl anses for ret betydningsløs.

IV. Gennemgang af forsøgsresultater

Udfaldet af den orienterende undersøgelse var lovende. Der var betydelig forskel på antallet af klækkede larver efter de enkelte temperaturbehandlinger. Udslagene var så tydelige, at de trods det ringere materiale ikke blot kunne betragtes som tilfældigheder. Særligt bemærkelsesværdigt er det store udslag i sandkulturer såvel som i vandbad i laboratoriet efter behandling II: 22°C i 10 døgn efterfulgt af 4°C i 35 døgn. Endvidere viste det sig ved klækningen i vandbad, at larverne efter denne behandling var klækningsdygtige umiddelbart efter temperaturbehandlingsens ophør. Allerede efter de første to døgn i vandbad var der klækket flere larver end ved nogen to døgn periode overhovedet for de fire øvrige behandlinger. For disse forløb der ca. en uge, inden der viste sig klækkede larver. Forskellen her var knapt så overbevisende for sandkulturenes vedkommende, hvor endog klækningen efter behandling II viste sig særdeles sparsom den første uge.

Det skal bemærkes, at der efter behandling II i vandbad i laboratoriet blev klækket 45 % af det totale cysteindhold. *Shepherd* (1962) anfører, at klækningen for *Heterodera avenae* i

vandbad er moderat; omkring 15 % af det levende cysteindhold. Hvis det er rigtigt, må det her opnåede resultat være et udtryk for temperaturbehandlingens indflydelse. Efter behandling I, III, IV og V klækkedes i vandbad henholdsvis 3,8, 11,6, 2,8 og 0 % af cysteindholdet. Klækningen i vandbad blev fulgt over en periode på ca. 1½ måned. Indenfor den sidste uge af denne periode fandtes ingen klækkede larver.

Sammenlignes for de fem behandlinger klækningsresultaterne fra sandkulturer med havre, sandkulturer uden havre og vandbad i laboratoriet, er tendensen den samme i alle tre tilfælde. Dog er der for behandling V; 4°C i 13 døgn efterfulgt af ÷16°C i 28 døgn og ÷10°C i 4 døgn, i sandkulturen med havre opnået en vis klækning, og en del af larverne har endog været livskraftige nok til at trænge ind i rødderne, hvorimod man for samme behandling i de to andre tilfælde måske kunne få det indtryk, at behandling V virker aldeles dødbringende på cysternes larveindhold.

I de forsøg, der har været udført til og med 1965 har en del af behandlingsperioden for visse forsøgsled været en frostperiode. En gennemgang af disse forsøgsled vil hurtigt afsløre, at selv temperaturer på helt ned til ÷20°C ikke er 100 % dødbringende, i hvert fald ikke når varigheden højst er 10 døgn, selv om det må indrømmes at være tæt ved. Temperaturer på ÷15°C reducerer ligeledes klækningen særdeles kraftigt, hvorimod der trods alt kan opnås endda særdeles pæne klækninger efter en temperaturpåvirkning på kun ÷10°C.

Betragter man imidlertid figureerne, specielt fig. 2, V-X og fig. 3, VI-XI samt fig. 5, X-XIII, synes det ret tydeligt at fremgå, at det ikke blot er et spørgsmål om minusgrader alene, men at der ved kombination af en frostperiode med varmeperiode opnås en kraftig klækningsreduktion, samt at denne virkning tiltager med såvel frost- som varmeperiodens længde. Der synes ikke ud fra det foreliggende materiale at være nogen forskel på, om varmeperioden falder før eller efter frostperioden.

Fænomenet kan delvis forklares ved at antage, at larverne ved at blive udsat for øget

temperatur aktiveres, at forstå således, at stofskiftet sættes i vejret, hvorved en ekstra energireserve forbrændes. Larver, der således er rykket ud af hvilestadiet er mere sårbare overfor ugunstige påvirkninger som f.eks. frostgrader. Dette forklarer dog ikke, hvorfor klækningsreduktionen gennemgående synes den samme, når varmeperioden følger efter frostperioden. De to behandlingsmåder virker så at sige ens, men det må ikke glemmes, at jorden til samtlige forsøgsled, for hvilke en sammenligning synes mulig, har haft et ophold af kortere eller længere varighed i drivhus og altså har været udsat for en varmepåvirkning, inden temperaturbehandlingerne blev iværksat.

At en varmepåvirkning med en ellers gunstig temperatur kan virke hæmmende på angrebet af havrenematodens larver, gives der et eksempel på i klækningsforsøget sommeren 1966 – tabel 7 og fig. 6. Her havde den inficerede jord, der anvendtes til både forsøgsled I og IV, været opbevaret i lukket plasticpose i ca. 2½ år ved 4°C siden forårsforsøget 1964. Desuden blev IV udsat for stuetemperatur de sidste 14 dage. Jordens vandindhold var i begge tilfælde 13,4 %, men mens der i forsøgsled I var 970 larver pr. 0,5 g rod-tørvægt, var der i forsøgsled IV kun 90. Sammenholdt med klækningsresultaterne fra forårsforsøget 1964 er det ganske klart, at den lange tids opbevaring har mindsket larveangrebet betydeligt. Mange larver må være gået til grunde i den mellemliggende periode, hvad der kun var forventet, men de sidste 14 dage ved stuetemperatur har formodentlig for forsøgsled IV's vedkommende aktiveret de endnu leve- og klækningsdygtige larver; har accelereret stofskifteprocesserne med dertil svarende øget energiforbrug, hvorved yderligere en del af de i forvejen udpinte larver er blevet ude af stand til at klare indtrængning i rodvævet. Forskellen på de to forsøgsled er i virkeligheden en forskel i angrebsintensitet og ikke nødvendigvis en klækningsdifferens.

Klækningen i sand med havre – i den orienterende undersøgelse – blev først undersøgt efter udgangen af 5. uge regnet fra planternes fremspiring. De enkelte søjler på histogrammet

for denne del af undersøgelsen, fig. 1, angiver altså ikke nogen egentlig variation i klækningsforløbet, men udelukkende klækningen i hver af de fem behandlinger. Den store variation indenfor den enkelte behandling er et klart udtryk for usikkerheden ved så lille materiale, men tendensen er trods alt tydelig nok. Behandling II ligger sikkert i spidsen efterfulgt af behandling III hvad angår antal larver i rødderne og klækkede larver i øvrigt.

Det totale antal æg og larver er bestemt i hvert enkelt tilfælde i denne undersøgelse, se tabel 1 og 2. Variationen i cysteindholdet synes ikke at kunne have haft indflydelse på klækningsresultaterne.

Om begge de to vinterforsøg 1964 kan indvendes, at resultaterne er baserede på et for lille antal planter. I stedet for at have taget et antal planter (10) ud til undersøgelse hver uge, som det er gjort i enkelte af forsøgsleddene, havde det været bedre, om alle disse var indgået i en undersøgelse efter 6. uge. Det ville have betydet meget for sikkerheden på de enkelte resultater. Resultaterne for de enkelte uger viser stort set kun tilfældige variationer; atter et udtryk for stor usikkerhed på grund af for ringe planteantal. Dog får man et indtryk af, at fuld anrebsstyrke først kan forventes i løbet af 2-3 uger, samt at det på den anden side er nødvendigt at tage planterne op efter ca. 5 ugers forløb, hvis rødderne skal undersøges på tidspunktet for det maximale indhold af larver. Årsagen hertil må være, at larverne efter ca. 5 ugers forløb er så langt fremme i udviklingen – i hvert fald under drivhusforhold, at hannerne forlader rodvævet for at opsøge hunnerne, der er begyndt at vise sig udenpå roden som nydannede cyster. Hannerne befinder sig således allerede i jorden og nogle af cysterne vil mistes under optagningen og skylningen af rødderne.

Endvidere kan mod det første vinterforsøg 1964 indvendes, at jordens ophold i drivhus indtil temperaturbehandlingernes påbegyndelse ikke er af samme varighed for alle forsøgsled. Dette modvejes til dels af, at det tager tid at opvarme en større portion frossen, fugtig jord til 10°C, selv om den både blev spredt ud og

skovlet om. Endelig synes en opvarmning til 10°C ikke at være nær så klækningspåvirkende som en opvarmning til 22°C.

På figurerne for forsøgene i 1964 er drivhustemperaturen og dens varighed forud for temperaturbehandlingerne indtegnet. Dette er derimod ikke tilfældet for 1965 forsøgene.

Klækningen i vinterforsøget 1964 nåede ikke op på højde med klækningen i andet forsøg samme år, hvor det største antal larver i rødderne er at finde i forsøgsled II: ca. 20°C i 4 døgn (drivhus) efterfulgt af 4°C i 10 døgn (tabel 4 og fig. 3). Jordens smittegrad var imidlertid også mindst i vinterforsøget.

Resultaterne af forsøgene i 1964 er ikke kvantitativt sammenlignelige med dem fra forsøgene i 1965, da beregningen af de sidstnævnte er sket på vægtbasis, og de førstnævnte på rumfangsbasis. Resultaterne af 1965 forsøgene er imidlertid langt mere pålidelige, da forsøgene er udført på et stort antal planter.

Det er ikke de voldsomme udsving, der præger den første forsøgsserie i 1965 (tabel 5 og fig. 4), hvilket kan skyldes, at jorden har opholdt sig i tre uger i drivhus ved ca. 10°C ($\pm 2^\circ$). Den efterfølgende behandling med 4°C viser tendens til stigende klækning indtil en behandlingsperiode på 15 døgn (længere varighed blev ikke forsøgt), hvorved denne forsøgsseries næstbedste resultat er opnået. Bedste resultat opnåedes i forsøgsled VI, hvor der er behandlet med 22°C i 5 døgn efterfulgt af 4°C i 10 døgn. Forskellen på disse to resultater er dog ikke sikker. Hvis varmeperioden forlænges, ses det, at klækningen aftager.

For forsøgsserien i efteråret 1965 (tabel 6 og fig. 5) har drivhusopholdet forud for temperaturbehandling, der for samtlige forsøgsled er af samme varighed, været kort, nemlig 3 døgn ved temperaturer på mellem 5 og 15°C. Sammenligner man med de forudgående forsøg, ligger atter her klækningen højt for en kortvarig opvarmning til 22°C efterfulgt af en noget længere periode på kun 4°C. (Forsøgsled IX: 22°C i 5 døgn efterfulgt af 4°C i 15 døgn). Dette forsøgsled ligger nogenlunde på linie med forsøgsled VI i vinterforsøget 1965. Ikke desto

mindre har forsøgsled I, der opbevaret i plasticposer i hele behandlingsperioden, altså 20 døgn, har været udsat for en gennemsnitlig temperatur på ca. 10°C, givet større klækning. Bedste resultat er imidlertid opnået i forsøgsled III, der blev behandlet med 4°C i 15 døgn efterfulgt af 22°C i 5 døgn. Efter denne behandling er fundet 13 000 larver pr. 0,5 g rod-tørvægt. Næstbedste resultat er forsøgsled I med godt 11 000. Der er på afdelingen opnået meget fine resultater med lignende behandling anvendt på overvejende nydannede cyster.

Et interessant træk ved denne forsøgsserie er, at der sker et jævnt fald i antallet af larver pr. g rod-tørvægt, efterhånden som behandlingens varmeperiode på 22°C forlænges på bekostning af den forudgående kuldeperiode på 4°C. Tilsvarende sker der atter en stigning i antallet af larver i rødderne, når den 20 døgn varmeperiode gradvis erstattes og efterfølges af en kuldeperiode på 4°C.

Venligst bistået af afdelingsbestyrer K. Dorph-Petersen er på forsøgene i 1965 udført en variansanalyse. Beregningen af antal larver pr. vægtenhed er jo bl.a. foretaget ved at opdele hvert forsøgsled i 10 hold à 10 planter. For vinterforsøget viser en variansanalyse af 10 planter pr. hold (gns. antal larver pr. 0,5 g rod-tørvægt – se tabel 5), at der er en særdeles sikker variation mellem holdgennemsnit ($P < 0,001$), og at forskelle mellem holdgennemsnit større end L.S.D. = 225 er signifikant.

For efterårsforsøget gælder, at forskellen mellem forsøgsled II-V og de øvrige 9 forsøgsled er umiddelbar sikker (gns. antal larver pr. 0,5 g rod-tørvægt – se tabel 6). For de sidstnævnte 9 forsøgsled I og VI-XIII viser en variansanalyse, at variationen mellem forsøgsledsgennemsnit er særdeles signifikant ($P < 0,001$) og forskelle mellem forsøgsledsgennemsnit større end L.S.D. = 388 er signifikante ($P < 0,05$). Indenfor forsøgsled II-V er forsøgsled II signifikant forskellig fra de øvrige.

Endelig viser forsøget fra sommeren 1966 endvidere, at en langtidsopbevaring af smittet jord i lukket plasticpose nedsætter antallet af larver, der trænger ind i værtplantens rødder.

Ca. 2½ års opbevaring ved 4°C har mindsket larveantallet betydeligt (tabel 7 og fig. 6 sammenholdt med tabel 4 og fig. 3).

Udtørring af jorden til et vandindhold på 3,0 %, som det her for forsøgsled III gradvist er sket ved henstand af jorden i åben plasticpose i ½ år, har ikke virket så kraftigt som forventet, men har dog reduceret larveantallet med ca. 50 % sammenlignet med tilsvarende jord med et vandindhold på 24,8 %.

Konklusion

Havrenematodens (*Heterodera avenae*) klækningsmekanisme viser sig at være temperaturpåvirkelig. På friland regnes med en generation årligt, der stort set klækkes i perioden april-juni. Derefter synes nematoden at falde i en hvileperiode, der først brydes efter den følgende vinter.

Det har vist sig muligt at bryde denne hvileperiode og opnå flere generationer ved at udsætte cystemateriale for passende temperaturvariationer. I flere tilfælde har en kombination af en kortvarig varmeperiode (20 à 22°C i 4-10 døgn) og en efterfølgende, længere kuldeperiode (4°C i 10-34 døgn) givet gode resultater.

Alene i et enkelt forsøg har den modsatte kombination været forsøgt, nemlig en lang kuldeperiode (4°C i 15 døgn) efterfulgt af en kort varmeperiode (22°C i 5 døgn). Denne behandling har så afgjort givet det bedste klækningsresultat – udtrykt ved antal larver i rødder af stålhavre.

Når det ud fra de hidtil opnåede forsøgsresultater anbefales at anvende sidstnævnte behandlingsmetode, skal det samtidig anføres, at varmeperioden ikke må forlænges – i hvert fald ikke på bekostning af kuldeperioden.

En behandling med frostgrader virker reducerende på antallet af larver, der trænger ind i rødderne. Frostgrader på mellem nul og ÷10°C virker kun svagt reducerende, når behandlingstiden er indenfor 10 døgn; men virkningen forstærkes, når frie cyster behandles over længere perioder. Frostgrader på mellem ÷10 og ÷20°C virker stærkt reducerende.

Kombineres frostperioden med en varmeperiode, forstærkes den klækningsreducerende virkning, der atter forstærkes ved forlænget behandlingstid. Der er muligvis tale om en indirekte klækningsreduktion, idet det meget vel kan tænkes, at klækningen er den samme som ved behandling med en frostperiode alene, men at det er varmebehandlingen, der har øget larvernes stofskifte og gjort dem mindre modstandsdygtige overfor frostgrader, eller at allerede svækkede larver i løbet af en relativ kortvarig varmeperiode kan forbruge så megen energi, at de bliver ude af stand til at trænge ind i planternes rødder.

En opvarmning til 22°C i 14 døgn af smittet jord, der havde været opbevaret i 2½ år ved ca. 4°C reducerede angrebet på rødderne med ca. 90 % sammenlignet med ikke-opvarmet jord. Luftørring af jord gennem ½ år reducerede havrenematodens angreb med ca. 50 %.

Når *Heterodera avenae* er almindeligt udbredt i tempererede zoner, men ikke i troperne, er det nærliggende at antage, at den forholdsvis ringe temperaturvariation i det tropiske område er årsagen. Klækningsmekanismen bliver simpelthen ikke udløst under tropiske forhold.

Summary

The influence of alternating temperatures on the hatching of the oat nematode (Heterodera avenae)
A series of experiments on the influence of alternating temperatures on the hatching of the oat nematode (*Heterodera avenae*) has been carried out. It is shown that the hatching mechanism of the oat nematode is influenced by temperature, also that it is possible to obtain a considerable attack on oats in the greenhouse, at times out of the normal hatching season, by exposing infested soil to suitable alternating temperatures.

Cysts, kept in a closed glasstube at 100 pct. air humidity, at temperatures of 22°C for 10 days and 4°C for 35 days, produced a hatch of 45 pct. of the total cyst content of 2 471 eggs and larvae when hatched in a water bath at room temperature. The cysts were from infested soil taken from the field in the middle of December.

Infested soil taken from the field in October

and in January and kept in closed plastic bags at temperatures of 20-22°C for 4-5 days and 4°C for 10-15 days, yielded good attacks on oats grown for 6 weeks in 8 cm pots in greenhouse. About 9 000 larvae and young females per 0,5 g of root dry-weight were obtained. The infestation level was about 5 000 eggs and larvae per 250 cm³ of soil. It was necessary before the treatment to store the soil some days in the greenhouse where the temperature was about 10°C.

Infested soil taken from the field in October and kept in closed plastic bags, yielded the best attack on oats grown for 6 weeks in 8 cm pots in the greenhouse, when exposed to temperatures of 4°C for 15 days and 22°C for 5 days. Before the treatment was initiated the soil was kept in the greenhouse for 3 days at about 10°C. The attack was estimated at 13 000 larvae and young females per 0.5 g of root dry-weight. The infestation level was about 5 000 eggs and larvae per 250 cm³ of soil and there were 2 plants per pot.

When the hatching period was extended to include all 20 days of the total treatment period, there was a corresponding fall in the number of larvae per 0.5 g root dry-weight, so the final number was only 2 000 larvae. The heating period must not be extended at the expense of the cold period.

Freezing periods reduce the hatching. Temperatures between 0 and -10°C have little effect. Temperatures between -10°C and -20°C have a strong reducing effect dependent upon the duration of the treatment. The reducing effect seems to be somewhat stronger, when the freezing period is combined with a heating period, whenever this is before or after the freezing period.

Maybe the cause is, that the heating period will activate the nematodes so that they are brought out of their resting state and are less resistant to adverse conditions, like a freezing period, or weakened nematodes, under a heating period, use so much energy, that they are not capable of entering the roots. In this way, heating to 22°C for 14 days of infested soil, stored for 2½ years at 4°C, has reduced the attack on the roots by nearly 90 pct. compared to non-heated soil. Air drying of soil during ½ year reduced the attack of the oat nematode by about 50 pct.

Maybe this temperature regulated hatching mechanism is the reason why the oat nematode is widespread in temperate areas but not in the tropics.

Translation

af	of
al	all
angreb	attack
antal	number
anvendte	used
behandling	treatment
behandlet	treated
ca.	about
cyster	cysts
de	the
drivhus	greenhouse
dyrkning	growing, cultivation
døgn	day(s)
efterår	autumn
en	one
enkelt	single
forholdstal	proportional
forinden	before
forsøg	experiment
forsøgsled	experimental unit, batch
forår	spring
fugtighed	humidity
følgende	following
genemsnit, gns.	mean
havre	oats
hveranden dag	every second day
i alt	total
indflydelse	influence
jord	soil
klækning	hatching
kun	only
langtidsopbevaring	long term storage
larver	larvae
lerpotter	claypots
luft	air
mark	field
med	with
mellem	between
men	but
måned	month
og	and
opbevare	store
pose	bag
potter	pots
rod	root
rødder	roots
siden	since
sidste	last
smittede	infested
som	as

stue	room
tiendedel	tenth
tørvægt	dry-weight
uden	without
udsat for	exposed to
uge(r)	week(s)
vandbad	water bath
varierende	alternating
varighed	duration
vise	show
åben	open

Litteraturhenvisninger

- Bishop, D. D.*, 1953: Hatching the contents of cysts of *Heterodera rostochiensis* with alternating temperature conditions. *Nature* 172: 1108.
- Bishop, D. D.*, 1955: The emergence of larvae of *Heterodera rostochiensis* under conditions of constant and alternating temperature. *Ann. appl. Biol.* 43: 525-532.
- Cotten, J.*, 1962: Effect of temperature on hatching in the Cereal Root Eelworm. *Nature* 195: 308.
- Duggan, J. J.*, 1960: Effect of soil drying on the viability of *Heterodera major* cysts. *Nature* 185: 554-555.
- Dunn, E.*, 1954: Factors influencing the emergence of *Heterodera rostochiensis* larvae. *Nature* 173: 780.
- Franklin, M. T.*, 1951: The cyst-forming species of *Heterodera*. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farm Royal Bucks, England.
- Fushtey, S. G. and P. W. Johnson*, 1966: The biology of the oat cyst nematode, *Heterodera avenae*, in Canada. I. The effect of temperature on the hatchability of cysts and emergence of larvae. *Nematologica* 12: 313-320.
- Hesling, J. J.*, 1956: Some observations on *Heterodera major*. *Nematologica* 1: 56-63.
- Hesling, J. J.*, 1957: The hatching response of *Heterodera major* (O. Schmidt) to certain root diffusates. *Nematologica* 2: 123-125.
- Neal, A. L.*, 1959: *Phytopathology* 49: 547.
- Shepherd, A. M.*, 1962: The emergence of larvae from cysts in the genus *Heterodera*, Technical communication number 32 of the Commonwealth Bureau of Helminthology, St. Albans, Herts, England.
- Shepherd, A. M.*, 1962: Dyes as artificial hatching agents for beet eelworm, *Heterodera schachtii* Schm. *Nature*, 196: 391-392.

- Shepherd, A. M., 1965: Zinc and other metallic ions as hatching agents for the beet cyst nematode, *Heterodera schachtii* Schm. Nature 208: 502.
- Wallace, H. R., 1955: Factors influencing the emergence of larvae from cysts of the beet eelworm, *Heterodera schachtii* Schmidt. Journal of Helminthology 29: 3-16.
- Windslow, R. D., 1955: The hatching responses of some root eelworms of the genus *Heterodera*. Ann. appl. Biol. 43: 19-36.