

Statens plantepatologiske Forsøg (H. Ingv. Petersen)
Zoologisk afdeling (K. Lindhardt)

Undersøgelser af nogle miljøfaktorerers indflydelse på kønsfordelingen hos havrenematoden (*Heterodera avenae* Woll. 1924).

*The effect of population density, water and fertilizer supply on the sex ratio of *Heterodera avenae*.*

Jørgen Jakobsen

Resumé

Populationstæthed, vandtilførsel og næringstilførsel i varierende mængder er undersøgt for eventuel indflydelse på kønsfordelingen hos *Heterodera avenae*. Undersøgelserne er fortrinsvis foretaget i væksthuse med dyrkning af havresorten 1359 i udvasket sand i PVC-rør.

Resultaterne fra undersøgelserne viser, at vandtilførselen er den enkelte faktor, der i disse undersøgelser har haft størst indflydelse på kønsfordelingen, men der har også været udslag for populationstæthedens indflydelse på kønsfordelingen.

Det antages, at variationer i kønsfordelingen er betinget af større eller mindre dødelighed hos det ene eller det andet køn under varierende miljøbetingelser.

Indledning

En række undersøgelser af bl.a. Ellenby (1954), Triantaphyllou & Hirschmann (1959), Lindhardt (1961) over miljømæssige faktorerers eventuelle indflydelse på kønsfordelingen hos forskellige *Heterodera*- og *Meloidogyne*-arter var motiveringen for iværksættelse af de her omtalte undersøgelser.

Tidligere undersøgelser

Heterodera-arterne

Så tidligt som i 1888 foreligger de første iagttagelser, som tyder på, at miljøfaktorer kan på-

virke kønsfordelingen hos nematoder (Strubell 1888).

I tyverne udførtes forsøg hermed (Molz 1920, 1927 og Sengbusch 1927). Molz var af den opfattelse, at kønsudviklingen hos det enkelte individ er labil, hvorimod Sengbusch mente, at miljøfaktorerers indflydelse er betinget af forskellig dødelighed hos hun- og han-individer i udviklingsperioden under varierende vilkår.

Med Ellenby's undersøgelser (1954) af populationstæthedens indflydelse på kønsfordelingen hos *Het. rostochiensis* blev der skabt fornyet interesse for problemet. Ellenby's konklusion af de omtalte undersøgelser var, at kønsudviklingen hos det enkelte individ ikke var genetisk fikseret, men kunne ændre sig efter påvirkning af miljøfaktorer. En række senere undersøgelser støttede Ellenby's teori; bl.a. den Ouden (1960), der ved en undersøgelse af individer af *Het. rostochiensis* opformeret enkeltvis fandt, at den langt overvejende del af de genfundne udviklede individer var hunner. Men da kun 39 procent af det oprindelige antal larver blev genfundet, kan resultatet blot være et udtryk for, at det er sværere at genfinde udviklede hanner bl.a. på grund af den anatomiske forskel mellem voksne hunner og hanner.

Lindhardt (1961) undersøgte kønsfordelingen i relation til populationstætheden hos *Het. avenae* og fandt som Ellenby, at det relative antal hanner blev større ved stigende populationstilvækst. Af undersøgelsen kan der ikke

udledes noget til støtte for den ene eller anden teori om årsagen til den varierende kønsfordeling. Undersøgelser af *Het. schachtii* (Kämpfe & Kerstan 1964) viste, at kønsfordelingen hos denne nematodart varierede med den mængde plantenæring, der blev tilført, således at det relative antal hanner var omvendt proportionalt med den tilførte næringsmængde. Samme forhold gjorde sig gældende ved mangelfuld tilførsel af vand og lys. Heller ikke af disse resultater kan der udledes noget, der støtter den ene teori mere end den anden.

Teorien om ændring af det enkelte individs kønsudvikling støttes af Trudgill (1967) på baggrund af nogle undersøgelser af kønsfordelingen hos *Het. rostochiensis*. På grundlag af undersøgelserne blev den teori fremsat, at et vist minimalt rodvolumen var nødvendigt for udviklingen af et enkelt individ, og at dette volumen skulle være væsentlig større, hvis individet skulle udvikle sig til et voksent hunligt individ end til et voksent hanligt individ. For denne undersøgelse gælder samme forhold som for den Oudens undersøgelse, at det genfundne antal individer ikke overstiger 30 procent af begyndelsespopulationen, og dermed kan der ikke drages den konklusion, at der er tale om kønsskifte hos det enkelte individ.

Senere undersøgelser af Trudgill m.fl. (1969) af kønsfordelingen hos *Het. rostochiensis* ved opformering på forskellige, delvis resistente kartoffelsorter viste, at det relative antal hanner var større ved opformering på sådanne end ved opformering på modtagelige værtplanter. Det absolutte antal individer udviklet på de delvis resistente sorter var lille sammenlignet med antallet udviklet på de modtagelige sorter. Da opformering under sådanne vilkår kan sammenlignes med dårlige vækstvilkår for værtplanter i øvrigt (mangelfuld ernæring, lys- og vandtilførsel), tyder disse resultater på en forskel i dødeligheden hos hun- og hanlarver i udviklingsperioden, forudsat at det klækkede antal larver var det samme ved opformering på de resistente som på de modtagelige kartoffelsorter, og da det må antages i overensstemmelse med tidligere undersøgelser, at hunindi-

viderne stiller større næringskrav end hanindivider, er det at forvente, at den relative dødelighed er størst for hunindividernes vedkommende. Hvis et kønsskifte forudsættes muligt, var det at forvente, at det absolutte antal hanner udviklet på de resistente kartoffelsorter var på højde med eller højere end det antal hanner, der var udviklet på de modtagelige kartoffelsorter.

Fortsatte undersøgelser af Kerstan (1969) over kønsfordelingen hos *Het. schachtii* viste, at hunlarver, for at gennemføre en udvikling til voksenstadiet, kræver et rodvolumen, der er 60 gange større end det, der er nødvendigt for hanlarver. Dette indebærer, at miljøfaktorer og kombination af disse, der giver dårligere udviklingsbetingelser for nematoderne, vil være mest ugunstige for hunindividerne og dermed betyde en større dødelighed for dette køn, hvis det ikke er muligt for det enkelte individ at skifte køn.

*Meloidogyne*arter

Undersøgelser af kønsfordelingens påvirkelighed af miljøfaktorer har ført til lignende resultater som de omtalte undersøgelser af Heterodera-arter, dog med den væsentlige forskel, at kønsskifte hos det enkelte individ hos *Meloidogyne*arter må anses som muligt. Bl.a. Tyler (1933), Bird (1960), Triantaphyllou (1960), Triantaphyllou & Hirschmann (1959), Ishibashi (1965), McClure & Viglierchio (1966), Davide & Triantaphyllou (1967a, 1967b, 1968) har vist, at populationstæthed, næringstilførsel, gammabestråling, behandling af værtplante med maleinhydrazid påvirker kønsfordelingen hos bl.a. *Mel. arenaria*, *Mel. javanica* og *Mel. incognita*. Til forskel fra Heteroderaarter, der bortset fra en enkelt alle har bisexual formering, forholder det sig anderledes hos en del *Meloidogyne*arter, hvor forekomst af hanner hos nogle arter er sjælden og ikke nødvendig for reproduktion af arten. Ligeledes er individer med både veludviklede hunlige og hanlige organer (intersex) almindeligt forekommende hos en del *Meloidogyne*arter, hvad der ikke er tilfældet for Heteroderaarternes ved-

kommende. Derimod er dette iagttaget hos andre nematodarter, f. eks. *Mermis*, *Ditylenchus* og *Rhabditis*, hvor man også har undersøgt kønsfordelingen under varierende forhold Steiner (1923), Christie (1929), Hirschmann & Sasser (1955), Hirschmann (1957), Chuang (1962).

Egne undersøgelser

Metoder

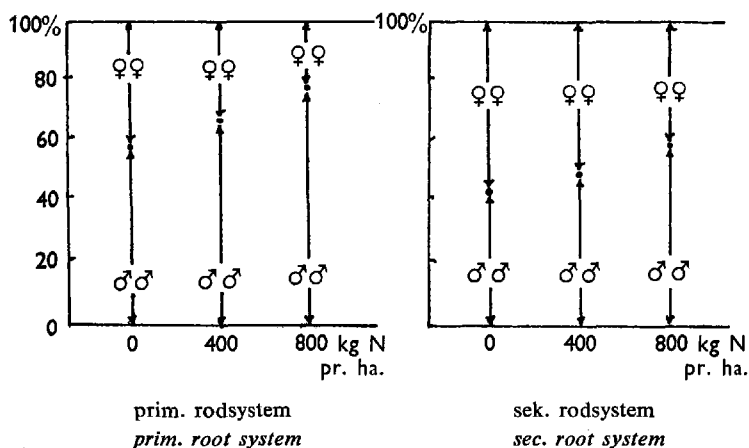
Undersøgelserne omfatter følgende forsøg med havrenematoden:

- I. Varierende mængder kalksalpeter tilført havre på mark. 0, 400 og 800 kg pr. ha tilførtes d. 28/5-1960 (anlagt af K. Lindhardt).

Prøver, der omfatter planter fra $\frac{1}{3}$ – $\frac{1}{2}$ m², er tilfældigt udtaget fra de enkelte parceller, blev vasket og 4×5 rødder fra hver parcel blev konserveret i 4 pct. formalin. For at undersøge en eventuel forskel af kønsfordelingen i henholdsvis det primære og det sekundære rodsystem, blev der udtaget prøver fra hver rodtype.

Experiment I

udtagningsdato samplingdate 2/6 1960



udtagningsdato samplingdate 9/6 1960

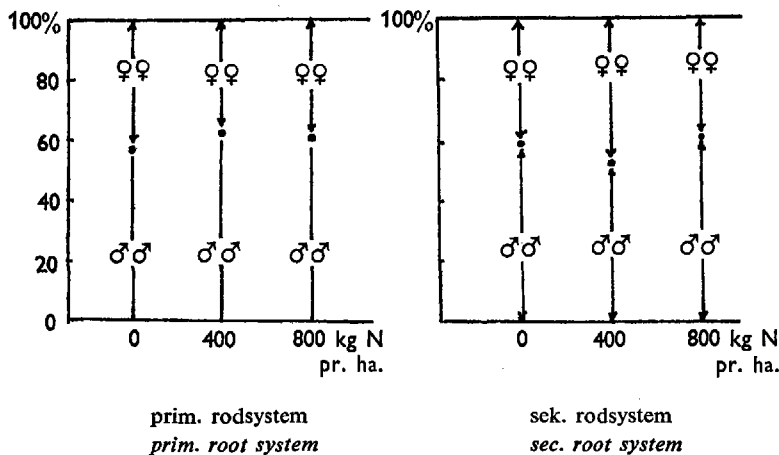
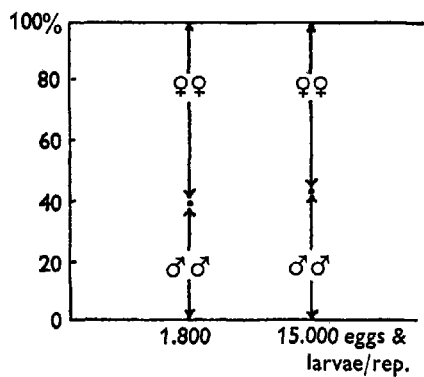
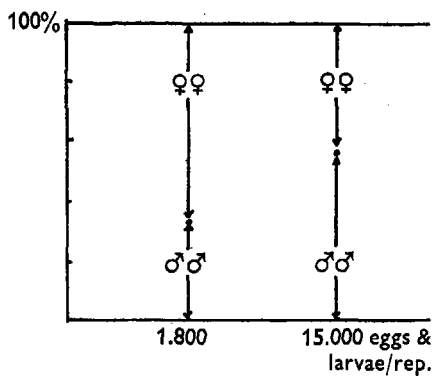


Fig. 1

Experiment II



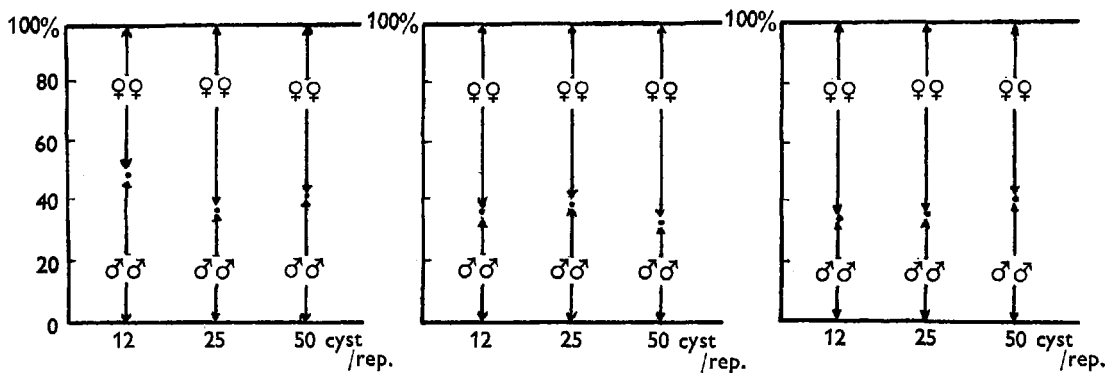
a
lav næringstilførsel
low fertilizer level



b
høj næringstilførsel
high fertilizer level

Fig 2

Experiment III



normal næringstilførsel
normal amount of fertilizer

normal næringstilførsel ÷ K
normal amount of fertilizer ÷ K

normal næringstilførsel ÷ N
normal amount of fertilizer ÷ N

Fig. 3

II. Varierende infektionsmængde, henholdsvis 1.800 og 15.000 æg og larver pr. kg jord, samt varierende næringstilførsel, henholdsvis $\frac{1}{2}$ og 2 ml »Substral« (dansk handelsgødning) pr. l vand. Dyrkningen foregik i udvasket sand anbragt i PVC-rør – 30 cm høje – indv. Ø 5 cm. Som værtplante anvendtes nummersorten havre 1359. Forsøget fandt sted fra d. 18/5–22/6 1966 i væksthush.

III. Varierende infektionsmængde henholdsvis 50, 25 og 12 fulde cyster pr. rør, samt normal næringstilførsel, normal næringsstilførsel minus N og normal næringstilførsel minus K. Næringstilførselen blev givet i form af Carsten Olsens næringsopløsning (C. Olsen 1950). Dyrkningsmetode i øvrigt som II. Forsøgsperiode fra 22/5–9/7 1967.

Experiment IV sex ratio

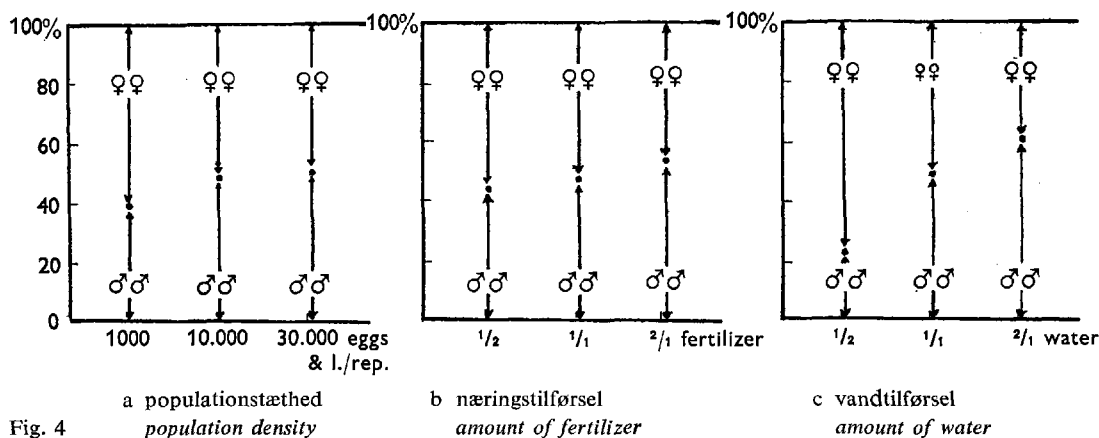


Fig. 4

Experimenti IV sex ratio

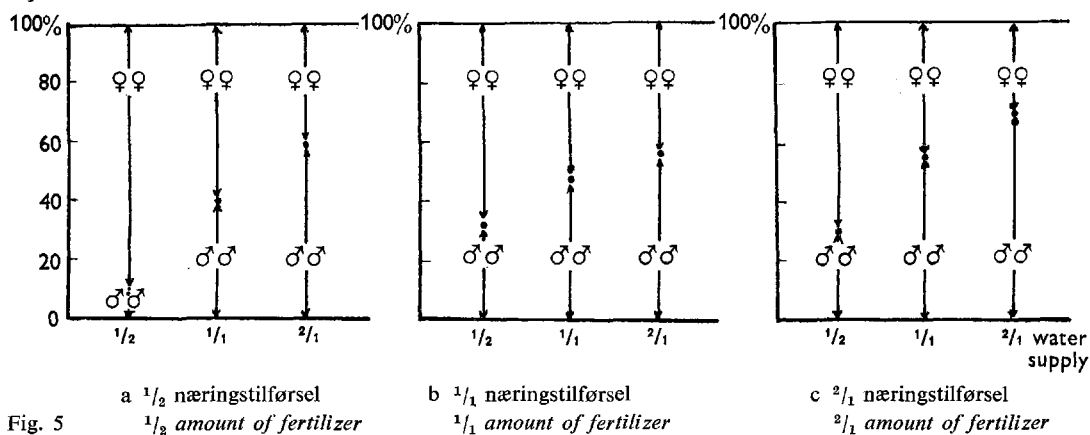


Fig. 5

IV. Varierende infektionsmængde – henholdsvis 1.000, 10.000 og 30.000 æg og larver pr. rør.

Varierende vandtilførsel, henholdsvis 150, 300 og 600 ml dest. vand pr. rør i vækstperioden.

Varierende næringstilførsel henholdsvis 0,15, 0,30 og 0,60 ml »Superba« (svensk handelsgødning) pr. rør i vækstperioden.

Dyrkningsmetode i øvrigt som under II.

Forsøgsperiode fra 15/4–12/6 1969.

Antallet af havrenematoder i rødderne blev talt op under stereomikroskop, efter farvning med lactofenol tilsat cottonblue. For at lette

optællingen blev rødderne knust i en blender.

Det langt dominerende antal af nematoderne fandtes i fjerde larvestadium, hvor kønsadskillelsen er uden problemer.

De individer, hvor kønsbestemmelsen var usikker, blev ikke medtaget i opgørelsen.

I forsøg nr. I forekom en del *Pratylenchus* sp. i rødderne, hvilket ikke var tilfældet med de tre andre forsøg, hvor dyrkningen fandt sted i udvasket sand.

De anvendte havrenematodpopulationer i forsøg II, III og IV var en blanding af race I og II fra et areal på Statens plantepatologiske Forsøg.

Experiment IV

populationstilvækst

population growth

12.000 $\Sigma (\Sigma \text{♀♀} + \Sigma \text{♂♂})$

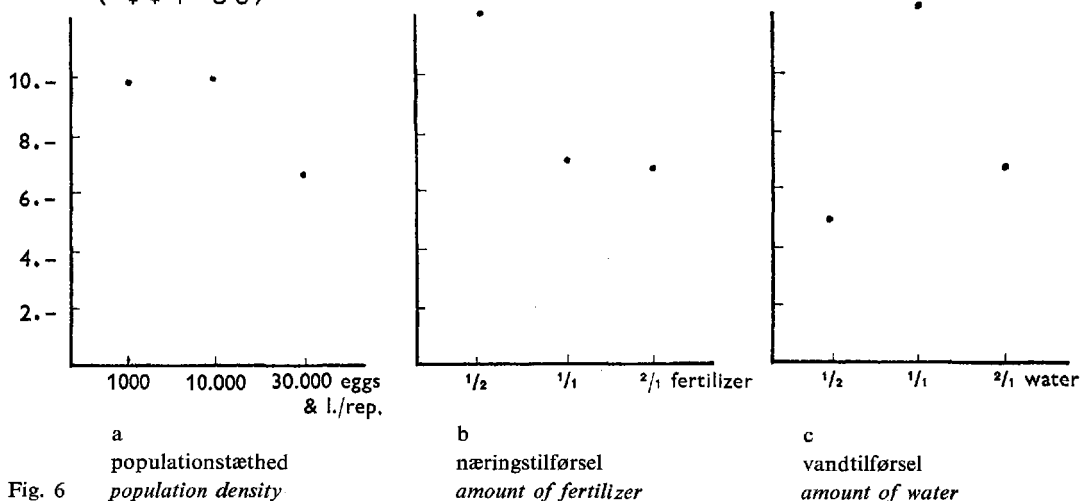


Fig. 6 a populationstæthed population density b næringstilførsel amount of fertilizer c vandtilførsel amount of water

Resultater

Tabel 1. Forsøg I. Kønsfordeling og det totale antal hunner

(Sex ratio and the total number of females)

n = 4

Udtagningsdato (Samplingsdate)	2/6 1960				9/6 1960			
kg N pr. ha	primært rodsystem (prim. root system)		sekundært rodsystem (sec. root system)		primært rodsystem (prim. root system)		sekundært rodsystem (sec. root system)	
	♀♀:♂♂	$\Sigma \text{♀♀}$	♀♀:♂♂	$\Sigma \text{♀♀}$	♀♀:♂♂	$\Sigma \text{♀♀}$	♀♀:♂♂	$\Sigma \text{♀♀}$
0	0,76	7247	1,33	2018	0,74	7831	0,69	3086
400	0,51	7236	1,13	1811	0,59	7603	0,88	2743
800	0,28	7413	0,77	2377	0,65	9723	0,64	3060

Tabel 2. Forsøg II. Populationstilvækst og kønsfordeling ved forskellig populationstæthed og næringstilførsel

Forsøg II og III

(The population growth and the sex ratio with different population densities and nutriment supplies
Experiment II and III)

Ant. æg+larver pr. rør	15.000	1.800	15.000	1.800
ml substrat pr. l vand	2	2	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$
Gns. ant. ♀♀ pr. rør . .	320	102	334	93
Gns. ant. ♂♂ » » . .	380	60	250	59
Gns. ♀♀/♂♂	0,82	1,69	1,34	1,58
Antal gentagelser	19	15	20	19

Tabel 3. Forsøg III

	40 ml C.O. *)			40 ml C.O. ÷ N*)			40 ml C.O. ÷ K*)		
Cyster pr. rør	50	25	12	50	25	12	50	25	12
Gns. ant. ♀♀ pr. parcel .	33	18	11	30	31	18	20	8	3
Gns. ant. ♂♂ pr. parcel .	16	12	6	21	17	10	15	6	3
Gns. ♀♀/♂♂.....	2,1	1,5	1,8	1,4	1,8	1,8	1,3	1,5	1,0
Antal gentagelser.....	6	6	6	6	6	6	6		6

*) 40 ml Carsten Olsens næringsopløsning tilført i vækstperioden.

Tabel 4. Forsøg IV. Samlede opformering ved forskellig infektionsstørrelse, vand- og næringstilførsel

(The total numbers of female and male with different initial population densities, and different supplies of water and nutriment)

	$\Sigma \text{♀♀}$	$\Sigma \text{♂♂}$	$\Sigma(\Sigma \text{♀♀} \text{ } \text{♀♀} : \text{♂♂} + \Sigma \text{♂♂})$	
Infektionsmængde				
1.000 æg + larver	5693	4130	9823	1,88
10.000 æg + larver	5012	4919	9931	1,02
30.000 æg + larver	3258	3364	6622	0,97
Vandtilførsel				
$\frac{1}{2} \times \text{»normal«} \dots$	3906	1197	5103	3,26
$1/1 \times \text{»normal«} \dots$	6705	5863	12568	1,14
$2/1 \times \text{»normal«} \dots$	3352	5333	8685	0,63
Næringstilførsel				
$\frac{1}{2} \times \text{»normal«} \dots$	6670	5560	12230	1,20
$1/1 \times \text{»normal«} \dots$	3932	3283	7225	1,20
$2/1 \times \text{»normal«} \dots$	3361	3570	6931	0,94

n = 216

Tabel 5. Forsøg IV. F-værdier fra variansanalyse af resultater fra forsøg med varierende vand- og næringstilførsel samt varierende infektionsmængder og deres indflydelse på kønsfordelingen. Beregningerne er foretaget på det totale antal individer

(F-values for the influence on the sex ratio of initial population densities, water and nutriment supplies from a multivariate analysis of the result from experiment IV)

	FV.	SAK	s ²	F
Vand $\times$ ♀:♂....	2	106.272	53.136	12,4***
Næring $\times$ ♀:♂..	2	22.464	11.232	2,6
Infektion $\times$ ♀:♂..	2	33.095	16.548	3,8*

Diskussion

Forsøg I

Det meget omfattende materiale fra dette forsøg gav ingen sikre udslag for kvælstoftilførselens eventuelle indflydelse på kønsfordelingen hos *Heterodera avenae*, men der var dog en tendens, ved første udtagningsdato, til relativt flere hanner ved stigende N-mængde, samt at det relative antal hanner var mindre i det sekundære rodsystem, jvnf. tabel 1 og fig. 1. Det skal understreges, at kvælstoftilførselen fandt sted på et sent tidspunkt i vækstperioden.

Forsøg II

Her tyder resultaterne på, at den relative dødelighed hos hun-individer er væsentlig større ved stigende populationstæthed. Det er primært populationstætheden, der har påvirket kønsfordelingen, hvorimod næringsmængderne kun i mindre grad har påvirket kønsfordeling (jvf. tabel 2 og fig. 2).

Som forventet er den relative populations-tilvækst størst ved mindste begyndelsespopulation.

Forsøg III

Dette forsøg har en meget ensartet kønsfordeling uanset begyndelsespopulationens størrelse og den tilførte næringsmængde (tabel 3 og fig. 3). Men på grund af den meget lille populationstilvækst kan resultaterne fra dette forsøg ikke tillægges nogen større betydning. Årsagen til den lave populationstilvækst kendes ikke, men den er et ikke ukendt fænomen i forsøg med *Heterodera avenae*.

Forsøg IV

Også i dette forsøg er den relative populations-tilvækst omvendt proportional med begyndelsespopulationens størrelse, jvnf. forsøg II (tabel 4 og fig. 6a). Kønsfordelingen følger samme tendens som i forsøg II, dog er tendensen her mindre udtalt, og som det fremgår af resultaterne fra variansanalysen (tabel 5) kun svag signifikant.

Den væsentlig lavere populationstilvækst både for hunner og hanner, i forsøgsledet med 30.000 æg + larver pr. rør (fig. 6a) kan være betinget af en udtalt »overbefolkningseffekt«, der på dette niveau både reducerer antallet af hunner og hanner til forskel fra forsøgsledet med 10.000 æg + larver, hvor kun antallet af hunner er lavere end i forsøgsledet med 1.000 æg + larver, hvorimod antallet af hanner er større.

Vandtilførselens indflydelse på kønsfordelingen er som vist i tabel 5 (og fig. 4c og 5) meget signifikant. Ved »normal« vandtilførsel er populationstilvæksten størst både for hunner og hanner, og kønsfordelingen er ca. 1,1 : 1,0 (fig. 6c, 5a,b,c), hvorimod kønsfordelingen afviger meget fra dette forhold både ved lille og stor vandtilførsel. Ved lille vandtilførsel er kønsfordelingen ca. 3,3 : 1,0 og ved stor vandtilførsel ca. 0,6 : 1,0. Årsagerne til vandtilførselens indflydelse på kønsfordelingen kan bl.a. være, at hanner betinget af den fra hunner forskellige anatomi ikke så godt kan tåle udtørring i den sidste del af udviklingsperioden til voksenstadiet, fordi hanners overfladevolumen er meget større end hunners. I den sidste del af forsøgsperioden var forskellen mellem de forskellige vandtilførselsmængder mest udtalt på grund af planternes større vandforbrug.

Det relativt store antal hanner ved stor vandtilførsel kan måske være betinget af hunners større iltbehov, der i dette forsøgsled har været fatalt på grund af vækstmediets vandfyldningsgrad.

Populationstilvæksten er omvendt proportional med næringstilførselen, med udtalt størst populationstilvækst ved mindste næringstilførsel (fig. 6b). Ved stigende næringstilførsel

stiger det relative antal hanner, men som det fremgår af tabel 5 og fig. 4b, er der kun tale om en svag korrelation. Det er dog bemærkelsesværdigt, fordi det er i strid med en række resultater, jvnf. diskussionen af andres resultater. Resultaterne fra dette forsøg kan måske forklares ved, at værtplanterne ved stigende næringstilførsel bliver mindre velegnede som værtplanter, og når resultaterne fra dette forsøg er forskellig fra andres resultater, kan det skyldes, at der som vækstmedium i dette forsøg anvendtes rent sand, som har en meget ringe stødpudeeffekt. Tidligere omtalte undersøgelser (Trudgill & Parrott 1969) viste, at mindre velegnede værtplanter (delvis resistente) påvirkede kønsfordelingen, så det relative antal hanindivider blev større.

Det er måske bl.a. årsagen til den almindelige iagttagelse i praksis, at man i en vis udstrækning kan »gøde« sig fra ondarterede angreb af havrenematoder og måske en forklaring på, at havrenematoder i de senere år ikke har spillet så fremtrædende en rolle som skadedyr.

Konklusion

I de omtalte undersøgelser er der intet, der giver støtte til teorien om, at kønsskifte hos individer af *Heterodera avenae* er muligt. Tværtimod er der ikke i noget forsøgsled fundet større antal hun- eller hanindivider end det, der kunne forventes ud fra en antagelse af en kønsfordeling på 1 : 1 med en klækningsprocent på op til 60 procent af begyndelsespopulationen (Andersen 1961).

Resultaterne fra forsøg I, II og IV tyder derimod på, at dødeligheden hos det ene eller andet køn er påvirkelig af miljøfaktorerne i forskellig grad under forskellige omstændigheder.

Dette forhold er måske medvirkende til de store årsvariationer i forekomst og angreb af havrenematoder, som kendes fra praksis.

På baggrund af de omtalte resultater må det understreges, at det er en forudsætning for opnåelse af ensartede resultater fra resistensafprøvning af nematodresistente kornsorter, at det foregår under veldefinerede og ensartede betingelser.

Summary

The effect of population density, water and fertilizer supply on the sex ratio of Heterodera avenae.

The investigations reported here are four different experiments with *Heterodera avenae* for the purpose of showing possible influence of some environmental factors on the sex ratio.

The first experiment was a field experiment with different levels of nitrogen supply. This treatment had little or no influence on the observed sex ratio, but there was a slight tendency to more males with higher N-levels at the first sampling date (cf. table 1 and fig. 1).

The next three experiments took place in the glasshouse. The host plant – oat 1359 – a variety which is very susceptible to cereal cyst nematode – was grown in PVC-tubes, height 20 cm, Ø 5 cm, filled with pure sand.

The first of these experiments was carried out with two different population densities and two different amounts of nutrition (cf. table 2 and fig. 2). In this experiment there was a slight tendency to relative more males with high population density.

The next experiment was carried out with three different population densities and 1) normal supply and nutrition, 2) normal supply without potassium and 3) normal supply without nitrogen (cf. table 3 and fig. 3). The population growth was very small in this experiment and therefore it cannot form a basis for conclusion. The reasons for the small population growth are not known, but this phenomenon is not uncommon in experiments with *Het. avenae*.

In the last experiment three different amounts of water, nutrition, and population density were examined for their possible influence on the sex ratio for *Het. avenae* (cf. table 4, 5 and fig. 4, 5, 6).

The water supply had a significant influence on the sex ratio, but there was also a slight tendency to relatively more males with higher population density, and with higher supply of nutrition.

The conclusions on basis of these experiments are that the death rate or the development rate are different for female and male larvae under different conditions and the theories of sex reversal in the larval stage of *Het. avenae* are not supported.

Litteraturliste

- Andersen, S. (1961) Resistens mod havreål, *Heterodera avenae*. Meddelelse nr. 68 fra den kgl. Veterinær- og Landbohøjskoles afdeling for Landbrugets Plante-kultur 179 pp.
- Apel, A. & Kämpfe, L. (1957) Beziehungen zwischen Wirt und Parasit im Infektionsverlauf von *Heterodera schachtii* Schmidt in kurzfristigen Topfversuchen. II Haupt und nebenwurzelbefall, Geschlechtsverhältnis der Adulten und Lagerichtung der Larven. Nematologica 2, 215–227.
- Bird, A. F. (1960) The effect of some single element deficiencies on the growth of *Meloidogyne javanica*. Nematologica 5, 78–85.
- Brun, J. L. & Younes, T. (1969) Gametogenese et determinisme du sexe chez le nematode *Mycophaga Aphelenchoides composticola*. Nematologica 15, 591–600.
- Chuang, S. H. (1962) The sex ratio in cultures of *Rhabditis teres* (A. Schneider). Nematologica 8, 25–28.
- Christie, I. R. (1929) Some observations on sex in the Mermithidae Journal Exp. Zool. 53 : 1, 5976.
- Davide, R. G. & Triantaphyllou, A. C. (1967): Influence of the environment on development and sex differentiation of root-knot nematodes. I. Effect of infection density, age of the host plant and soil temperature. Nematologica 13, 102–110.
- Davide, R. G. & Triantaphyllou, A. C. (1967): Influence of the environment on development and sex differentiation of root-knot nematodes. II. Effect of host nutrition. Nematologica 13, 111–117.
- Ellenby, C. (1954): Environmental determination of the sex ratio of a plant parasitic nematode. Nature, London 174, 1016–1017.
- Hirschmann, H. & Sasser, I. N. (1955): On the occurrence of an intersexual form in *Ditylenchus trififormis*, n. sp. Proc. Helminth. Soc. Wash. 22, 115–123.
- Hirschmann, H. (1957): The life cycle and the role of intersex in *Ditylenchus trififormis*. Phytopathology 47, 524.
- Ishibashi, N. (1965): The increase in male adults by gamma-ray irradiation in the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* Chitwood. Nematologica 11, 361–369.
- Johnson, Ruth N. & Viglierchio, D. R. (1969): Sugar beet nematode (*Heterodera schachtii*)

- reared on axenic *Beta vulgaris* root explants. II. Selected environmental and nutritional factors affecting development and sex-ratio. *Nematologica* 15, 144–152.
- Kämpfe, L. & Kerstan, U. (1964): Die Beeinflussung des Geschlechtsverhältnisses in der Gattung *Heterodera* Schmidt. I. Einfluss des Physiologischen Zustandes der Wirtspflanze auf *H. schachtii* Schmidt. *Nematologica* 10, 388–398.
- Ketudat, U. (1969): The effects of some soil-borne fungi on the sex ratio of *Heterodera rostochiensis* on tomato. *Nematologica* 15, 229–233.
- Kerstan, U. (1969): Die Beeinflussung des Geschlechterverhältnisses in der Gattung *Heterodera*. *Nematologica* 15, 210–228.
- Lindhardt, K. (1961): Nogle undersøgelser over infektionsgradens indflydelse på havreåleus, *Heterodera major*, køn. *Tidsskrift for Pl. avl.* 616, 5, 889–896.
- McClure, M. A. & Viglierchio, D. R. (1966): The influence of host nutrition and intensity of infection on the sex ratio and development of *Meloidogyne incognita* in sterile agar cultures of excised cucumber roots. *Nematologica* 12, 248–258.
- Molz, E. (1920): Versuche zur Ermittlung des Einflusses äussere Faktoren auf des Geschlechtsverhältnis des Rüben nematoden (*Heterodera schachtii* A. Schmidt). *Landw. Jb.* 54, 769–791.
- Molz, E. (1927): Zur Frage des Geschlechtsverhältnisses des Rüben nematoden *Heterodera schachtii*. *Z. Pflanzenkrankh.* 37, 260–266.
- Ouden, H. den (1960): A note on parthenogenesis and sex determination in *Heterodera rostochiensis* Woll. *Nematologica* 5, 215–216.
- Olsen, C. (1950): The significance of concentration for the rate of iron absorption in higher plants in water culture. *Phy. Plant.* 3, 152–164.
- Ross, G. J. S. & Trudgill, D. L. (1969): The effect of population density on the sex ratio of *Heterodera rostochiensis*; A two dimensional model. *Nematologica* 15, 601–607.
- Sengbusch, R. V. (1927): Beitrag zur Biologie des Rüben nematoden *Heterodera schachtii*. *Z. Pflanzenkrankh.* 37, 86–102.
- Steiner, G. (1923): Intersexes in Nematoden. *J. Hered.* 14, 147–159.
- Strubell (1888): Untersuchungen über den Bau und die Entwicklung des Rüben nematoden *Heterodera schachtii* Schmidt, *Zoologica Stuttgart* (2) 52 pp. 2 pl.
- Triantaphyllou, A. C. & Hirschmann, H. (1959): Development and sex determination in *M. incognita* and intersexuality in *M. javanica*. *Phytopathology* 49, 552–553.
- Triantaphyllou, A. C. (1960): Sex determination in *M. incognita* and intersexuality in *M. javanica*. *Ann. inst. Phytopath. Benaki N. S.* 3, 12–31.
- Trudgill, D. L. (1967): The effect of environment on sex determination in *Heterodera rostochiensis*. *Nematologica* 13, 263–272.
- Trudgill, D. L. & Parrott, D. M. (1969): The behaviour of nine populations of the potato cyst nematode *Heterodera rostochiensis* towards three resistant potato hybrids. *Nematologica* 15, 381–388.
- Tyler, I. (1933): Reproduction without males in aseptic root cultures of the root-knot nematode. *Hilgardia* 7, 373–388.