

Versuche zur Charakterisierung physiologischer Rassen von *Fusarium oxysporum* f. sp. *callistephi* unter Nutzung polymorpher Esterasen

Characterization of Physiological Races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *callistephi* with Polymorphic Esterases

Hennig, F. und Anna Orlicz-Luthardt
(Institut für Gemüse- und Zierpflanzenbau, Großbeeren, Erfurt)

Zusammenfassung

Ausgewählte Isolate von *Fusarium oxysporum* f. sp. *callistephi* wurden unter Nutzung eines Testpflanzensortiments fünf physiologischen Rassen zugeordnet. Die *in vitro* kultivierten Reinkulturen des Pilzes konnten mittels Esterasezymogrammen reproduzierbar klar differenziert werden. Nach der Re-Isolation aus inokulierten, erkrankten Pflanzen zeigten sich jedoch grundsätzlich veränderte Muster.

Die Zuordnung unbekannter Isolate zu den vorbestimmten Gruppen physiologischer Rassen war nicht erfolgreich.

Summary

Selected isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *callistephi* were assigned to five physiological races by use of a differential set of *Callistephus chinensis*. The *in vitro* cultures of the fungi could be differentiated reproducibly by means of esterasezymograms. After the re-isolations from infected plants fundamentally modified patterns occurred.

The assignment of unknown isolates to the predetermined groups of physiological races was not successful.

Einleitung

Eines der Kulturprobleme bei Sommerastern (*Callistephus chinensis* (L.) Nees) wird durch ihre hohe Anfälligkeit gegen bodenbürtige Pilzkrankheiten verursacht. Dem Erreger der wirtschaftlich bedeutendsten Welkekrankheit, dem Pilz *Fusarium oxysporum* f. sp. *callistephi* (Beach) Snyder et Hans. ist wegen seiner weiten Verbreitung und der Fähigkeit der Chlamydosporen über mehrere Jahre im Boden zu überdauern, kaum beizukommen. Da auch eine chemische Bekämpfung des Pilzes nicht möglich ist, kann in erster Linie über eine Verbesserung der Sortentoleranz ein Fortschritt in der Saatgutproduktion von Sommerastern erzielt werden.

Unbedingte Voraussetzung solcher züchterischen Arbeiten ist eine sichere Identifikation des Erregers (GAMS 1996). Von *Fusarium oxysporum* f. sp. *callistephi*

ist bekannt, dass der Pilz mehrere physiologische Rassen bildet (HOFFMANN 1963, ARMSTRONG und ARMSTRONG 1968, PERSIEL und LEIN 1989, ORLICZ-LUTHARDT 1994). Die Anzahl der beschriebenen Rassen variiert zwischen zwei und acht und ist von der Zusammensetzung des geprüften Sortiments abhängig. Das Hauptproblem der Arbeiten mit einem Testpflanzensortiment ist die hohe Variabilität der Ergebnisse, die sich insbesondere bei Versuchswiederholungen negativ bemerkbar macht. Eine biochemische Charakterisierung des Erregers mittels Isozymtechniken könnte sowohl Hinweise zur Einordnung der Isolate in die physiologischen Rassen geben, als auch deren schnellere und sicherere Identifizierung erleichtern und präzisieren. Die von BELALCAZAR (1984) gewonnenen Ergebnisse beweisen, dass es anhand der Muster multipler Esteraseformen möglich ist, verschiedene Rassen und *formae speciales* von *Fusarium oxysporum* und anderer *Fusarium*-Arten, die Krankheiten an Gemüsekulturen verursachen, zu differenzieren.

Um zu prüfen, ob eine solche Charakterisierung einzelner Isolate von *Fusarium oxysporum* f. sp. *callistephi* möglich ist und inwieweit mit dieser Methode die physiologischen Rassen dieses Pathogens identifiziert werden können, wurde das Isozym Esterase getestet.

Material und Methoden

Charakterisierung der physiologischen Rassen von Fusarium oxysporum f. sp. *callistephi* mittels Testpflanzensortiment

35 Isolate von *Fusarium oxysporum* f. sp. *callistephi* wurden in ihrer Wirkung auf sieben Asternsorten aus den Gruppen Bukett-, Fan-, Germania-, Harz-, Krallen-, Paeonien- und Pompon-Astern geprüft. Die Inokulationen der Pflanzen erfolgten im Gewächshaus nach der von HOFFMANN (1963) sowie PERSIEL und LEIN (1989) beschriebenen Methode im Umfang von 20 Pflanzen pro Variante. Die Versuchsdauer betrug 90 Tage. Die Bonituren fanden im zehntägigen Rhythmus statt, wobei aus allen erkrankten Pflanzen die Re-Isolation des Krankheitserregers vorgenommen wurde.

Charakterisierung der physiologischen Rassen von Fusarium oxysporum f. sp. *callistephi* anhand der Muster multipler Esteraseformen

Im ersten Versuch dienten fünf Isolate von *Fusarium oxysporum* f. sp. *callistephi* (FOC 89/2-1, FOC 91/60, FOC 91/65, FOC 91/74 und 91/77) als Untersuchungsmaterial. Sie wurden anhand des Testpflanzen-sortiments als repräsentativ für fünf Rassen ermittelt und als Standardisolate bezeichnet. Im zweiten Versuch wurden fünf weitere Isolate (FOC 89/13, FOC 90/35, FOC 91/42, FOC 91/57 und FOC 91/67), deren Zuordnung zu bestimmten Rassen mittels Testpflanzen-sortiment nicht eindeutig war, in die Analyse einbezogen und mit den Standardisolaten verglichen.

Für die biochemische Charakterisierung wurden die Standardisolate im ersten Versuch aus dem Isolate-Depot entnommen, wo sie auf dem nährstoffarmen Medium (SNA, nach NIRENBERG 1976) wuchsen, im zweiten Versuch wurden sie frisch aus den inokulierten, erkrankten Sommerastern re-isoliert. Die anderen fünf Isolate stammen ebenso aus dem Depot. Sechs Wochen vor dem Beginn der Versuche wurden alle Isolate aus dem

Depot sowie die frisch re-isolierten Pilzkulturen in Petrischalen mit Czapek-Dox-Agar, ergänzt durch 0,5% Pepton, überführt. Die nachfolgende Erhaltung der Isolate sowie die Gewinnung von Myzel fand nach der von BELALCAZAR (1984) beschriebenen Methode statt. Alle Isolate wurden auf Czapek-Dox-Agar, ergänzt durch 0,5% Pepton, bei 23 °C kultiviert und im 14-tägigen Rhythmus auf das frische Medium überimpft. Nach der dreifachen Überimpfung erfolgte die Überführung des Pilzmyzels in 100 ml Erlenmeyerkolben mit Czapek-Dox-Flüssigmedium ebenfalls mit 0,5% Pepton versetzt. Die Inkubation des Pilzes verlief bei 23 °C auf einem Rotationseschüttler im Dunkeln und wurde nach 8 Tagen durch Abfiltration des Myzels abgebrochen.

Für die Extraktion der Proteine wurde jeweils 0,3 g Pilzmyzel zwischen Filterpapier getrocknet und unter Zusatz von 0,6 ml Extraktionspuffer (1 ml Carlson-Puffer plus 2,5 µl MET und 0,4 g Saccharose) eisgekühlt 7 Minuten gemörsert. Die gelelektrophoretische Trennung wurde in Polyacrylamidgelen (PAGE, Konzentrationsbereich zwischen 8–12%) in Flachgeltechnik (10x10 cm) durchgeführt. Die Trennung erfolgte in einer vertikalen Elektrophoresekammer vom Typ Bio-

Tab. 1. Charakterisierung der untersuchten Isolate von *Fusarium oxysporum* f. sp. *callistephi* anhand der Anfälligkeit von Sorten des Testpflanzensortiments (ohne die Isolate 89/13, 90/35, 91/42, 91/43, 91/51, 91/57, 91/67, Po 23 und 86/15-7).

Characterization of the studied isolates of Fusarium oxysporum f. sp. *callistephi* using the susceptibility of the differential set of *China aster cultivars* (without the isolates 89/13, 90/35, 91/42, 91/43, 91/51, 91/57, 91/67, Po 23 and 86/15-7).

FOC Isolate (Standard)	Rasse	Asternsorten						
		1	2	3	4	5	6	7
91/60	1	IV	II	IV	III	III	I	I
86/53-6		IV	II	IV	III	III	I	II
91/44		IV	III	IV	III	IV	I	I
91/58		III	II	IV	III	III	I	I
91/63		IV	II	IV	III	III	I	I
91/72		IV	II	IV	III	II	I	II
PoA 26		IV	III	IV	III	III	II	I
91/74	2	IV	I	I	IV	I	II	III
86/15-21		III	I	II	IV	I	II	III
86/57-7		III	I	I	IV	I	II	III
91/54		IV	I	I	IV	I	II	III
91/69		IV	I	I	IV	II	II	III
91/80		IV	II	II	IV	I	III	III
89/2-1		3	I	III	IV	IV	IV	II
89/14	I		III	IV	IV	IV	I	III
91/49	I		III	IV	IV	IV	II	III
91/87	I		III	IV	IV	IV	II	III
86/11-21	II		III	IV	III	IV	II	III
91/77	4		I	I	IV	IV	I	I
91/59		I	I	IV	IV	II	I	III
91/85		I	I	IV	IV	II	I	IV
91/88		II	I	IV	IV	I	I	IV
91/65		5	IV	II	I	III	II	I
90/30	IV		II	II	III	II	I	IV
91/46	IV		II	I	III	II	I	IV
91/66	IV		II	I	III	I	I	IV

I = 0–10% der Pflanzen befallen

III = 21–50% der Pflanzen befallen

II = 11–20% der Pflanzen befallen

IV = >50% der Pflanzen befallen

Asternsorten:

1 – Bukett Dunkelblau, 2 – Fan Rot, 3 – Germania Lachskarmin, 4 – Harz 'Isolde',

5 – Krallen 'Kameo', 6 – Paeonien 'Nico', 7 – Pompon Pfirsichblüte

metra-Multilong bei 250 Volt. Die Probenfront war farbstoffmarkiert, die Laufstrecke betrug 8 cm. Die Färbung des Esterasen erfolgte nach PATERSON und BRIDGE (1994).

Die Versuche wurden in zwei Wiederholungen durchgeführt, wobei jeweils eine getrennte Aufarbeitung des Myzels stattfand.

Ergebnisse

Charakterisierung der physiologischen Rassen von Fusarium oxysporum f. sp. *callistephi* mittels Testpflanzensortiment

Nach der Analyse der Wechselwirkungen zwischen den geprüften Isolaten von *Fusarium oxysporum* f. sp. *callistephi* und den zum Testpflanzensortiment gehörenden Asternsorten konnten 26 Isolate in fünf verschiedenen Gruppen erfaßt werden, die den fünf physiologischen Rassen von *Fusarium oxysporum* f. sp. *callistephi* entsprechen können. In jeder Gruppe wurde ein repräsentatives Isolat (= Standardisolat) ermittelt (Tabelle 1).

Die Zuordnung von neun weiteren *Fusarium oxysporum* f. sp. *callistephi*-Isolaten, von denen fünf für die biochemische Untersuchung ausgewählt wurden, zu bestimmten physiologischen Rassen war aufgrund großer Befallsvariabilität innerhalb des Testpflanzensortimentes nicht möglich (Tabelle 2).

Charakterisierung der physiologischen Rassen von Fusarium oxysporum f. sp. *callistephi* anhand der Muster multipler Esteraseformen

Die Analyse der Esterasezymogramme zeigte in beiden Wiederholungen eine große Homogenität der fünf Standardisolate, d.h. die Muster waren stabil reproduzierbar. Zwischen den einzelnen Isolaten traten deutliche Differenzen auf. Die Unterschiede in den Bandenmustern lagen bei den Rf-Werten 30, 35, 40 und 65/82 (Abb. 1).

Diese Muster, charakteristisch für die einzelnen Standardisolate, bestätigten deren vorherige Zuordnung zu den fünf physiologischen Rassen mittels Testpflanzensortiment.

Im zweiten Versuch wiesen die Esterasezymogramme der frisch re-isolierten Standardisolate ein anderes, stark von dem ersten abweichendes Bandenmuster auf (Abb. 2). Die einzelnen Isolate waren zwar untereinander weiterhin klar unterscheidbar, das vorhergehende Differenzierungsmuster (Abb. 1) war jedoch für diese Zymogramme nicht brauchbar. Die Esterasezymogramme aller fünf Standardisolate veränderten sich grundsätzlich. Auch die fünf weiteren Isolate (FOC 89/13-1-2, FOC 90/35, FOC 91/42, FOC 91/57 und FOC 91/67), deren Zuordnung zu bestimmten Rassen mittels Testpflanzensortiment nicht eindeutig war, waren in sich und zu den Standardisolaten klar unterscheidbar (Abb. 3).

Die Einordnung verschiedener Isolate von *Fusarium oxysporum* f. sp. *callistephi* in physiologische Rassen war auf der Ebene der Esterasezymogramme nicht durchführbar.

Diskussion

Ein großes Problem bei der Differenzierung der formae speciales sowie bei der Bestimmung der physiologischen Rassen von *Fusarium oxysporum* stellt deren morphologische Ähnlichkeit dar. Zur Ermittlung der Rassen sind aufwändige Pathogenitätsprüfungen unter Anwendung eines Testpflanzensortiments notwendig. Aber auch diese liefern nicht immer eindeutige und für die Diagnose brauchbare Ergebnisse. Bei der Mehrheit der 35 getesteten Isolate konnten charakteristische Wechselwirkungen in dem Pathosystem Sommerastern/*Fusarium oxysporum* f. sp. *callistephi*, die den fünf physiologischen Rassen des Pathogens entsprechen, festgestellt werden. Die eindeutige Zuordnung aller Isolate war jedoch nicht möglich. Über solche Schwierigkeiten bei der Bestimmung der physiologischen Rassen von *Fusarium oxysporum* f. sp. *callistephi* schrieben 1989 PERSIEL und LEIN.

BELALCAZAR (1984) und BRUNO (1993) haben nachgewiesen, dass es mit biochemischen Methoden unter Nutzung multipler Esteraseformen möglich ist, zwischen einzelnen Isolaten differenzierter physiologischer Rassen von *Fusarium oxysporum* zu unterscheiden.

Die hier dargelegten Versuchsergebnisse sind nur teilweise vergleichbar mit den Aussagen von BELALCAZAR (1984). Die von ihm erhaltenen Esterasemuster für ver-

Tab. 2. Charakterisierung der fünf nicht zugeordneten Isolate von *Fusarium oxysporum* f. sp. *callistephi* anhand der Anfälligkeit von Sorten des Testpflanzensortiments.

Characterization of the five unknown isolates of Fusarium oxysporum f. sp. *callistephi* using the susceptibility of the differential set.

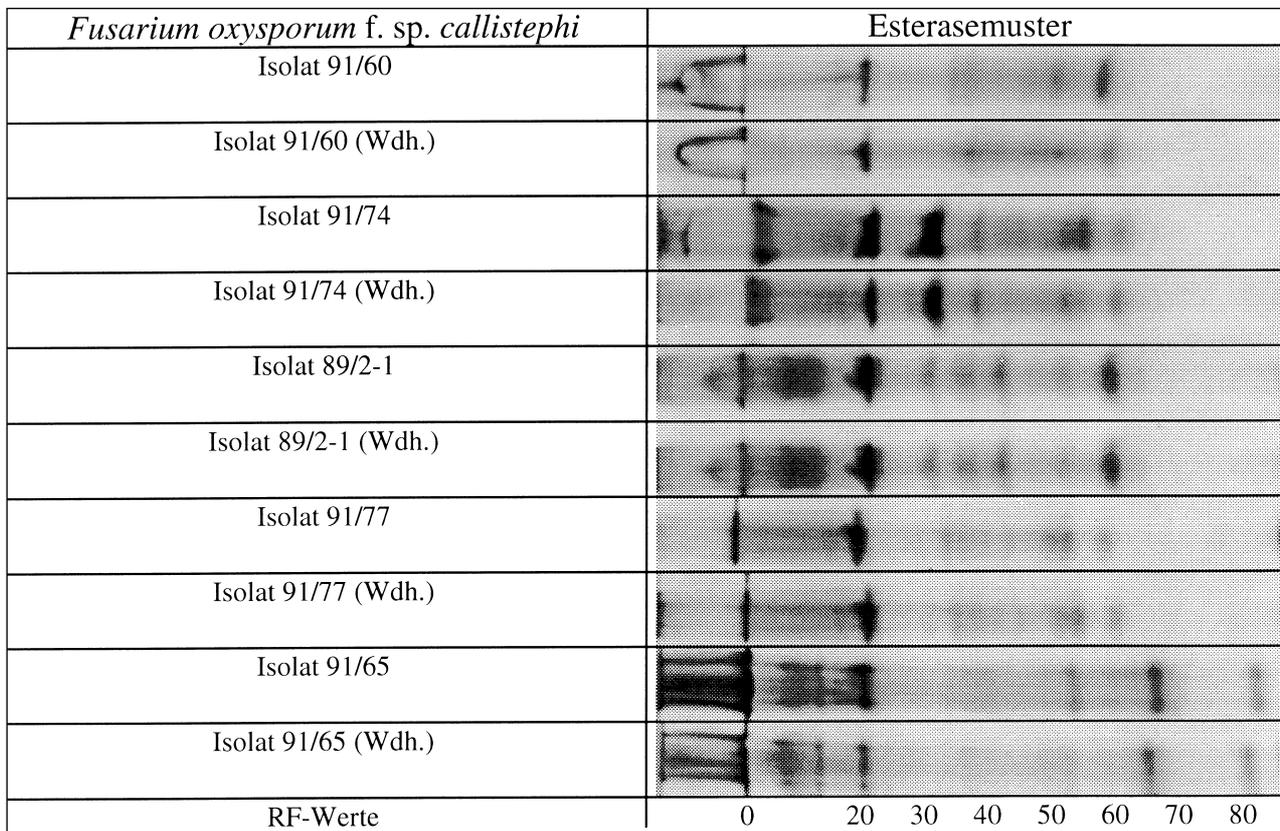
Asternsorten	unbekannte Isolate				
	FOC 89/13	FOC 90/35	FOC 91/42	FOC 91/57	FOC 91/67
Bukett Dunkelblau	IV	III	IV	IV	III
Fan Rot	II	IV	IV	I	II
Germania Lachskarmin	IV	IV	IV	IV	IV
Harz 'Isolde'	IV	III	IV	IV	III
Krallen 'Kameo'	IV	IV	IV	IV	IV
Paeonien 'Nico'	I	I	II	I	I
Pompon Pfirsichblüte	I	I	I	I	II

I = 0–10% der Pflanzen befallen

II = 11–20% der Pflanzen befallen

III = 21–50% der Pflanzen befallen

IV = >50% der Pflanzen befallen



Isolat	RF-Wert 30	RF-Wert 35	RF-Wert 40	Rf-Werte 65/82
91/60	Fehlt	Doppelbande	Fehlt	Fehlt
91/74	Einfachbande (sehr stark)	Einfachbande	Fehlt	Fehlt
89/2-1	Einfachbande	Doppelbande	Einfachbande	Fehlt
91/77	Fehlt	Einfachbande	Einfachbande (schwach)	Fehlt
91/65	Fehlt	Einfachbande	Fehlt	Doppelbande

Abb. 1. Esterasenzymogramme von fünf Standardisolaten von *Fusarium oxysporum* f. sp. *callistephi* aus dem Isolaten-Depot.
Zymograms of esterase of five standard isolates of Fusarium oxysporum f. sp. callistephi from isolate collection.

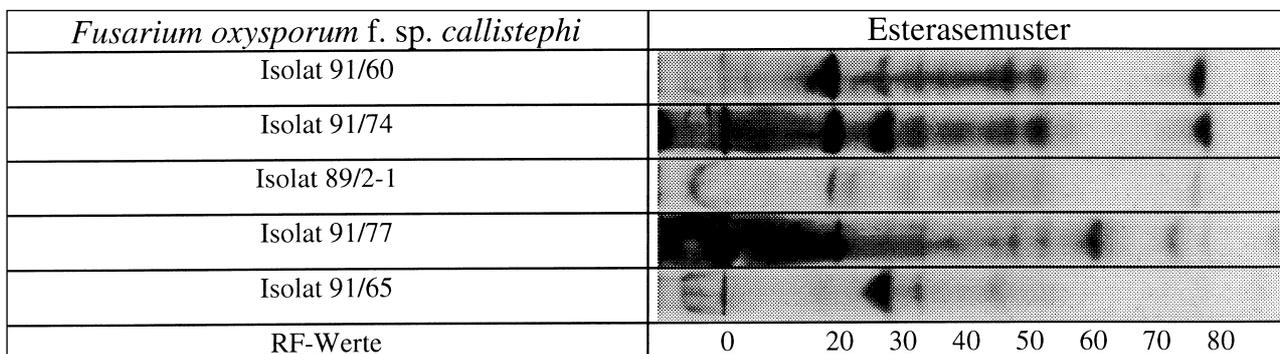


Abb. 2. Esterasenzymogramme von fünf Standardisolaten von *Fusarium oxysporum* f. sp. *callistephi* frisch re-isoliert aus erkrankten Pflanzen.
Zymograms of esterase of five standard isolates of Fusarium oxysporum f. sp. callistephi re-isolated from infected plants.

<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>callistephi</i>	Esterasemuster								
unbekanntes Isolat 1									
unbekanntes Isolat 2									
unbekanntes Isolat 3									
unbekanntes Isolat 4									
unbekanntes Isolat 5									
RF-Werte	0	20	30	40	50	60	70	80	

Abb. 3. Esterasezymogramme von fünf unbekanntem Isolaten von *Fusarium oxysporum* f. sp. *callistephi* aus dem Isolaten-Depot. *Zymograms of esterase of five unknown isolates of Fusarium oxysporum f. sp. callistephi from isolate collection.*

schiedene Arten, formae speciales und Rassen der Gattung *Fusarium* (aber nicht von *Fusarium oxysporum* f. sp. *callistephi*) waren spezifisch und stabil für die einzelnen Isolate. Er fand keine Abweichungen bei wiederholten Untersuchungen der entsprechenden Extrakte verschiedener Kulturen eines Isolates, das zu verschiedenen Zeiten unter identischen Bedingungen angezogen wurde. Es handelte sich aber immer um Untersuchungsmaterial, welches ständig auf Nährboden gehalten worden war.

Die Analyse der Zymogramme von fünf Standardisolaten von *Fusarium oxysporum* f. sp. *callistephi* zeigte, dass die Erstellung eines genetischen Fingerprints für diese Isolate unter Nutzung polymorpher Esterasen möglich ist. Das polymorphe Bandenmuster veränderte sich jedoch, wenn die Standardisolate nicht aus dem Depot entnommen, sondern frisch aus den erkrankten Sommerastern re-isoliert wurden. Eine Erklärung für dieses Verhalten läßt sich in der Physiologie des Pilzes suchen. Die Esterasen gehören zu den Enzymen des Grundstoffwechsels (VAN MAREWIJK et al. 1985) und werden entwicklungsgesteuert aktiv (HENNIG, unveröffentlicht). Damit sind Änderungen der Umweltbedingungen, die einen veränderten Stoffwechsel des Organismus initiieren, auch als potentielle Ursache für variable Zymogramme heranzuziehen (SCANDALIOS 1974). Der Wechsel des Pilzes von *in vitro* Kulturbedingungen zu den Bedingungen in einer befallenen Pflanze setzt eine massive Anpassung des Stoffwechsels voraus. So fanden FIELDS und TYSON (1973) modifizierte Esterasemuster beim Flachs durch Änderungen der Nährstoffversorgung wie auch mit fortschreitendem Alter. Die Esterasemuster der Erdbeere waren beim Vergleich von Freilandkulturen und *in vitro* Material eindeutig verschieden (NEHRA et al. 1991). Eine starke Abhängigkeit der Esteraseaktivität von verschiedenen Substraten wird von VAN DER JOOSTE und MORELAND (1963) beschrieben. Damit wären auch die grundsätzlich veränderten Muster der Standardisolate im Vergleich der Depotkultur mit den entsprechenden Re-Isolaten zu erklären.

Insgesamt kann eingeschätzt werden, dass multiple Esterasezymogramme zur Differenzierung von *Fusarium oxysporum* f. sp. *callistephi* Isolaten bzw. physiologischer Rassen unter praktischen Gesichtspunkten nur eingeschränkt genutzt werden können. Grundvoraussetzung sind standardisierte physiologische Bedingungen, die sich nach den bisherigen Ergebnissen nur rela-

tiv langsam einstellen. Damit ist die Anwendung der Isoenzymanalyse für eine praktische Nutzung zur Charakterisierung des Krankheitserregers in den züchterischen Arbeiten, bei der Suche nach *Fusarium*-toleranten Asternsorten stark limitiert, zumal sie keine Diagnose des Erregers in der Pflanze zulässt (HENNIG 1999). Als eine mögliche Lösung bietet sich die Nutzung von DNA Markertechniken, die gegenüber der Isoenzymanalyse eine Reihe von Vorteilen bieten, an (MC DONALD 1997).

Die Untersuchungen wurden am Institut für Gemüse- und Zierpflanzenbau Großbeeren/Erfurt e.V. (IGZ) mit Förderung des Bundesministers für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten sowie des Ministers für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten des Landes Brandenburg und des Ministers für Landwirtschaft, Naturschutz und Umwelt des Freistaates Thüringen durchgeführt.

Bei Herrn W. Köhnke möchten wir uns für die exzellente Durchführung der Versuche mit Pflanzentestsortiment und bei Herrn J. Hartung für die sorgfältige Durchführung der Isoenzymanalysen bedanken.

Literatur

- ARMSTRONG, G. M. und J. K. ARMSTRONG 1968: Formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* causing a tracheomyces in the syndrome of disease. *Phytopathology* **58**, 1242–1246.
- BELALCAZAR, S. 1984: Untersuchungen zur Differenzierung verschiedener Rassen und forma speciales von *Fusarium oxysporum* und anderer *Fusarium*-Arten anhand der Muster multipler Esterase-Formen nach gelelektrophoretischer Trennung. Dissertation Universität Göttingen, Fachbereich Agrarwissenschaften.
- BRUNO, H. H. 1993: Entwicklung von Verfahren zur Bewertung der Resistenz von Möhren durch *Alternaria* spp. und Untersuchungen zur Differenzierung von *Alternaria* spp. anhand der Isoenzym-Variation von Esterasen. Dissertation Universität Göttingen, Fachbereich Agrarwissenschaften.
- FIELDS, M. A. und H. TYSON 1973: Activity and relative mobility of peroxidase and esterase isoenzymes of flachs genotypes. *Canadian Journal of Genetic and Cytology* **15**, 731–744.
- GAMS, W. 1996: Fungal taxonomy in crisis. In: Proceedings of the 4 International Symposium of the

- European Foundation for Plant Pathology, Bonn, 17–21.
- HENNIG, F. 1999: Prüfung von β -Glucosidasezymogrammen als Marker für den Befall von Cyclamen durch *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis*. Gartenbauwissenschaft **64**, 1–5.
- HOFFMANN, G. M. 1963: Untersuchungen über die Fusariumwelke der Aster (*Callistephus chinensis* Nees). Gartenbauwissenschaft **28**, 319–358.
- MCDONALD, B. A. 1997: The population genetics of fungi: Tools and technics. Phytopathology **87**, 448–453.
- NEHRA, N. S., KARTHA, K. K. und C. STUSHNOFF 1991: Isoenzymes as markers for identification of tissue culture and greenhouse-grown strawberry cultivars. Canadian Journal of Plant Science **71**, 1195–1201.
- NIRENBERG, H. 1976: Untersuchungen über die morphologische und biologische Differenzierung in der *Fusarium*-Sektion *Liseola*. Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem **169**.
- ORLICZ-LUTHARDT, A. 1994: Bestimmung der Pathotypen von *Fusarium oxysporum* Schl. f. sp. *callistephi* (Beach) Snyder et Hansen. Vorträge für Pflanzenzüchtung **28**, 100–101.
- PATERSON, R. R. M. und P. D. BRIDGE 1994: Biochemical techniques for filamentous fungi, IMI Technical Handbooks No. 1, CAB International Wallingford, Oxford, 35–45.
- PERSIEL, F. und H. LEIN 1989: Untersuchungen zur Resistenz von Sommerastern, *Callistephus chinensis*, gegen *F. oxysporum* f. sp. *callistephi*. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz **96**, 47–59.
- SCANDALIOS, J. G. 1974: Isoenzyme in development and differentiation. Annual Review of Plant Physiology **25**, 225–258.
- VAN DER JOOSTE, W. und D.E. MORELAND 1963: Preliminary characterization on some plant carboxylic ester hydrolases. Phytochemistry **2**, 263–271.
- VAN MAREWIJK, G. A. M., BINO, R. J. und L. C. J. M. SUURS 1986: Characterization of cytoplasmatic sterility in *Petunia* Hybrida. Euphytica **35**, 77–88.

Eingereicht: 02.11.01/27.02.02

Anschrift der Verfasser: Dr. F. Hennig und Dr. Anna Orlicz-Luthardt, Institut für Gemüse- und Zierpflanzenbau Großbeeren/Erfurt e. V., Kühnhäuser Straße 101, 99189 Erfurt-Kühnhausen.