



Meuterei auf der Bounty

Molekularbiologische Methoden unterstützten die Bekämpfung des „Lethal Yellowing“

Wer kennt nicht die Kokosnuss? Die Kokospalme und ihre Frucht, die Kokosnuss, sind der besungene Fetisch in einem Kinderlied, die aromatische Leckerei im Schokoriegel oder die Kulisse exotischer Urlaubsvorstellungen.

Von der Bevölkerung der Anbauländer wird die Kokospalme „Baum des Lebens“ genannt, weil sie von der Wurzel bis zur Krone die unterschiedlichsten Produkte liefert und gleichzeitig eine große mythische Bedeutung hat. Neben dem hohen Stellenwert der Kokospalme für den lokalen Verbrauch spielt die Kokosnuss in der weltweiten Ölproduktion eine wichtige Rolle.

Doch die Kokospalme wird von mehreren Krankheiten bedroht, von denen das „Lethal Yellowing“ besonders gefährlich ist. Wegen der wirtschaftlichen Bedeutung forschen Wissenschaftler auch der gemäßigten Breiten an der Kokospalme. Im Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung in Köln beschäftigt sich die Arbeitsgruppe von Wolfgang Rohde mit der Erforschung des Erbguts der Kokospalme. Die Genomanalyse ist eine von drei molekularbiologischen Techniken, die die traditionelle Züchtung ergänzen können, um dem Lethal Yellowing genügend resistente Sorten entgegenzusetzen.

Vom Baum des Lebens zu toten Plantagen

Die Kokospalme ist ein Beispiel perfekter Verwertbarkeit. Die Wedel der Kokospalme und die Faserhülle der Kokosnuss werden im Hausbau verwendet und zu Seilen und Matten weiterverarbeitet. Das weiße Samenfleisch der reifen Kokosnuss ist das bei uns



Kokospalmen werden vorwiegend von Kleinbauern genutzt. Das Samenfleisch der Nuss liefert die Kopra.

vielleicht bekannteste Produkt. Daneben dienen sowohl der Palmsaft aus angeritzten Blütenständen als auch das Kokoswasser der unreifen Früchte der täglichen Ernährung. Getrocknet liefert das Samenfleisch der reifen Kokosnuss die sogenannte Kopra. Aus Kopra wird durch Pressen das Kokosöl gewonnen. Kokosöl wird in der weiterverarbeitenden Industrie für Margarine, Waschmittel, Sonnencreme und Zahnpasta verwendet.

Weltweit werden auf zwölf



Eine von Lethal Yellowing heimgesuchte Plantage in Jamaica; die Stämme der abgestorbenen Kokospalmen ragen wie Telefonmasten in den Himmel; darunter wurden Palmen einer resistenteren Sorte gepflanzt. Da der Standort jedoch stark versucht ist, werden auch diese Pflanzen oft krank.

Millionen Hektar Kokospalmen angebaut. Das entspricht etwa der Fläche der Schweiz und Österreich zusammen. Die Bestände der Kokospalme werden allerdings vermehrt durch Krankheiten dezimiert. Die Krankheit, die am stärksten die Kokosnussproduktion gefährdet, ist das Lethal Yellowing, auch Welke- und Vergilbungs-krankheit genannt. Nach Auftreten der ersten Symptome sterben die Palmen innerhalb von vier bis sechs Monaten ab. Zuerst fallen die noch unreifen Kokosnüsse ab, die jungen Blätter verwelken und die Blütenstände verfär-

ben sich schwarz. Zurück bleiben von den abgestorbenen Palmen die toten Stämme, die wie Telegraphenmasten in den Himmel ragen. In Westindien, Florida, Mexiko und Honduras hat diese Krankheit Millionen von Kokospalmen zerstört. Es sind zumeist Kleinbauern, die Kokospalmen anbauen und mit dem Verkauf von Kopro den Lebensunterhalt für ihre Familien verdienen. Durch das Absterben der Palmen sind viele solcher Kleinbauern ihrer Lebensgrundlage beraubt.

Pflanzliche Arteriosklerose

Bei dem Erreger des Lethal Yellowing handelt es sich um die kleinsten bisher bekannten Bakterien, sogenannte Phytoplasmen. Die Phytoplasmen leben in den Phloem-Zellen der Palmen. Das Phloem ist Teil des pflanzlichen



Elektronenmikroskopische Aufnahme des Erregers des Lethal Yellowing; im Querschnitt einer Phloem-Zelle zeigt sich, dass die Phytoplasmen fast die ganze Leitbahn ausfüllen.

Versorgungsgewebes, das die Pflanze von der Krone bis zur Wurzel hin durchzieht. Im Phloem werden die in den Blättern synthetisierten Zucker in die anderen Pflanzenteile verteilt. In diesen Leitbahnen vermehren sich die Phytoplasmen so stark, dass die Phloem-Gefäße verstopfen und kollabieren. Die Pflanze kann sich nicht mehr versorgen und das „tödliche Vergilben“ setzt ein – das Lethal Yellowing.

Verbreitet wird der Erreger durch eine kleine, gerade mal zwei Millimeter große Zikade. Diese Zikade sticht das Phloem der Palmen an, um sich vom Zuckersaft der Pflanze zu ernähren. Aus einer befallenen Palme nimmt

Besondere Bakterien

Phytoplasmen sind mit einer Größe von 0,1 bis einem Mikrometer die kleinsten bisher bekannten Bakterien und nur unter dem Elektronenmikroskop sichtbar. Sie sind die kleinsten Zellen, die noch genügend DNA für die Vermehrung und einen eigenen Stoffwechsel besitzen. Phytoplasmen sind Parasiten und kommen nur innerhalb von lebenden Zellen vor. Da die Phytoplasmen-Zellen nur von einer Membran und keiner Zellwand begrenzt sind, können sie leicht Stoffwechselprodukte aus der Wirtszelle aufnehmen.

Phytoplasmen sind die Ursache von über 300 Pflanzenkrankheiten.

sie so auch die Phytoplasmen auf. Sticht sie anschließend nicht-infizierte Palmen an, gelangen Phytoplasmen vom Rüssel der Zikade in das Phloem.

Die Kokos-Bauern sind in einer problematischen Situation: Gegen das Lethal Yellowing gibt es keine Heilung. Die einzige Möglichkeit besteht darin, resistente Sorten zu finden

bzw. zu züchten. Die traditionelle Züchtung der Kokospalmen ist allerdings extrem zeitaufwendig. Bis die Kokosnüsse keimen und die jungen Kokospalmen das erste Mal Nüsse tragen, vergehen drei bis sieben Jahre. Erst dann kann der Züchter vorteilhafte Eigenschaften erkennen, wie hohen Ertrag und Kopro guter Qualität. Auch die Resistenz gegen das Lethal Yellowing ist erst nach Jahren sicher festzustellen, da die Krankheit nur an älteren Palmen ausbricht.

Sinnvoll ist es daher, weltweit nach widerstandsfähigen Sorten zu suchen. Gleichzeitig benötigen Züchter eine zuverlässige Methode, mit der sie die Phytoplasmen möglichst frühzeitig in den Pflanzen nachweisen können. Zudem wäre es ideal, wenn man aus gesunden Kokospalmen nicht-infizierte Ableger gewinnen könnte. Hierbei bieten sich molekularbiologische Methoden an. DNA-Markertechnologie, molekulare Diagnostik und Gewebekulturen können die traditionelle Züchtung ergänzen und vor allen Dingen beschleunigen, so dass das Lethal Yellowing in Zukunft wirkungsvoll eingedämmt werden kann.



Zikade (*Myndus crudus*), die an der Kokospalme saugt und dadurch Phytoplasmen überträgt.

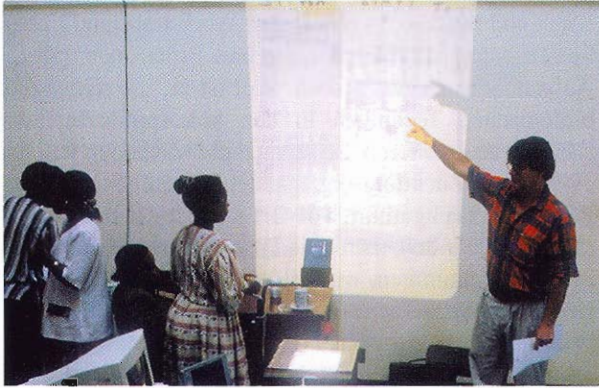
Genomanalysen helfen bei der Züchtung

Mit Hilfe der Genomanalyse untersucht man das Erbgut der Kokosnuss. Hierdurch kann man die kleinen genetischen Unterschiede feststellen, wie sie bei Kokospalmen aus verschiedenen Regionen vorliegen. Denkbar ist, dass sich unter diesen Varianten Palmen befinden, die widerstandsfähiger gegen das Lethal Yellowing sind und so in der Züchtung genutzt werden können.

Analysiert wird das Genom eines Organismus durch die DNA-Markertechnologie. Bei der DNA-Markertechnologie werden Stellen im Genom, an denen sich die DNA von Organismus zu Organismus in der Abfolge der Basenpaare unterscheidet, als Marker sichtbar gemacht. Der DNA-Marker bezeichnet (markiert) dadurch einen bestimmten Ort im Genom. Mit Hilfe der PCR-Technik und der Gelelektrophorese (siehe Glossar) lässt sich ein für jedes Individuum charakteristisches Bandenmuster herstellen – ein genetischer Fingerabdruck. Wolfgang Rohde und seine Arbeitsgruppe führten 1995 eine erste genetische Analyse der Kokospalmen durch. Sie stellten fest, dass sich die Palmen aus Regionen des Indischen Ozeans und des Pazifischen Ozeans genetisch deutlich

unterscheiden. Insgesamt wurde deutlich, dass die Kokospalmen genetisch wesentlich diverser sind, als es morphologisch den Anschein hatte.

Die Resistenz gegen das Lethal Yellowing ist polygen, d.h. viele Gene sind an der Resistenzausprägung beteiligt. Andere positive Eigenschaften, die genetisch näher analysiert werden sollen, sind hohe Stresstoleranz, frühes Fruchten, qualitativ hochwertige Früchte und Kleinwüchsigkeit der Palmen. Eine solche funktionelle Genomanalyse hilft der Züchtung, indem Kreuzungen gezielter vorgenommen und schon Palmsetzlinge in ihren Eigenschaften charakterisiert werden können.

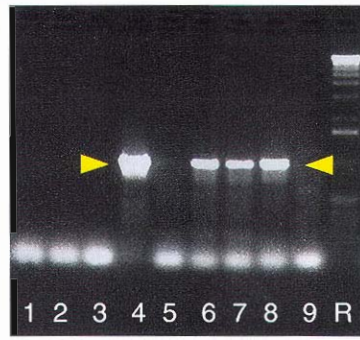


Laborkurs in Tansania; mit einfachen Mitteln wird den Instituten der Anbauländer die molekularbiologischen Methoden ermöglicht; an die Wand ist die Aufnahme von einem Gel projiziert, das eine Genomanalyse verschiedener Kokospalmen zeigt.

Präzise Diagnostik des Erregers

Um die Ausbreitung des Lethal Yellowing eindämmen zu können, ist es wichtig, befallene Palmen möglichst frühzeitig zu erkennen und sie vor dem Auftreten der ersten Symptome aus dem Bestand zu entfernen. Zudem ist es notwendig, die Sämlinge der Palmen zu untersuchen. Da das Lethal Yellowing erst an älteren Palmen ausbricht, kommt es vor, dass die Farmer bereits infizierte Palmen einpflanzen. Eine gute Möglichkeit der Früherkennung bietet der molekularbiologische Nachweis der Phytoplasmen in der Kokospalme. Hierzu muss man jedoch einen Genabschnitt kennen, den nur der Krankheitserreger besitzt.

Die Kölner Arbeitsgruppe hat herausgefunden, dass sich ein solcher Abschnitt in der DNA befindet, die als Vorlage für einen Bestandteil der Ribosomen dient. Für den Nachweis extrahiert man die DNA aus jungen Blättern der Kokospalme. Man erhält ein Gemisch aus der DNA der Kokospalme und bei Befall der Palme der DNA der Phytoplasmen. Mit Hilfe kurzer Nukleotidsequenzen, sogenannten Primern (siehe Glossar), wird durch PCR ein Abschnitt der Phytoplasmen-DNA selektiv vermehrt. In dem anschließenden Trennungsschritt durch Gelelektrophorese wird dieses vermehrte DNA-Fragment im Fall einer Infektion als Bande sichtbar.



Molekularbiologischer Nachweis von Phytoplasmen; bei den Kokospalmen 4, 6, 7 und 8 ist deutlich die Bande im Gel zu erkennen (Pfeile), die das spezifische DNA-Stück der Phytoplasmen enthält, d.h. dass die Palmen befallen sind. R=Referenz.

Vorteil dieser Methode ist es, dass selbst kleinste Mengen der Phytoplasmen nachgewiesen werden können, wie es für die Früherkennung notwendig ist. Saatgut und Sämlinge können somit zuverlässig untersucht werden, so dass infiziertes Material nicht mehr in den Handel kommt.

Gesunde Pflanzen aus Gewebekulturen

Leider lässt sich die Kokospalme nicht vegetativ, d. h. über Wurzelstücke oder Ablager, vermehren. Die vegetative Vermehrung bietet aber den großen Vorteil, nur solche Pflanzen zu vermehren, die sich durch besondere Eigenschaften, wie beispielsweise höhere Erträge, auszeichnen. Hier bietet die Gewebekulturtechnik eine Alternative: Im Gegensatz zu tierischem Gewebe kann man unter geeigneten Bedingungen bei den meisten Pflanzen aus einzelnen Stücken wieder ganze Pflanzen heranzüchten. Am besten eignet sich hierzu Gewebe, bei dem sich die Zellen noch teilen und differenzieren, wie etwa in Wurzelspitzen oder in jungen Blättern. Solche Gewebezellen wachsen auf Nährlösung zunächst zu einem Zellhaufen, einem sogenannten Kallus, heran. Gibt man Pflanzenhormone hinzu, entwickelt sich aus dem Kallus ein Palmembryo.

Im Vergleich zu anderen Pflanzen lassen sich Kokospalmen nur schwierig aus Gewebestücken nachziehen. Am besten eignet sich das Gewebe unreifer Blütenstände, wie Wissenschaftler aus den Philippinen und Mexiko zeigten. Die aus Gewebekulturen gezogenen Palmen werden zur Zeit in Feldversuchen erprobt, ob sie fruchtbare Kokosnüsse tragen. Dieses *in-vitro*-Verfahren stellt eine attraktive Möglichkeit dar, die züchterischen Resultate zu beschleunigen. Von einer ausgesuchten Palme können auf diese Weise viele Klone



Entwicklungsreihe in einer Gewebekultur: vom Kallus (links) zu jungen Kokospflanzen (rechts).

hergestellt und Pflanzen herangezogen werden, die garantiert frei von Lethal Yellowing sind.



Die Teilnehmer eines molekularbiologischen Kurses in Merida (Mexiko).

Glossar

Gelelektrophorese: Methode zur Auftrennung von unterschiedlich großen DNA-Stücken. Das DNA-Gemisch wird hierzu auf eine durchlässige Träger-substanz - ein Gel - aufgetragen. Da DNA elektrisch negativ geladen ist, hängt die Wanderungsgeschwindigkeit eines DNA-Stücks in einem elektrischen Feld deshalb nur von seiner Größe ab.

Primer: Kurze Nukleotidsequenzen, die sich an einzelsträngige DNA anlagern, an welche die Nukleotide während der DNA-Synthese angehängt werden.

PCR: Polymerase-Kettenreaktion, Verfahren zur starken Vermehrung von DNA durch Inkubation mit Primern, DNA-Polymerase und Nukleotiden.

LITERATUR

- ▶ Engelhardt J. A., Fenner B. 1996: Wer hat die Kokosnuss ...? Die Kokospalme – der Baum der tausend Möglichkeiten; Katalog zur Ausstellung, Rautenstrauch-Joest-Museum, Köln.
- ▶ Eden-Green S. J., Ofori F. 1995: Proceedings of an international Workshop on Lethal Yellowing-Like Diseases of Coconut; Elmina, Ghana, November 1995; NRI.
- ▶ http://www.cicy.mx/dir_acad/cicly/main.html: Centre for Information on Coconut Lethal Yellowing
- ▶ <http://www.mpiz-koeln.mpg.de/~rohde/coconut.html>

Ausblick

Die skizzierten molekularbiologischen Methoden sind eine große Chance für die Kokosproduktion und die Bekämpfung des Lethal Yellowing, aber sie bedürfen noch weiterer Entwicklung. Eine internationale Zusammenarbeit mit Wissenschaftlern aus den kokosproduzierenden Ländern ist dafür unerlässlich. Wolfgang Rohde und seine Arbeitsgruppe arbeiten seit 1994 (im Rahmen von EG-Projekten) mit den Ländern Spanien, Tansania, den Philippinen und Jamaika zusammen und pflegen wissenschaftliche Austauschprogramme mit Kuba und Mexiko. In regionalen Workshops und Labor-kursen werden die Ergebnisse und Erfahrungen an die Anbauländer weitergegeben. Ziel ist es, die molekularbiologischen Techniken in den kokosproduzierenden Ländern zu etablieren. So können die Methoden von den staatlichen Züchtungsorganisationen und Forschungsinstituten durchgeführt, vor Ort ausgetestet und weiterentwickelt werden, damit die Forschungsergebnisse endlich dort ankommen, wo sie gebraucht werden: bei den Kokosbauern.

Priorität der Kölner Arbeitsgruppe hat die weitere Erforschung des Genoms der Kokospalme mit Hilfe verschiedener DNA-Markertechnologien. Die Genom-Karten der Kokospalme sollen in Zusammenarbeit mit den Anbauländern weiterentwickelt werden. Langfristig möchte man alle die Eigenschaften, die in der Züchtung von Vorteil sind, genetisch charakterisieren, um Kreuzungen gezielter vornehmen zu können.

IMPRESSUM

Text: Katja Moch
Redaktion: Susanne Benner, Wolfgang Rohde
Layout: Susanne Benner
Bilder: Dieter Becker, Carlos Oropeza, Tamara Turbanski

Herausgeber:
Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung
Presse- und Öffentlichkeitsarbeit
Carl-von-Linné-Weg 10
50829 Köln
Deutschland
Tel: 0221-5062 673
Fax: 0221-5062 674
e-mail: prag@mpiz-koeln.mpg.de

Nachbestellung von MPIZ aktuell gegen eine Schutzgebühr von 0,50 DM pro Exemplar zuzüglich Porto ab 10 Exemplare schriftlich an oben genannte Adresse oder unter
Tel.: 0221/5062-673, Fax: 0221/5062-674

MPIZ aktuell ist ebenfalls über Internet abrufbar unter
<http://www.mpiz-koeln.mpg.de/~pr/MPIZaktuell>
© 2001 MPI für Züchtungsforschung