

CYTOLOGIE EN MOLECULAIRE SYSTEMATIEK IN DE FAMILIE CACTACEAE (2)

J. Hugo Cota en Robert S. Wallace.

Moleculaire onderzoeken in de familie Cactaceae:

Zoals eerder vermeldt, zijn de taxonomische indelingen voornamelijk bepaald door morfologische kenmerken. Hierdoor bleven vele fylogenetische vragen onopgelost. Wallace (in druk) maakt melding van de complexe evolutie van de cacteeën. Hij zegt:

"De cacteeën zijn een verzameling van structureel verschillende planten, die door habitat morfologisch een parallelle ontwikkeling vertonen, bovendien brengen ze extreme specialisatie in groei, bloei en andere morfologische kenmerken tot uiting. Het dilemma is om vast te stellen welke veranderingen in morfologische kenmerken inderdaad homoloog (overeenkomstig) zijn of een parallelle ontwikkeling zijn".

Het grootste probleem met morfologische kenmerken is de plasticiteit in reactie op omgevingsfactoren en de parallelle evolutie. Hoewel enige vegetatieve kenmerken zich onafhankelijk hebben ontwikkeld in de verschillende geslachten, veroorzaken convergenties gedurende de evolutie vaak verwarring in taxonomische verhandelingen. De moleculaire gegevens hebben verschillende voordelen boven de morfologische:

1. Ze zijn op DNA gebaseerd en dus erfelijk,
2. Het is veel makkelijker om de overeenkomst van kenmerken vast te stellen omdat deze voortkomen uit een gemeenschappelijke afstamming,
3. Er is minder kans op analoge kenmerken die door convergentie in de evolutie zijn ontstaan. Het voorgaande is van bijzonder belang voor de classificatie, wanneer het de afkomst uit een gemeenschappelijke voorouder duidelijk moet maken. Ondanks het

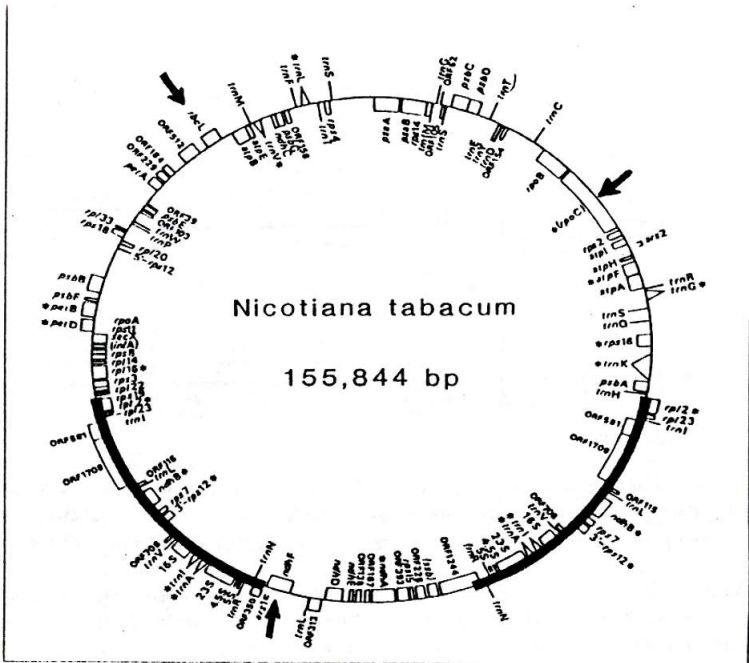
probleem van de convergentie staan de moleculaire gegevens niet los van de morfologische informatie en andere gegevens zoals cytologische en/of biochemische. Hillis (1987) heeft inderdaad aangetoond, dat de morfologische en moleculaire kenmerken in verband met elkaar staan.

Deze systematische moleculaire onderzoeken zijn met groot succes toegepast op talrijke groepen. In planten worden het nucleaire genoom en het genoom van het chloroplast het meest gebruikt. In de familie Cactaceae, zijn de meeste onderzoeken gedaan met verschillende fragmenten van het chloroplast genoom zoals hieronder beschreven. Eerdere onderzoeken tonen aan, dat in het chloroplast genoom aanzienlijke variatie bestaat die goed voor fylogenetische doelen is te gebruiken. Voor de cactusfamilie zijn nu in de Iowa State Universiteit methoden ontwikkeld voor isolatie en analyse van chloroplast DNA (Wallace, in druk).

Biochemische onderzoeken in de Cactaceae:

Hoewel beperkt in aantal zijn de biochemische onderzoeken waardevol geweest om de taxonomische relaties in de familie te bepalen.

In plaats van chemotaxonomische onderzoeken worden tegenwoordig meer moleculair systematische onderzoeken gedaan, die gebruik maken van DNA (DesoxyriboNucleic Acid). In de chemotaxonomie zijn de secundaire producten van het metabolisme van belang omdat ze een aanwezigheid zijn voor de biosynthese processen en de tussenliggende producten. De aan- of afwezigheid in de verschillende biosynthetische routes is nuttig om de graad van de fylogenetische verwantschap te bepalen. Het spreekt van-

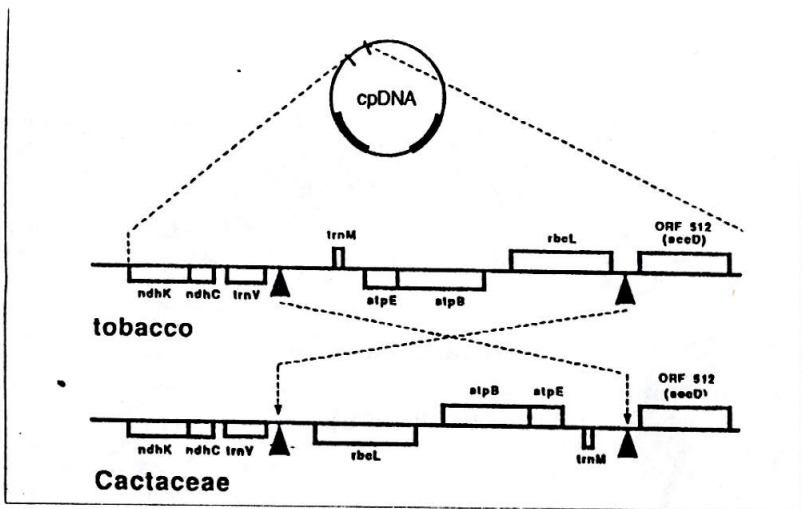


De fysische structuur en genetische volgorde van het DNA molecuul van het chloroplast van tabak, volgens Shinozaki e.a.(1986). De donkere balken duiden de omgekeerde gebieden (inverted repeats) aan (IR), die de andere gebieden flankeren. De pijlen geven de gebieden van het chloroplastgenoom aan, waaraan onderzoeken plaatsvinden.

zelf, dat deze producten kunnen worden gebruikt als taxonomische kenmerken. De rode kleurstof betalaine is zo'n secundair product en ook een taxonomisch kenmerk voor de Caryophyllales. De chemotaxonomie houdt zich bezig met macromoleculen zoals nucleinezuren (RNA en DNA) en proteïnen (eiwitten), en andere stoffen zoals: alkaloiden, flavonoiden, terpenoiden, pigmenten en lipiden. Proteïnen en flavonoiden hebben waardevolle informatie verschaft in de systematische onderzoeken aan de cacteeën (Wallace (1986)). Een van deze biochemische onderzoeken van Wallace en Fairbrothers (1986) is over proteïnen in zaad die gebruikt zijn om verschillende populaties van *Opuntia humifusa* te karakteriseren.

Miller (1988) gebruikte flavonoiden van bloemen om de fylogenetische relaties in

Echinocereus te bepalen. Zijn resultaten aan, dat de flavonoiden nuttig kunnen zijn om interspecifieke verwantschappen vast te stellen, vooral in soorten die deze bloemkenmerken hebben. Parker en Han (1992) hebben tenslotte de grenzen van genetische structuur binnen een populatie bepaald. Deze studie is gedaan aan de zu cactus *Lophocereus schottii*, die zich in li algemeen ongeslachtelijk voortplant. De dank suggereren de analyses van isoenzymen, dat in deze soort beide typen van voortplanting (geslachtelijk en ongeslachtelijk) belangrijk zijn geweest voor de having van genetische variatie. Een van de voordelen van de onderzoeken aan genetische variatie op populatieniveau is dat er plan gemaakt kan worden voor instandhouding en verspreiding van bedreigde soor



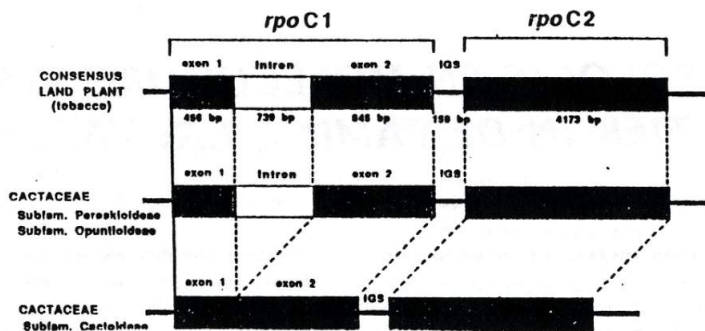
Omkering (inversie) van 6000 basen in het gebied van het chloroplast DNA. Deze inversie is karakteristiek voor de familie Cactaceae. Andere planten families tonen een genetische volgorde zoals bij tabak. De zwarte driehoeken geven de plaats van de inversie aan. (gewijzigde figuur van Downie en Palmer, 1994).

en het in kaart brengen van het gevaar van uitroeiing. Genetische identiteit kan ook gebruikt worden om grenzen van soorten in taxonomische complexen te bepalen, vooral als kruisingen een rol spelen. Ongetwijfeld kunnen in de familie Cactaceae deze technieken worden toegepast voor soorten, die worden bedreigd met uitroeiing. Een inventaris en monitoring van deze in de natuur zeldzame soorten is van vitaal belang voor de handhaving van de biodiversiteit.

Het DNA van het chloroplast en de moleculaire systematiek van de plant.

Recentelijk zijn verschillende artikelen verschenen over het gebruik van DNA om fylogenetische relaties in planten te bepalen (Olmstead en Palmer, 1994; Palmer, 1994; Palmer, 1987; Palmer e.a., 1988). Het chloroplast-DNA komt men bij alle landplanten tegen en is gelijksoortig van structuur en organisatie in de verschillende groepen. Dit genoom is goed gekarakteriseerd in de vier voornaamste plantengroepen: mossen, varens, naaktzadigen en bedektzadigen. Vergelijken met het genoom van mitochondria en kern is het gemakkelijker om het in het labo-

ratorium te bestuderen. Het chloroplast heeft een endosymbiotische oorsprong (d.w.z.: ooit was het een zelfstandig levend organisme red.). Het bevat genetische informatie voor de vorming van enzymen voor de fotosynthese, het overbrengen van energie en verschillende ribosomale en andere proteïnen. Structureel is het DNA van het chloroplast een circulair molecuul van ongeveer 150.000 basenparen (150 kb) Het bevat vier gebieden: een groot gebied met unieke genen (LSC), een kleine gebied met unieke genen (SSC), en twee omgekeerde gebieden (inverted repeat=IR), die exacte copieën van elkaar zijn (fig.1). Het type en de volgorde van de genen is erg stabiel in planten en men heeft aangetoond, dat de mate van verandering in dit molecuul gebruikt kan worden op praktisch elk taxonomisch niveau (Palmer, 1986; 1987; Palmer e.a., 1988). Het kleine formaat en relatieve onveranderlijkheid maken het tot een ideaal molecuul. Het is makkelijk te manipuleren en te analyseren met verschillende technieken (restrictieendonuclease, genetische sequentie). Bovendien komt dit genoom in grote aantallen in de cel voor en is eenvoudig te isoleren uit



Schematische voorstelling van het gemis van het intron in het gen *rpoC1*. De subfamilie Pereskioideae de subfamilie Opuntioideae evenals de meerderheid van de planten, vertonen dit intron in het DNA van het chloroplast. In de subfamilie Cactoideae is dit intron afwezig. Dit geeft duidelijk aan dat deze subfamilie monofyletisch is.

weinig bladweefsel. Veranderingen in genetische volgorde van het chloroplast DNA zijn zeldzaam. Eveneens is de kans, dat deze herschikkingen gelijktijdig in andere groepen planten voorkomen erg klein. De structurele veranderingen in het DNA van het chloroplast zijn inversies (omkering van DNA fragmenten), deleties (ontbreken van DNA fragmenten), inserties (toevoeging van DNA fragmenten) en translokaties (verplaatsing van DNA fragmenten). Al deze verschillende structurele veranderingen heeft men verkregen in diverse plantengroepen en zijn bruikbaar als kenmerken voor de fylogenie.

Enkele woorden verklaard z.o.z.
 Wordt vervolgd.

Vertaling: Elisabeth van Zomeren
 Bewerking: Ben Zonneveld.

R.S. Wallace, Iowa State Universiteit, afdeling Plantkunde, Ames, Iowa 50011
 J. Hugo Cota, Autonome Universiteit van de staat Morelos, Laboratorium voor de Plantensystematiek, Cuernavaca, Morelos.

Literatuur (Zie ook pag 188)

- Hillis, D.M. (1987). Molecular versus morphological approaches to systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18:23-42
- Miller, J.M. (1988). Floral pigments and phylogeny in *Echinocereus* (Cactaceae). *Systematic Botany* 13:173-186.
- Parker, K.C. and J.L. Hamrick (1992). Genetic diversity and clonal structure in a columnar cactus, *Lophocereus schottii*. *American Journal of Botany* 79:86-96.
- Shinozaki, K., M. Ohme, M. Tanaka, I. Wakasugi, N. Hayashida, T. Matusubayashi, N. Zaito, Chunwongse, J. Obokata, K. Yamaguchi-Shinozaki, C. Otho, K. Torazawa, B.Y. Moon, M. Sugita, H. Deno, I. Kamogashira, K. Yamada, J. Kusada, F. Takaiwa, A. Kato, N. Tohdo, H. Shimida and M. Sugiura (1986). complete nucleotide sequence of the tobacco chloroplast genome; its gene organisation and expression. *The EMBO journal* 5:2043-2052
- Wallace R.S. (1986). Biochemical taxonomy of the Cactaceae: an introduction and review. *Cactus and Succulent Journal (U.S.)* 58:35
- Wallace R.S., and D.E. Fairbrothers (1986). Isoelectrically focused seed proteins of populations of *Opuntia humifusa* (Raf.) Raf. *Biochemical Systematics and Ecology* 14:336-369.