

CYTOLOGIE EN MOLECULAIRE SYSTEMATIEK IN DE FAMILIE CACTACEAE (SLOT)

J. Hugo Cota en Robert S. Wallace.

Vergelijkende analyses van de genetische sequentie:

Vergelijkende studies van de genetische sequentie heeft men succesvol toegepast in diverse plantengroepen om de evolutie en fylogenetische verwantschap te verklaren (zie Downie en Palmer, 1994 voor referenties). De methoden voor sequentiebepaling zijn relatief eenvoudig en tegenwoordig wordt dit gebruikt voor verschillende genen van verschillende genomen (nucleair, chloroplast en mitochondrieel genoom). In de moleculaire genetica gebruikt men de analyses van de sequenties, de informatie over het effect van deleties, transposities van de genen en andere gebeurtenissen. Deze analyses zijn de bron van een enorme hoeveelheid gegevens, die een uitgebreid spectrum van moleculaire erfelijkheid behandelen. Over het algemeen gebruikt men achtereenvolgens verschillende stappen (Hillis e.a., 1990):

- 1) identificatie van het gen van belang
- 2) isolatie en zuivering van het DNA van het gen
- 3) bepalen van de basevolgorde (sequentie) van DNA
- 4) het vergelijken van de verkregen sequentie met andere verwante genen en
- 5) cladistische analyse en interpretatie van de resultaten.

Verscheidene genen of fragmenten van genen zijn informatief om de evolutie en genetische processen in planten te begrijpen. Tussen de nucleaire genen van het 18S en 26S ribosomaal DNA bevinden zich niet-overgeschreven sequenties (ITS1 en ITS2), naast 5S en 18S en 26S zelf. In het chloroplast-genoom bevinden zich ook het gen 3,5 ribulose-carboxylase (rbcL) en het gen van nitrogenase-dehydrogenase (dhF), een gen

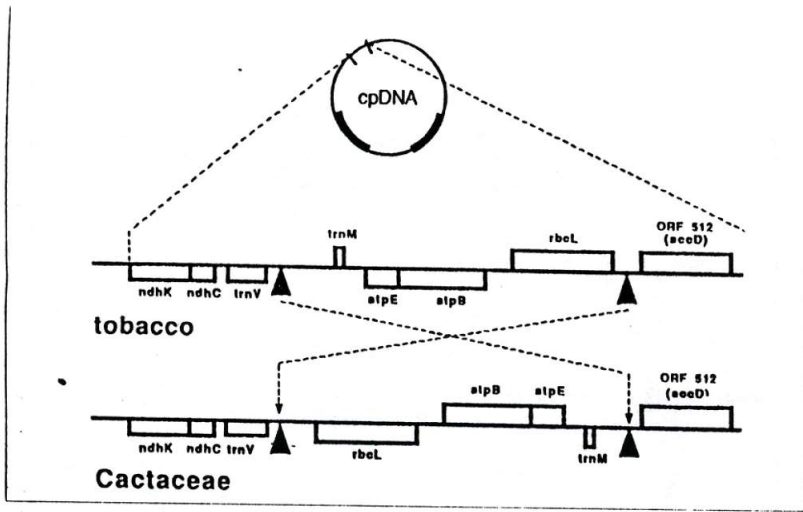
dat te maken heeft met het elektronen-transport.

I. Vergelijking van de sequentie van het gen rbcL:

Het gen rbcL (zie figuur op pagina 235 van Succulenta, oktober 1998) is ongeveer 1400 baseparen lang. Wallace vergeleek de sequentie van verschillende rbcL genen en reconstrueerde zo de fylogenie van de familie, gebaseerd op ongeveer 50 taxa, (zie figuur op pagina 285 van Succulenta, december 1998). De cladistische analyse ondersteunt de monofylie van de subfamilies Opuntioideae en Cactoideae. Toch bevindt *Maihuenia* zich ver van *Pereskia*, doordat de subfamilie Pereskioideae zich parafyletisch voordoet. Het ziet er naar uit, dat de omschrijvingen in deze subfamilie opnieuw gedaan moeten worden. Voor de subfamilie Cactoideae zijn elk van de groepen voor de tribus Cactaeae, Hylocereeae, Notocactaeae en Rhipsalidae over het algemeen goed herkenbaar door de unieke base substituties. In het cladogram ziet men minder verschil in de zuilcactussen van de tribus Browningieae, Cereeae, Leptocereeae, Pachycereeae en Trichocereeae.

II. Vergelijkende studies in het gen ndhF:

Men is nu begonnen om de sequentie van het gen ndhF van het geslacht *Ferocactus* en de subfamilies Pereskioideae en Cactoideae te bepalen, naast de zuilcactussen van de tribus Pachycereeae (Cota en Wallace, in voorbereiding). Dit gen heeft een lengte van ongeveer 2200 baseparen en de mate van vervanging van basen in het DNA is drie keer hoger dan die van het gen rbcL (Kim en Jansen, in druk) en is dus nuttiger op lagere taxonomische niveaus. In het gen ndhF ko-



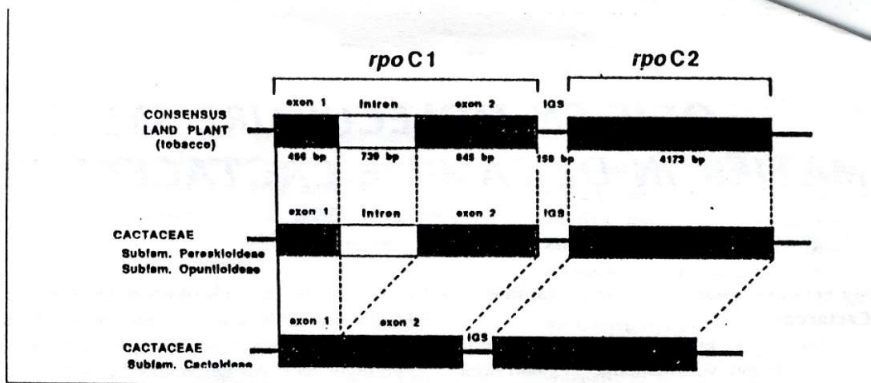
Omkering (inversie) van 6000 basen in het gebied van het chloroplast DNA. Deze inversie is karakteristiek voor de familie Cactaceae. Andere planten families tonen een genetische volgorde zoals bij tabak. De zwarte driehoeken geven de plaats van de inversie aan. (gewijzigde figuur van Downie en Palmer,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

in 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 veldzame 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 kopieën 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 en 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.

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, T. Wakasugi, N. Hayashida, T. Matusubayashi, N. Zaito, Chunwongse, J. Ohokata, 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 proteinis of populations of *Opuntia humifusa* (Raf.) Raf. *Biochemical Systematics and Ecology* 14: 1-369.

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.