

Lezing KNNV Werkgroep Europese Orchideeën 11-10-1997

M. C. Roos

Inleiding

Ik wil in mijn betoog wat laten zien van de huidige systematiek als moderne wetenschappelijke discipline, met inbegrip van fylogenie, biogeografie en moleculaire ontwikkelingen. Ik zal wat extra aandacht schenken aan het onderscheiden van soorten en de soortconcepten als theoretisch kader daarvoor. Ook zal ik wat uitvoeriger stilstaan bij enkele (nieuwere cq. moleculaire) technieken.

Geen enkel biologisch vakgebied heeft de laatste paar decennia zoveel dynamiek te zien gegeven als juist de systematiek. Systematiek wordt op de eerste plaats geassocieerd met classificatie en identificatie. Maar veel fundamentele vragen komen aan de orde, zoals wat een classificatie voorstelt en weergeeft, en hoe die tot stand komt. De afgelopen decennia hebben spectaculaire ontwikkelingen laten zien in de grondslagen en methodologie van de systematiek (meer dan in enig ander vak), en in technieken zoals de analyse van moleculaire kenmerken. Zodra nieuwe technieken routinematig kunnen worden toegepast, kunnen ze gebruikt worden voor vergelijkend onderzoek, voor het exploreren van nieuwe kenmerken en het aanpakken van systematische problemen, die resteren met de traditionele informatie. Niets gaat weg of verloren, er komen alleen maar kenmerken en technieken bij. Morfologie behoudt zijn waarde, voorlopige taxonomische indelingen en morfologisch bepaalde classificaties zijn nog steeds uitgangspunt, ondanks alle ontwikkelingen. Juist ook vragen m. b. t. soorten hebben bij voortduring volop in de belangstelling gestaan.

Enkele ontwikkelingen uit het midden van de 20ste eeuw betreffen:

- Karyologie (DNA-content, chromosoomnummers).
- Cytotaxonomie (aantal, grootte en vorm van chromosomen; hun gedrag gedurende de meiose en mitose; hybridisatie en ploïdie; genetische isolatie tussen en genenuitwisseling binnen soorten [niet 100 vs. 100%!]).
- Chemotaxonomie (secundaire plantensterpenen, aminozuren, betacyanine/-xanthine, terpenen en flavenoiden; primaire plantensterpenen).
- Genecologie (polymorfisme en polygen variatie gekoppeld aan geografische verspreiding, ecologische rassen, soortonderscheid op basis van variabele kenmerken).
- Geografie en ecologie (geografisch gebonden complexe variatiepatronen, numerieke methoden om variabele kenmerken te ordenen, correlatie tussen geografie en morfologie; infraspecifieke variatie, allopatrie en sympatrie).

Een aantal zaken heeft de systematiek in deze periode parten gespeeld:

1. Hoe belangrijk typologisch denken is voor de beoordeling van onderzoek, collecties en een vakgebied. Dit heeft vooral betrekking op de ontwikkelingen in het soortconcept.
2. Hoe steeds weer alle hoop gevestigd wordt op nieuwe ontwikkelingen, en de onvervangbaarheid van bestaande inzichten uit het oog wordt verloren. Zo wordt de betrouwbaarheid en het oplossend vermogen van moleculaire gegevens vaak overschat en de effectiviteit en efficiëntie van morfologisch onderzoek tekortgedaan.

Het is natuurlijk duidelijk, dat er een spanningsveld bestaat tussen dynamiek/variatie en een stabiele ordening. Wij proberen de dynamische werkelijkheid (iets veranderlijks; ook al is het dan op grotere dan menselijke tijdschaal) beter te begrijpen.

pen door deze in statische termen te vangen. Maar, door alle variatie in (dynamisch: binnen en tussen populaties en in individuen cq. levenscycli) formeel vast te leggen in taxonomische eenheden (veelal soorten) kunnen we niet pretenderen de werkelijkheid beter te beschrijven en dus te begrijpen.

Systematiek

Eén van de basale activiteiten van de mens is het zoeken naar patronen en het ordenen daarvan. Door de verschillende onderdelen van de opgestelde ordening van namen te voorzien (te classificeren) wordt communicatie mogelijk.

Systematiek is één van de oudste biologische subdisciplines en wordt al eeuwen bedreven. Zij is die biologische discipline, die op basis van vergelijkend onderzoek ordening probeert aan te brengen in de ons omringende overweldigende diversiteit van recente en uitgestorven organismen; m. a. w. systematiek is de studie van de organisatie, geschiedenis en evolutie van de levende organismen.

Het aanbrengen van een ordening dient een tweetal doelen. Het eerste doel is wetenschappelijk. De systematicus analyseert de overeenkomsten en verschillen tussen organismen, en ordent de gevonden patronen met behulp van gekozen ordeningsprincipes en doelstellingen in een hiërarchie. Vervolgens streeft de systematicus naar een verklaring voor het ontstaan van de onderzochte diversiteit, en onderzoekt mogelijke correlaties tussen deze ordening met evolutionaire, ecologische en andere biologische processen en met geologische en geografische patronen en processen. Systematisch onderzoek heeft in belangrijke mate bijgedragen tot de formulering van de evolutietheorie, en sinds Darwin zijn systematiek en evolutie onlosmakelijk met elkaar verbonden.

Het tweede doel is praktisch, namelijk een classificatie op te stellen waarbij aan bepaalde niveaus van de hiërarchie volgens voorgeschreven regels rangen en namen worden toegekend. Deze classificatie vormt het referentiekader voor alle vormen van biologisch onderzoek. De naamgeving maakt het mogelijk om mondeling of schriftelijk te refereren naar de bestudeerde taxa. Daardoor is het

mogelijk om aan de hand van namen de beschikbare informatie op te slaan en terug te vinden, hetgeen van evident belang is voor een ieder, die met biologische organismen werkt. Een dergelijke classificatie en nomenclatuur moet stabiel zijn om goed tegemoet te komen aan de belangen van de gebruikers. Stabiliteit kan alleen verkregen worden, wanneer de classificatie is gebaseerd op goed onderbouwde fylogenetische inzichten.

De internationale gemeenschap van systematici heeft hiertoe een driedelige doelstelling voor de systematiek geformuleerd om een ieder duidelijk te maken, hoe basaal deze discipline is voor wetenschap en maatschappij (Systematic Agenda 2000):

- a. het inventariseren en beschrijven van de biodiversiteit op aarde, d. w. z. het in kaart brengen van de rijkdom aan soorten en hun variatie in ruimte en tijd;
- b. het begrijpen en verklaren van de biodiversiteit, d. w. z. het ordenen van de daarin aanwezige patronen van overeenkomsten en verschillen, gevolgd door een synthese over het ontstaan van deze patronen (reconstructie van de evolutiegeschiedenis cq. fylogenie);
- c. het toegankelijk maken van biodiversiteitskenis in een vorm, die het beste tegemoetkomt aan de eisen van wetenschap en maatschappij, d. m. v. een stabiele classificatie en gebruikersvriendelijke informatiesystemen.

Systematiek heeft een sterk synthetiserend karakter. Systematici trachten zoveel mogelijk kenmerken op uiteenlopende structuurniveaus te incorporeren. Gegevens uit alle biologische subdisciplines kunnen relevante informatie leveren; in de systematiek worden alle technieken en verworvenheden van de moderne biologie betrokken. Naast de meer traditionele morfologie en anatomie betreft dit in het bijzonder gegevens komend vanuit de ecologie, ethologie, ontwikkelingsbiologie, celbiologie, genetika en moleculaire biologie. Daarmee brengt systematisch onderzoek een veelheid aan gegevens omtrent organismen samen en genereert een omvattend inzicht in het ontstaan en de dynamiek van biodiversiteit in ruimte en tijd. De systematiek draagt op deze manier in belangrijke mate bij aan moderne theorieën

omtrek soortsvorming, massale extincties, adaptaties, en de historische basis van gedrag en ecologische interacties.

Het systematisch onderzoek heeft de laatste twee decennia een belangrijke sprong voorwaarts gemaakt. Enerzijds is dit veroorzaakt door de grote ontwikkelingen ten aanzien van de uitgangspunten en methodologie van de reconstructie van fylogenetische verwantschappen, en de vertaling daarvan in computerprogrammatuur. Anderzijds is dit een gevolg van het beschikbaar komen van nieuwe routinematig toe te passen analysetechnieken. De transmissie elektronenmicroscopie en scanning elektronenmicroscopie hebben de studie van micro- en ultrastructuren mogelijk gemaakt, terwijl elektroforese en technieken ter bepaling van amino- en nucleotidevolgorden vergelijkend onderzoek van moleculaire kenmerken (eiwitten, enzymen, DNA, RNA) hebben geïntroduceerd. Beide ontwikkelingen hebben ervoor gezorgd, dat tegenwoordig de evolutie van het leven op een meer eenduidige en toetsbare wijze gereconstrueerd kan worden dan voorheen het geval was.

In de ontwikkeling van de systematiek en haar methodologie speelt een aantal intrinsieke en extrinsieke criteria een rol:

- * Het scherper formuleren van doelstellingen, uitgangspunten en methoden, zoals wat betreft stabiliteit en informatie-inhoud van classificaties;
- * Het verbeteren van de objectiviteit, d. w. z. herhaalbaarheid en toetsbaarheid van de resultaten – dit heeft eerst geleid tot de numerieke taxonomie en later tot de huidige fylogenetische systematiek (cladistiek);
- * Het verhogen van de efficiëntie om de haalbaarheid van grote inventarisatie- en flora/faunaprojecten te verhogen;
- * Het verbeteren van de bruikbaarheid van systematische resultaten, zowel t. b. v. de ontwikkeling van de evolutionaire biologie en biodiversiteitsstudies als naar de niet-wetenschappelijke gebruiker toe; in dat laatste geval gaat het er om goed oog te hebben voor de doelgroep, de eisen die zij stelt, de benodigde informatie, hanterbaarheid van het format, etc., en voor de consequenties van nog niet voldoende onder-

bouwde hypothesen i. v. m. overhoophalen van bestaande (ingeburgerde) classificaties.

Er worden vijf deelgebieden in de moderne systematiek onderscheiden:

- de beschrijving, classificatie, naamgeving en identificatie van organismen;
- fylogenie - de studie van de evolutionaire geschiedenis en reconstructie van de fylogenetische verwantschappen tussen organismen;
- historische biogeografie - de studie van het ontstaan van verspreidingspatronen van taxa en de synthese van fylogenetische en biogeografische met geologische en fysisch geografische patronen;
- historische ecologie - de studie van het ontstaan van ecologische interacties tussen taxa;
- biosystematiek - de studie van soortsvorming en processen van evolutionaire veranderingen.

Systematiek is de centrale discipline voor de studie van biodiversiteit. Echter, staat bij de systematiek het zoeken naar patronen van relevante overeenkomsten centraal, bij biodiversiteitsonderzoek gaat het allereerst om kwantitatieve analyses van verschillen. Voor toegepaste biodiversiteitskennis komen vervolgens twee vragen naar voren: de vraag naar het ontstaan (historische vraag) en naar het instandhouden (maintenance; actuele vraag) van verscheidenheid in de levende natuur. Biodiversiteit kan vanuit een aantal invalshoeken bestudeerd worden:

- soortenrijkdom (systematisch bepaald),
- biotopenrijkdom (m. n. ecologisch bepaald, o. a. aan de hand van soortensamenstelling),
- genetische variatie (binnen een soort),
- functionele variatie (binnen/tussen ecosystemen).

De aanpak van de systematicus

Het werk van een systematicus kent een aantal stappen:

- Het onderscheiden van soorten; de soort is een centraal begrip in de biologische wetenschap;
- Kenmerkanalyses; een kenmerk (toestand) is een eigenschap van een taxon, die je kunt beschrijven voor het maken van taxonomisch on-

derscheid. Hypotheses over verwantschap zijn gebaseerd op patronen van overeenkomsten en verschillen in homologe kenmerken;

- Het construeren van een datamatrix van soorten en fylogenetisch-informatieve kenmerken;
- Fylogenie-reconstructie; centraal staat het herkennen en classificeren van groepen van soorten, die zijn ontstaan uit één gemeenschappelijke vooroudersoort en alle nakomelingen van deze vooroudersoort omvatten, want deze weerspiegelen de evolutionaire geschiedenis;
- Biogeografische analyse; er van uitgaande dat de aarde en haar biota gezamenlijk zijn geëvolueerd, staat centraal het zoeken naar een verband tussen de geologische geschiedenis van de aardkorst en algemeen voorkomende verspreidingspatronen.

Soortconcepten

Soorten zijn enerzijds de eenheden om diversiteit mee/in te beschrijven en de fylogenetische geschiedenis te reconstrueren, anderzijds zijn ze het startpunt en het resultaat van speciaties. Het is tot op heden niet gelukt om een algemeen geldende en voor iedereen acceptabele (d. w. z. toepasbare) definitie van soorten te vinden. Deze situatie is nogal onbevredigend omdat de soort een centraal begrip is in vele takken van de biologische wetenschap. Er vindt dan ook sinds vele decennia een niet aflatende discussie plaats over de aard en definitie van soorten. Er zijn maar enkele uitgangspunten, die door vrijwel iedereen onderschreven worden: soorten dienen zodanig gedefinieerd te worden, dat ze elkaar niet overlappen en de definitie moet van toepassing zijn op zoveel mogelijk organismen.

Met soorten worden uiteenlopende eigenschappen geassocieerd die we terugvinden als definiërende criteria in verschillende soortdefinities. De criteria die worden gehanteerd komen vrijwel allemaal neer op:

- de morfologie (verschillen),
- de voortplanting (m. n. kruisbaarheid en reproductieve isolatie),
- de geschiedenis (evolutionaire lijnen).

Het belangrijkste probleem bij soortdefinities be-

treft hoe ver de theorie afstaat van de praktijk. Een bijkomend probleem is de veronderstelling, dat in de werkelijkheid deze criteria altijd gezamenlijk van toepassing zijn. Maar stel, dat we soorten willen definiëren als groepen van kruisbare organismen, die onderling meer op elkaar lijken dan op organismen van andere dergelijke groepen. Deze combinatie vertoont incompatibiliteit van criteria omdat gebleken is dat organismen die morfologisch ononderscheidbaar zijn soms toch niet onderling kruisbaar zijn (zg. *sibling species*) en dat omgekeerd morfologisch zeer verschillende organismen onderling goed kruisbaar kunnen blijken (zg. *polytypische species*). Deze twee criteria blijken in de biologische werkelijkheid niet altijd gezamenlijk op te gaan. Dat alle drie criteria altijd samen zullen voorkomen, houdt de veronderstelling in, dat de evolutie zodanig zou moeten verlopen, dat het ontstaan van een soortsplijting altijd gepaard gaat met het ontstaan van morfologische verandering in de twee dochtersoorten en met het ontstaan van een kruisingsbarrière tussen hen. Hoewel dit soms het geval kan zijn (bij bv. speciatie d. m. v. *polyplodie*) gebeurt dit in werkelijkheid waarschijnlijk maar weinig.

Het morfologisch soortsbegrip

Dit soortsbegrip sluit aan bij onze intuïtie dat organismen van een bepaalde soort meer op elkaar lijken dan op organismen van andere soorten. Uit praktisch oogpunt valt hier niets tegen in te brengen; morfologische overeenkomsten en verschillen zijn bij uitstek goed waarneembaar. Het probleem bij dit begrip is, dat het berust op de veronderstelling, dat organismen in werkelijkheid gegroepeerd zijn in afzonderlijke clusters van organismen die onderling meer op elkaar lijken dan op organismen van andere clusters. Dit is lang niet altijd het geval. Als we ons eerst beperken tot contemporaine organismen, dan blijkt dat zich in het patroon van morfologische similariteit niet alleen afzonderlijke eenheden aftekenen, maar ook reticulate en andere complexe structuren. Bij het evolutieproces is er soms terugval naar een oudere kenmerkstoestand of een parallelle of convergente ontwikkeling van eigenschappen, dan wel kruisingen die disjunctie verhullen. Als we vervolgens organismen erbij betrekken uit eerdere tijdsdoor-

sneden, stuiten we op het probleem van het door- gaans ontbreken van een morfologisch herkenba- re scheiding tussen organismen van een bepaalde soort en van diens vooroudersoort. De verklaring hiervoor is natuurlijk dat kenmerksveranderingen in de tijd doorgaans geleidelijk verlopen.

Het biologisch soortconcept

Het definiërend criterium van dit soortsbegrip is dat organismen tot eenzelfde soort behoren indien zij onderling kruisbaar zijn. Hoewel dit criterium sterk aansluit bij onze intuïties over soorten, stuit het op diverse problemen.

Groepen van natuurlijke populaties waartussen kruisingen actueel voorkomen of potentieel moge- lijk zijn, en die reproductief geïsoleerd zijn van an- dere van dergelijke groepen. Genenuitwisseling binnen een soort werd eerst gezien als het be- langrijkste bindmiddel tussen populaties. Later werd het ontbreken van genenuitwisseling naar buiten de eigen soort steeds meer benadrukt. Daarbij zijn allerlei barrières genoemd, maar in ie- der geval interne: chromosomaal, post/pre-zygo- tisch. Vanuit de botanie worden kritische kanteke- ningen geplaatst en juist aan hybridisatie (relatief gemakkelijk te verwezenlijken) veel aandacht be- steed als een stap in het soortvormingsproces.

Er zijn recent twee standpunten voor het ont- staan/instandhouden van soortverschillen:

- isolatieconcept: selectie voor isolerende me- chanismen,
- (mate)recognition/cohesion concept: partner- keuze/-herkenning is de belangrijkste.

Een groot probleem zijn soorten met grote ver- spreiding in ruimte en tijd. Kruisbaarheid van con- temporaine organismen kan getoetst worden door een kruisingsexperiment, maar dat leidt tot kunst- matigheid. Het spreekt voor zich, dat het toetsen van de onderlinge kruisbaarheid van organismen uit verschillende tijdsdoorsneden ons voor onover- komelijke problemen kan stellen. Maar laten we ons nog even beperken tot contemporaine orga- nismen; dan stuiten we op het verschijnsel dat een organisme **b** kruisbaar kan zijn met organismen **a** en **c**, terwijl deze laatste twee organismen niet on- derling kruisbaar zijn. Het kruisbaarheids criterium plaatst **a** en **b** in één soort en **b** en **c** in een an- dere soort. Organisme **b** kan dus in twee soorten te-

gelijk geplaatst worden en hiermee wordt aange- toond dat het kruisbaarheids criterium niet altijd geschikt is om organismen in elkaar uitsluitende soorten op te delen. Dit verschijnsel doet zich voor in de zogenaamde ringsoorten.

Indien we het criterium verruimen door een indi- recte kruisbaarheid toe te staan, dan is een ring- soort geen probleem meer, maar wel de beschou- wing van organismen uit het verleden. Dan namelijk kunnen we een recent organisme verbind- den met een organisme uit een tamelijk vroeg sta- dium van onze evolutie en verliezen we het onder- scheid tussen soorten en vooroudersoorten.

Tenslotte, recent onderzoek heeft aangetoond dat de variatie op genniveau veel groter is dan voor- heen werd aangenomen, en dat genenuitwisseling op veel uitgebreider schaal plaatsvindt dan tot voor kort werd aangenomen, zelfs tussen onbe- twist goede, sympatrische soorten. Het biologisch soortsbegrip is moeilijk of niet toe te passen op veel organismen afhankelijk van hun voortplan- ting. Als apogamie, zelfbestuiving, etc. bij een groot deel van de landplanten overheerst, dan is het al dan niet aanwezig zijn van genenuitwis- seling/genetische isolatie niet te gebruiken voor soortonderscheid.

Het ecologische soortsbegrip

Volgens dit begrip is een soort een groep organis- men, die een niche bezetten. Een 'niche' laat zich omschrijven als een 'ecologische woonplaats' voor een soort. Het is moeilijk gebleken om de term 'niche' te definiëren zonder weer gebruik te maken van het soortsbegrip. In andere woorden, het ecologisch soortsbegrip heeft te kampen met circulariteit in de definitie.

Het fylogenetisch soortconcept

Dit begrip is verbonden met de notie van het ge- nealogische netwerk waarin alle organismen (uit heden en verleden) met elkaar verbonden zijn door ouderschapsrelaties. Deze relaties zijn met elkaar verknoot in een netwerk doordat vele or- ganismen het product zijn van seksuele voortplan- ting en derhalve twee ouders bezitten. Het gene-alogische netwerk heeft een boomachtige structuur doordat op zekere momenten splitsingen

in het netwerk hebben plaatsgevonden, veroorzaakt door het uitblijven van kruisingen tussen organismen van twee delen van het netwerk. Een fylogenetische soort wordt nu, grofweg, gedefinieerd als een stukje van het genealogische netwerk tussen twee (permanente) splitsingen. Daarmee hebben soorten ieder hun eigen begin en evolutionaire lot, het zijn fylogenetische lijnen die onafhankelijk van dergelijke lijnen zich ontwikkelen. Operationeel betekent dit dat de soort de kleinste eenheid is met een unieke combinatie van kenmerken. Er zijn echter wel praktische problemen. Over ouderschapsrelaties tussen organismen is doorgaans weinig bekend, en dit geldt natuurlijk in toenemende mate voor organismen uit het verleden. Daar komt nog bij, dat over welke splitsingen definitief zullen blijken, we nu slechts schattingen kunnen geven.

Het praktische probleem is het minst fundamentele probleem en daarom nog het best acceptabel. Daar moet aan worden toegevoegd dat overeenkomst en verschil in morfologische eigenschappen en gegevens over kruisbaarheid niettemin een belangrijke rol kunnen spelen als (toegegeven feilbare) indicatoren van de omgrenzingen van een fylogenetische soort.

Soortsonderscheid in de praktijk

Het onderscheiden van soorten heeft altijd te maken met het accommoderen van variatie:

- continue/discontinue,
- in tijd (ontogenetische/fylogenetische),
- in ruimte (allopatrische/sympatrische).

De morfospecies is vaak het enige wat het studiemateriaal toelaat. Vaak is eigen taxonomische expertise uitgangspunt en wordt gewoon pragmatisch onderscheid gemaakt op grond van morfologische, moleculaire en biochemische overeenkomsten. Zoals voor alle wetenschappelijk werk, geldt ook hier dat het enerzijds gaat om het opstellen van hypothesen en anderzijds het toetsen daarvan. [Vergelijk met homologie-hypothesen: het empirisch herkennen (op basis van overeenkomsten: vorm, structuur, positie, ontogenie) en het toetsen (op basis van de positie/verdeling in het cladogram, m. a. w. de congruentie met andere eigenschappen).] Hoe beter de soortshypothesen zijn onderbouwd met zoveel mogelijk ge-

gevens, hoe beter ze bij toetsing overeind zullen blijven. Het zoeken is naar disjuncties in de variatiepatronen.

Als vuistregel kan gelden dat alleen die hypothesen zin hebben, die uitgaan van ten minste twee constante verschillen in kenmerkt toestanden met de nauwst verwante soorten. Het gaat niet om zo maar ad hoc nieuwe soorten te beschrijven als dat niet is gebaseerd op monografisch onderzoek over het gehele areaal. In Nederland is de flora behoorlijk goed bekend; van de ongeveer 1500 soorten vaatplanten weten we goed hoe algemeen of zeldzaam zij zijn. We weten zelfs per vierkante kilometer welke soorten en variëteiten er voorkomen. Variërende aantallen soorten zijn niet zozeer het gevolg van het ontdekken van voor de wetenschap nog onbekende soorten, maar komen veeleer voort uit veranderende taxonomische inzichten.

Fylogenetische systematiek

De moderne systematiek streeft naar een classificatie die de fylogenie weerspiegelt. Uitgangspunten hierbij zijn:

- evolutie = afstamming met verandering die heeft geleid tot soortvormingen die, willen ze herkenbaar zijn, geassocieerd zijn met veranderingen in één of meer kenmerken,
- de historische volgorde van soortsplittings vormt een hiërarchisch systeem van voorouder-soorten en afstammelingen,
- de veranderingen, evolutionaire nieuwtjes overgeërfd aan alle afstammelingen, documenteren dus die specifieke soortsplitting,
- gemeenschappelijk bezit van dergelijke kenmerkt toestanden duidt op gemeenschappelijke afstamming,
- door de patronen van overeenkomsten te analyseren kun je de historische opeenvolging van soortsplittings reconstrueren,
- het selectiecriterium voor de keuze tussen cladogrammen is parsimonie, het universele Ockhams razor: kies de eenvoudigste oplossing die het minste aantal ad hoc stappen vergt.

In de fylogenetische systematiek worden patronen van overeenkomsten en verschillen tussen soorten en andere taxa geanalyseerd om tot een orde-

ning te komen die de evolutionaire geschiedenis weerspiegelt. Taxa (enkelvoud taxon) is een algemene benaming van groepen van organismen waaraan een taxonomische naam is gegeven, ongeacht de taxonomische rang.

Kwalitatieve aspecten die hierbij een rol spelen, zijn het onderscheiden van soorten (de beoordeling van [morfologische] variatie en verschillen) en kenmerken (de beoordeling van [morfologische] variatie en verschillen bij onderscheiden toestanden, discrete en continue variatie, etc.). Wat betreft kwantitatieve aspecten gaat het om het zoeken naar methoden om op basis van deze gegevens tot kwantitatieve toetsen van hypothesen te komen door het gebruik van veel kenmerken en parsimonie (als methodologisch principe).

Kenmerken: homologie en homoplasie

Om verwantschappen vast te stellen, moeten kenmerken geanalyseerd en de verschillen en overeenkomsten in kaart gebracht worden. Een kenmerk doet zich voor in kenmerkstoestanden. Bijvoorbeeld, het kenmerk bladoppervlak kent o.a. de kenmerkstoestanden kaal en behaard. Behaard is zelf weer een kenmerk met onder meer de kenmerkstoestanden haren vertakt en haren onvertakt.

Overeenkomsten kunnen voor fylogenie-reconstructie alleen zinvol gebruikt worden wanneer zij homoloog zijn. Homologie is naast 'soort' één van de centrale begrippen in de evolutiebiologie. Het wil zeggen dat in geval van twee vergelijkbare kenmerkstoestanden de ene gedurende de evolutie direct afgeleid is van de andere, of dat beide toestanden zijn afgeleid van dezelfde voorouderlijke kenmerkstoestand.

Homologieën kunnen pas echt worden bepaald aan de hand van een gereconstrueerde fylogenie. Echter, er is een aantal (morfologische) criteria om a priori hypothesen op te stellen over welke kenmerkstoestanden homoloog kunnen zijn. De belangrijkste zijn: gelijk basispatroon (Bauplan); gelijke positie t. o. v. andere structuren, en overeenkomsten in de geometrie; overeenkomsten in ontogenie; en continue overgangen via intermediaire vormen. Uiteraard moeten deze hypothesen getoetst worden aan de hand van de fylogenie (d. w. z. congruentie met andere ken-

merken). Want het komt voor dat ogenschijnlijk overeenkomstige structuren een verschillende evolutionaire oorsprong hebben. Men spreekt dan van homoplasie: de verzamelnaam voor parallelisme, convergentie of reversie. Parallelisme houdt in dat twee overeenkomstige structuren zich onafhankelijk uit een zelfde structuur hebben ontwikkeld; convergentie is dat twee overeenkomstige structuren onafhankelijk ontstaan zijn uit verschillende structuren; bij reversie ontwikkelt zich uit een afgeleide kenmerkstoestand een nieuwe kenmerkstoestand, die gelijkvormig is aan een kenmerkstoestand, die al eerder in de evolutie ontstaan was. Een voorbeeld van reversie is de secundaire afwezigheid van bladgroen bij sommige parasitaire soorten orchideeën; hun voorouders hadden als afgeleide kenmerkstoestand bladgroen. Homoplasieën leiden tot een ordening die niet de juiste afstammingsrelaties weergeeft.

Fylogenie reconstructie

Centraal in de fylogenetische systematiek staat het herkennen van de evolutionaire ordening door de fylogenie van soorten te reconstrueren, d. w. z. verwantschapshypothesen opstellen op basis van de historische opeenvolging van soortssplitsingen. Alleen die groepen van soorten die zijn ontstaan uit één gemeenschappelijke vooroudersoort en alle nakomelingen van deze vooroudersoort omvatten, zijn echte evolutionaire eenheden en weerspiegelen de evolutionaire geschiedenis. Hypothesen over gemeenschappelijke afstamming worden opgesteld aan de hand van homologe overeenkomsten die geïnterpreteerd kunnen worden als uniek voor de vooroudersoort (daarin nieuw ontstaan) en die daardoor uitsluitend zijn overgeërfd in haar afstammelingen.

Een cladogram is een grafische weergave van de verwantschappen tussen taxa. In essentie geeft het weer dat soort **a** meer verwant is met soort **b** dan beide zijn met soort **c**. Met andere woorden, de soorten **a** en **b** hebben een meer recente voorouder gemeenschappelijk dan ieder met **c**. Van deze gemeenschappelijke voorouder hebben ze unieke kenmerken overgeërfd (synapomorfien). Een synapomorfie is een evolutionair nieuwe kenmerktoestand die in de recentste gemeenschappelijke voorouder is ontstaan. Een symplesiomor-

fie is al in een eerdere voorouder ontstaan en komt dus ook voor bij andere taxa dan de recentste voorouder. De verwantschap tussen twee taxa moet altijd beschouwd worden in relatie tot een derde taxon. Een cladogram met meer dan drie taxa is geheel te herleiden tot een serie van dergelijke drie-taxon uitspraken.

Een groep met één of meer synapomorfieën en bestaande uit een voorouder én al zijn nakomelingen, wordt monofyletisch genoemd. Monofyletische groepen zijn de bouwstenen van het cladogram, omdat ze een directe weerspiegeling zijn van de evolutie. Parafyletische groepen bestaan uit een gemeenschappelijke voorouder met niet alle nakomelingen. Zij zijn gebaseerd op vormovereenkomst, waarbij symplesiomorfieën gebruikt worden voor de groepering. Bekende voorbeelden zijn de reptielen (zonder vogels en zoogdieren) en de dicotylen (zonder monocotylen).

Ondersteuning en tegenspraak

Overeenkomsten die als synapomorfieën geïnterpreteerd kunnen worden, ondersteunen een verwantschapshypothese. Echter, patronen in overeenkomsten kunnen elkaar soms tegenspreken. Er moet dan sprake zijn van homoplasieën of van een plesiomorfe kenmerkstoestand die ten onrechte als apomorf is geïnterpreteerd.

Voor een keuze tussen de mogelijke hypothesen ga je voor elke hypothese na hoeveel veranderingen in de kenmerkstostanden noodzakelijk zijn om de verdeling over de soorten in het betreffende cladogram te verklaren; m. a. w. hoeveel steun heeft elk en hoeveel stappen zijn er nodig ter verklaring. Synapomorfieën vereisen één stap; homoplasieën twee of meer. Tel voor elk cladogram het aantal stappen en de hypothese met het minste aantal stappen, dus met zo weinig mogelijk veranderingen in de kenmerkstostanden, wordt aangenomen (het principe van de parsimonie). Parsimonie is een methodologisch criterium: kies geen ingewikkelde oplossing als er een eenvoudiger oplossing voorhanden is (Ockam's scheermes). Binnen de fylogenetische systematiek betekent parsimonie, dat je de hypothese kiest, die het beste past bij alle waarnemingen, d. w. z. het cladogram dat het kleinste aantal stappen vereist.

Door het parsimonie-criterium toe te passen, kan men op objectieve en toetsbare wijze een keuze maken tussen de verschillende drie-taxon uitspraken.

Biogeografie

Soorten zijn spatio-temporeel beperkt. Dit betekent dat ze zowel in ruimte als in tijd beperkt voorkomen. Een soort ontstaat en sterft uit of gaat op in één of meer nieuwe soorten. Gedurende zijn bestaan komt een soort maar in een beperkt gebied voor, dit gebied wordt het areaal of de verspreiding van de soort genoemd.

De verklaring van een verspreiding, waarom zit een soort daar en nergens anders, heeft steeds een ecologische en een historische kant. Het potentiële gebied met de correcte ecologische omstandigheden waarin een soort kan leven, is gewoonlijk groter dan het actuele areaal. Het domein van de ecologische verklaringen valt binnen die van de historische (en nooit andersom); men moet een areaal eerst historisch verklaren en binnen die verklaring ecologisch.

Allerlei processen beïnvloeden de verspreiding van soorten. De bekendste zijn dispersie (actieve uitbreiding van een areaal), extinctie (uitsterven) en vicariantie. Dispersie en extinctie zijn typisch per soort en leveren meestal geen algemene verklaringen voor patronen op.

Vicariantie is eigenlijk een passief proces. Als het areaal van een vooroudersoort opsplijt, b. v. door plaatetectonische bewegingen (bergvorming of opsplitsen van schollen), dan worden de populaties van de vooroudersoort gescheiden en die kunnen zich in de nu gescheiden arealen ontwikkelen tot aparte soorten. Plaatetectonische processen of klimaatveranderingen werken dan uiteraard niet op een enkele soort, maar op alle soorten die in het betrokken gebied aanwezig zijn. Men krijgt dan een beeld van synchrone soortsvorming bij weinig verwante soorten, oftewel een patroon ontstaat. Vicariantie levert dus algemene verklaringen op. Daarom probeert men in de historische biogeografie eerst vicariantie als verklaring te gebruiken en pas bij tegenspraak ad hoc verklaringen als uitsterven of dispersie.

Historische biogeografie is ook sterk beïnvloed door fylogenetische analyse-methoden. Het opsplitsen van arealen levert eenzelfde beeld op als het opsplitsen van soorten in nieuwe soorten. Vandaar dat men een cladogram van de gebieden wil opstellen, een area-cladogram, waarop men de soorten projecteert als kenmerken.

Wat hebben we nodig aan gegevens voor een historisch biogeografische analyse?

1. Een aantal niet direct verwante monofyletische taxa (liefst zelfs dieren en planten dooreen).
2. De fylogenieën van deze groepen.
3. Hun arealen, waarbij de taxa die we vergelijken in hetzelfde gebied moeten voorkomen.

We gebruiken meer groepen daar je, bij gebruik van één groep, geen onderscheid kunt maken tussen vicariantie en dispersie en hierdoor teveel vicariantie-gebeurtenissen zult hypothetiseren. Sommige tegenstrijdigheden kunnen pas zichtbaar worden als meer groepen met elkaar vergeleken worden.

Voordat een analyse kan beginnen, moet eerst vastgesteld worden, welke de basale gebieden zullen zijn, die onderscheiden worden. Gewoonlijk worden hiervoor de zg. gebieden van endemisme genomen, dus die gebieden waarin endemen voorkomen.

Als in bijv. drie gebieden A, B en C drie taxa aanwezig zijn, elk met drie soorten en elke soort endemisch op één eiland. En, we hebben verder de fylogenieën van de drie taxa, dan kunnen we de soorten substitueren door hun verspreidingsgebied. Dat levert dan de historische relaties tussen de verspreidingsgebieden op. Wanneer dit voor alle drie een congruent patroon laat zien, samen te vatten tot één area-cladogram, dan geeft dat mogelijke informatie over een algemeen mechanisme voor de evolutie van alle drie de taxa.

Moleculaire systematiek

Moleculaire kenmerk analyses

Systematiek vertoont een ontwikkeling van het gebruik van weinig, arbitrair gekozen kenmer-

ken naar veel, random gekozen kenmerken. Chemische en moleculaire kenmerken vullen de morfologische aan, maar kunnen niet hun plaats innemen.

De opkomst van het gebruik van moleculaire kenmerken hangt samen met de ontwikkeling van routinematig toe te passen technieken. Het allereerste begin vond ca. 40 jaar geleden plaats, terwijl het vooral in de 80er jaren in een stroomversnelling is geraakt.

moleculair gereedschap

Laten we allereerst eens kijken naar de technieken die sindsdien zijn opgekomen.

- eiwit immunologie (serologie)

Het gebruik van de specifieke antilichaam-reactie op plantenstructuren, die als antigen functioneren en de vergelijking van dezelfde reactie van een referentieantilichaam met verschillende antigenen, met het doel verwantschappen in kaart te brengen, althans de mate van overeenkomst tussen soortenparen.

Antilichaam en antigen (van de indringer) zullen afhankelijk van passende reactie-plekken al dan niet een neerslag geven, en die kun je waarnemen. Het gaat om directe vergelijkingen tussen organismen; d. w. z. als je A met B en met C vergelijkt, zegt dat wat over A en B en over A en C, maar niets over B en C. Dus als het aantal soorten stijgt, wordt het aantal te maken vergelijkingen explosief groter. Toepassing vooral bij toetsing van alternatieve hypothesen, dus in de context van andere systematische informatie. Wordt vooral toegepast voor onderzoek naar de fylogenie op hogere taxonomische niveaus (bijv. families).

* Eiwit van referentieorganisme isoleren - insluiten in konijn - antilichamen verzamelen - eiwitten van test organisme isoleren - eiwitten (antigenen) en antilichaam laten reageren - aantal gebonden antigen/antilichaam-complexen meten

- Eiwit-elektroforese – het in kaart brengen van genvariatie en heterozygotie.

Eiwitten en macromoleculen worden in een elektrisch veld gescheiden op basis van lengte en elektrische lading; de techniek werkt alleen vergelijkend, niet absoluut: je kunt alleen bandjes op één en dezelfde gel met elkaar vergelijken.

- * Cellen/organen homogeniseren - centrifugeren - bovenlaag oplossing verzamelen - eiwitten (neutraal, positief of negatief geladen) laten bewegen in gel door stroom (soms 2-dimensionaal) - resultaat zichtbaar maken door kleuring

De analyse van *aminozuurvolgorde* heeft niet die vlucht genomen als 20 jaar geleden werd gedacht. Men richt zich nu veel meer op DNA/RNA. Bovendien is gebleken, dat het verzamelen en interpreteren van gegevens veel lastiger is dan eerst werd aangenomen. Het werd vooral toegepast op Cytochrom C (ademhalingsenzym), Plastocyanine (chloroplastenzym) en Rubisco (fotosynthese-enzym; het meest voorkomende planteneiwit), op het niveau van de fylogenie van hogere taxa (bijv. Angiospermen).

Elektroforese heeft de studie van *iso/allozymen* mogelijk gemaakt. Dergelijke analyses van de variatie in eiwitten en enzymen is gebaseerd op het verschil in elektrische lading tussen varianten van een specifiek eiwit. Dit is vooral toepasbaar op soortsniveau waarbij de taxa nauw verwant moeten zijn; het wordt vooral toegepast voor bijv. het scheiden van sibling species/microsoorten en het aantonen van conspecificiteit in morfologisch variabele soorten en hybridisatie.

Allozymen zijn moleculair verschillende vormen van enzymen van hetzelfde locus. Eerst moet de conspecificiteit aangetoond worden. Ze zijn goed bruikbaar voor onderzoek van hybridisatie en polyploidie, en ook geschikt voor vaststellen van fylogenetische relaties. *Isozymen* zijn verschillende vormen van enzymen van verschillende loci die dezelfde reactie katalyseren. Dergelijke genduplicaties kunnen een complicatie vormen als verschillende loci voor hetzelfde, maar heterogene enzym coderen.

Homologie is altijd een probleem geweest, zeker bij moleculaire kenmerken. Gelijke banden hoeven niet op dezelfde enzymen te wijzen.

- DNA-DNA hybridisatie - het vaststellen van de mate van overeenkomst tussen DNA-strengen van soortenparen.
DNA fragmenten (300-400 nucleotiden), gemaakt door mechanisch opbreken, worden gescheiden door verhitting. Bij één van de taxa (A) worden de enkele strengen radioactief gelabeld. Vervolgens wordt weinig éénstrengig

DNA van A met veel van B bij elkaar gedaan (anders teveel kans op A-A koppeling) en weer dubbelstrengig DNA gevormd door afkoeling. Daarna worden deze DNA-strengen weer gescheiden door langzame verhitting. Door te kijken naar hoe sterk gemiddeld de verbindingen zijn (d. w. z. bij welke temperatuur een bepaald % weer enkelstrengs is geworden), kun je zeggen hoe hoog het percentage overeenkomstige baseparen is.

- Restriction analyses (Restrictie fragmentlengte polymorfisme: RFLP).

Bepaalde (restrictie)enzymen knippen DNA-strengen op specifieke plaatsen, waar een bepaalde volgorde van baseparen voorkomt. Deze plaatsen zijn meestal symmetrisch. De resulterende fragmenten kunnen elektroforetisch op lengte worden gescheiden. Een genetische verandering geeft meer of minder knipplaatsen en dus andere fragmenten. De techniek is vooral te gebruiken voor de variatie en divergentie binnen en tussen populaties. Het is hiermee echter ook mogelijk om linkage maps op te stellen voor de studie van de volgorde van genen op een chromosoom.

- DNA-sequentie / polymerase kettingreactie (Polymerase Chain reaction - PCR).

De PCR-techniek wordt gebruikt om stukken DNA te kopiëren en te vermenigvuldigen door denaturatie van DNA gevolgd door nieuwe opbouw van dubbele strengen met losse basen en specifieke primers; zodoende kan van zeer kleine hoeveelheden DNA voldoende stof voor de analyse gemaakt worden. Dit heeft het bepalen van de base-volgorde in DNA (en RNA) op grote schaal mogelijk gemaakt. Deze techniek is te gebruiken voor identificaties en verwantschapsanalyses.

Random Amplified Polymorphic DNA (RAPDs) zijn een speciale, snelle maar minder precieze manier om informatie over genvariatie te verkrijgen. De gebruikte primers zijn niet-specifiek.

- * Isoleer DNA - maak enkelstrengs en bindt primers - vorm nieuwe dubbelstrengen in mengsel van nucleotiden - maak enkelstrengs en bindt primers - vorm nieuwe dubbelstrengen in mengsel van nucleotiden - herhaal zoveel als gewenst

Stand van zaken

Algemeen

rRNA is het meest onderzochte deel van het genoom. Van vrijwel alle hoofdgroepen zijn studies bekend: bacteria, eukaryoten, metazoa, planten, insecten, vertebraten. rbcL (op het cpDNA) is het meest onderzochte deel van het plantengenoom. Het is op vrijwel alle taxonomische niveaus toegepast. Wel geldt in het algemeen dat cpDNA-genen vooral toegepast worden op het niveau van ordes, families en lager, terwijl rRNA meer is gebruikt voor vraagstellingen op hogere taxonomische niveaus.

Chloroplast DNA: relatief klein, uniparentaal (asexuele haploïde klonen) genoom, dat relatief langzame veranderingen vertoont (conservatief is), redelijk uniform van opbouw is en optimaal bruikbaar is op genusniveau (daarboven vertoont het te veel ruis, daaronder te weinig variatie); het is niet geschikt voor hybridenonderzoek.

Nucleair DNA: biparentaal genoom, dat is te gebruiken om recombinatie en reticulate patronen (hybridisatie) te bestuderen, maar ook op andere taxonomische niveaus bruikbaar is en veel variatie vertoont in snelheid van veranderen (conservatieve en variabele delen; reikwijdte van variatie binnen één plant tot stabiliteit/constantheid tussen hoofd taxa); het is echter niet altijd gemakkelijk om homologe fragmenten (bijv. voor iso-enzymen) te bepalen. Het kan uitstekend complementair aan cpDNA worden gebruikt, met als voordeel de biparentale afstamming en de directe link met morfologische en fysiologische expressies. Hetzelfde geldt voor het nucleair ribosomaal DNA.

(On)Mogelijkheden

Inleiding

De systematiek kent een zoektocht om van kwalitatieve (morfologische) waarnemingen tot kwantitatief gebaseerde uitspraken te komen. Cladistiek met het (methodologische) parsimonie (zuinigheids)principe is hiervoor geschikt. Er zijn vele

voorbeelden bekend waarbij moleculaire data-matrices inzicht gegeven hebben in problemen die op morfologische gronden niet opgelost waren of heftig bediscussieerd werden, dan wel tot nieuwe inzichten in (morfologische) kenmerkevolutie aanleiding gaven. Dit laat echter onverlet, dat het wezenlijk is om te kijken wat de reikwijdte van moleculaire analyses is, wat de mogelijkheden en onmogelijkheden zijn, welke problemen in de toepassing naar voren komen.

Er is enkele jaren geleden een uitgebreid overzicht van de stand van zaken m.b.t. moleculaire systematiek gegeven. Daarin kwam een zekere scepsis naar voren over de ontwikkelingen in de komende jaren, want men zag, dat maar vijf interessante fylogenieën tot nu toe voortgekomen zijn uit moleculair fylogenetisch onderzoek (onder andere de universele boom van alle leven en de oorsprong van het chloroplast). Andere moleculaire resultaten zijn onvoldoende gefundeerd, o. a. omdat op basis van de gegevens (veel) alternatieve hypothesen kunnen worden opgesteld, die onderling incongruent zijn. Derhalve stelde men dat het geenszins het geval is dat (incongruente) moleculaire resultaten inderdaad de morfologische inzichten in de fylogenie zo makkelijk kunnen overvleugelen. Maar dit laat onverlet dat ze meer inzicht kunnen geven in soortcomplexen.

Sterktes

Moleculaire kenmerken zijn zeer geschikt omdat:

- ze zitten aan de bron van het genotype en kunnen tussen alle recente organismen vergeleken worden,
- ze kennen een rijke verscheidenheid aan duidelijke, discrete toestanden (vier basen),
- ze zijn kwantificeerbaar (aantallen overeenkomende nucleotiden kunnen 'eenvoudig' worden geteld - distances),
- kunnen link leggen tussen morfologische en genetische evolutionaire veranderingen (gene mapping).
- matriarchaal overgeërfd DNA (cpDNA, mtDNA) levert inzicht in hybridogene patronen, in ieder geval één van de voorouders.

Morfologische data zijn minder divers en vaak beter begrepen (je kunt vorm en functie interprete-

ren, ontogenie waarnemen, etc.), maar de variatie is veelal continu.

Problemen

De problemen waar we tegen aan lopen, hebben te maken met:

- de sampling van kenmerken, taxa en variatie (dus het opstellen van een datamatrix),
- de methode van kenmerkverwerking en de achtergrond 'theorieën' (het vergelijken, boom constructie en interpretatie van de -grote hoeveelheden- bomen),
- de integratie van verschillende kenmerksets (om tot één fylogenie te komen, interpretatie van de kenmerken).

Een wezenlijk punt is altijd de selectie van de goede genen voor de goede taxa (dus: informatieve kenmerken voor je vraagstelling en taxonomisch niveau).

Similariteit - homologie

Morfologische structuren zijn veelal te complex (drie of vier dimensies als ontogenie ook wordt meegenomen) zodat het moeilijk is om de waarschijnlijkheid van homologie te kwantificeren. Moleculaire nucleotiden zijn weer te simpel (één dimensie, slechts vier basen).

Echter, hoe complexer, hoe meer kans dat toeval kan worden uitgesloten. Sequenties als geheel zijn voldoende complex, waarbij het enerzijds gaat om de overeenkomsten en verschillen in de positie op het genoom van de individuele basen, en anderzijds om de aan/afwezigheid van totale al dan niet coderende stukken streng (bijv. exons/-introns). Moleculaire homologie wordt vaak geïnterpreteerd als similariteit (en weergegeven als %), zonder onderscheid tussen homologie en homoplasie (je kunt aan de overeenkomst in een simpele nucleotide op een bepaalde plek niet zien of die daar altijd heeft gezeten, of dat het er via een aantal mutaties weer is teruggekeerd).

Alignment

Wanneer de sequenties zijn opgesteld, komt het punt van het vergelijken. Om de overeenkomsten

zo goed mogelijk in kaart te brengen volgt er dan een procedure, nl. alignment: het zo 'zuinig' mogelijk op elkaar passen (d. w. z. zo veel mogelijk overeenkomsten zoeken). Dit houdt ook een aantal aannamen in m. b. t. het vaststellen van homologieën.

Voor de uitvoering van alignments lopen we meteen op tegen het probleem van kenmerkweging. Voor een goede evaluatie van de noodzakelijk te veronderstellen substituties e. d. moet met een aantal chemische en fysische aspecten rekening gehouden worden. Er is bijv. een verschil in waarschijnlijkheid tussen transversies en transities. Je kunt hiermee rekening houden door de waarschijnlijkste toestand lager te wegen dan de minst waarschijnlijke toestand. Maar in welke mate? Voorts zijn veranderingen in de 3e positie van codons vaak synoniem (d. w. z. coderend voor hetzelfde aminozuur) en derhalve minder ingrijpend dan veranderingen op de 1e of 2e positie. Dit heeft tot discussies geleid om al dan niet de 3e positie buiten beschouwing te laten (als '0' te wegen). En, wat te doen met grote deleties en inserties?

Achtergrondtheorieën

De moleculaire klok is gebaseerd op de idee van constante evolutiesnelheid als gevolg van de (grotendeels) neutrale evolutionaire veranderingen op moleculair niveau. Hiervan afgeleide voorwaarden zijn additiviteit (de lengtes van alle takken in het cladogram zijn dan gelijk aan de som van alle similariteitswaarden van de soortenkoppels) en ultrametrische methoden (alle soorten staan even 'ver' van de wortel, en zuster taxa hebben gelijke taklengtes). Hier is veel kritiek op, want het dwingt de analyse in een keurslijf.

Integratie verschillende datasets

Als we de resultaten van verschillende analyses voor dezelfde taxa naast elkaar leggen, zijn ze ofwel congruent (dit is veelal het geval!) of conflicterend. Incongruenties kunnen bestaan tussen morfologische en moleculaire analyses, maar zeker ook tussen verschillende moleculaire kenmerksets. Met de toenemende aantallen gesamplede

gensequenties ontstaat een beeld van mozaïek-evolutie in verschillende genen voor de diverse taxa. Dit beeld doet volgens velen niet onder voor dat van de morfologie.

De synthese van morfologie en moleculair zal nog veel disputeren tot gevolg hebben. Een steeds terugkerend punt is hoe we kunnen komen tot een evenwichtige integratie van verschillende soorten datamatrices. Er zijn grofweg vier mogelijkheden:

- total evidence (combineer gegevens in één dataset): dit geeft het probleem van kenmerk-(set)wegin, bijv. hoe kun je een gene tree opdelen in toestanden vergelijkbaar met die in de morfologie of dat alle datasets integraal moeten worden opgenomen. Een moleculaire boom kun je bijv. in componenten opdelen, die gebruikt kunnen worden als toestanden. Dat sommige takken door meer restrictieplaatsen of basevolgorde-verschillen gekarakteriseerd worden dan andere, is dan niet anders dan dat morfologische kenmerktoestanden sterk kunnen verschillen, moeilijk te onderscheiden kunnen zijn dan wel meer variatie kunnen vertonen dan andere. Door te kiezen op welke plaatsen de moleculaire boom opgedeeld wordt, heb je ook nog de mogelijkheid te bepalen hoeveel kenmerktoestanden in de datamatrix worden opgenomen en hoe zwaar het kenmerk zal wegen,
- consensus (twee aparte analyses en de resulterende bomen over elkaar leggen),
- moleculaire analyse krijgt prioriteit, de gegevens van de morfologie worden op cladogram gemapt,
- morfologische analyse krijgt prioriteit, mapping van de moleculaire gegevens vindt plaats op het cladogram (dit is eigenlijk de bestaande situatie; het wordt op basis van een kosten-batenanalyse ook vaak aangeraden omdat veelal de morfologische indeling wordt gesteund of in ieder geval onvoldoende fundament bestaat om deze te verwerpen; je kunt beter specifieke probleemgevallen analyseren).

Moleculaire fylogenie

Een fylogenetische analyse van moleculaire kenmerken levert een genenboom, die de relaties tussen de verschillende genen aangeeft. CpDNA kenmerken leveren dus een chloroplastboom op,

niet per se een soortenboom. Introgressie, genduplicatie en lineage sorting vertroebelen het beeld en geven dezelfde problemen als kenmerken die afhankelijk van elkaar zijn. Het is beter om alle data van een macromolecuul als toestanden van één kenmerk te beschouwen.

Introgressie: hybridisatie (vermenging van genenpoelen) met vervolgens terugkruisen met één van de ouders (en daarmee conspecific worden/blijven/zijn). Dan ontstaan reticulate patronen, die vnl. naar de ene en mogelijk deels ook naar de andere ouder wijzen. Als bijv. het cpDNA zich weet te handhaven, geeft dat een genenboom die totaal verschilt van de soortenboom.

Lineage sorting: stochastische processen bij het verdwijnen van polymorfe toestanden/vormen; bijv. vooroudersoort (binnen individuen of binnen dan wel tussen populaties) vertoont twee cp vormen en de dochtersoorten ieder maar een.

Genduplicatie: paraloog (oorspronkelijk gen verdubbelt zich tot twee genen en een individu) en ortholoog (een gen vertoont verschillende vormen tussen soorten). Het belangrijkste probleem bij moleculaire homologie is het onderscheiden van orthologie van paralogie. Paralogie is waarschijnlijk regel; slechts een relatief beperkt aantal genen is single-copy.

Afronding

Je kunt in de geschiedenis een cyclisch proces zien: indeling op morfologie -verfijning met nieuwe kenmerken- relevantie m. b. t. tot extrinsieke kenmerken. De morfologie bepaalt de keuze van het moleculaire onderzoek, dat op zijn beurt weer de morfologie aan een herinterpretatie onderwerpt, wat weer nieuwe keuzen voor moleculair onderzoek tot gevolg heeft [lees voor moleculair ook anatomie, ultrastructureel, etc.]. Alle fasen van alleen morfologisch tot alleen moleculair onderzoek komen dus naast elkaar en tegelijkertijd voor. Dat is ook geografisch bepaald; de ene flora is nu eenmaal beter bestudeerd dan de andere.

De laatste 25 jaar is de systematiek voortdurend in beweging geweest. Er heeft een aantal grote veranderingen tegelijkertijd plaatsgevonden; m. n. de technische, conceptuele en methodische ontwikkelingen zijn enorm geweest, ontwikkelingen die

noodzakelijk waren en ook vruchtbaar zijn gebleken. Veel oude onderdelen zijn bewaard gebleven omdat ze onmisbaar zijn, nieuwe onderdelen zijn daaraan toegevoegd. De doelstellingen en uitgangspunten zijn onder de loep genomen, evenals de aanpak. En tenslotte, de systematiek is een integrerende discipline. Zij biedt andere disciplines een raamwerk om het onderzoek en de resultaten daarvan aan op te hangen. Tegelijkertijd leveren die andere disciplines methoden en technieken die routinematig in het vergelijkend biodiversiteitsonderzoek kunnen worden toegepast. Dit heeft het aantal mogelijk te bestuderen kenmerken gigantisch uitgebreid; het heeft nieuwe handvatten gegeven om soorten cq. populaties/kenmerken m. b. v. proceshypothesen te interpre-

teren en de taxa/toestanden te onderscheiden. In ieder geval is steeds opnieuw gebleken, dat nieuwe technieken geen panacee leveren voor de oplossing van alle resterende problemen. Ze dragen wel hun steentje bij, maar alles moet steeds op zijn merites beoordeeld worden. De kritische interpretatie van de systematicus blijft steeds essentieel.

Dr. M. C. Roos
Rijksherbarium/Hortus Botanicus
Van Steenisgebouw
Einsteinweg 2
NL - 2333 CC Leiden