

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/44867> holds various files of this Leiden University dissertation

Author: Schwallier, Rachel Marie

Title: Evolutionary diversification of Nepenthes (Nepenthaceae)

Issue Date: 2016-12-12

Samenvatting

Voor dit proefschrift zijn moleculair fylogenetische analyses uitgevoerd met soorten uit het tropische bekerplantengenus *Nepenthes*. Deze planten kunnen op arme bodems leven door extra nutriënten op te nemen met behulp van een gemodificeerde bladtop in de vorm van een beker gevuld met verteringsappelen. Het merendeel van de soorten is vleesetend, een klein deel leeft van het verteren van mest of van plantendelen.

Met de geproduceerde moleculaire stambomen is een reconstructie gemaakt van de evolutie van de diversiteit aan ecologische niches, endemisme, de anatomie en morfologie. Dankzij deze analyses is nu duidelijker gemaakt waar soorten van *Nepenthes*, die in het wild met uitsterven bedreigd worden, het best beschermd kunnen worden tegen opwarming en andere door de mens veroorzaakte vormen van habitatdestructie. Naast stamboomonderzoek is ook een ethnobotanische analyse uitgevoerd. Hiermee kon de vraag *hoe* deze groep bekerplanten te beschermen tegen uitsterven, nog wat uitgebreider worden beantwoord, namelijk door ook te kijken *waarom* ze een betere bescherming verdienen. De belangrijkste resultaten van dit promotie-onderzoek worden hieronder kort samengevat.

Een beter begrip van de diversiteit aan ecologische niches binnen *Nepenthes*:

In *Hoofdstuk 1* wordt een moleculair fylogenetische analyse gepresenteerd op basis van verschillende genen uit het nucleair en chloroplastgenoom. De resolutie van deze stamboom is hoger dan die van voorafgaande publicaties. Voor 15 soorten zijn vervolgens de ecologische niches gemodelleerd om de evolutie daarvan binnen deze groep bekerplanten te kunnen reconstrueren. Onder een niche wordt een afgebakende ecologische ruimte in een ecosysteem verstaan. Door de stamboom- en nichereconstructies te combineren, kon geconcludeerd worden dat in *Nepenthes* twee verschillende fylogenetische signalen aanwezig zijn, één binnen hooggebergtesoorten, en een ander binnen laaglandsoorten. De hooggebergtesoorten lijken genetisch gezien meer op elkaar en delen ook meer ecologische niches, terwijl de laaglandsoorten genetisch gezien onderling veel heterogener zijn en minder overlappen qua niches. Verder blijken de hooggebergtesoorten voortgekomen te zijn uit een snelle radiatie, die relatief recent plaatsvond op de Kinabalu berg toen deze door vulkanisme gevormd werd. Laaglandsoorten zijn ouder en ontstaan door sympatrische speciatie, waarbij reproductieve isolatie ontstond door een veel langduriger proces van natuurlijke selectie.

Dit onderzoek toonde verder aan dat klimaatverandering een belangrijke rol speelde en zal blijven spelen in de verspreiding van de soorten van *Nepenthes*. Scenario's berekend voor de toekomst laten zien dat in slechts

50 jaar tijd (2070) de hooggebergtesoorten er sterk in verspreiding op achteruit zullen gaan terwijl de laaglandsoorten er op vooruitgaan. Als de huidige opwarming door blijft gaan, zullen veel gebieden die nu nog geschikt zijn voor hooggebergtesoorten ongeschikt worden voor *Nepenthes*. Ik adviseer dan ook gebieden die nog wel geschikt blijven prioriteit te geven bij natuurbeschermingprojecten. Ook is het van belang dat de genetische diversiteit van hooggebergtesoorten uit deze gebieden bewaard blijft in botanische tuinen en *ex situ* programma's zoals bijvoorbeeld Ark of Life.

Het ontstaan van endemische *Nepenthes* soorten op de Kinabalu: Mijn bijdrage aan het grote internationale project beschreven in *Hoofdstuk 2* betrof het onderzoek naar de oorsprong van de endemische *Nepenthes* soorten op deze tropische berg. In dit hoofdstuk worden gedetailleerde stamboomreconstructies en moleculaire klokanalyses gepresenteerd van diverse organismen waaronder *Nepenthes*. Zo'n exercitie was nog niet eerder gedaan voor een tropische berg vanuit een dermate breed taxonomische perspectief. De resultaten lieten ondubbelzinnig zien dat op de top van de Kinabalu berg vele nieuwe soorten zijn ontstaan, terwijl op de flanken veel voorouders van nieuwe soorten voorkomen. De op de berg onderzochte soorten kwamen daar aangewaaid vanuit verre oorden elders (dit gold vooral voor hele oude plantenfamilies binnen de varens, mossen en de schimmels) maar onstonden ook ter plekke. Dit laatste bleek het geval te zijn voor endemen als *Nepenthes edwardsiana*, *N. x kinabaluensis*, *N. lowii*, *N. rajah*, en *N. villosa*.

Meer inzicht in de evolutie van het hout in *Nepenthes*: In *Hoofdstuk 4* heb ik de evolutie van houtanatomische kenmerken in de Caryophyllales onderzocht. Daarnaast heb ik de variatie in houtanatomie binnen *Nepenthes* beschreven en ontdekt welke kenmerken in de voorouders aanwezig waren en welke kenmerken daar evolutionair van zijn afgeleid.

Het hout van *Nepenthes* is diffuus-porig. De vaten zijn veelal alleenstaand met enkelvoudige doorboringen die een gegroefde wand hebben. Verder heeft *Nepenthes* alternerende vat-stippels, vezels met duidelijke hofstippels, die soms gesepteerd zijn, apotracheaal axiaal parenchym, en samen voorkomende één- tot meerrijige stralen die vaak silicalichamen bevatten. Abiotische omstandigheden (bodemtype en hoeveelheid neerslag) en habitus (liaan of kruidachtige plant) correleren met de lengte en breedte van de mergstralen, de diameter van de vaten en aanwezigheid van silicalichamen. Binnen de Caryophyllales lijken silicalichamen, succesieve cambia, vaten met enkelvoudige doorboringen met een gegroefde wand en helicaal-verdikte idioblasten het resultaat te zijn van convergente evolutie. Afwijkende patronen in diverse celvormen komen alleen voor in de insecteneters binnen de Caryophyllales.

Variatie in houtanatomie van *Nepenthes* correleert met het bodemtype, de hoeveelheid neerslag en de gemiddelde lengte van de stengel, maar de significantie van die correlatie is niet erg uitgesproken. Steencellen en idioblasten in het merg en de cortex zijn synapomorfieën voor *Nepenthes*. Andere kenmerken, zoals de aanwezigheid van silicalichamen en gegroefde vatwanden, zijn meerdere keren gedurende de evolutie van de Caryophyllales ontstaan.

Dit onderzoek liet zien dat het hout van *Nepenthes* relatief éénvormig is en dat soorten niet snel reageren op verdroging van hun leefomgeving door evolutie van nieuwe houtanatomische kenmerken. Op bodems met veel zware metalen blijkt het hout van *Nepenthes* vol te zitten met helicaal-verdikte idioblasten. Deze lijken, samen met silicalichamen en gegroefde vatwanden, het resultaat te zijn van convergente evolutie binnen de Caryophyllales en zijn mogelijk van belang om te kunnen overleven op bodems met een afwijkende mineralensamentstelling.

Ontwikkeling van bodem- en luchtbekers in *Nepenthes*: In de voorafgaande hoofdstukken heb ik laten zien dat de huidige diversiteit aan ecologische niches, endemisme, en houtanatomie binnen *Nepenthes* het resultaat is van miljoenen jaren van evolutie. Een andere morfologische aanpassing aan het leven op arme bodems zijn de bekervallen van *Nepenthes*. De vorm van de bekers bovenin de vegetatie is anders dan die van de bekers vlak boven of op de bosbodem. Luchtbekers zijn aangepast aan het vangen van door de lucht vliegende insecten, terwijl bodembekers meer geschikt zijn voor het opvangen van bladmateriaal en over de bodem rondkruipende insecten. Ik heb onderzocht of luchtbekers een afgeleide vorm zijn van bodembekers. Dat heb ik gedaan door de groei en ontwikkeling van beide type bekervallen van *N. rafflesiana* door de tijd heen te volgen. Tijdens de ontwikkeling kunnen vier verschillende fases worden onderscheiden en ik beschrijf deze in *Hoofdstuk 6*. In de eerste fase zijn de eerste krommingen zichtbaar op de plek waar de beker zich uit het blad ontwikkelt. In de volgende fase vindt verlenging en verbreding plaats. Daarop volgt een fase van opzwellen en uiteindelijk een fase waarin de bekerval opengaat en zijn definitieve vorm aanneemt.

De lengte van de bekerval blijkt een goede indicator te zijn voor de verschillende ontwikkelingsfasen. De vorming van microstructuren als klieren vindt plaats gedurende verschillende ontwikkelingsfasen. In geen enkele van de vier verschillende ontwikkelingsfasen blijken de bodem- en luchtbekers overlap te vertonen. De luchtbekers kunnen daarom geen afgeleide vorm zijn van de bodembekers en moeten dus onafhankelijk daarvan ontstaan zijn.

***Nepenthes* als cultureel erfgoed:** Het laatste hoofdstuk gaat over het traditioneel gebruik van *Nepenthes*. In *Hoofdstuk 5* wordt ethnobotanisch

onderzoek beschreven waarin het gebruik van bekerplanten in traditionele recepten is onderzocht. Meer dan 300 bezoekers van markten in Sabah en Sarawak in Maleisië zijn hiervoor ondervraagd. Bij het interviewen van consumenten en producenten van deze gerechten is ook gebruik gemaakt van sociale media. Hieruit bleek dat het gerecht *peruik kera*, een kleverige snack van rijst, gekookt en geserveerd in *Nepenthes* bekervallen, ondanks de uitvinding van plastic bakjes, nog onverminderd populair is. De meest algemene soorten die hiervoor gebruikt worden zijn *N. ampullaria* en *N. mirabilis*, maar de laatste soort wordt alleen gebruikt als *N. ampullaria* lokaal niet beschikbaar is. Het gerecht wordt vooral bereid door twee bevolkingsgroepen in Maleisië, de Bidayuh en Kadazandusun, en geserveerd tijdens feestelijke bijeenkomsten met veel deelnemers.

Traditionele gerechten bereid met lokale flora zijn niet alleen het resultaat van een plaatselijke cultuur maar ook van de daar aanwezige biodiversiteit. Als het niet goed gaat met de lokale natuur gaat het ook niet goed met de tradities die daarop gebaseerd zijn en *vice versa*. Zowel de natuur als de lokale tradities beschermen lijkt in dit geval dan ook een uitstekende strategie om *Nepenthes* soorten plaatselijk voor uitsterven te behoeden.

Suggesties voor toekomstig onderzoek: Om meer inzicht te krijgen in de processen die soortvorming binnen *Nepenthes* bevorderen, is het belangrijk dat er een moleculaire stamboom beschikbaar wordt van alle momenteel bekende soorten. Dankzij nieuwe ontwikkelingen op het gebied van tweede en derde generatie DNA sequencers en genoomonderzoek zal een dergelijke stamboom waarschijnlijk niet lang meer op zich laten wachten. Omdat hybridisatie een belangrijke rol speelt in het soortvormingsproces van *Nepenthes* zijn bovendien aanvullende netwerkanalyses nodig.

Voor toekomstige studies naar het behoud van soorten in het wild onder omstandigheden van klimaatopwarming zoals gepresenteerd in *Hoofdstuk 1* zou het waardevol zijn om ook soorten die samenleven met bekerplanten bij het onderzoek te betrekken. Je kunt dan denken aan prooien als vliegende en kruipende insecten, maar ook aan soorten die mest in de bekervallen achterlaten, zoals kleine zoogdieren. Daarnaast zijn bekerplant afhankelijk van bestuivers en andere biota waarmee ze samenleven, zoals bijvoorbeeld schimmels, en kikker- en muggenlarven, die zich deels in de bekervallen ontwikkelen.

Moleculaire klokanalyses zoals gepresenteerd in *Hoofdstuk 2* voor de Kinabalu berg in Borneo zouden ook gedaan moeten worden voor andere tropische hotspots van *Nepenthes*. Je kunt dan denken aan het Banjaran Titiwangsa gebergte op het Maleis schiereiland, Puncak Jaya in Papua Nieuw Guinea, diverse gebergtes op de Filippijnen en de Bukit Barisan keten in Sumatra

in Indonesië. Door de evolutie van endemen in meerdere gebieden te onderzoeken, kan de rol van tropische bergen in het proces van soortvorming binnen *Nepenthes* verder in kaart gebracht worden.

Aanvullend experimenteel fysiologisch onderzoek aan de droogteresistentie van verschillende soorten *Nepenthes* kan beter helpen voorspellen welke daarvan in het wild zullen uitsterven als de huidige trends aan opwarming doorzetten. Het anatomisch onderzoek zoals gepresenteerd in *Hoofdstuk 3* dient dan voortgezet worden met metingen van watertransport in het xyleem in het laboratorium om de reacties op droogtestress van verschillende soorten *Nepenthes* te kwantificeren.

Ecologische flexibiliteit binnen *Nepenthes* is belangrijk voor het overleven van soorten. Ik heb in *Hoofdstuk 4* de veranderingen in bekervorm gekwantificeerd voor *N. rafflesiana*. Dit onderzoek zou voortgezet moeten worden met andere soorten, niet alleen met insecteneters, maar ook met mestverteeders en vegetarische soorten. Meer kennis over de genen die betrokken zijn bij bekervorming zou het onderzoek naar de vorming en ontwikkeling van deze organen verder kunnen helpen verdiepen.

Tot slot wil ik graag het culturele belang van *Nepenthes* benadrukken. Van diverse soorten zijn de bekera een belangrijk onderdeel van plaatselijke traditionele rijstgerechten. In hoofdstuk 5 is dit gebruik onderzocht voor Maleisië, maar vergelijkbare gerechten worden ook geserveerd en geconsumeerd in andere delen van Zuidoost Azië en Madagascar. Sociale media blijken bij uitstek geschikt om zowel de makers als de consumenten van traditionele recepten te interviewen over het gebruik van bekerplanten in hun gerechten. Ik ben ervan overtuigd dat het gebruik van sociale media een zeer belangrijk instrument zal zijn binnen ethnobotanisch onderzoek maar ook binnen natuurbeleid, zowel nationaal als internationaal. Op deze manier kan immers meer draagvlak gecreeërd worden voor een samenleving waarin we zorgvuldig gebruik maken van zowel de lokale natuurlijke hulpbronnen aanwezig binnen natuurgebieden, als de traditionele kennis van de mensen die in en rond die gebieden leven.