

Ihre Namen: \_\_\_\_\_

## Übungen 7: Phylogenetik 2: Morphologische phylogenetische Analyse

Während des heutigen Kurstages werden Sie für eine vorbestimmte Tiergruppe zuerst eine Taxonomie erarbeiten und dann eine phylogenetische Hypothese erstellen, und zwar basierend auf morphologischen Merkmalen.

Hierzu benutzen Sie Abbildungen von ausgewählten Vertretern dieser Gruppe (werden ausgeteilt) und das Computerprogramm Mesquite; letzteres ist keine Lernsoftware (wie Populus und GENUP), sondern ein etabliertes Programm, das von Wissenschaftlern für die Analyse morphologischer Merkmalsmatrizen benutzt wird. Sie machen heute also die Arbeit eines Systematikers, nur mit dem Unterschied, dass Sie statt echten Tieren Abbildungen verwenden.

Mesquite ist auf Java basiert, so dass es unter Windows, Mac OS, und Unix läuft. Es kann kostenfrei unter <http://mesquiteproject.org> heruntergeladen werden.

### TAXONOMIE: ARTEN KLASSIFIZIEREN UND BENENNEN

**1. Klassifizieren.** Sie bekommen ein Blatt mit Abbildungen von Tieren, die am Meeresgrund leben. Jedes Tier ist der Vertreter einer anderen Art. Zusammen bilden sie mehrere Gattungen einer Familie. Geben Sie der Familie einen Namen (Endung: *-idae!*). Zu beachten ist, dass alle abgebildeten Arten rezent sind, also keine fossilen Arten.

Nehmen Sie das Blatt mit dem Taxon Sample und schneiden Sie alle Taxa aus, wobei die Nummern an den entsprechenden Tieren dranbleiben müssen. Machen Sie sich mit der Morphologie der Tiere vertraut. Welche Merkmale und Merkmalszustände beobachten Sie? Welche Unterschiede und Gemeinsamkeiten? Die Abbildungen zeigen die Dorsalseite der Tiere; was aussieht wie ein Mund, ist eine Nackenfalte. Nummer 19 und 29 haben Augenstiele (nicht Tentakeln oder Fühler). Vorderextremitäten sind entweder als Tentakeln, Arme oder Flossen ausgebildet. Wenn an den Armen Finger ausgebildet sind, so haben diese entweder Fingernägel oder Krallen.

Sortieren Sie die Taxa nach Ähnlichkeit in mehrere Gattungen. Benennen Sie die Gattungen: denken Sie sich selbst dafür Namen aus. Diese dürfen aus deutschen Wörtern bestehen, müssen aber die korrekte lateinische Endung für Gattungsnamen haben. Als artspezifisches Epitheton bitte die latinisierte Taxonnummer benutzen, also z.B. *einsus* für Art 1, *zweius* für Art 2, *siebzehnus* für Art 17. Notieren Sie sich den vollen Namen jeder Art, z.B. auf der Vorderseite der ausgeschnittenen Bilder.

### PHYLOGENETIK: PHYLOGENIE ERSTELLEN

**2. Phylogenie abschätzen.** Erinnern Sie sich, wie Sie am letzten Kurstag parsimonische Phylogenien erstellt haben. In welche Merkmale und Merkmalszustände würden Sie die beobachteten Unterschiede kodieren? Welches sind die apomorphen Merkmalszustände? Überlegen Sie sich durch Betrachtung der Verteilung der Merkmalszustände wie die Phylogenien innerhalb Ihrer Gattungen aussehen (bei den Gattungen, die mehr als zwei Arten haben). Überlegen Sie sich auch, wie die Gattungen miteinander verwandt sind. Zeichnen Sie nun ihre geschätzte Phylogenie. *Zusätzlich können Sie, wenn Sie möchten, Ihren Baum auf ein großes A3-Papier zeichnen und die ausgeschnittenen Abbildungen ihrer Arten mit Tesafilm an die Enden der Zweige kleben.*

**3. Mesquite starten und Datenmatrix erstellen.** Öffnen Sie Mesquite. Es öffnen sich zwei Fenster und es dauert etwas, bis alles geladen ist. Warten Sie bitte, bis das **Startup Window** verschwunden ist und ganz unten im Mesquite Fenster steht **...manual ready**, denn erst dann ist Mesquite bereit. Das schwarze DOS-Fenster muss offen bleiben, sonst wird das Programm automatisch beendet; das Fenster kann aber in die Menüleiste abgelegt werden, damit es nicht stört und man es nicht aus Versehen schließt.

Jetzt können Sie eine neue, leere Datenmatrix erstellen. In der Menüleiste wählen Sie bitte unter dem Menüpunkt File den obersten Eintrag **New**. Ein Fenster öffnet sich, in welchem Sie der neuen Datei einen Namen geben müssen. Benutzen Sie Ihren erfundenen Namen der Familie, z.B. *Biozentridae*. Unter **Where** wählen Sie **desktop/Schreibtisch**. Klicken Sie auf **Save/Sichern**. In dem sich öffnenden Fenster **New File Options** belassen Sie bitte das Häkchen bei **Make Taxa Block** und ersetzen Sie im Feld **Name** das Wort *Taxa* durch den Namen ihrer Familie, z.B. *Biozentridae*. Ändern Sie die Zahl bei **Number of Taxa** zur tatsächlichen Anzahl Ihrer Taxa inklusive Außengruppe(n). Kreuzen Sie das Kästchen an **Make Character Matrix**. Klicken Sie auf **OK**. In dem sich öffnenden Kästchen mit der Überschrift **New Character Matrix** ändern Sie bitte im obersten Feld den Namen *Character Matrix* zu Ihrem erfundenen Namen, z.B. *Biozentridae*. Ändern Sie die Zahl der Merkmale zur Anzahl der Merkmale, die Sie eingeben möchten (eine Schätzung reicht, Sie können später noch Spalten für Merkmale hinzufügen). Belassen Sie die Auswahl bei **Standard Categorical Data** (diskrete Merkmale) und klicken Sie auf **OK**. Es entsteht nun ein Fenster mit einer Matrix.

Tipps zur Benutzung des Programms: Wenn man mit der Maus über ein Werkzeug schwebt, dann wird am unteren Rand des Fensters die Funktion des Werkzeugs erklärt. Sollte die Merkmalsmatrix irgendwann zu klein sein, Sie also mehr Taxa oder mehr Merkmale brauchen, so können Sie Zeilen oder Spalten hinzufügen mit den entsprechenden Werkzeugen (Icons in der zweiten Reihe). Wählen Sie das Werkzeug für Zeilen oder Spalten aus und klicken Sie dort in die Matrix wo Sie die Zeilen oder Spalten hinzugefügt haben möchten. In dem sich öffnenden Fenster können Sie angeben wie viele Zeilen oder Spalten hinzugefügt werden sollen. Danach müssen Sie wieder auf das Icon mit dem I-Symbol klicken, damit Sie die Matrix editieren können. Denken Sie hinterher daran, Ihre Matrix zu sichern.

**4. Datenmatrix füllen.** Nun können Sie die Matrix mit Taxonnamen, Merkmalsnamen und Merkmalszuständen füllen. Um die Merkmalsmatrix zu editieren, klicken Sie auf das I-Symbol in dem Satz von Werkzeug-Icons auf der linken Seite, um das Edit-Werkzeug zu bekommen. Es sollte das rechte in der obersten Reihe sein. Ersetzen Sie *Taxon 1*, *Taxon 2*, etc mit den Namen Ihrer Tiere und der Taxon-Nummer davor, verbunden durch Unterstriche, z.B. *13\_Biozentrus\_dreizehnus*, *17\_Streifus\_siebzehnus*, usw. Starten Sie mit der Außengruppe. Gehen Sie unter dem Menüpunkt File auf **Save File**.

Oberhalb der Matrix mit den Fragezeichen sind schräge Felder für die Merkmalsbezeichnungen. Sie müssen sich also spätestens jetzt überlegen, welches Ihre Merkmale sind. Hierbei ist zu beachten, dass homologe Eigenschaften als ein Merkmal kodiert werden sollten, während unabhängige voneinander evolvierende Eigenschaften verschiedene Merkmale sein sollten. Bedenken Sie hierbei, dass ein Merkmal mehr als zwei Zustände haben kann. Zu viele Zustände in einem Merkmal sind aber auch wieder nicht gut, denn im Extremfall ändert sich das Merkmal so oft, dass es keine Synapomorphien mehr ergibt. Klicken Sie in das erste Feld, wodurch sich ein Kästchen öffnet. Ohne nochmals zu klicken, geben Sie den Namen Ihres ersten Merkmals ein, z.B. Borstenzahl. Klicken Sie woanders hin (oder drücken Enter) und das Feld schließt sich. Klicken Sie in das zweite Feld, geben Sie den Namen des nächsten Merkmals ein, z.B. *Arme*. Und so weiter, bis alle Merkmale benannt sind. Sichern Sie wieder.

Bitte zeigen Sie Ihre Matrix einem Tutor oder Dozenten.

Nun haben Sie eine Merkmalsmatrix mit Taxonnamen und Merkmalsnamen, in der die Zellen momentan noch mit Fragezeichen gefüllt sind. Ersetzen Sie die Fragezeichen durch Ihre Merkmalszustände, z.B. 0 für *Vorderextr. als Tentakel ausgebildet*, 1 für *Vorderextr. als Flosse ausgebildet* und 2 für *Vorderextr. als Arme ausgebildet*, wobei Sie sich irgendwo notieren müssen, welche Zahl für welchen Merkmalszustand steht. Wenn das Merkmal in der Außengruppe vorhanden ist, so sollte der dort vorhandene Zustand als 0 kodiert werden und der andere als 1. Wenn ein Merkmal bei einem Tier nicht kodiert werden kann, so lässt man in der Zelle das Fragezeichen. Erstellen Sie eine Sicherheitskopie ihrer Matrix. Bitte zeigen Sie Ihre Matrix wieder einem Tutor oder Dozenten.

**5. Kürzesten Baum suchen.** Wenn die Matrix fertig ist, können Sie verschiedene Bäume ausprobieren, um den kürzesten zu finden. Um den ersten Baum zu bekommen, klicken Sie in der Menüleiste auf **Taxa&Trees**, wählen **New Tree Window**, und dann **With Tree to Edit by Hand**. Es erscheint jetzt (in einem neuen Tab) ein Baum. Man kann zwischen Merkmalsmatrix und Baum hin- und hergehen, indem man auf die Tabs oben im Fenster klickt.

In diesem ersten Baum sind die Tiere in der Reihenfolge, in der sie in der Matrix gelistet sind, in einer kammförmigen Baumstruktur angeordnet. Der Baum wurde nicht mit Hilfe von Parsimonie berechnet, sondern beruht lediglich auf der Reihenfolge, in der die Taxa eingegeben wurden. Dies ist also noch keine Phylogenie. Deswegen steht auch unten im Fenster: **DEFAULT ARBITRARY TREE** (arbitrary bedeutet beliebig/willkürlich/frei gewählt). Falls Ihre Außengruppe nicht das oberste Tier in der Matrix ist (und nicht das linke Tier im Baum), so muss das noch geändert werden. Suchen Sie bitte das **Reroot at Branch** Werkzeug. Klicken Sie auf das Symbol um das Werkzeug auszuwählen und dann mit dem kreisförmigen Ende des Werkzeugs auf den Zweig, der zu dem Tier führt, das Ihre Außengruppe sein soll. Es wird jetzt die Wurzel des Baumes.

Jetzt brauchen Sie für den Baum noch den Wert für die Baumlänge, welches das Qualitätskriterium für den Vergleich verschiedener Bäume ist – Sie wollen ja den kürzesten, d.h. den parsimonischen Baum finden. Gehen Sie zum Menüpunkt **Analysis** und wählen Sie **Values for Current Tree**. Im sich öffnenden Fenster klicken Sie auf den zweiten Punkt **Treelength** und dann auf **OK**. Wählen Sie im neuen Fenster **Stored Matrices** und **OK**. Machen Sie das Baumfenster so groß wie möglich.

Jetzt machen Sie sich damit vertraut, wie die Evolution eines Merkmales auf dem Baum angezeigt wird. Gehen Sie nochmal zum Menüpunkt **Analysis** und wählen Sie diesmal **Trace Character History** und wählen im sich öffnenden Fenster die **Stored Characters** und **OK**. Im neuen Fenster auf **Parsimony Ancestral States** und **OK**. Die Merkmalsänderungen für Merkmal 1 werden jetzt auf den Baum gemappt. Wenn Ihr Merkmal nur zwei Zustände hat, dann wird einer durch weiße Zweige, der andere durch schwarze Zweige dargestellt. Wenn Sie in dem türkisfarbenen Rahmen für Trace Character auf den blauen Pfeil klicken, wird der Baum die Merkmalsänderungen für andere Merkmale anzeigen. Der Farbcode ist am unteren Rand des Fensters zu sehen. Eventuell müssen Sie die türkisfarbenen Fenster für Treelength und Trace Character an den Rand des Baumfensters bewegen, damit Sie Alles gut sehen können.

Jetzt können Sie verschiedene Bäume ausprobieren, um den kürzesten zu finden. Man kann einen Zweig des Baumes abreißen und woanders ankleben, indem man mit dem Pfeilwerkzeug (Move Branch) auf den Zweig klickt und die Maustaste gedrückt hält, und die Maus dann dahin schiebt wo man den Zweig hinhaben möchte und dort loslässt. Schauen Sie, ob der neue Baum parsimonischer ist, d.h. der Wert für Treelength kleiner wird. Falls die Baumlänge durch die Veränderung größer (also schlechter) geworden ist, können Sie die Veränderung schnell rückgängig machen, indem Sie im Menüpunkt **Edit** auf **Undo** klicken oder Strg-Z klicken. TIPP: Benutzen Sie die Farbwechsel der Merkmalszustandsänderungen als Hilfe, um näher verwandte Arten zusammenzulegen und so die Baumlänge zu verkürzen. Aber beachten Sie, dass eine Baum-Modifizierung, die die Schrittzahl eines Merkmals verringert, möglicherweise die von einem oder mehreren anderen Merkmalen vergrößert. Probieren Sie herum, bis Sie glauben, den Baum mit der kürzesten Länge (Treelength) gefunden zu haben. Gehen Sie unter dem Menüpunkt File auf **Save File**.

Gehen Sie im Menüpunkt **Trace** (welches nur erscheint wenn man vorher Trace Character History gemacht hat) zu **Trace Display Mode** und dort zu **Label States**. Dann sehen Sie die Merkmalszustände für das jeweilige Merkmal an jedem Knotenpunkt, d.h. welcher Zustand für den dortigen Vorfahren hypothetisiert wird. Lassen Sie das Programm jetzt ein Merkmal anzeigen, das Homoplasie aufweist und das Sie besonders interessant finden. Machen Sie sich bitte klar, was hier alles zu sehen ist, sowohl die phylogenetischen Aussagen als auch die Merkmalsevolution. Diskutieren Sie es innerhalb Ihrer Gruppe. Dann zeigen Sie den Baum einem Tutor oder Dozenten.

Machen Sie nun ein Bild (PDF oder JPEG Format) von Ihrem kürzesten Baum. Falls Sie wissen, wie man einen Screenshot macht, können Sie diese Methode verwenden. Oder gehen Sie im Menüpunkt **File** zu **Save Tree as PDF** oder zu **Print Tree to Fit Page** und wählen im sich öffnenden Fenster aus, dass ein PDF gemacht werden soll anstatt zu drucken. Benennen Sie die Bilddatei mit Ihrem erfundenen Namen der Tiere, z.B. *Biozentridae*, und sichern Sie sie auf dem Desktop. Machen Sie ein Duplikat Ihrer Datei und arbeiten Sie mit dem Duplikat weiter.

**6. Tree Search in Mesquite.** Bitten Sie jetzt Mesquite, den kürzesten Baum zu finden, damit Sie sehen, ob Sie tatsächlich den kürzesten gefunden haben. Gehen Sie im Menüpunkt **Taxa&Trees** auf **Tree Inference -> Tree Search -> Mesquite Heuristic (Add & Rearrange)**. Im sich öffnenden Fenster unter **Tree value using character matrix** auf **Treelength** (2. Zeile von oben) und **OK** klicken (damit das Programm nach dem kürzesten Baum auf der Basis der gesamten Merkmalsmatrix sucht). Im nächsten Fenster auf **Stored Matrices** und **OK**, dann auf **SPR Rearranger** und **OK**. Dann auf **OK** und **No**. Mesquite zeigt Ihnen jetzt den ersten aller kürzesten Bäume, die es gefunden hat.

Lassen Sie sich die Baumlänge anzeigen. Ist der Baum kürzer oder genauso lang wie Ihrer? Falls der Baum, den Mesquite gefunden hat, kürzer ist, finden Sie heraus welcher Unterschied im Kladogramm dafür verantwortlich ist. Falls der Baum von Mesquite genauso lang ist wie Ihrer, Gratulation!

**7. Bäume wurzeln.** Mesquite hat mehrere Bäume gefunden. Wenn Sie oben links unter **Tree #** auf die blauen Pfeile klicken, können Sie sie sehen. Viele oder alle der kürzesten Bäume haben dieselbe Phylogenie, sie sind nur an anderer Stelle gewurzelt. Um nur Bäume bekommen, die mit Ihrer Außengruppe gewurzelt wurden, gehen Sie zu Ihrer Datenmatrix indem Sie links auf „Show Matrix“ klicken. Markieren Sie alle Taxa ausser der Außengruppe, indem Sie auf das Kästchen mit der 2 links neben den Taxonnamen klicken und dann auf das mit der 13 (sofern die Außengruppe oben steht...), während Sie die Shift-Taste gedrückt halten. Gehen Sie im Menüpunkt **Taxa&Trees** zu **Make New Trees Block from -> Filter Trees from Other Source...** Wählen Sie **Stored Trees** und **OK**, dann **Selected Taxa form Clade** und **OK**, dann **No** und dann **Yes**. Jetzt sollten Sie nur noch einen Baum haben. Lassen Sie wieder die Treelength anzeigen (s.o.) und machen Sie ein Screenshot oder ein PDF von dem Baum (s.o.).

Hinweis: Es ist durchaus möglich, dass Sie jetzt doch noch mehr als einen Baum haben. Das liegt dann daran, dass zwei oder mehr verschiedene Bäume die gleiche Baumlänge haben. Um herauszufinden welche Kladen in allen Bäumen übereinstimmen, müssten Sie einen Consensus aller Bäume erstellen - aus zeitlichen Gründen ist es aber in Ordnung, wenn Sie mit einem der Bäume weitermachen.

**8. Lösung abgleichen.** Sobald Sie nur noch einen Baum haben, zeigen Sie diesen bitte einem Tutor oder Dozenten. Mit dem **Interchange Branches** Werkzeug (zweite Reihe links) kann man die Kladen des Baumes rotieren, bis er identisch mit der Musterlösung ist oder zumindest möglichst ähnlich. Machen Sie eine Zeichnung des fertigen Baumes und notieren Sie die Anzahl der Merkmale und die Baumlänge. Zeigen Sie den Baum einem Tutor oder Dozenten. Danach beantworten Sie bitte die untenstehenden Fragen.

Anzahl der Merkmale: .....

Baumlänge: .....

## FRAGEN ZU IHRER PHYLOGENIE

Tipp: Oben haben Sie gelernt, dass man mit Trace Character History die Evolution jedes Merkmals auf dem Baum sehen kann. Das wird hier auch wieder benutzt.

9a. Welche Merkmale ändern sich zwischen Innen- und Außengruppe?

9b. Wenn wir annehmen, dass die Außengruppe tatsächlich in allen Merkmalen ursprünglich ist, welche Merkmalszustände sind dann Synapomorphien für die Innengruppe?

9c. Welche zusätzliche Information bräuchte man, um entscheiden zu können, welche Merkmalszustände dieser Merkmale apomorph sind?

10. Welches Merkmal ist eine Synapomorphie für die Klade, die Taxa 1, 2, 3, 4, 12, 17 und 18 enthält?

11. Sind alle Gattungen, die sie am Anfang beschrieben haben, monophyletisch? Falls ja: was glauben Sie, warum sich nicht eine oder mehrere Gattungen als paraphyletisch herausgestellt haben? Falls nein: welches Merkmal hat sie in die Irre geführt?

12. Ist die finale Phylogenie identisch mit der Phylogenie, die sie sich ganz am Anfang (ohne Mesquite) überlegt haben? Falls es Unterschiede gibt, worin bestehen die und wie kam es zu Ihrer ursprünglichen Fehleinschätzung?

13. Bilden die zwei Arten mit den Krallen (3 und 12) ein Monophylum, Paraphylum oder Polyphylum? Warum?

14. Können Sie ein Merkmal entdecken, dass eine Präadaptation (Exaptation) darstellt?

15. Welche Merkmale sind uninformativ?

16. Wählen Sie ein Merkmal, das keine Homoplasie zeigt und eine Klade (monophyletische Gruppe) von 4 oder 5 Arten unterstützt, also eine Synapomorphie für diese Klade ist. Klicken Sie mit dem **Reroot at Branch** Werkzeug auf eine Art innerhalb dieser Klade. Was hat sich an dem Baum geändert? Was an dem Merkmal?

17a. Wurzeln Sie wieder auf der Außengruppe. Rotieren Sie die Zweige so lange mit dem **Interchange Branches** Werkzeug, bis Art Nummer 3 neben Art Nummer 6 steht (aber nicht Schwestergruppen sind). Abbrechen dürfen Sie die Zweige dabei nicht, nur rotieren! Geht das?

17b. Ist das jetzt eine andere Phylogenie?

18. Wählen Sie nun zwei beliebige Arten aus der Innengruppe, die in Ihrem Baum weit entfernt stehen und rotieren Sie die Zweige mit dem Interchange Branches Werkzeug wieder so lange bis die beiden Arten nebeneinander stehen. Geht dies ebenfalls? Wird es immer funktionieren, egal welche 2 Arten man auswählt?

19. Schauen Sie sich die Datei, die Mesquite generiert hat, in einem Texteditor an. Es handelt sich um eine Datei im Nexus-Format. Dieses kann von verschiedenen Phylogenetik-Programmen gelesen werden. Unten stehen die einzelnen Elemente der Datei. Schreiben Sie auf, welche Information darin enthalten ist. Tipp: jeder Block fängt an mit „begin ...“ und endet mit „end“.

- Kopfzeile #NEXUS:
- Text in eckigen Klammern:
- Taxa-Block:
- Characters-Block:
- Assumptions-Block:
- Trees-Block:
- Mesquitecharmodels-Block:
- Mesquite-Block:

Bitte alle heute heruntergeladenen und/oder erstellten Dateien vom Computer löschen!

Übung basiert auf der Übung von SS2014 erstellt von Dr. Susanne Schulmeister.