

Молекулярная филогения Hamamelidaceae s.l. на основе анализа нуклеотидных последовательностей ITS ядерной и matK, trnL-F хлоропластной ДНК

Molecular phylogeny of the Hamamelidaceae s.l. based on the ITS sequences of nuclear DNA and matK, trnL-F sequences of chloroplast DNA

Рослов М. С.

Roslov M. S.

Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, г. Москва, Россия. E-mail: maxim_roslov@mail.ru

Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Реферат. Hamamelidaceae s.l. – семейство, которое служит своеобразным мостом между базальными евдикотами и розидами, поэтому лучшее понимание филогении семейства важно для выявления эволюционных закономерностей в диверсификации евдикот. Межродовые отношения у Hamamelidaceae s.l. являются предметом дискуссий. В ходе работы были реконструированы филогенетические взаимоотношения между 37 видами Hamamelidaceae s.l. и *Cercidiphyllum japonicum* в качестве внешней группы. Для этого молекулярно-генетические данные (3 маркера: matK, trnL-trnF, ITS-5.8S rRNA) были обработаны методом максимального правдоподобия. Полученная кладограмма показывает, что сем. Hamamelidaceae s.l. полифилетично. Hamamelidaceae s.s. образует монофилетическую группу. На кладограмме выделено пять основных клад: *Altingiaceae*; *Rhodoleioideae* sensu Endress вместе с *Exbucklandioideae* sensu Endress (исключая *Disanthus* и *Mytilaria*); *Mytilaria*; *Disanthus*; Hamamelidoideae sensu Endress. С небольшими изменениями в *Hamamelidoideae* поддерживается монофилия нескольких ранее признанных групп, в том числе триб: *Corylopsideae* sensu Endress, *Eustigmateae* sensu Endress (включая *Molinadendron*), *Fothergilleae* (включая *Hamamelis*, исключая *Molinadendron* и *Matudaea*), а также подтриб *Dicoryphinae* sensu Endress и *Loropetalinae* sensu Endress (включая *Matudaea*).

Ключевые слова. Алтингиевые (Altingiaceae), гамамелисовые (Hamamelidaceae), метод максимального правдоподобия, молекулярная филогения, филогенетические взаимоотношения.

Summary. The Hamamelidaceae s.l. is a family that bridges the basal elements of the rosids and the "lower" eudicots, thus a better understanding of the phylogeny of the family is important for clarifying evolutionary patterns in the diversification of eudicots. Intergeneric relationships in the Hamamelidaceae s.l. are controversial. In this study, phylogenetic relationships among the 37 species of Hamamelidaceae s.l. and *Cercidiphyllum japonicum* as the outgroup were reconstructed using the molecular data (matK, trnL-trnF, ITS-5.8S rRNA sequences) by maximum likelihood criterion. This data indicate that Hamamelidaceae s.l. is polyphyletic. Hamamelidaceae s.s. is monophyletic. Five clades were recognized in the phylogenetic tree: *Altingiaceae*; *Rhodoleioideae* sensu Endress, plus *Exbucklandioideae* sensu Endress (excluding *Disanthus* and *Mytilaria*); *Mytilaria*; *Disanthus*; *Hamamelidoideae* sensu Endress. In the *Hamamelidoideae*, the phylogeny supports the monophyly of several previously recognized groups with modifications, including the tribes *Corylopsideae* sensu Endress, *Eustigmateae* sensu Endress (including *Molinadendron*), *Fothergilleae* (including *Hamamelis*, excluding *Molinadendron* and *Matudaea*), and the subtribes *Dicoryphinae* sensu Endress and *Loropetalinae* sensu Endress (including *Matudaea*).

Key words. Altingiaceae, Hamamelidaceae, maximum likelihood estimation, molecular phylogeny, phylogenetic relationships.

Семейство гамамелисовые (Hamamelidaceae R. Brown s. l.) объединяет вечнозеленые или листопадные деревья или кустарники. Листья очередные, реже супротивные, цельные или лопастные, с прилистниками. Жилкование перистое или пальчатое. Соцветия – колосья или головки, реже кисти или метелки, терминальные и пазушные. Цветки мелкие или средние, актиноморфные, редко зигоморфные,

обое- или однополые. Околоцветник двойной или простой. Чашечка 4–5-членная, иногда отсутствует. Венчик отсутствует или 4–5-членный. Лепестки белые, желтые, зеленоватые, красные, часто лентовидные. Тычинок 4–5, иногда больше. Гинецей синкарпный, карпелл 2. Завязь полунижняя или почти нижняя, изредка верхняя, двухгнездная. Плод – коробочка с кожистым наружным и твердым внутренним слоем (Endress, 1993; Meyer, 1997; Zhang et al., 2003; Stevens, 2017).

Hamamelidaceae s.l. объединяет около 30 родов и более 100 видов растений (Endress, 1993; Meyer, 1997; Zhang et al., 2003; The Plant List, 2013; Stevens, 2017; Christenhusz, Byng, 2019). Ареал дизъюнктивный, включает Западную, Центральную, Восточную и Юго-Восточную Азию, Северную Австралию, Южную и Восточную Африку, Северную Центральную и Южную Америку (Meyer, 1997; Zhang et al., 2003; Shatilova et al., 2016; Stevens, 2017).

Филогенетические взаимоотношения в пределах Hamamelidaceae s.l. дискуссионны. По результатам сравнительно-морфологического анализа таксон считался монофилетическим (Endress, 1989; 1993; Zhang et al., 2003), однако по данным молекулярной филогенетики группа является парафилетической, на основании чего разделяется на 2 семейства: Altingiaceae Horaninow и Hamamelidaceae s.s. (Angiosperm Phylogeny Group, 1998; 2003; 2009; 2016; The Plant List, 2013; Stevens, 2017). Вопросу изучения систематики данной группы посвящено несколько исследований (Manos, Steele, 1997; Li et al., 1997; 1999a; 1999b; Qiu et al., 1998; Shi et al., 1998; Li et al., 2000; Ickert-Bond, Wen, 2006; Ickert-Bond et al., 2007). Однако в вышеперечисленных работах в анализе участвует лишь часть таксона Hamamelidaceae s.l. (*Hamamelis*, *Corylopsis*, Altingiaceae), либо же используются данные только по одному участку ДНК. В данном исследовании проанализированы последовательности 3 участков ядерной и хлоропластной ДНК представителей практически всех родов Hamamelidaceae s.l.

Цель данного исследования – построение модели филогенетических взаимоотношений в пределах Hamamelidaceae s.l. на основе анализа нуклеотидных последовательностей. Для реконструкции филогенетических отношений в пределах группы был использован метод построения филогенетических деревьев на основе кладистического анализа (Hennig, 1950; 1966). В качестве молекулярных данных из базы данных ведущего генетического банка GenBank (Benson et al., 2013) были взяты результаты расшифровки последовательностей 2 участков хлоропластной (*matK*; *trnL-trnF*) и 1 участка ядерной ДНК (ITS-5.8S rRNA) 37 видов из 27 родов Hamamelidaceae s.l. (5 видов из 2 родов Altingiaceae и 32 вида из 25 родов Hamamelidaceae s.s.) В качестве внешней группы выбран *Cercidiphyllum japonicum* Siebold et Zucc. ex J.J.Hoffm. et J.H.Schult.bis. из семейства багрянниковые (Cercidiphyllaceae). Номера доступа избранных последовательностей ДНК в базе данных GenBank представлены в табл.

Полученные нуклеотидные последовательности были выравнены методами MUSCLE (Edgar, 2004) и Clustal Omega (Sievers et al., 2011) с использованием программного обеспечения Unipro UGENE v. 1.30.0 (Okonechnikov et al., 2012). Для редактирования вручную более подходящими оказались выравнивания, полученные с использованием метода Clustal Omega. Отредактированные выравнивания по 3 участкам ДНК объединены в единую матрицу данных, в результате чего было получено множественное выравнивание суммарной длиной 3100 нуклеотидов.

Полученные данные были обработаны в программе MEGA-X (Kumar et al., 2018) методом максимального правдоподобия (Felsenstein, 1981) с бутстрэп-поддержкой 1000 итераций. В результате была построена молекулярная кладограмма (рис. 1).

В ходе анализа полученной кладограммы следует отметить, что Hamamelidaceae s.l. не образует монофилетическую группу, что согласуется с современными представлениями (Angiosperm Phylogeny Group, 1998; 2003; 2009; 2016; The Plant List, 2013; Stevens, 2017). Altingiaceae образует монофилетическую группу, а Hamamelidaceae s. s. – политомию с *Cercidiphyllum japonicum*, поскольку показатель бутстрэпа в данном случае оказался недостаточен. Однако в соответствии с результатами других исследований (Qiu et al., 1998) Hamamelidaceae s.s. монофилетично.

Altingiaceae соответствует подсемейству *Altingioideae* Reinsch sensu Endress (1989), но в нем нарушается монофилия родов. Восточноазиатский *Liquidambar acalycina* H.T.Chang является сестринским к восточноазиатскому виду *Altingia obovata* Merr. et Chun, а не к североамериканскому *Liquidambar styraciflua* L. и западноазиатскому *Liquidambar orientalis* Mill. О несоответствии данных сравнительно-морфологического и молекулярно-генетического анализа в Altingiaceae было известно и ранее

Таблица

Номера доступа изученных последовательностей ДНК в базе данных GenBank

Вид	matK	trnL-trnF	ITS-5.8S rRNA
<i>Cercidiphyllum japonicum</i> Siebold & Zucc. ex J. J. Hoffm. et J. H. Schult. bis	L11673.	AM397171.1	HQ652480.1
<i>Altingia excelsa</i> Noronha	DQ352374.1	DQ352225.1	AF304525.1
<i>Altingia obovata</i> Merr. et Chun	DQ352377.1	DQ352204.1	AF133234.1
<i>Liquidambar acalycina</i> H. T. Chang	DQ352380.1	DQ352216.1	AF133231.1
<i>Liquidambar orientalis</i> Mill.	DQ352383.1	DQ352222.1	AF133229.1
<i>Liquidambar styraciflua</i> L.	DQ352381.1	DQ352217.1	EU646183.1
<i>Chunia bucklandioides</i> H. T. Chang	AF108466.1	EF456729.1	AF162211.1
<i>Corylopsis glabrescens</i> Hand.-Mazz.	AB236998.1	GU576816.1	GU576645.1
<i>Corylopsis pauciflora</i> Siebold et Zucc.	AB236991.1	AF147465.1	AB299314.1
<i>Dicoryphe stipulacea</i> J. St.-Hil.	AF013040.1	AF147466.1	GU576646.1
<i>Disanthus cercidifolius</i> Maxim.	AF081069.1	DQ352199.1	AF127507.1
<i>Distyliopsis tutcheri</i> (J.H.Hemsl.) Endress	AF013042.1	AF147470.1	AH005557.2
<i>Distylium myricoides</i> Hemsl.	GU576683.1	AF147468.1	GU576648.1
<i>Distylium racemosum</i> Siebold et Zucc.	AF013041.1	AF147469.1	AF074249.1
<i>Eustigma oblongifolium</i> Gardner et Champ.	AF013043.1	AF147471.1	AF127518.1
<i>Exbucklandia populnea</i> (R.Br. ex Griff.) R.W.Br.	AF128831.1	AF147472.1	GU576649.1
<i>Exbucklandia tonkinensis</i> (Lecomte) H.T.Chang	AF128832.1	DQ352198.1	GU576650.1
<i>Fortunearia sinensis</i> Rehder et E.H.Wilson	AF013044.1	AF147473.1	AF127515.1
<i>Fothergilla gardenii</i> L.	KT438384.1	KT438462.1	GU576651.1
<i>Fothergilla major</i> Lodd.	AF013045.1	AF147474.1	AF074250.2
<i>Hamamelis mollis</i> Oliv. ex F. B. Forbes et Hemsl.	AF248619.1	DQ352357.1	GU576657.1
<i>Hamamelis virginiana</i> L.	AF013046.1	DQ352196.1	GU576666.1
<i>Loropetalum chinense</i> (R. Br.) Oliv.	AF013059.1	AF147476.1	GU576672.1
<i>Loropetalum subcordatum</i> (Benth.) Oliv.	MG457805.1	MG457805.1	AF022242.1
<i>Maingaya malayana</i> Oliv.	AF025393.1	AF147477.1	AF022241.1
<i>Matudaea trinervia</i> Lundell	AF013048.1	AF147478.1	AF015437.1
<i>Molinadendron guatemalense</i> (Radlk. ex Harms) P.K.Endress	AF013049.1	AF147479.1	AF015438.1
<i>Mytilaria laosensis</i> Lecomte	AF128828.1	EF456731.1	GU576673.1
<i>Neostrearia fleckeri</i> L.S.Sm.	AF013050.1	AF147480.1	AF015439.1
<i>Noahdendron nicholasii</i> P. K. Endress, B. Hyland et Tracey	AF013051.1	AF147481.1	AF015440.1
<i>Ostrearia australiana</i> Baill.	AF013052.1	AF147482.1	AF015441.1
<i>Parrotia subaequalis</i> (Hung T. Chang) R. M. Hao et H.T. Wei	MG252374.1	GU576845.1	GU576674.1
<i>Parrotiopsis jacquemontiana</i> (Decne.) Rehder	AF013054.1	AF147484.1	AF015442.1
<i>Rhodoleia championii</i> Hook. f.	AF128833.1	AF147485.1	GU576675.1
<i>Rhodoleia henryi</i> Tong	GU576711.1	GU576847.1	GU576676.1
<i>Sinowilsonia henryi</i> Hemsl.	AF013056.1	AF147487.1	AF127512.1
<i>Sycopsis sinensis</i> Oliv.	AF013057.1	AF147488.1	GU576677.1
<i>Trichocladus crinitus</i> Pers.	AF013058.1	AF147490.1	AF147755.1

(Ickert-Bond, Pigg, Wen, 2007). Филогенетическая близость восточноазиатских видов родов *Altingia* Nor. и *Liquidambar* L. хорошо согласуется с биогеографией (Ickert-Bond, Wen, 2006). Таким образом, для сохранения монофилии род *Altingia* должен быть погружен в род *Liquidambar*.

В Hamamelidaceae s. s. на кладограмме выделяются клады, по составу родов соответствующие подсемействам *Rhodoleioideae* Harms sensu Endress (1989); *Exbucklandioideae* Reinsch sensu Endress (1989), исключая *Disanthus* Maxim. и *Mytilaria* Lecomte, и *Hamamelidoideae* Reinsch sensu Endress (1989).

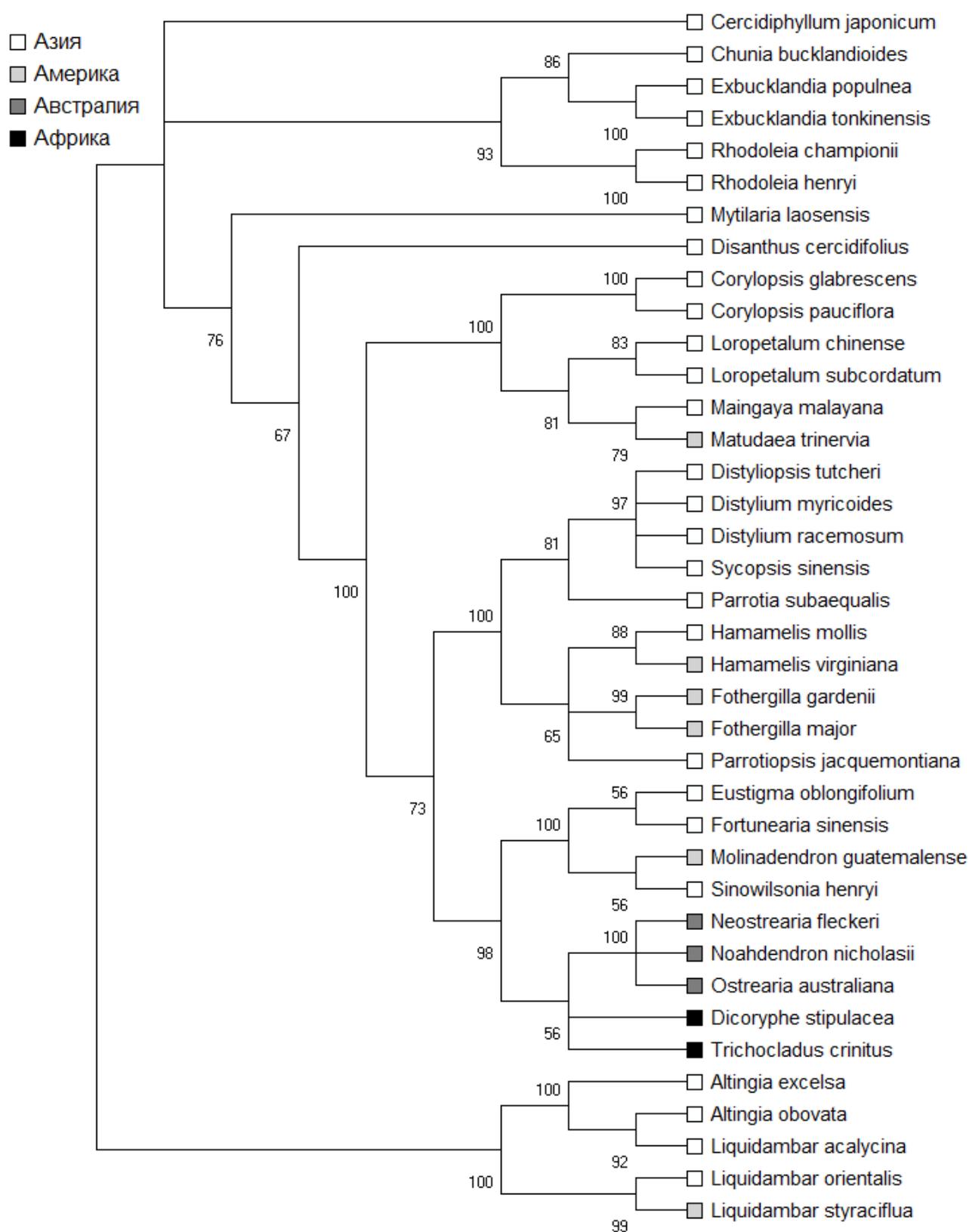


Рис. 1. Молекулярная кладограмма Hamamelidaceae s. l., построенная на основе анализа нуклеотидных последовательностей matK, trnL-trnF, ITS-5.8S rRNA методом максимального правдоподобия в программе MEGA-X. Условные обозначения: квадратами на концах ветвей показаны области распространения анализируемых видов; в узлах цифрами показан показатель бутстрэпа, величины < 50 не отображены.

Disanthus и *Mytilaria* являются сестринскими группами к кладам *Hamamelidoideae* и *Hamamelidoideae-Disanthus*, соответственно.

В подсемействе *Hamamelidoideae* выделяются клады, соответствующие трибам *Corylopsydeae* Harms sensu Endress (1989); *Eustigmateae* Harms sensu Endress (1989), включая *Molinadendron* Endress, и *Fothergilleae* A. DC. sensu Endress (1989), включая *Hamamelis* L., исключая *Molinadendron*, *Matudaea* Lundell. Триба *Hamamelideae* A. DC. sensu Endress (1989) является полифилетичной. Она разделяется на 2 монофилетических клады, соответствующие субтрибам *Loropetalinae* Endress (1989), включая *Matudaea*, и *Dicoryphinae* Endress (1989).

Таким образом, следует констатировать, что для *Hamamelidaceae* s. l. филогения, основанная на анализе молекулярно-генетических данных, отличается от таковой, основанной на сравнительно-морфологическом анализе. В дальнейшем для большей репрезентативности может быть перспективным увеличение числа анализируемых видов и участков ДНК. Это могло бы уменьшить число политомий и увеличить поддержку ключевых узлов. В свою очередь, данные о филогении открывают возможность реконструировать историю расселения таксонов (van Veller et al., 2003; Arias, 2011).

ЛИТЕРАТУРА

Angiosperm Phylogeny Group. An ordinal classification for the families of flowering plants // Missouri Botanical Garden Press Annals of the Missouri Botanical Garden, 1998. – Vol. 85, №. 4. – P. 531–553.

Angiosperm Phylogeny Group. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II // Botanical Journal of the Linnean Society, 2003. – Vol. 141, №. 4. – P. 399–436.

Angiosperm Phylogeny Group. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III // Botanical Journal of the Linnean Society, 2009. – Vol. 161, №. 2. – P. 105–121.

Angiosperm Phylogeny Group. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV // Botanical Journal of the Linnean Society, 2016. – Vol. 181, №. 1. – P. 1–20.

Arias J. S. A primer in phylogenetic biogeography using the spatial analysis of vicariance. 2011. – 31 p

Benson D. A., Clark K., Karsch-Mizrachi I., Lipman D. J., Ostell J., Sayers E. W. GenBank // Nucleic Acids Research, 2013. – Vol. 42, № D1. – P. D32–D37.

Christenhusz M. J. M., Byng J. W. The number of known plants species in the world and its annual increase // Phytotaxa, 2016. – Vol. 261, №. 3. – P. 201–217.

Edgar R. C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput // Nucleic Acids Research, 2004. – Vol. 32, №. 5. – P. 1792–1797.

Endress P. K. A suprageneric taxonomic classification of the Hamamelidaceae // Taxon, 1989. – Vol. 38, №. 3. – P. 371–376.

Endress P. K. Hamamelidaceae // The families and genera of vascular plants. Vol. 2. Flowering Plants. Dicotyledons: Magnoliid, Hamamelid and Caryophyllid Families. – Berlin: Springer-Verlag, 1993. – P. 322–331.

Felsenstein J. Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach // Journal of Molecular Evolution, 1981. – Vol. 17, №. 6. – P. 368–376.

GenBank. An annotated collection of all publicly available DNA sequences. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/> (Accessed 15 November 2018).

Hennig W. Grundzüge einer Theorie der Phylogenetischen Systematik. – Berlin: Deutscher Zentralverlag, 1950. – 370 s.

Hennig W. Phylogenetic systematics. – Urbana: University of Illinois Press, 1966. – 263 p.

Ickert-Bond S. M., Pigg K. B., Wen J. Comparative infructescence morphology in *Altingia* (Altingiaceae) and discordance between morphological and molecular phylogenies // American Journal of Botany, 2007. – Vol. 94, №. 7. – P. 1094–1115.

Ickert-Bond S. M., Wen J. Phylogeny and biogeography of Altingiaceae: evidence from combined analysis of five non-coding chloroplast regions // Molecular Phylogenetics and Evolution, 2006. – Vol. 39, №. 2. – P. 512–528.

Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms // Molecular Biology and Evolution, 2018. – Vol. 35, №. 6. – P. 1547–1549.

Li J., Bogle A. L., Klein A. S. Phylogenetic relationships in the *Corylopsis* complex (Hamamelidaceae): evidence from sequences of the internal transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA and morphology // Rhodora, 1997. – Vol. 99. – P. 302–318.

Li J., Bogle A. L., Klein A. S. Phylogenetic relationships in the Hamamelidaceae: Evidence from the nucleotide sequences of the plastid gene *matK* // Plant Systematics and Evolution, 1999a. – Vol. 218, №. 3–4. – P. 205–219.

Li J., Bogle A. L., Klein A. S. Phylogenetic relationships of the Hamamelidaceae inferred from sequences of internal transcribed spacers (ITS) of nuclear ribosomal DNA // *American Journal of Botany*, 1999b. – Vol. 86, №. 7. – P. 1027–1037.

Li J., Bogle A. L., Klein A. S., Donoghue M. J. Phylogeny and biogeography of *Hamamelis* (Hamamelidaceae) // *Harvard Papers in Botany*, 2000. – Vol. 5, №. 1. – P. 171–178.

Manos P. S., Steele K. P. Phylogenetic analyses of “higher” Hamamelididae based on plastid sequence data // *American Journal of Botany*, 1997. – Vol. 84, №. 10. – P. 1407–1419.

Meyer F. G. Hamamelidaceae // *Flora of North America North of Mexico*. Vol. 3. Magnoliophyta: Magnoliidae and Hamamelidae. – New York: Oxford University Press, 1997. – P. 358–367.

Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit // *Bioinformatics*, 2012. – Vol. 28, №. 8. – P. 1166–1167.

Qiu Y. L., Chase M. W., Hoot S. B., Conti E. Phylogenetics of the Hamamelidae and their allies: parsimony analyses of nucleotide sequences of the plastid gene *rbcL* // *International Journal of Plant Sciences*, 1998. – Vol. 159, №. 6. – P. 891–905.

Shatilova I., Rukhadze L., Kokolashvili I. Representatives of the family Hamamelidaceae in Neogene of Georgia. – Tbilisi: Georgian National Museum, 2016. – 80 p.

Shi S., Chang H. T., Chen Y., Qu L., Wen J. Phylogeny of the Hamamelidaceae based on the ITS sequences of nuclear ribosomal DNA // *Biochemical Systematics and Ecology*, 1998. – Vol. 26, №. 1. – P. 55–69.

Sievers F., Wilm A., Dineen D., Gibson T. J., Karplus K., Li W., Lopez R., McWilliam H., Remmert M., Söding J., Thompson J. D., Higgins D. G. Fast, scalable generation of high-quality protein multiple sequence alignments using Clustal Omega // *Molecular Systems Biology*, 2011. – Vol. 7, №. 1. – P. 539.

Stevens P. F. 2017. Angiosperm Phylogeny Website. Version 14. URL: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/AP-Web/> (Accessed 02 February 2019).

The Plant List. Version 1.1. 2013. A working list of all known plant species. URL: <http://www.theplantlist.org/> (Accessed 02 February 2019).

van Veller M. G. P., Brooks D. R., Zandee M. Cladistic and phylogenetic biogeography: the art and the science of discovery // *Journal of Biogeography*, 2003. – Vol. 30, №. 3. – P. 319–329.

Zhang Z., Zhang H., Endress P. K. Hamamelidaceae // *Flora of China*. Vol. 9. Pittosporaceae through Connaraceae. – Beijing and St. Louis: Science Press and Missouri Botanical Garden, 2003. – P. 18–42.