

## 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).

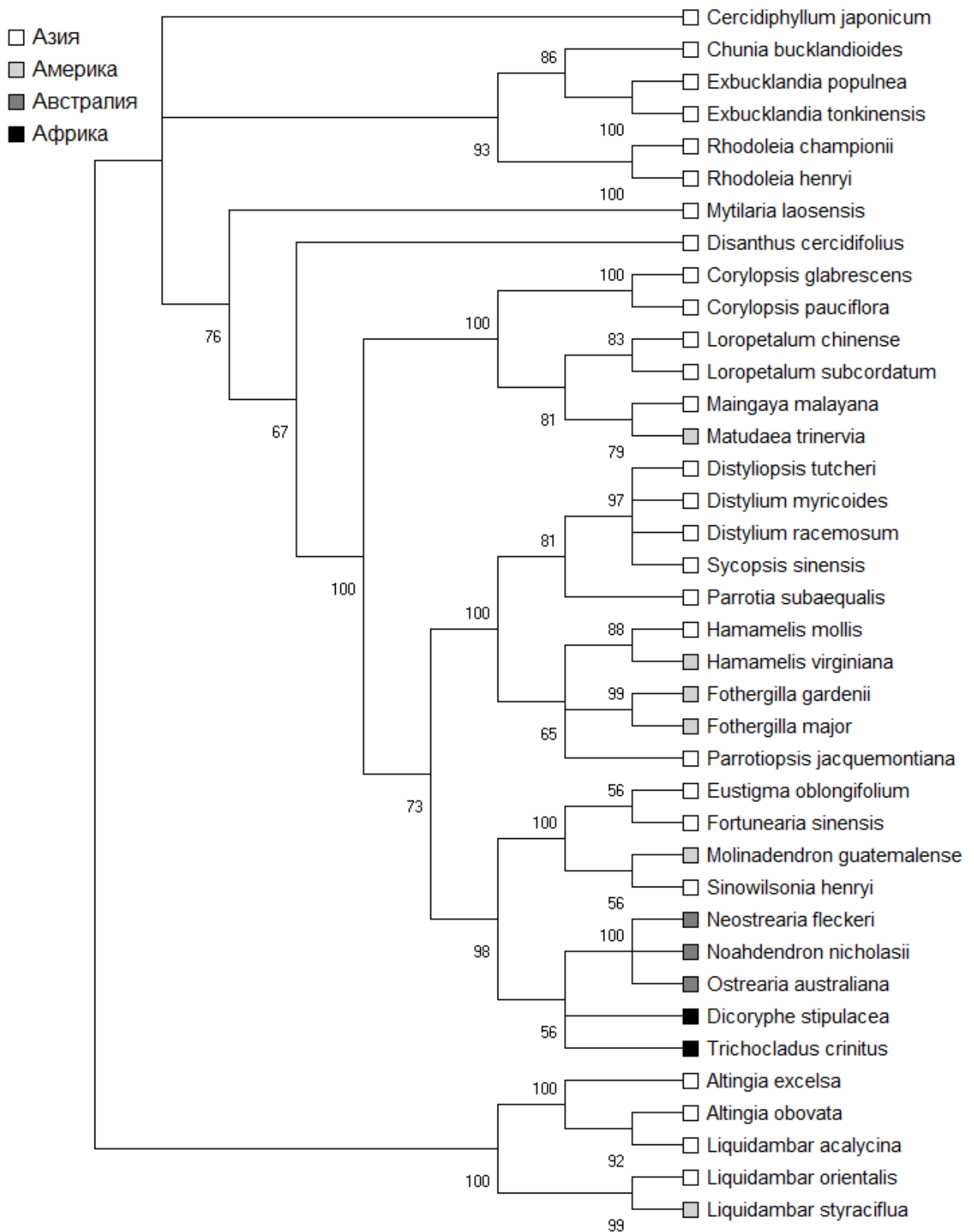


Рис. 1. Молекулярная кладограмма Hamamelidaceae s. l., построенная на основе анализа нуклеотидных последовательностей matK, trnL-trnF, ITS-5.8S rRNA методом максимального правдоподобия в программе MEGA-X. Условные обозначения: квадратами на концах ветвей показаны области распространения анализируемых 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.