

на правах рукописи



Вильнет Анна Александровна

**ФИЛОГЕНИЯ И СИСТЕМАТИКА ПОДПОРЯДКА
JUNGERMANNIINEAE НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА НУКЛЕОТИДНЫХ
ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ITS1-2 ЯДЕРНОЙ И TRNL-F
ХЛОРОПЛАСТНОЙ ДНК**

03.00.05 – ботаника

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва – 2008

Работа выполнена в лаборатории флоры и растительных ресурсов Полярно- альпийского ботанического сада-института Кольского научного центра РАН

Научные руководители:

доктор биологических наук,
Константинова Надежда Алексеевна

доктор биологических наук,
Троицкий Алексей Викторович

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук,
Ткаченко Олег Борисович

кандидат биологических наук,
Бакалин Вадим Андреевич

Ведущая организация:

Биологический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова

Защита диссертации состоится 24 апреля 2008 г. в ___ ч. ___ мин. на заседании Диссертационного совета Д. 002.028.01 в Главном ботаническом саду им. Н.В. Цицина РАН по адресу: 127276, Россия, г.Москва, ул. Ботаническая, 4, ГБС РАН, конференц-зал лабораторного корпуса.
Тел./факс (095) 977-91-72.

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной библиотеке Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина РАН.

Автореферат разослан "___" марта 2008г.

Ученый секретарь
Диссертационного совета

доктор биологических наук



Ю.К. Виноградова

Общая характеристика работы

Актуальность исследования

Представители подпорядка *Jungermanniiineae* (*Jungermanniopsida*, *Marchantiophyta*), широко распространены в Голарктике. Вариабельность анатомо-морфологических признаков большинства видов изучена недостаточно. Разнообразие точек зрения на значение признаков отражается в существовании различных трактовок объемов родов и видов. В целом, в современной систематике подпорядка можно выявить две основные концепции выделения родов: широкая, которой вслед за Schuster (1969) придерживаются большинство западных исследователей (Schumacker, Vana, 2005; Damsholt, 2002) и узкая (Buch, 1933; Arnell, 1956; Шляков, 1980). В последнее время некоторые бриологи принимают только часть «узких» родов (Paton, 1999; Grolle, Long, 2000). Переоценка таксономического веса признаков, установление естественных границ родов и их положения в системе являются актуальными. Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей ДНК является одним из самых современных и эффективных подходов в решении проблем филогении и систематики. Долгое время лишь небольшое число видов печеночников было включено в молекулярные исследования. Только в начале XXI века опубликованы первые работы по крупным систематическим группам печеночников, позволившие переоценить и пересмотреть существующие ранее представления (He-Nygren et al., 2004; Forrest, Crandall–Stotler, 2004; Davis, 2004). Практически одновременно начинают появляться исследования по молекулярной филогении отдельных групп печеночников. Результаты первых филогенетических исследований *trnL-F* и *atpB* хпДНК не более полусотни видов подпорядка *Jungermanniiineae* опубликованы всего в двух работах (Yatsentyuk et al., 2004; Schill et al., 2004). Более подробно филогения *Jungermanniiineae* изучена в работе De Roo с сопр. (2007), основанной на анализе *trnG* и *rps4* хпДНК значительно большего числа таксонов.

Цель и задачи исследования

Целью исследования является оценка возможностей использования последовательностей внутренних транскрибируемых спейсеров (ITS1-2) ядерного рибосомного оперона (яд-рДНК) и участка *trnL-F* хлоропластной ДНК (хпДНК) для уточнения филогенетических связей в подпорядке *Jungermanniiineae*.

Для ее достижения были поставлены следующие задачи:

1. Определить последовательности ITS1-2 яд-рДНК и *trnL-F* хпДНК таксонов подпорядка *Jungermanniiineae*.
2. Построить филогенетические деревья по последовательностям ДНК для максимального количества таксонов подпорядка *Jungermanniiineae*.
3. Сравнить топологии филогенетических деревьев, построенных разными методами.
4. Оценить и сопоставить полученные результаты с существующими системами печеночников, основанными на анатомо-морфологических данных, и с результатами других молекулярно-генетических исследований подпорядка *Jungermanniiineae*.
5. Оценить уровень внутривидового полиморфизма изученных локусов ДНК у ряда таксонов.

Научная новизна и практическая значимость работы

Впервые проведен филогенетический анализ большого числа таксонов и образцов подпорядка *Jungermanniiineae* (137 видов и внутривидовых таксонов, принадлежащих 35 родам) на основе нуклеотидных последовательностей ITS1-2 яд-рДНК в объединенной матрице с данными по *trnL-F* хпДНК. Определены последовательности ITS1-2 для 223 образцов, *trnL-F* для 198 образцов, из которых последовательности ITS1-2 47 образцов и *trnL-F* 44 образцов уже депонированы в международную базу данных GenBank. Показана

информативность ITS1-2 яд-рДНК и *trnL-F* хпДНК для изучения филогении печеночников подпорядка *Jungermanniineae*. Впервые с использованием последовательностей ITS1-2 подтверждена полифилетичность семейств *Lophoziaaceae* Cavers. и *Jungermanniaceae* Rchb., а также монофилетичность *Scapaniaceae* Mig., и *Gymnomitriaceae* H. Klinggr. Выделение семейств *Mesoptychiaceae* Inoue et Steere и *Diplophyllaceae* Potemkin не обосновано. Показана целесообразность включения *Scapaniaceae* в *Lophoziaaceae*, а также выделения узких родов в подпорядке. Уточнены филогенетические связи некоторых родов, положение в системе которых на основе анатомо-морфологических признаков было неясным. Показана согласованность эволюции исследованных локусов ДНК с эволюцией структурных признаков в некоторых таксонах печеночников. Впервые на большом числе образцов изучена внутривидовая вариабельность нуклеотидных последовательностей ДНК двенадцати видов семейства *Lophoziaaceae*, четырех видов семейства *Gymnomitriaceae*, и по одному виду семейств *Jungermanniaceae* и *Scapaniaceae*. Видовая самостоятельность ряда близких таксонов подтверждается на основе особенностей их нуклеотидных последовательностей.

Полученные результаты являются вкладом в разработку филогенетической системы подпорядка *Jungermanniineae* и могут быть использованы при обработке отдельных таксонов и изучении региональных флор.

Апробация работы

Материалы диссертации были представлены автором в докладах на российских и зарубежных международных конференциях: международное совещание посвященного 90-летию со дня рождения Анастасии Лаврентьевны Абрамовой «Актуальные проблемы бриологии» (Санкт-Петербург, 2005), I (IX) международная конференция молодых ботаников (Санкт-Петербург, 2006), международная конференция «Устойчивость экосистем и проблема сохранения биоразнообразия на Севере» (Кировск, 2006), 17-й международный симпозиум «Biodiversity and Evolutionary Biology» (Бонн, 2006), конференция по морфологии и систематике растений, посвященная 300-летию со дня рождения Карла Линнея (Москва, 2007), международная конференция «Вычислительная филогенетика и геносистематика» (Москва, 2007), рабочее совещание «Молекулярные методы в ботанике» в ГБС (Москва, 2008).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 9 печатных работ, в том числе 2 статьи в журналах, входящих в перечень ВАК, 6 статей в тематических сборниках и 1 тезисы.

Структура и объем работы

Диссертация изложена на ___ страницах и состоит из введения, 6 глав, выводов, списка литературы и приложения. Работа содержит 7 таблиц и 11 рисунков. Список литературы включает ___ наименований цитированных работ.

Благодарности

Я выражаю свою искреннюю благодарность научным руководителям за всестороннюю помощь при проведении исследования, сотрудникам лаборатории флоры ПАБСИ КНЦ РАН, гербария Главного ботанического сада РАН, лаборатории геносистематики растений НИИ ФХБ МГУ за ценные советы и помощь в работе. Большое спасибо моей семье и друзьям за понимание и поддержку.

Содержание работы

Материалы и методы исследования

Исходный материал и выделение ДНК

Для выделения ДНК использованы растения, отобранные из образцов гербариев КРАВГ, МНА и VLA. Препараты ДНК получали с применением цетилтриметиламмонийбромида или с использованием набора для экстракции растительной ДНК - NucleoSpin Plant Kit (Macherey-Nagel, Germany).

Аmplификация и секвенирование ДНК

Для амплификации участка ITS1-5.8S рДНК-ITS2 использовали пару внешних и внутренних праймеров (White et al., 1990). Участок *trnL-F* хпДНК амплифицировали с использованием пары праймеров С и F, позволяющих получить полные последовательности интрона и 3'-экзона гена *trnL* и спейсер между генами *trnL* и *trnF* (Taberlet et al. 1991).

Для амплификации использовали смесь MaGMix (Диалат ЛТД, Россия), содержащую: 200 мкМ каждого dNTP, 2,0 мМ MgCl₂, 2,5 ед. SmarTaq полимеразы, внося в нее 10 пмоль каждого праймера и 10-20 нг ДНК, объем амплификата составлял 20 мкл. Амплификацию проводили в приборе "Терцик МС-11" ("ДНК-технология", Россия) по следующей схеме: 3 мин- 94⁰С, 30 циклов (30 с - 94⁰С, 40 с - 58⁰С, 60 с - 72⁰С), 2 мин – 72⁰С. Амплификаты анализировали электрофорезом в 1% агарозном геле в 1хTAE с бромистым этидием и очищали с использованием набора реагентов GFXTM PCR DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Bioscience, U.S.A.). Секвенирование ДНК проводили с использованием набора реагентов ABI PRISM[®] BigDyeTM Terminator v. 3.1 в Центре коллективного пользования «Геном» (Институт молекулярной биологии РАН им. В.А. Энгельгарда) с последующим анализом продуктов реакции на секвенаторе ABI PRISM 3100-Avant.

Филогенетический анализ

Выравнивание нуклеотидных последовательностей осуществляли вручную с использованием программы BioEdit (Hall, 1999), с помощью которой также проводили сравнение последовательностей пар образцов и подсчитывали степень их различия. Эволюционные модели нуклеотидных замен для полученного выравнивания выбирали с помощью программы Modelgenerator (Keane, 2004). Филогенетический анализ проводили методами объединения соседей (neighbor-joining, NJ) максимальной экономии (maximum parsimony, MP), максимального правдоподобия (maximum likelihood, ML) и метода Байеса (BI). Были использованы следующие пакеты программ TREECON v.1.3 b (Van de Peer, De Wachter, 1997), TNT (Goloboff et al., 2000), PHYML (Guindon, Gascuel, 2003), MrBayes v 3.1.2. (Ronquist, Huelsenbeck, 2003) соответственно. Для оценки надежности реконструкций, проводимых разными методами, использовали бутстреп-анализ, джеккайф-анализ и значения апостериорной вероятности. Для построения вторичных структур шпильки Р8 интрона *trnL* использована программа RNAstructure ver.4.5 (Mathews et al., 2004).

Результаты и обсуждение

В исследовании были использованы 230 образцов 137 видов и внутривидовых таксонов подпорядка Jungermanniiinae в смысле Schuster (1984). Нами определены нуклеотидные последовательности ITS1-2 для 223 образцов, *trnL-F* для 198 образцов. Также использованы ранее определенные последовательности *trnL-F* 20 образцов (Yatsentyuk et al., 2004).

Характеристика исследуемых в работе участков генома

Длина выравнивания, объединяющего в себе последовательности ITS1-2 и *trnL-F*, состоит из 2025 позиций, среди которых 33,23% консервативные, 56,3% переменные,

45,38% парсимониально-информативные. Нуклеотидный состав полного набора: 23,5% (Т), 24,9% (С), 23,8% (А), 27,9% (G). Данные о длине выравнивания, нуклеотидном составе и количестве переменных позиций в каждом исследуемом участке генома приведены в таблице 1.

Таблица 1.

Характеристика общего выравнивания, использованного для филогенетического анализа.

Характеристика/участок генома	Длина участка, п.н.		Длина выравнивания	Консервативные позиции		Переменные позиции		Парсимониально-информативные позиции		Нуклеотидный состав, %					Транзиции/трансверсии
	min	max		п.н.	%	п.н.	%	п.н.	%	Т	С	А	G	R	
ITS1	342	414	650	165	25.38	397	61.07	337	51.84	17.7	32.9	15.0	34.4	1.4	
ITS2	189	333	551	105	19.06	371	67.33	308	55.9	17.9	29.4	15.9	36.8	1.4	
5.8S рДНК	154	158	158	126	79.75	32	20.25	12	7.6	21.8	26.6	24.7	26.9	-	
ITS1-2	719	877	1359	396	29.14	800	58.87	657	48.34	18.6	30.5	17.2	33.7	1.4	
5'-экзон <i>trnL</i>	26	26	26	16	61.54	10	38.46	4	15.38	23.4	23.3	26.0	27.3	-	
<i>trnL</i> -интрон	247	314	426	153	35.92	237	55.63	187	43.9	32.2	12.1	38.1	17.6	1.4	
3'-экзон <i>trnL</i>	49	51	51	43	84.31	8	15.68	2	3.9	28.5	30.6	20.7	20.1	-	
<i>trnL-F</i> спейсер	44	76	88	9	10.23	70	79.55	66	75	41.4	12.2	37.5	8.9	1.2	
<i>trnF</i>	61	64	64	47	73.44	14	21.88	3	4.69	20.8	21.7	28.9	28.6	-	
<i>trnL-F</i>	453	527	660	271	41.06	340	51.52	262	39.7	31.5	15.6	34.7	18.2	1.3	
ITS1-2+ <i>trnL-F</i>	1205	1393	2025	673	33.23	1140	56.3	919	45.38	23.5	24.9	23.8	27.9	1.4	

Сравнение топологий филогенетических деревьев

Филогенетические деревья были построены методами NJ, MP, ML и BI. В результате анализа методом ML построено единственное дерево ($\log_{10}k = -31901.396176$). По результатам анализа методом BI для каждого из двух независимых расчетов значения функции правдоподобия равны $\log_{10}k = -31167.48$ и $\log_{10}k = -31184.31$. MP методом получено 30 равно парсимониальных деревьев длиной 9185. Топологии реконструированных деревьев в целом сходны. В автореферате мы приводим BI дерево с указанием значений апостериорной вероятности в качестве статистической поддержки узлов (рис. 1). Основное отличие NJ дерева заключается в наличии сестринской связи Scapaniaceae и Lophoziaaceae, имеющей низкую поддержку бутстрепа, в то время как на MP, ML и BI деревьях клада Scapaniaceae «разбивает» Lophoziaaceae на две клады. MP дерево отличается от ML и BI положением родов *Schistochilopsis* (Kitag.) Konstant., *Tritomaria* Schiffn. emend. H. Buch, *Saccobasis* H. Buch, *Lophozia* (Dumort.) Dumort. s. str., *Leiocolea* (Müll. Frib) H. Buch, *Mesoptychia* (Lindb.) A. Evans.

Филогенетические связи семейств подпорядка Jungermanniaceae

Система и объем подпорядка Jungermanniaceae в рамках традиционной систематики неоднозначны. Результаты проведенного нами филогенетического анализа представителей четырех семейств (Lophoziaaceae, Jungermanniaceae, Gymnomitriaceae, Scapaniaceae) не согласуются с представлениями о системе подпорядка, основанными на анатомо-морфологических данных. Широкая трактовка семейства Jungermanniaceae с включением Lophoziaaceae (Schuster, 1970) не поддерживается топологией филогенетических деревьев. Семейство Scapaniaceae монофилетично, выделение самостоятельного семейства Diplophyllaceae Potemkin (Potemkin, 1999) с родами *Diplophyllum* и *Douinia* не подтверждается. Показано, что семейство Scapaniaceae вклинивается в Lophoziaaceae,

образуя общую кладу с родами *Lophozia* s. str., *Tritomaria* и *Saccobasis*, в то время как другие роды семейства Lophoziaceae локализованы в сестринской кладе. Таким образом, семейства Scapaniaceae и Lophoziaceae следует объединять в одно, как предложено Нейн-Нюгрен с сотр. (2006), или выделять несколько мелких самостоятельных семейств. Род *Leiocolea*, долгое время считавшийся близким к *Lophozia* s. l. и даже входивший в его состав в качестве подрода (Schuster, 1969) локализован в базальной части дерева среди таксонов семейства Jungermanniaceae s. str. Род *Mesoptychia* на построенных нами деревьях также расположен в Jungermanniaceae s. str. Вероятно, *Mesoptychia* и *Leiocolea* следует включать в семейство Jungermanniaceae s. str.; выделение самостоятельного семейства Mesoptychiaceae не подтверждается. Семейство Jungermanniaceae s. str. полифилетично за счет обособления родов *Nardia* Gray и *Mylia* Gray. Семейство Gymnomitriaceae монофилетично и является филогенетически близким к Jungermanniaceae s. str.

Филогенетические связи в семействе Lophoziaceae Cavers

Семейство Lophoziaceae является крупнейшим в подпорядке Jungermanniineae. По мнению Kitagawa (1965), семейство Lophoziaceae находится в основании системы подпорядка Jungermanniineae благодаря наличию примитивных признаков. Schuster (1984) рассматривает его как подсемейство в семействе Jungermanniaceae s.l., а Шляков (1980) и Grolle и Long (2000) - как самостоятельное семейство.

Нами изучено 65 таксонов (126 образцов) семейства Lophoziaceae в смысле Шлякова (1980). На реконструированных филогенетических деревьях Lophoziaceae удалено от Jungermanniaceae и локализовано в одной кладе с видами Scapaniaceae. Топологии деревьев свидетельствуют о полифилетичности семейства Lophoziaceae, таксоны которого локализованы в нескольких кладах: а) род *Leiocolea* расположен среди таксонов семейства Jungermanniaceae, б) *Saccobasis*, *Tritomaria*, *Lophozia* s.str. и *Schistochilopsis* группируются в одной кладе с семейством Scapaniaceae, в) клада, содержащая большую часть родов семейства Lophoziaceae является сестринской предыдущей.

***Tritomaria* Schiffn. emend. H. Buch, *Saccobasis* H. Buch**

Большинство исследователей рассматривают *Saccobasis* как подрод *Tritomaria* (Schuster, 1969; Paton, 1999; Grolle, Long, 2000; Engel, 2006). В России придерживаются мнения H. Buch (1933) и принимают *Saccobasis* как самостоятельный род (Шляков, 1980; Константинова и др., 1992). В отличие от предыдущих геносистематических работ в нашем исследовании проанализировано подавляющее большинство видов *Tritomaria* и *Saccobasis* (5 и 2 вида соответственно). Род *Tritomaria* полифилетичен за счет обособления *Tritomaria heterophylla* R.M. Schust. Предложенное Kitagawa (1966) сближение *T. heterophylla* с *T. quinquedentata* (Huds.) H. Buch не подтверждается. Традиционно помещаемая в отдельную секцию *T. quinquedentata* локализована в одной кладе с видами секции *Tritomaria*. Эта клада является сестринской роду *Lophozia* s. str. на МР дереве (рис. не показан) или «разбивает» его на две клады на ML и BI (рис. 1) деревьях. Уровень дивергенции нуклеотидных последовательностей *Saccobasis* от *Tritomaria* значителен, что подтверждает мнения о выделении его в отдельный род (Buch, 1933; Шляков, 1980).

***Anastrophyllum* (Spruce) Steph. s. str., *Sphenolobus* (Lindb.) Berggr., *Crossocalyx* Meyl.**

Вслед за Schuster (1951, 1961) зарубежными гепатиколагами поддерживается широкая трактовка рода *Anastrophyllum* с включением *Sphenolobus* и *Crossocalyx* в качестве подродов (Engel, Braggins, 1998, Grolle, Long, 2000; Long, 2003). Российские систематики следуют Müller (1951-58) и признают существование трех отдельных родов (Шляков, 1980; Константинова и др., 1992). Предыдущие исследования филогении разных локусов хпДНК не привели к однозначным результатам. В работе Yatsentyuk с сотр. (2004) показана полифилетичность *Anastrophyllum* s. l. На дереве *Anastrophyllum* s. str., *Sphenolobus* и

Crossocalyx отделены друг от друга таксонами *Lophozia* s. l. В исследование Schill с сотр. (2004) монофилия *Anastrophyllum* s. l. имеет слабую поддержку, таксоны, относящиеся к *Sphenolobus*, являются сестринскими кладе *Anastrophyllum* s. str.+*Crossocalyx*. Полифилетичность *Anastrophyllum* s. l. и необходимость выделения *Sphenolobus* в самостоятельный род подтверждена при анализе большого числа таксонов и образцов (De Roo et al., 2007).

Нами проанализированы нуклеотидные последовательности трех видов рода *Anastrophyllum*, двух видов рода *Sphenolobus* и *Crossocalyx hellerianus* (Nees ex Lindenb.) Meyl. На построенных деревьях *Anastrophyllum* s. l. полифилетичен: *Anastrophyllum* s. str. и *Sphenolobus* расположены в разных кладах, положение *Crossocalyx* нестабильно: на ML и NJ деревьях он является сестринским кладе *Sphenolobus*, а на MP и BI (рис. 1) отделяется от *Sphenolobus* и *Anastrophyllum* кладами, образованными видами других родов. Таким образом, топологии построенных нами деревьев свидетельствуют о необходимости узкой трактовки рода *Anastrophyllum* с признанием родов *Sphenolobus* и *Crossocalyx*.

***Gymnocolea* Dumort.**

Gymnocolea является достаточно четким и хорошо обособленным родом, однако положение *Gymnocolea* в системе Lophoziaceae неясно. Müller (1905-1911), опираясь на сходство листьев, связывает *Gymnocolea* с *Leiocolea*. Schuster (1951) показывает возможное родство *Gymnocolea* с *Isopaches* H. Buch. Kitagawa (1965) считает *Gymnocolea* промежуточным звеном между Lophoziaceae и Jungermanniaceae из-за редуцированных амфигастриев, двуслойной стенки коробочки и редко развивающихся выводковых почек. Положение *G. inflata* (Huds.) Dumort. нестабильно на деревьях, построенных De Roo с сотр. (2007), однако вид не выходит за пределы клады Lophoziaceae+Scapaniaceae. На реконструированных нами деревьях, *Gymnocolea inflata* (Huds.) Dumort. расположена в кладе семейства Lophoziaceae и является сестринской *Orthocaulis kunzeanus* (Huebener) H. Buch.

***Anastrepta* (Lindb.) Schiffn.**

Schuster (1951) предполагал филогенетическое родство древнего монотипного рода *Anastrepta* с родом *Lophozia* s. l. В предыдущих исследованиях на основе локусов хпДНК эта точка зрения находит подтверждение: род *Anastrepta* локализован в одной кладе с *Lophozia ventricosa* (Schill et al., 2004), видами рода *Isopaches* или *Orthocaulis quadrilobus* (Lindb.) H. Buch (De Roo et al., 2007). На построенных нами ML и BI (рис. 1) деревьях *Anastrepta* локализована в одной кладе с *Anastrophyllum* s. l. и видами рода *Orthocaulis* H. Buch, на MP и NJ топологиях эта связь имеет слабую поддержку.

***Tetralophozia* (R.M. Schust.) Schljakov, *Plicanthus* R.M. Schust.**

Подрод *Tetralophozia* рода *Chandonanthus* был описан Schuster (1960). Позднее Шляков (1976) поднимает статус *Tetralophozia* до рода. В настоящее время из рода *Chandonanthus* Schuster (2002) выделяет род *Plicanthus*, отмечая его сходство с *Tetralophozia*. Нами исследован только один вид этого рода - *Plicanthus birmensis* Steph. R.M. Schust.

По результатам изучения филогении локусов хпДНК положение *Tetralophozia* в семействе Lophoziaceae нестабильно: род либо является сестринским *Anastrophyllum* s. l. (Schill et al., 2004), либо *Barbilophozia* Loeske (Yatsentyuk et al., 2004). *Tetralophozia setiformis* (Ehrh.) Schljakov и *Plicanthus hirtellus* (Web) R.M. Schust. располагаются в удаленных филумах одной клады как показано Schill с сотр. (2004) или сформированная этими видами клада имеет слабую поддержку в работе De Roo с сотр. (2007). По результатам анализа с привлечением ITS1-2 яд-рДНК впервые использованная нами *Tetralophozia filiformis* (Steph.) Urmí локализована в одной кладе с *Plicanthus birmensis*, сестринской которой является *T.*

setiformis. На деревьях эти таксоны близки к кладам родов *Orthocaulis* и *Anastrophyllum* s. l. Нуклеотидные последовательности *P. birmensis* и двух видов *Tetralophozia* в большой степени сходны. По-видимому, *P. birmensis* следует относить к роду *Tetralophozia*.

***Lophozia* (Dumort.) Dumort. s. l.**

К настоящему моменту существуют три точки зрения на объем рода *Lophozia*: широкая трактовка рода с выделением в нем подродов (Schuster, 1969; Damsholt, 2002), промежуточная – с признанием родов *Barbilophozia* Loeske и *Leiocolea* (Müll. Frib.) H. Buch (Grolle, Long, 2000; Paton, 1999), и узкая концепция скандинавских авторов (Buch, 1933; Arnell, 1956), принимающих существование самостоятельных родов *Lophozia* (Dumort.) Dumort. s. str, *Leiocolea* (Müll. Frib.) H. Buch, *Barbilophozia* Loeske, *Isopaches* H. Buch, *Obtusifolium* (H. Buch) S.W. Arnell, *Orthocaulis* H. Buch., *Protolophozia* (R.M. Schust.) Schljakov, *Schistochilopsis* (Kitag.) Konstant., поддерживаемая рядом российских авторов (Шляков, 1980; Константинова и др., 1992; Бакалин, 2005). Ранее, основываясь на анализе нуклеотидных последовательностей *trnL-F* хлоропластной ДНК (хпДНК) небольшого числа видов семейства Lophoziaceae, было показано, что «узкая» трактовка родов в семействе, более корректна (Yatsentyuk et al., 2004). К подобному выводу пришли De Roo с сопр. (2007) в результате анализа хлоропластных генов *rps4* и *trnG*. На построенных нами филогенетических деревьях род *Lophozia* s. l. полифилетичен, большинство клад соответствуют под родам, выделяемым по анатомо-морфологическим признакам. Таким образом, нами при анализе объединенного набора последовательностей ITS1-2 яд-рДНК и *trnL-F* хпДНК подтверждена целесообразность узкой трактовки рода *Lophozia*.

***Isopaches* H. Buch**

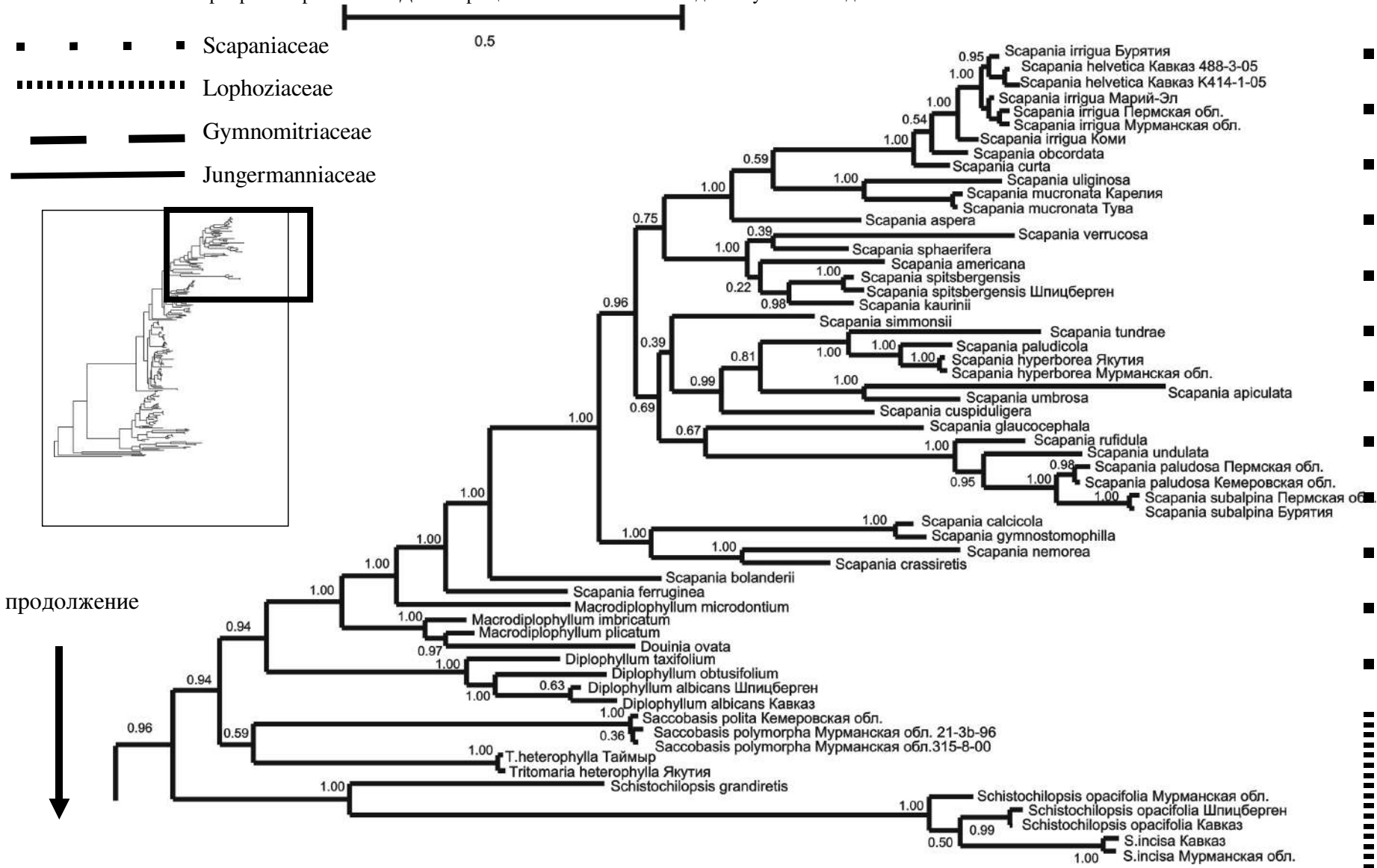
Buch (1933) описал *Isopaches* как самостоятельный род. Позднее Schuster (1951) понизил его до подрода в роде *Lophozia* s.l. В настоящее время *Isopaches* в качестве рода принимается российскими исследователями (Шляков, 1980; Константинова и др., 1992), а в качестве подрода – европейскими (Grolle, Long, 2000). При изучении филогении подпорядка на основе локусов хпДНК установлено отсутствие близких связей *Isopaches* с *Lophozia* s.l. (Yatsentyuk et al., 2004; De Roo et al., 2007). На построенных нами деревьях клада, сформированная двумя видами рода *Isopaches* имеет нестабильное положение: она является сестринской кладой Scapaniaceae+Lophoziaceae на ML и BI (рис. 1) деревьях или сестринской кладой, образованной большинством родов Lophoziaceae на MP и NJ деревьях. Тем не менее, локализация в обособленном филуме и удаленность от таксонов *Lophozia* s. l. является дополнительным подтверждением родовой самостоятельности *Isopaches*.

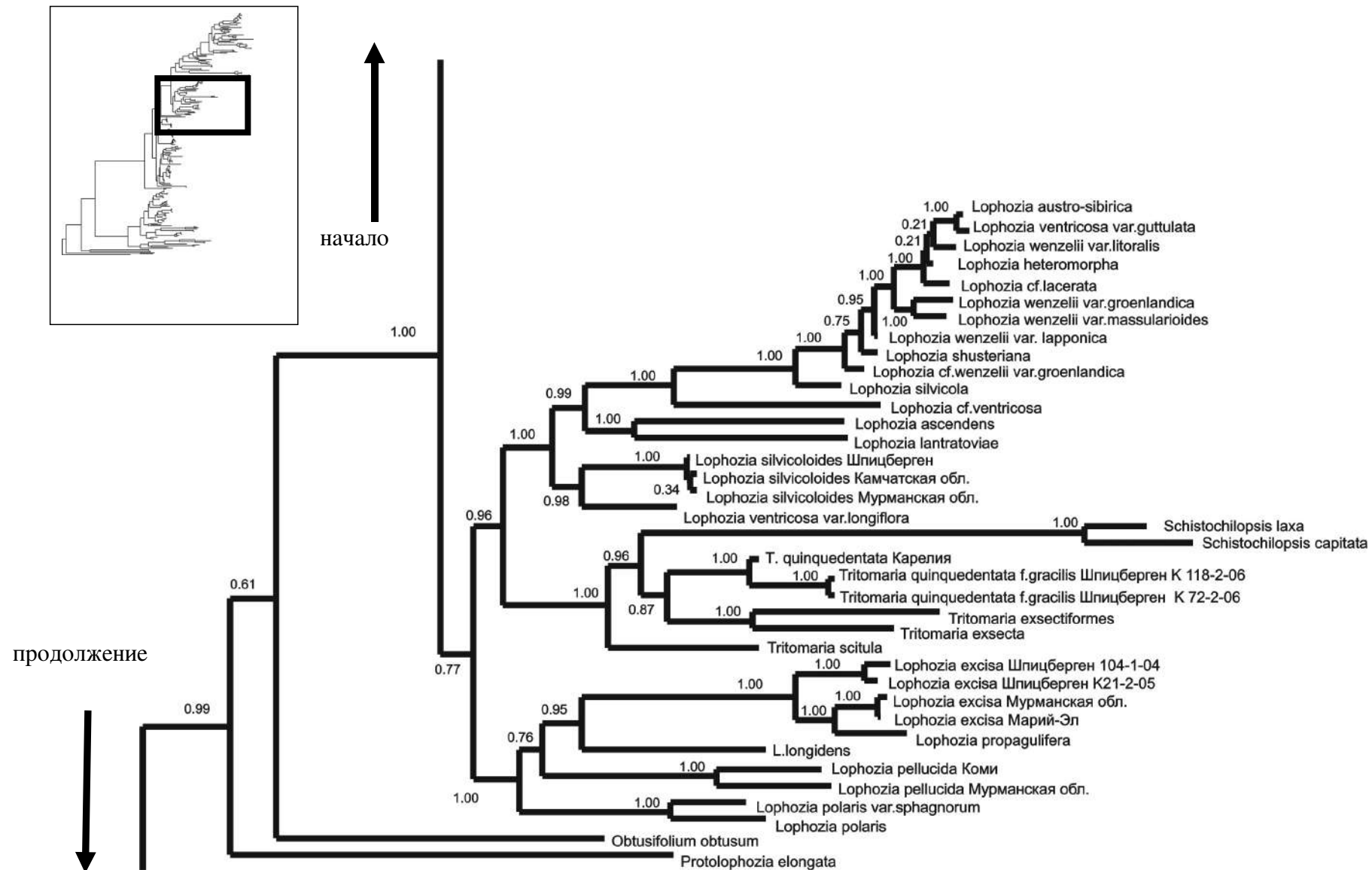
***Orthocaulis* H. Buch**

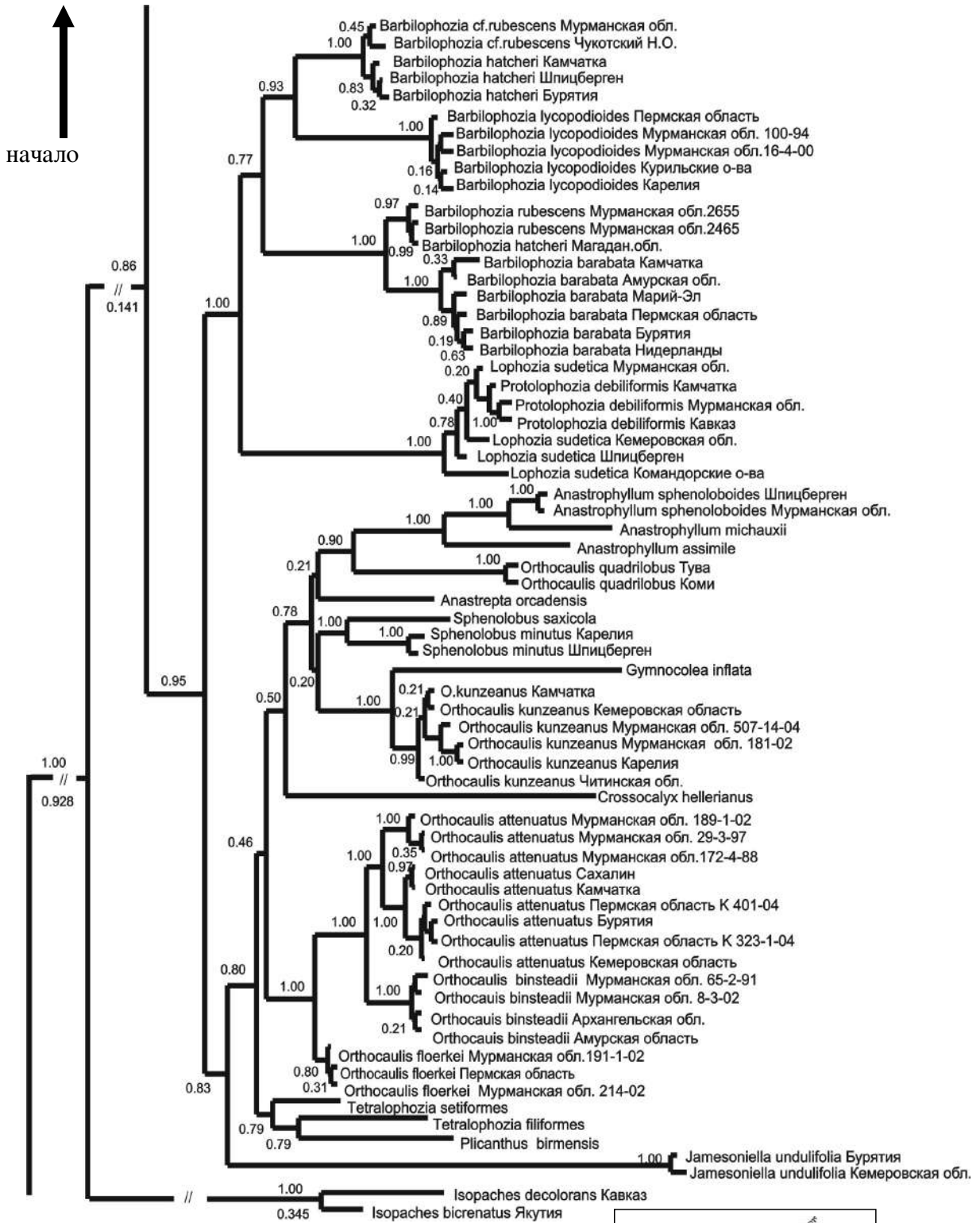
Schuster (1951) рассматривает *Orthocaulis* как подрод рода *Lophozia* s. l. Учитывая анатомо-морфологические особенности таксона, он предполагает возможную близость *Orthocaulis* к гипотетической предковой форме и помещает в основание системы рода *Lophozia* s. l. (Schuster, 1969). Шляков (1980) принимает родовой статус *Orthocaulis*, следуя Buch (1933). Grolle и Long (2000) включают *Orthocaulis* в качестве подрода в род *Barbilophozia* Loeske. Исследования, основанные на анализе *trnL-F*, *rps4* и *trnG* хпДНК небольшого числа видов и образцов, показали полифилетичность рода *Orthocaulis* (Yatsentyuk et al., 2004; De Roo et al., 2007) и его удаленность от *Barbilophozia*.

Нами проанализированы нуклеотидные последовательности пяти видов рода *Orthocaulis* представленных 24 образцами. Полученные результаты свидетельствуют об обособленности *Orthocaulis* от рода *Barbilophozia* и близости к *Anastrophyllum* s. l. Виды рода *Orthocaulis* локализованы в трех кладах: первая из них сформирована видами *O. floerkei* (E. Weber & D. Mohr) H. Buch, *O. attenuatus* (Mart.) A. Evans и *O. binsteadii*

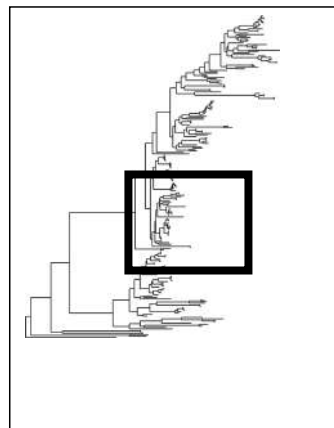
Рис 1. Филогенетическое дерево для подпорядка Jungermanniiineae, построенное методом Байеса по объединенным последовательностям ITS1-2 и *trnL-F*. Показаны значения апостериорной вероятности. Для сокращенных ветвей значения длины указаны под ветвями.

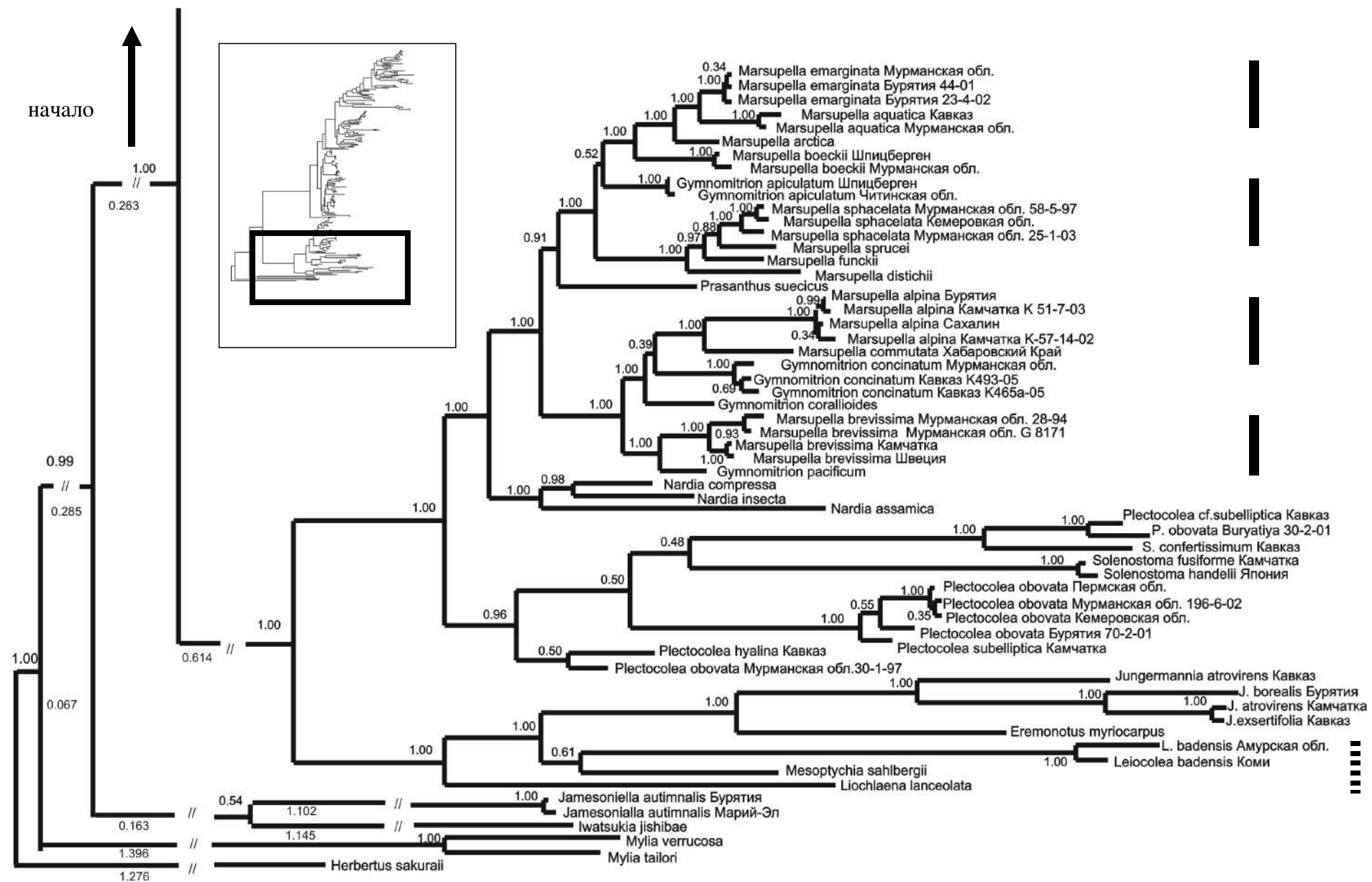






↓
продолжение





(Kaal.) Н. Buch; вторая, сестринская *Anastrophyllum* s. str., - двумя образцами *O. quadrilobus* (Lindb.) Н. Buch; третья, сестринская родам *Gymnocolea* и *Sphenolobus*, - образцами *O. kunzeanus* (Huebener) Н. Buch. Топологии реконструированных деревьев не поддерживают представления о секционном делении рода (Schuster, 1969). Впервые проведенное изучение внутривидовой варибельности ITS1-2 и *trnL-F* образцов видов рода *Orthocaulis* из удаленных регионов показало ее низкий уровень, однако, у *O. attenuatus* можно выделить три, а у *O. kunzeanus* два гаплотипа. Уровень межвидовой варибельности по локусам ДНК среди видов *O. floerkei*, *O. attenuatus* и *O. binsteadii* не превышает 2%. Последовательности *O. quadrilobus* и *O. kunzeanus* отличаются на 4-5% как между собой, так и по сравнению с вышеуказанными видами рода. Таким образом, использование ITS1-2 позволило установить полифилетичность *Orthocaulis* и его связи с *Anastrophyllum* s. l.

***Barbilophozia* Loeske**

Следуя широкой трактовке рода *Lophozia* s. l. Schuster (1951, 1969) рассматривает *Barbilophozia* как подрод этого рода. Grolle и Long (2000) признают за *Barbilophozia* родовую самостоятельность, но включают в его состав подрод *Orthocaulis*. Российские исследователи понимают *Barbilophozia* как отдельный род, насчитывающий в настоящее время четыре вида (Шляков, 1980; Константинова и др. 1992). В исследованиях по локусам хпДНК небольшого набора таксонов была показана монофилетичность *Barbilophozia* (Yatsentyuk et al., 2004) и ее близкие филогенетические связи с *L. sudetica* (Nees ex Huebener) Grolle и *Protolophozia debiliformes* (R.M. Schust.) Konstant. (De Roo et al., 2007). Для изучения уровня внутривидовой варибельности последовательностей ITS1-2 и *trnL-F* с целью уточнения связей и границ видов нами проанализировано 19 образцов всех видов рода из удаленных регионов России. Помещаемая в отдельную секцию *Barbilophozia barbata* (Schmidel. ex. Schreb.) Loeske (Schuster, 1969; Grolle, Long, 2000) не обособлена от трех других видов рода. Недавно описанная Schuster (1987) *B. rubescens* (R.M. Schust. et Damsh.) Kartt. et L. Söderstr. на построенных нами деревьях является сестринской *B. barbata*. Сестринские связи выявлены между *B. hatcheri* и *B. lycopodioides*. Уровень внутривидовой варибельности локусов ДНК среди *Barbilophozia* крайне низок. Только в пределах *B. barbata* хорошо обособлены дальневосточные образцы за счет характерных замен в интроне *trnL* и межгенном спейсере *trnL-F*. Уровень межвидовых различий по последовательностям ITS1-2+*trnL-F* достигает 4-5% у *B. barbata*, *B. lycopodioides* и *B. hatcheri*. Видовая самостоятельность *B. hatcheri*, которая некоторыми исследователями рассматривалась как разновидность *B. lycopodioides* (Joergensen, 1934; Шляков, 1980), находит подтверждение. Напротив, последовательности ITS1-2 у *B. barbata* и *B. rubescens* идентичны, а в *trnL-F* отмечены всего лишь 12 замен (уровень дивергенции менее 2%), что не может являться одним из доводов в пользу видовой самостоятельности *B. rubescens*.

***Lophozia* (Dumort.) Dumort. s. str., *Schistochilopsis* (Kitag.) Konstant., *Obtusifolium* (H. Buch) S.W. Arnell, *Protolophozia* (R.M. Schust.) Schljakov**

Филогенетические связи группы таксонов близкого окружения *Lophozia* s. str. были изучены на основе анализа *trnL-F* хпДНК (Yatsentyuk et al., 2004) или *rps4* и *trnG* хпДНК (De Roo et al., 2007) небольшой выборки таксонов и образцов. Показанные в этих работах полифилетичность *Lophozia* s. str., обособленность *Obtusifolium* от *Schistochilopsis* и сестринские связи *Protolophozia debiliformis* и *Lophozia sudetica* подтверждены нами в результате филогенетического анализа комбинированной матрицы ITS1-2+*trnL-F* значительно большего набора таксонов. На построенных нами филогенетических деревьях виды рода *Lophozia* s. str., за исключением *L. sudetica*, расположены в двух кладах, состав которых в основном совпадает с распределением признака окраски выводковых почек. Другим маркером, подтверждающим распределение видов рода *Lophozia* s. str. по двум

кладам являются комбинации инделей в шпильке P8 интрона *trnL*. Вследствие большого числа делеций вторичная структура этого локуса ДНК вариабельна даже среди близких видов *Lophozia* s. str., но может быть использована в качестве дополнительного признака для характеристики некоторых таксонов на родовом уровне. Клада, сформированная видами с красно-коричневыми выводковыми почками, согласуется с объемом секции *Excisae* в смысле Бакалин (2005), с включением *L. longidens* (Lindb.) Macoun, которую он не относил к этой секции. За исключением *L. propagulifera* (Gottsche) Steph., уровень внутри- и межвидовой вариабельности нуклеотидных последовательностей видов этой клады достаточно высок по сравнению с таковым во второй кlade, что совпадает с большей морфологической обособленностью видов. Связи между морфологически трудно различимыми таксонами комплекса видов *Lophozia ventricosa* (Dicks.) Dumort.- *L. wenzelii* (Nees) Steph., а также *L. schusteriana* Schljakov и *L. heteromorpha* R.M. Schust. с минимальными различиями по локусам ДНК слабо разрешены в нашем исследовании. Специфика нуклеотидных последовательностей *L. lantratoviae* Bakalin свидетельствует о ее видовом статусе. На основании отсутствия различий по нуклеотидным последовательностям *L. austro-sibirica* Bakalin (проанализирован паратип) и *L. ventricosa* var. *guttulata* (Lindb. et Arnell) Bakalin (только 1 замена в гене *trnF*) и максимального морфологического сходства они, вероятно, являются синонимами. Таксоны, часто объединяемые в *L. ventricosa*, разбросаны в различных филумах, поэтому более правомерно признание *L. ventricosa* var. *guttulata*, *L. ventricosa* var. *longiflora* (Nees) Macoun, *L. silvicola* H. Buch в качестве самостоятельных видов. Обособленная на дереве *Lophozia silvicoloides* Kitag. характеризуются отсутствием внутривидовой вариабельности локусов ДНК у образцов из крайне удаленных регионов. *Lophozia sudetica* удалена от основной клады рода и локализована совместно с недавно описанной *Protolophozia debiliformis* (Schuster, 1988) в кlade, сестринской *Barbilophozia*. Внутривидовые различия нуклеотидных последовательностей *P. debiliformis* насчитывают всего две замены, а у *L. sudetica* отмечено от 5 до 17 замен. Различия между *P. debiliformis* и *L. sudetica* не превышают уровня внутривидовой вариабельности *L. sudetica*. Возможно, эти два таксона являются одним видом, который, учитывая сходные результаты, полученные при анализе генов хпДНК (De Roo et al., 2007), по-видимому, следует включить в *Barbilophozia*.

Род *Schistochilopsis* полифилетичен. Пять исследованных таксонов локализованы в двух кладах, видовой состав которых соответствует делению *Schistochilopsis* на секции *Heterogemma* (Jörg.) Potemkin (*Marshicae* R.M. Schust.) и *Incisae* (C.E.O. Jensen) Potemkin, причем *Schistochilopsis laxa* (Lindb.) Konstant. и *S. capitata* (Hook.) Konstant., формируя длинные ветви, локализованы в одной кlade с родом *Tritomaria*. Положение клады, сформированной видами секции *Incisae*, нестабильно: она занимает базальное положение к кlade Scapaniaceae+Lophoziaceae (MP и NJ деревья), либо, вклиниваясь в эту кladу, является сестринской Scapaniaceae (ML, VI деревья (рис. 1)). Вследствие нестабильного положения на деревьях филогенетические связи *Schistochilopsis* окончательно не выявлены, однако, его независимость от *Lophozia* s. l. не вызывает сомнений.

Obtusifolium рассматривали как монотипный род (Arnell, 1956; Schljakov, 1980; Konstantinova et al., 1992; Бакалин, 2005) или секцию в роде/подроде *Schistochilopsis* (*Massula*) (Schuster, 1969; Bissang, 1991; Потемкин, 2005). На построенных нами филогенетических деревьях *Obtusifolium* стабильно формирует филум, крайне удаленный от рода *Schistochilopsis*, что, скорее всего, поддерживает его трактовку в качестве самостоятельного рода.

Филогенетические связи в семействе Scapaniaceae Mig.

Система крупного, преимущественно голарктического, семейства Scapaniaceae пересматривалась в 20 веке неоднократно. Для севера Европы и Сибири Н. Buch (1928) принимал четыре рода: *Douinia* Н. Buch, *Diplophyllum* (Dumort.) Dumort., *Scapaniella* Н. Buch, *Scapania* (Dumort.) Dumort. Persson (1949) повысил ранг подрода *Macrodiplrophyllum* Н. Buch. до рода. Schuster (1984) внутри Scapaniaceae выделил два подсемейства: Scapanioidea (роды *Scapania*, *Diplophyllum*, *Macrodiplrophyllum*) и Douinioideae (*Douinia*). А.Д. Потемкин пересмотрел систему Scapaniaceae (Potemkin, 1999): по его мнению, семейство Scapaniaceae содержит только один род *Scapania*, включая *Macrodiplrophyllum* в качестве подрода; *Diplophyllum* и *Douinia* объединяются в отдельном семействе Diplophyllaceae Potemkin.

Данных по молекулярной филогении Scapaniaceae немного. На основе анализа нуклеотидных последовательностей локусов хпДНК малой выборки таксонов (не более десяти) показана монофилетичность семейства Scapaniaceae, которое «вклинивается» в Lophoziaceae (Yatsentyuk et al., 2004; Schill et al., 2004; De Roo et al., 2007). На реконструированных нами деревьях с использованием 30 таксонов *Scapania*, 3 видов *Macrodiplrophyllum*, 3 видов *Diplophyllum* и *Douinia ovata* (Dicks.) Н. Buch. семейство Scapaniaceae монофилетично. На NJ дереве Scapaniaceae и Lophoziaceae являются сестринскими, на MP, ML и BI (рис. 1) деревьях Scapaniaceae входит в кладу Lophoziaceae, что согласуется с результатами, полученными ранее по хпДНК. Общая топология построенных деревьев свидетельствует о монофилетичности родов *Diplophyllum* и *Scapania*, а также полифилетичности рода *Macrodiplrophyllum*.

***Diplophyllum* (Dumort.) Dumort., *Douinia* Н. Buch,**

Виды рода *Diplophyllum* и *Douinia* локализованы в основании семейства и обособлены друг от друга двумя видами рода *Macrodiplrophyllum*. Таким образом, выделение самостоятельного семейства Diplophyllaceae с родами *Diplophyllum* и *Douinia* не обосновано. Дополнительным подтверждением монофилетичности семейства Scapaniaceae является наличие дубликаций трех крупных мотивов на 5'-конце ITS2 у *Diplophyllum*, *Macrodiplrophyllum microdontium*, *M. plicatum*, *Douinia ovata*, *Scapania bolanderi* и *S. ferruginea*. Межвидовые различия по локусам ДНК среди исследованных нами видов рода *Diplophyllum* - *D. albicans*, *D. taxifolium* и *D. obtusifolium* составляют 5-7% по ITS1-2 и 4-12% по *trnL-F*, что вполне согласуется со значительной морфологической обособленностью этих таксонов.

***Macrodiplrophyllum* (Н. Buch.) Perss.**

Морфологические исследования притихоокеанского рода *Macrodiplrophyllum*, включающего три вида, не привели к единой точке зрения на его положение в системе семейства. Анализ последовательностей *trnL-F* двух видов показал полифилетичность *Macrodiplrophyllum* (Yatsentyuk et al., 2004). Изученные нами последовательности ITS1-2 всех трех видов рода подтверждают полифилетичность *Macrodiplrophyllum*, за счет обособления *M. microdontium* (Mitt.) Perss. в базальном филуме к роду *Scapania*, и указывают на его обособленность от *Diplophyllum*. Тем не менее, окончательное решение по таксономическому статусу *Macrodiplrophyllum* и его объему требует дополнительного исследования с привлечением данных по морфологии и другим последовательностям ДНК.

***Scapania* (Dumort.) Dumort.**

Деревья, построенные разными методами, имеют различные топологии внутри клады, образованной видами рода *Scapania*, что не позволяет надежно выявить связи между отдельными константными группировками видов рода *Scapania*. Базальное положение занимают *Scapania ferruginea* (Lehm. et Lindenb.) Gottsche, Lindenb. et Nees и *S. bolanderii* Austin. Эти два вида имеют характерные вставки в начале ITS2, что сближает их с

Diplophyllum, *Macrodiplrophyllum* и *Douinia*. Распределение таксонов *Scapania* в филумах частично согласуется с секциями, выделяемыми на основе анатомо-морфологических признаков. Так, клада, образованная *S. undulata* (L.) Dumort., *S. paludosa* (Müll. Frib.) Müll. Frib., *S. subalpina* (Nees ex Lindenb.) Dumort., *S. rufidula* Warnst. полностью соответствует секции *Undulatae* в смысле Н. Buch (1928). *S. hyperborea* Jörg., *S. paludicola* Loeske et Müll. Frib., *S. tundra* (S.W. Arnell) Н. Buch формируют кладу, соответствующую секции *Irrigua* (Müll. Frib.) Н. Buch, принимаемой большинством гепатикологов (Arnell, 1956; Schuster, 1974; Grolle, Long, 2000; Шляков, 1981), однако, типовой вид секции - *S. irrigua* (Nees) Nees размещается в другой кладе. Объединение в одной кладе *S. calcicola* (Arnell & J. Perss.) Ingham с *S. gymnostomophyla* Kaal. согласуется с выделением этих видов в секцию *Calcicolae* Müll. Frib. ex R.M. Schust. emend. Potemkin (Potemkin, 1998). Изученные виды секции *Curtae* (Müll. Frib.) Н. Buch emend. Potemkin: *S. curta* (Mart.) Dumort., *S. obcordata* (Berggr.) S.W. Arnell, *S. helvetica* Gottsche, *S. mucronata* Н. Buch локализованы вместе, но в той же кладе оказались *S. uliginosa* (Lindenb.) Dumort. и *S. irrigua*. Распределение остальных исследованных видов не согласуются ни с одной из существующих классификаций. Топологии построенных деревьев и сравнение нуклеотидных последовательностей нескольких образцов из 3 пар близкородственных и иногда объединяемых видов *Scapania hyperborea* - *S. tundra*, *S. paludosa* - *S. uliginosa* и *Scapania crassiretis* - *S. nemorea* подтверждает трактовку этих таксонов в качестве отдельных видов.

Филогенетические связи в семействе Gymnomitriaceae Н. Klinggr.

Семейство Gymnomitriaceae включает таксоны, распространенные преимущественно в Северном полушарии, большинство из них являются пионерами зарастания различных субстратов. Представления об объеме семейства и составляющих его родах, системе и филогенетических связях в традиционной систематике давно устоялись (Müller, 1906-1911; Schuster, 1974; Grolle, Long, 2000; Шляков, 1981). В предшествующих геносистематических исследованиях по хпДНК семи таксонов была показана монофилетичность семейства Gymnomitriaceae и установлена полифилетичность рода *Marsupella* Dumort. (Yatsentyuk et al., 2004; Schill et al., 2004; De Roo et al., 2007). В своем исследовании мы впервые осуществили филогенетический анализ трех, представленных на севере Голарктики, родов с привлечением большого количества таксонов и образцов и подтвердили показанную ранее монофилетичность Gymnomitriaceae. Род *Gymnomitrium* Corda, так же, как и ранее изученный *Marsupella*, полифилетичен. *G. apiculatum* (Schiffn.) Müll. Frib. расположен в кладе с видами рода *Marsupella*, что согласуется с наличием у него хорошо развитых периантия и перигиния - признака свойственного большинству видов из рода *Marsupella*, в противоположность видам из рода *Gymnomitrium*. С другой стороны, кладу последнего рода разбивают 3 вида из рода *Marsupella*, объединяемых в подрод *Homocraspis* (Lindb. ex Schiffn.) Grolle. У большинства этих видов периантий и перигиний редуцированы или отсутствуют, что давало основание некоторым авторам и ранее относить их к роду *Gymnomitrium* (Müller, 1906-1911). Таким образом, подтверждено существенное значение признаков развития/редукции периантия и наличия/отсутствия перигиния в систематике семейства.

M. aquatica (Lindenb.) Schiffn. следует рассматривать в качестве самостоятельного вида на основании уровня дивергенции его нуклеотидных последовательностей от таковых *M. emarginata* (Ehrh.) Dumort.

Принадлежность монотипного рода *Eremonotus* Lindb. et Kaal. ex Pearson к семейству Gymnomitriaceae, обоснованная Schuster (1984), не поддерживается топологиями построенных филогенетических деревьев, на которых этот род тяготеет к *Jungermannia* s. str.

Филогенетические связи в семействе *Jungermanniaceae* Rchb. s. str.

В настоящее время семейство *Jungermanniaceae* трактуется в широком (Schuster, 1970; 1984; Crandall-Stotler, 2000) или в узком смысле с признанием некоторых таксонов, в частности *Lophoziaaceae*, на уровне самостоятельных семейств (Grolle, Long, 2000; Шляков, 1981). В исследованиях локусов хпДНК показано отсутствие близких филогенетических связей между полифилетичными семействами *Lophoziaaceae* и *Jungermanniaceae* (Yatsentyuk et al., 2004; Schill et al., 2004; De Roo et al., 2007). Нами на основе анализа ITS1-2 и *trnL-F* шести родов семейства *Jungermanniaceae*, представленных 17 таксонами, установлено, что широкая трактовка семейства *Jungermanniaceae* с включением в его состав *Lophoziaaceae* не обоснована, более того в узком смысле *Jungermanniaceae* полифилетично.

***Mylia* Gray**

Mylia является морфологически обособленным родом в семействе *Jungermanniaceae*, часто рассматриваемым в отдельном подсемействе (Schuster, 1969; Grolle, Long, 2000). В нашем исследовании клада, образованная *Mylia verrucosa* Lindb. и *M. tailori* (Hook.) Gray, расположена в основании деревьев и обособлена от других таксонов *Jungermanniaceae*. Это согласуется с результатами работы De Roo с сотр. (2007) и не противоречит выделению *Mylia* в отдельное семейство, как было предложено Шляковым (1982) и поддержано на основе ультраструктурных признаков (Engel, Braggins, 2005).

***Nardia* Gray**

На построенных нами филогенетических деревьях три вида *Nardia*, по мнению Schuster (1969) примитивного рода среди *Jungermanniaceae*, локализованы в кладе сестринской семейству *Gymnomitriaceae*. Развитие мощного перигиния, сходного с марсупием у *Gymnomitriaceae*, сближает эти таксоны на морфологическом уровне. Филогенетические связи *Nardia* и *Gymnomitriaceae* были показаны ранее (Davis, 2004; He-Nyngren et al., 2006; Forrest et al., 2006; Schill et al., 2004; De Roo et al., 2007).

***Jungermannia* L.**

Анализ *trnL-F* не позволил четко установить филогенетические связи и положение *Jungermannia* и *Plectocolea* в системе подпорядка (Yatsentyuk et al., 2004), однако комбинированные данные по *rps4* и *trnG* выявили полифилетичность *Jungermannia* s. l. (De Roo et al., 2007). На реконструированных нами деревьях род *Jungermannia* s. l. разделяется на два филума, в одном из которых локализованы *Jungermannia* s. str., а в другом - *Solenostoma* и *Plectocolea*. Таким образом, не подтверждается ни широкая трактовка рода *Jungermannia* L. (Schuster, 1984), ни существование трех самостоятельных родов *Jungermannia* L. emend. Schljakov, *Solenostoma* Mitt. emend. Zerov, *Plectocolea* (Mitt.) Mitt., поддерживаемое российскими исследователями (Шляков, 1981; Константинова и др., 1992). По-видимому, следует выделять два рода *Jungermannia* и *Solenostoma*.

***Jamesoniella* (Spruce) F. Lees**

Положение рода *Jamesoniella* в системе *Jungermanniaceae* долгое время оставалось неопределенным: либо это подсемейство в *Jungermanniaceae* (Schuster, 1972; Шляков, 1980), либо подсемейство в *Lophoziaaceae* (Grolle, Long, 2000), либо на основании анализа ДНК – самостоятельное семейство *Jamesoniellaceae* (He-Nyngren et al., 2006). В предыдущих работах использовалась только *J. autimnalis* (DC.) Steph. и южнополушарные таксоны рода (Yatsentyuk et al., 2004; Schill et al., 2004; He-Nyngren et al., 2006; De Roo et al., 2007), ни в одну работу не была включена *J. undulifolia* (Nees) Müll. Frib. Представленные в нашем исследовании несколькими образцами *Jamesoniella autimnalis* и *J. undulifolia*, в традиционных системах относящиеся к разным секциям, на филогенетических деревьях удалены друг от друга: *J. undulifolia* локализована среди *Lophoziaaceae*, а *J. autimnalis*

занимает базальное положение в подпорядке. Таким образом, род *Jamesoniella* полифилетичен, а его положение в системе остается неясным.

***Liochlaena* Nees**

Schuster (1984) признает *Liochlaena* как самостоятельный род, а Grolle и Long (2000) помещают его в качестве подрода в род *Jungermannia* s.l. Одновременно с нами Hentschel с сотр. (2008) на основе анализа *rbcL* хлДНК показал необходимость трактовки *Liochlaena* как самостоятельного рода. На построенных нами деревьях *L. lanceolata* Nees занимает базальное положение в кладе с видами родов *Leiocolea*, *Mesoptichia*, *Eremonotus*, филумы которых отделяют ее от видов *Jungermannia* s. str. на NJ, ML, BI (рис. 1) деревьях, или сестринское кладе *Jungermanniaceae*+*Gymnomitriaceae* на MP дереве.

Выводы

1. Включение в анализ высоко вариабельных последовательностей ITS1-2 яд- рДНК и значительное расширение круга исследованных таксонов позволило существенно углубить представления о молекулярной филогении *Jungermanniaceae*.
2. Топологии филогенетических деревьев, построенных разными методами, в основном, сходны, но согласуются с традиционными представлениями о филогении и системе подпорядка *Jungermanniaceae*. Широкая трактовка семейства *Jungermanniaceae* с включением *Lophozia* не подтверждена. *Lophozia* и *Scapania* следует объединять в одно семейство или выделять на их основе несколько мелких семейств. *Gymnomitriaceae* монофилетично и является близким к полифилетичному *Jungermanniaceae* s. str.
3. Выделение семейств *Diplophyllaceae* и *Mesoptichiaceae* не обосновано, поддержана самостоятельность *Mylia*.
4. Подтверждены представления о целесообразности использования узкой трактовки родов *Lophozia*, *Anastrophyllum*, *Tritomaria*, *Jungermannia* и выделение в самостоятельные роды *Isopachys*, *Schistochilopsis*, *Obtusifolium*, *Barbilophozia*, *Sphenolobus*, *Crossocalyx*, *Saccobasis*, *Solenostoma* и *Liochlaena*.
5. Роды *Lophozia* s. str., *Tritomaria* s. str., *Orthocaulis*, *Jamesoniella*, *Macrodiplrophyllum*, *Marsupella* и *Gymnomitrium* полифилетичны.
6. Подтвержден видовой статус ряда таксонов, рассматриваемых как разновидности или подвиды: *Marsupella aquatica*, *Lophozia silvicola*, *Scapania hyperborea*, *S. tundra*, *S. paludosa*, *S. uliginosa*, *S. nemorea* и *S. crassiretis*. С другой стороны, *Lophozia austrosibirica*, по-видимому, следует включить в *L. ventricosa* var. *guttulata*, а *Protolophozia debiliformis* – в *L. sudetica*. Недавно описанная *Lophozia lantratoviae* является четко обособленным видом, в то время как *Barbilophozia rubescens*, возможно, следует считать внутривидовым таксоном *B. barbata*.
7. Показана филогенетическая близость родов *Eremonotus*, *Leiocolea*, *Mesoptichia* к роду *Jungermannia* s. str.
8. Уровень внутривидовой вариабельности нуклеотидных последовательностей среди таксонов подпорядка различен и обусловлен, в основном, точечными заменами. Наименьшая вариабельность характерна для нуклеотидных последовательностей видов из родов *Marsupella* и *Gymnomitrium*. Последовательности ITS1 и ITS2 более вариабельны по сравнению с интроном *trnL* и спейсером между генами *trnL* и *trnF*.
9. Установлен высокий уровень полиморфизма размера шпильки P8 интрона *trnL* для рода *Lophozia* s. l., что свидетельствует о ее малой функциональной нагрузке.

Список опубликованных работ

1. Вильнет А.А., Константинова Н.А. О молекулярной филогении семейства Scapaniaceae Mig. (Hepaticae) // Материалы конференции по морфологии и систематике растений, посвященной 300-летию со дня рождения Карла Линнея. Москва, 2007. с. 53-54.
2. Вильнет А.А., Константинова Н.А., Троицкий А.В. К молекулярной филогении семейства Gymnomitriaceae H. Klinggr. (Hepaticae) // Материалы международной конференции «Вычислительная филогенетика и геносистематика» МГУ. Москва, 2007. с. 24-29.
3. Вильнет А.А., Милютин И.А., Константинова Н.А., Игнатов М.С., Троицкий А.В. Филогения рода *Lophozia* (Dumort.) Dumort. s. str. на основе анализа ядерных и хлоропластных последовательностей, ITS1-2 и *trnL-F* // Генетика. 2007. 43 (11). С. 1556-1564.
4. Вильнет А.А., Милютин И.А., Троицкий А.В., Константинова Н.А. К филогении и систематике рода *Lophozia* (Dumort.) Dumort. s. str. на основании анализа последовательностей *trnL-trnF* хлоропластной ДНК и ITS 1-2 ядерной ДНК// Актуальные проблемы бриологии. Сборник статей по материалам международного совещания, посвященного 90-летию со дня рождения Анастасии Лаврентьевны Абрамовой. СПб., 2005.-с.37-43.
5. Константинова Н.А., Вильнет А.А., Троицкий А.В. О филогении и систематике печеночников в свете молекулярных данных (Hepaticae) // Материалы конференции по морфологии и систематике растений, посвященной 300-летию со дня рождения Карла Линнея. Москва, 2007. с. 68-70.
6. Vilnet A. A., Konstantinova N.A., Troitsky A.V. Phylogeny and systematics of the genus *Lophozia* s. str. (Dumort.) Dumort. (Hepaticae) and related taxa from nuclear ITS1-2 and chloroplast *trnL-F* sequences // Molecular Phylogeny and Evolution/ doi:10.1016/j.ympev.2007.12.013
7. Vilnet A. A., Milyutina I.A. The contribution of different molecular markers to the drawing of the phylogeny of liverworts an example genus *Lophozia* (Dumort.) Dumort. s.str.// Материалы I (IX) международной конференции молодых ботаников в Санкт-Петербурге, май 2006 г. Санкт-Петербург, 2006.- С. 40-41.
8. Vilnet A.A., Konstantinova N.A., Troitsky A.V. The molecular divergence between some closely allied taxa of genus *Scapania* (Dumort.) Dumort. //Устойчивость экосистем и проблема сохранения биоразнообразия на Севере. Материалы международной конференции. Кировск, 2006. - с. 49-53.
9. Vilnet A.A., Konstantinova N.A., Troitsky A.V., Milyutina I.A., Ignatov M.S. ITS1-2 and *trnL-F* sequence data as a tool for studying the phylogeny of *Lophozia* (Marchantiophyta) // 17th International Symposium Biodiversity and Evolutionary Biology of the German Botanical Society. Bonn, 2006.- P. 83.