

УДК 575:582.715

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ СВЯЗИ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ПОДСЕМЕЙСТВА Sedoideae (Crassulaceae) НА ОСНОВАНИИ СРАВНЕНИЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ITS-РЕГИОНА ЯДЕРНОЙ РДНК

© 2006 г. С. Б. Гончарова¹, Е. В. Артюкова², А. А. Гончаров²¹ Ботанический сад-институт Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток 690024;
факс: (4232) 38-80-41; e-mail: svgonch@bgi.dvo.ru² Биолого-почвенный институт Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток 690024;
факс: (4232) 31-01-94; e-mail: gontcharov@ibss.dvo.ru

Поступила в редакцию 07.07.2005 г.

Определены нуклеотидные последовательности ITS-региона ядерной рДНК у 20 видов подсемейства Sedoideae (Crassulaceae) и проведен анализ их филогенетических взаимоотношений с другими представителями подсемейства, распространенными преимущественно в Юго-Восточной Азии. Показано, что род *Orostachys* является немонафилетичным, и его типовая подсекция достоверно включается в состав клады рода *Hylotelephium*. Обнаружены синапоморфные замены и индели в ITS1, отличающие членов подсекций *Orostachys*. Установлены сестринские отношения между кладами *Aizopsis* и *Phedimus*, позволяющие рассматривать их как самостоятельные роды.

Семейство Crassulaceae DC. (толстянковые) включает в себя виды преимущественно суккулентного облика, адаптированные к ксерофитным условиям и характеризующиеся специфическим САМ-метаболизмом Crassulacean acid. Его представители имеют почти космополитное распространение и населяют, главным образом, семиаридные и горные районы. Наиболее разнообразны толстянковые в Мексике, Южной Африке, Макаронезии и Восточной Азии. Crassulaceae со времени описания считалось четко отграниченным таксоном, а после выделения из него рода *Penthorum* L., общепризнано монофилитическим [1, 2]. Семейство насчитывает около 1300 видов, классифицируемых в 33 родах. Значительное морфологическое разнообразие толстянковых и четкая географическая приуроченность большинства родов, допускающая наличие в семействе нескольких эволюционных ветвей, способствовали тому, что внутрисемейственная классификация долгое время оставалась и продолжает оставаться спорной. Наибольшее распространение получила система Berger [3], основанная на признаках числа и расположения частей цветка, степени сростнолепестности, листорасположения и географической приуроченности родов и выделяющая в составе семейства шесть подсемейств. Следует отметить, что многие авторы отмечали искусственность этой системы, однако все попытки пересмотреть ее не увенчались успехом [2, 4].

Таксономические проблемы семейства сконцентрированы главным образом в родовой и внутривидовой классификации подсемейства Sedoideae Berger (очитковые) и его типового рода

Sedum L. (s. l.) [5, 6]. Большинство толстянковых флоры Евразии когда-либо входили в состав последнего, однако в дальнейшем были выделены в самостоятельные роды *Orostachys* (DC.) Fisch. ex A. Berger, *Hylotelephium* H. Ohba и *Aizopsis* Grulich, распространенные преимущественно в Восточной Азии, и, вероятно, имеющие восточно-азиатское происхождение.

В новой системе семейства, учитывающей результаты ранних молекулярно-филогенетических исследований, подтверждавших искусственность большинства подсемейств Crassulaceae и показавших конвергентную эволюцию морфологических признаков в них, было предложено выделить часть азиатских представителей подсемейства Sedoideae sensu Berger (роды *Hylotelephium*, *Orostachys*, *Phedimus* Rafin., *Pseudosedum* (Boiss.) Berger, *Rhodiola* L., *Sedum*, *Sinocrassula* Berger, *Umbilicus* DC.), формировавших на филогенетическом дереве кладу *Telephium* в подтрибу Telephiinae [2]. Все виды подтрибы имеют пятимерные цветки со свободными тычинками и обдиплостемонный андроцей (тычинки расположены в два круга, наружные супротивны лепесткам, а внутренние с ними чередуются). Следует заметить, хотя это преобразование и признавалось в дальнейшем некоторыми исследователями, клада *Telephium* не является статистически значимой [5, 7, 8].

Недавно была предпринята попытка определить филогенетическое положение азиатских Sedoideae на основе анализа последовательностей ядерной и хлоропластной ДНК [6]. Авторы подтвердили самостоятельность родов толстянковых, выделенных из состава *Sedum* s. l.: *Rhodiola*,

Hylotelephium, *Phedimus* и *Umbilicus*, однако не смогли установить монофилетичность клады *Telephium*, объединяющей роды предположительно восточноазиатского происхождения. Было отмечено, что ее естественность также трудно обосновать и с точки зрения морфологии, поскольку отсутствуют уникальные (синапоморфные) признаки, отличающие кладу *Telephium* от остальных *Sedae* sensu Hart (*Sedoideae*). Кроме этого, было установлено, что основные роды, определяющие эту кладу, не являются монофилетическими. Так, *Hylotelephium* вместе с некоторыми представителями *Orostachys*, а также *Rhodiola* с *Pseudosedum*, формировали устойчивые клады на древе. Таким образом, результаты молекулярно-филогенетических анализов ставят под сомнение естественность этих таксонов и указывают на необходимость пересмотра родовых границ восточноазиатских *Crassulaceae*.

Предположительно немонафилетичные роды *Hylotelephium*, *Orostachys* и *Rhodiola* составляют основу флоры толстянковых российского Дальнего Востока (рДВ) и представлены здесь девятью, восьмью и восьмью видами соответственно [9, 10]. Некоторые из этих таксонов имеют очень широкое распространение (*Rhodiola rosea*), другие, напротив, являются эндемичными для рДВ (*Hylotelephium ussuriense*, *Orostachys paradoxa*).

Хотя общность видовых списков этих родов на сопредельных территориях Северного Китая, Корейского полуострова, Японии велика, сравнение описаний видов позволяет предположить отсутствие единого подхода к пониманию многих таксонов [11]. Как совершенно верно было отмечено Ю.П. Кожевниковым [12], “плохая изученность изменчивости очитков в природных популяциях и их исследование в основном по спорадическим сборам привели к многократному описанию многих видов, действительное же разнообразие очитков не установлено до сих пор”, и хотя эти слова относились к гималайским и китайским видам, их в полной мере можно отнести к семейству в целом.

В настоящей работе представлены результаты сравнения нуклеотидных последовательностей внутреннего транскрибируемого спейсерного участка ядерной рибосомальной ДНК (ITS региона) дальневосточных представителей сем. *Crassulaceae* с целью установления их филогенетических связей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для настоящего исследования послужили образцы 20 видов растений, собранные в различных районах Приморского края и выращиваемые в коллекции БСИ ДВО РАН (таблица).

Выделение, амплифицирование и секвенирование ДНК. Выделение и очистку общей ДНК клет-

ки проводили с использованием QIAGEN DNeasy Plant Mini Kit (“Qiagen”, Hilden, Germany), следуя инструкциям производителя. Участок рибосомального оперона, кодирующий 3'-конец 18S рДНК, внутренний транскрибируемый спейсер 1 (ITS1), 5.8S рДНК, ITS2 и 5' конец 28S рДНК амплифицировали с помощью полимеризационной цепной реакции (далее ПЦР), используя праймеры N-nc18S10 и C26A [13]. Продукты ПЦР использовали для циклического секвенирования с набором BigDye v.3.1 (“Applied Biosystems”) и праймерами N18L18, N5.8S, ITS2, ITS4 [13]. Определение нуклеотидных последовательностей обеих цепей ПЦР-продуктов проводили на секвенаторе ABI PRIZM 310 (“Applied Biosystems”). Последовательности собирали, используя пакет программ Staden [14].

Выравнивание последовательностей и построение филогенетических деревьев. Для анализа филогенетических взаимоотношений между представителями подсем. *Sedoideae* была создана матрица данных, включающая вновь полученные последовательности и взятые из базы данных GenBank (таблица). В качестве внешнего корня были выбраны три вида *Kalanchoe*, проявляющего наибольшую близость к *Sedoideae* [5–8]. Нуклеотидные последовательности выравнивались вручную в программе SeaView [15], следуя консервативным элементам первичной и вторичной структуры ITS-региона [16].

Филогенетические деревья строили с использованием методов максимального правдоподобия (Maximum Likelihood, далее ML), объединения соседей (Neighborhood-Joining, далее NJ) и максимальной парсимонии (Maximum Parsimony, далее MP) в филогенетической программе PAUP 4.0b10 [17], а также Бейесовского подхода (Bayesian Inference, далее BI), в программе MrBayes v3.0b3 [18]. Эволюционные модели для ML и NJ-анализов выбирали в программе Modeltest 3.04 [19]. Дистанции для NJ-анализа рассчитывали через ML-оптимизацию. Для ML и MP-анализов использовали эвристический поиск оптимальной топологии. При BI-анализе создавали один миллион генераций цепей Маркова, отбирая пробы каждые 100 генераций, т.е. 10000 проб. Первые 500 проб (до выхода значений -lnL на плато) исключались из анализа как “burn-in”. Устойчивость (статистическую поддержку) филогенетических деревьев в NJ и MP-анализах оценивали методом бутстрэпа [20], используя 1000 бутстрэп-реplik, и определяя апостериорные вероятности (Posterior Probabilities, далее PP) в BI. Значения процента бутстрэпа (Bootstrap Percentage, далее BP) менее 50% и PP менее 0.90 не рассматривались и не указаны на рисунке. В бутстрэп-анализе MP-деревьев в каждой реплике проводили десять эвристических поисков оптимальной топологии со случайным порядком добавления таксонов.

Виды Sedoideae и номера в GenBank последовательностей ITS-участка рДНК

Вид	Номер	Вид	Номер
<i>Aizopsis (Phedimus) aizoon</i> (L.) Grulich.	AB089767	<i>K. delagoensis</i> Eckl. et Zeyh.	AJ231306
<i>A. (Phedimus) aizoon</i> var. <i>floribundus</i> (Nakai) H. Ohba	AB088614	<i>K. streptantha</i> Berger	AJ231322
<i>A. hybridum</i> (L.) Grulich	AM039908	<i>Meterostachys sikokiana</i> (Makino) Nakai	AB088579
<i>A. (Phedimus) kamtschatica</i> (Fisch.) Grulich	AB088612	<i>Orostachys aggregata</i> (Makino) Hara	AB088574
<i>A. litoralis</i> (Kom.) S. Gontch.	AM039909	<i>O. fimbriata</i> (Turcz.) Berger	AB088578
<i>A. middendorffiana</i> ssp. <i>sichotensis</i> (Vorosch.) S. Gontch.	AM039913	<i>O. furusei</i> Ohwi	AM039921
<i>A. x pilosa</i> S. Gontch. et Koldaeva	AM039910	<i>O. gorovoii</i> Dudkin et S. Gontch.	AM039922
<i>A. selskiana</i> (Regel et Maack) Grulic (оз. Хасан)	AM039911	<i>O. iwarenge</i>	AB088573
<i>A. selskiana</i> (оз. Ханка)	AM039912	<i>O. maximowiczii</i> Byalt	AM039923
<i>A. sikokiana</i> (Maxim.) Grulich	AB088613	<i>O. japonica</i> (Maxim.) Berger	AB088576
<i>Hylotelephium anacampseros</i> (L.) H. Ohba	AB088563	<i>O. malacophylla</i> (Pall.) Fisch.	AB088572
<i>H. angustum</i> (Maxim.) H. Ohba	AB088560	<i>O. malacophylla</i>	AM039924
<i>H. caudicola</i> (Praeger) H. Ohba	AB088566	<i>O. paradoxum</i> (Khokhr. et Vorosch.) Czerep.	AM039925
<i>H. cyaneum</i> (J. Rudolf) H. Ohba	AM039914	<i>O. spinosa</i> (L.) C.A. Mey	AB088577
<i>H. erythrostictum</i> (Miq.) H. Ohba	AB088556	<i>Phedimus spurius</i> (M. Bieb.) H. t'Hart	AB088616
<i>H. ewersii</i> (Ledeb.) H. Ohba	AB088570	<i>P. stellatus</i> Rafin.	AM039926
<i>H. pallescens</i> (Freyn) H. Ohba	AB088558	<i>Pseudosedum longidentatum</i> Boriss.	AB088609
<i>H. pallescens</i>	AM039915	<i>Pseudosedum</i> sp.	AB088610
<i>H. pluricaule</i> (Kudo) H. Ohba	AM039916	<i>Rhodiola amabilis</i> (H. Ohba) H. Ohba	AB088587
<i>H. populifolium</i> (Pall.) H. Ohba	AB088571	<i>R. angusta</i> Nakai	AM039927
<i>H. pseudospectabile</i> (Praeger) S.H. Fu	AM039917	<i>R. crenulata</i> (Hook f. et Thoms.) H. Ohba	AY359897
<i>H. triphyllum</i> (Haw.) Holub	AM039918	<i>R. fastigiata</i> (Hook f. et Thoms.) S.H. Fu	AB088594
<i>H. sieboldii</i> (Sweet. et Hook.) H. Ohba	AB088567	<i>R. ishidae</i> (Miyabe et Kudo) Hara	AB088600
<i>H. sieboldii</i> var. <i>ettyuense</i> (Tomida) H. Ohba	AB088568	<i>R. kirilowii</i> Regel ex Maxim.	AB088601
<i>H. sordidum</i> (Maxim.) H. Ohba	AB088562	<i>R. macrocarpa</i> (Praeger) S.H. Fu	AB088590
<i>H. spectabile</i> (Boreau) H. Ohba	AB088575	<i>R. rosea</i> L.	AB088599
<i>H. tatarinowii</i> (Maxim.) H. Ohba	AB088557	<i>R. yunnanensis</i> (Franch.) S.H. Fu	AB088602
<i>H. telephium</i> subsp. <i>maximum</i> (L.) H. Ohba	AB088561	<i>Sinocrassula indica</i> Berger	AB088580
<i>H. tsugaruense</i> (Hara) H. Ohba	AB088565	<i>S. paoshingensis</i> (S.H.Fu) H. Ohba et al.	AB088581
<i>H. ussuriense</i> (Kom.) H. Ohba	AM039919	<i>S. paoshingensis</i> var. <i>spinulosa</i> H. Ohba et al.	AB088583
<i>H. verticillatum</i> (L.) H. Ohba	AB088564	<i>S. yunnanensis</i> Berger	AB088582
<i>H. viride</i> (Makino) H. Ohba	AB088569	<i>Umbilicus botryoides</i> Hochst. ex A Rich.	AB088586
<i>H. viviparum</i> (Maxim.) H. Ohba	AB088559	<i>U. horizontalis</i> (Gruss.) DC.	AB088585
<i>H. viviparum</i>	AM039920	<i>U. rupestris</i> (Salisb.) Dandy	AB088584
<i>Kalanchoe campanulata</i> Baill.	AJ231309		

Примечание. Жирным шрифтом выделены виды, для которых последовательности определены в настоящем исследовании. В скобках указана название рода, приводимое в базе данных GenBank, но не признаваемое нами.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Длина спейсерного участка (ITS1, 5.8S и ITS2) у исследованных видов варьировала лишь незначительно; от 597 пар нуклеотидов (далее пн) у *Rhodiola yunnanensis* до 621 пн у *Hylotelephium tsugaruense*, при средней 609.4 ± 4.2 пн и типичном для покрытосеменных растений содержании G + C-оснований ($57.5 \pm 0.04\%$). В большинстве родов длина ITS1 превышала таковую ITS2 (средние значения 226 ± 2.3 и 219.4 ± 4.8 пн соответственно), только у представителей *Sinocrassula* и *Kalan-*

choe Adans наблюдалось обратное соотношение длин спейсеров. GTR-модель эволюции нуклеотидных последовательностей, дополненная гамма-параметром (Г) и пропорцией инвариантных позиций (I), была определена как наиболее адекватно описывающая наш набор данных. Его характерной особенностью была повышенная частота двух типов нуклеотидных замен: C $\longleftrightarrow$ T (4.6918) и A $\longleftrightarrow$ G (2.4155). Из 604 пн, использовавшихся для анализа, почти половина (295 пн) были информативными, 251 – инвариантными и 58 – неинформативными с точки зрения метода МР.

Результаты ML-анализа 69 таксонов и 604 пн отображены на рис. 1. На дереве члены подсемейства сгруппированы в два кластера, условно названные нами “*Hylotelephium*”- и “*Rhodiola*”-группы. В первой хорошо поддержанной (>93% BP, 1.00 PP) кладе род *Sinocrassula* образует базальную ветвь, за ним следует устойчивая (100 BP) сестринская пара *Meterostachys* – *Orostachys* подсекции *Appendiculatae* (Boriss.) H. Ohba, а клада видов *Hylotelephium*, достоверно (>85% BP, 1.00 PP) включающая представителей *Orostachys* подсекции *Orostachys*, является вершинной.

Принадлежность базального рода *Umbilicus* к группе *Rhodiola* поддержана низким значением бутстрепа только в NJ-анализе. За ним следуют две устойчивые (99–100% BP, 1.00 PP) клады, каждая из которых объединяет представителей двух родов: пара *Phedimus*–*Aizopsis* и клада видов *Rhodiola*, включающая два вида *Pseudosedum*. Данная топология характеризует только четыре из восьми проанализированных родов как монофилетические: *Phedimus*, *Aizopsis*, *Umbilicus* и *Sinocrassula*, а их клады поддержаны высокими значениями бутстрепа (98–100%) и апостериорных вероятностей (1.00). Дивергенция между этими кладами достаточно хорошо выражена, и все они характеризуются длинными индивидуальными ветвями. Различия между последовательностями в кладах не столь существенны, однако они позволили с высокой степенью достоверности определить порядок взаимоотношений между большинством видов. Наиболее высокой внутривидовой дивергенцией отличаются *Sinocrassula*, *Phedimus* и *Hylotelephium*, а в родах *Rhodiola* и *Aizopsis*, напротив, различия между видами невелики (рис. 1).

Сравнивая длины ветвей в двух кладах рода *Orostachys*, можно заметить, что различия между видами подсекции *Appendiculatae* более выражены, их последовательности четко отличаются друг от друга (25–35 замен), тогда как в подсекции *Orostachys* различия не превышают 2–4 пн. Эти клады различаются не только заменами нуклеотидов, содержанием G + C-оснований ($61.1 \pm 0.05\%$ и $56.0 \pm 0.02\%$ соответственно), но и наличием специфических инделей (рис. 2), не учитывавшихся при филогенетическом анализе. Наибольшее их количество обнаружено в более вариабельном ITS1. Примечательно, что клады подсекций практически не отличаются длиной этого спейсера и всего спейсерного региона, т.е. делеции в одних участках ITS компенсируются вставками в других.

В нашем анализе некоторые виды (*Hylotelephium viviparum*, *H. pallescens*, *A. selskianum* и *Orostachys malacophylla*) представлены последовательностями двух образцов. При этом только в случае *A. selskianum* не обнаружено различий между последовательностями. Экземпляры *O. malacophylla* отличаются четырьмя заменами, а различия между образцами *Hylotelephium viviparum*, *H. pallescens* еще более существенны – более 50 замен и инделей. Не удивительно, что эти последовательности располагаются в разных частях клады рода (рис. 1).

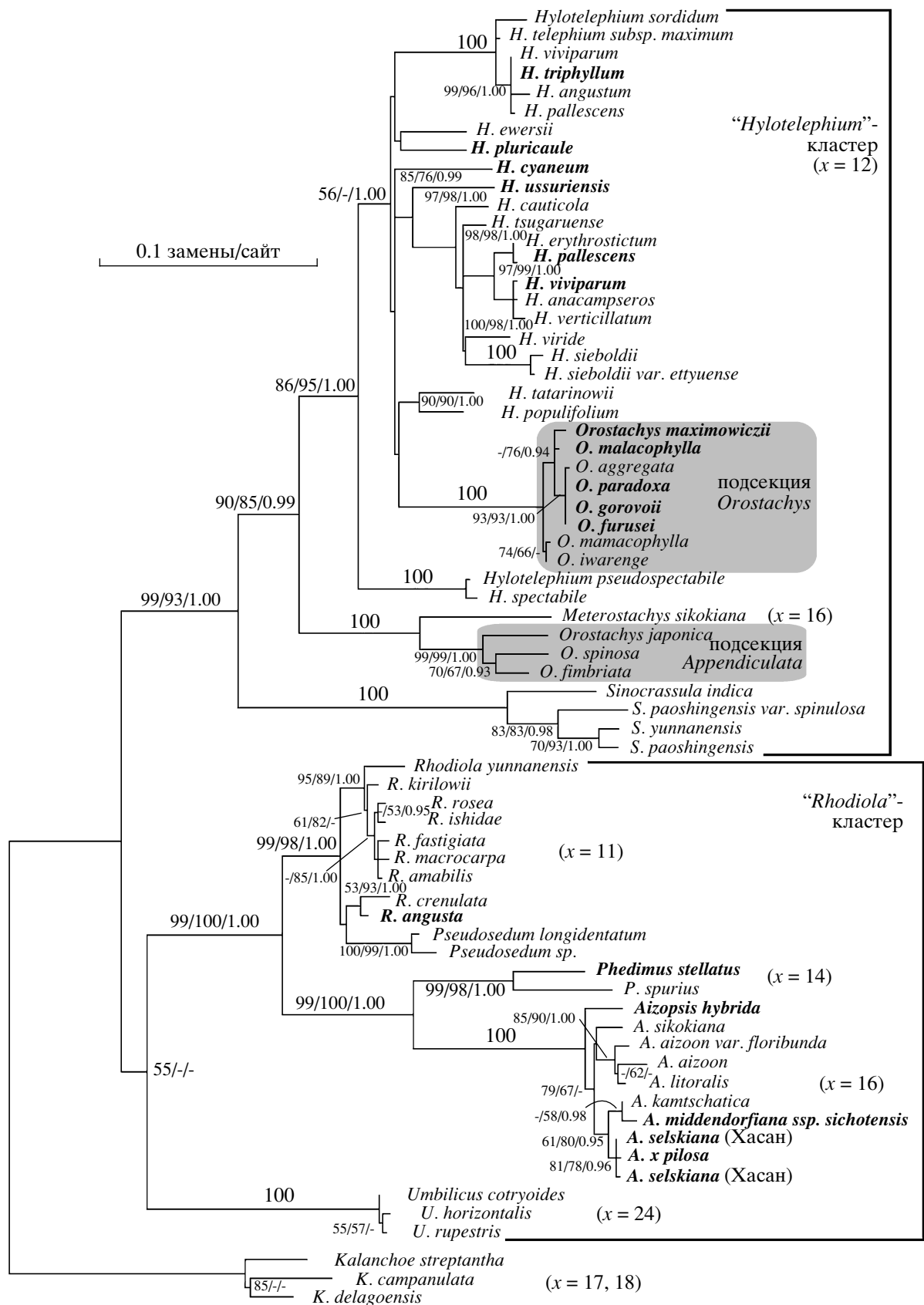
При общей высокой дивергенции между видами *Hylotelephium* в роде выделяется несколько устойчивых групп видов, члены которых характеризуются высоким сходством последовательностей ITS (≤ 10 замен). Это пара *H. erythrostictum*/*H. pallescens*, клада *H. viviparum*/*H. anacampseros*/*H. verticillatum* и устойчивая *H. sordidum*-клада, объединяющая шесть последовательностей (рис. 1).

ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнение нуклеотидных последовательностей внутреннего транскрибируемого спейсера рибосомальной ДНК 69 представителей десяти родов подсем. *Sedoideae*, имеющих преимущественно азиатское распространение, позволило установить их филогенетические связи. Полученные результаты в значительной мере согласуются с данными предшествующих исследований, основанных на меньших наборах данных и других маркерах [6]. Основной упор был сделан нами на анализ взаимоотношений между представителями родов *Orostachys* и *Hylotelephium*, монофилия которых была поставлена под сомнение [6], а также родов *Phedimus* и *Aizopsis*, рассматриваемых некоторыми авторами как синонимы [1, 21].

Orostachys считается одним из наиболее четко отграниченным морфологически членом подсемейства [22]. Этот род характеризуется полурозеточными жизненными формами и терминальными колосовидными (початковидными) соцветиями. В роде выделяют две секции: *Orostachys* и *Schoenlandia* [22], последняя принимается некоторыми авторами как подрод [23] или самостоятельный род *Kungia* K.T. Fu [24] и не представлена на российском Дальнем Востоке. В свою очередь, виды типовой секции классифицируют в двух подсекциях – *Orostachys* и *Appendiculatae*, различающихся формой листа (плоские или вальковатые) и наличием или отсутствием на них придатков

Рис. 1. Филогенетическое дерево представителей подсем. *Sedoideae*, основанное на сравнении 69 ITS рДНК-последовательностей методом максимального правдоподобия (GTR + I + Г-модель). Цифрами указана устойчивость ветвей, рассчитанная для NJ/MP/BI-анализов методом бутстрепа (NJ и MP) и апостериорных вероятностей (BI). Жирным шрифтом – виды, последовательности которых определены в настоящей работе. Серым цветом выделены две независимые клады видов *Orostachys*. В скобках приведены основные хромосомные числа клад/родов.



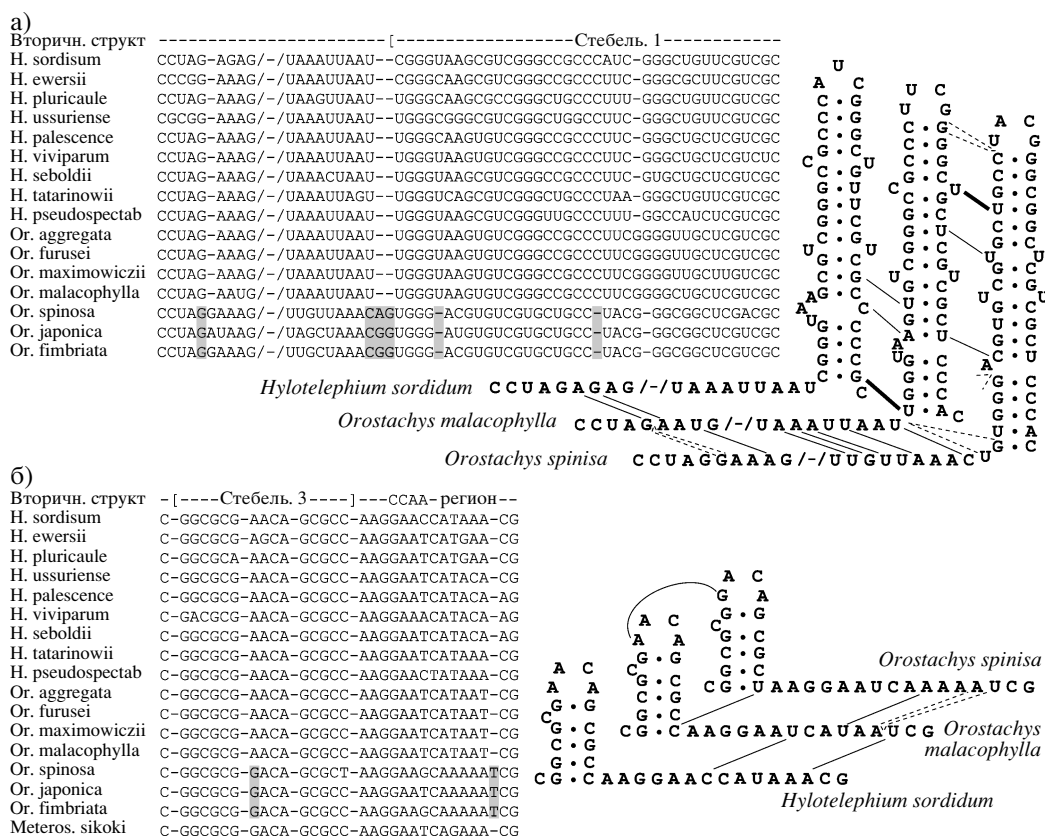


Рис. 2. Примеры синапоморфных инделей и замен (выделены серым цветом) в ITS1, отличающих подсекции рода *Orostachys*. Элементы вторичной структуры спейсера (а – стебель 1, б – стебель 3) показаны в соответствии с моделью, разработанной для ITS1 *Rhodiola rosea* [16]. Толстой линией отмечены коадаптивные замены в стебле 1. Штриховой линией показаны индели.

(шипов, хрящеватых выростов и др.). Молекулярно-филогенетические данные подтвердили близость видов в каждой подсекции, однако установили отсутствие родства между подсекциями. Более того, типовая подсекция *Orostachys* была достоверно (>85% BP, 1.00 PP; рис. 1) помещена среди членов рода *Hylotelephium*. Эти взаимоотношения трудно обосновать с точки зрения морфологии, однако конгруэнтность филогений, основанных на маркерах из ядерного (настоящее исследование) и хлоропластного [6] геномов, еще раз подтверждает их достоверность. Общими признаками для *Hylotelephium* и *Orostachys* подсекции *Orostachys* является морфология листа (плоские, без отростков) и гинецея, но полурозеточные биоморфы, дициклические монокарпические побеги и колосовидные соцветия отличают последний таксон.

Виды *Orostachys* с вальковатыми листьями, имеющими отростки на концах (подсекции *Appendiculatae*), также сгруппированы в устойчивую кладу, и можно предположить, что данная морфологическая синапоморфия имеет большее таксономическое значение, чем это предполагалось

ранее. Этот вывод подтверждает и родство *Orostachys* подсекции *Appendiculatae* и монотипного рода *Meterostachys* (рис. 1), также характеризующегося вальковатыми листьями с шипами.

Очевидно, что виды родов *Hylotelephium* и *Orostachys* близки между собой (рис. 1) и, по-видимому, ведут происхождение от общего предка, что подтверждается и одинаковым для этих родов основным числом хромосом ($x = 12$ [26]). Однако структура их общей клады противоречит традиционным объемам родов и предполагает необходимость таксономических преобразований. Так, признание монофилии клады *Hylotelephium-Orostachys* подсекции *Orostachys*, следующее из результатов молекулярно-филогенетических анализов (настоящее исследование; [6]), подразумевает, что все члены клады должны быть включены в род *Orostachys*, пользующийся правом приоритета [25]. При этом существующий диагноз рода должен быть изменен, для того чтобы охватить морфологическое разнообразие нового комбинированного рода. В настоящее время это вряд ли возможно, поскольку не известны признаки, являющиеся общи-

ми для всех видов такого рода и отличающие их от видов, не входящих в его состав.

Согласно полученной топологии, *Orostachys* подсекции *Appendiculatae* заслуживает выделения в самостоятельный род. Вопрос принадлежности *Meterostachys sikokiana* к этому таксону остается открытым. Сестринские отношения между этими таксонами не противоречат как самостоятельности последнего, так и возможности их объединения. Решение этого вопроса зависит от веса, придаваемого признакам, являющимся общими для представителей клады и отличающим их от других очитковых. На наш взгляд *Meterostachys* довольно четко отличается от членов подсекции *Appendiculatae* облигатно розеточной биоморфой, пазушными метельчатыми соцветиями и основным числом хромосом ($x = 16$ и 12 соответственно; [26], а на молекулярном уровне – отсутствием вставки в СА-регионе ITS1, характеризующей членов *Orostachys* подсекции *Appendiculatae* (рис. 26).

Топология нашего филогенетического древа ставит вопрос о самостоятельности еще двух таксонов: родов или подродов *Phedimus* и *Aizopsis*. До недавних пор они рассматривались как секции или подроды в составе *Sedum* [3, 22], однако позже были выделены в самостоятельные роды [11, 27, 28]. Уже первые молекулярно-филогенетические анализы показали близость этих таксонов (каждый был представлен одним видом), что и послужило основанием для их объединения в род *Phedimus* [2]. На нашем дереве *Phedimus* и *Aizopsis* также являются сестринскими кладами, каждая из которых включает типовой вид соответствующего рода (*P. stellatus* и *A. aizoon* соответственно, рис. 1). Данная топология не отрицает как самостоятельность этих родов, так и возможность их объединения. Мы считаем, что различия между членами клад в окраске (розовые или белые у *Phedimus* и желтые у *Aizopsis*) и морфологии цветков, распространении (преимущественно европейское у *Phedimus* и азиатское у *Aizopsis*) и основном числе хромосом ($x = 14$ и 16 соответственно [26, 29]) являются существенными и отличают их как самостоятельные роды.

Представленная филогения включает большинство видов рода *Hylotelephium*, второго по числу видов в подсемействе *Sedoideae*, что позволяет провести оценку существующей внутривидовой системы. В составе этого таксона выделяют две секции и две подсекции, различающиеся жизненными формами и положением побегов в пространстве. Описывая эти таксоны, Н. Ohba [22] придавал большое значение сходству морфологии слагающих их видов и предполагал, что оно отражает общность их происхождения. Однако молекулярно-филогенетические данные характеризуют все эти подроды и секции как искусственные, и предполагают независимое возникновение

признаков, характеризующих их. В составе традиционного рода *Hylotelephium* выделяются устойчивые клады, однако в настоящее время трудно назвать морфологические признаки, объединяющие их членов. Несоответствие традиционной внутривидовой классификации и данных молекулярно-филогенетических исследований отмечено и для рода *Rhodiola* [6].

Анализ распределения жизненных форм (ЖФ) в кладах предполагает многократное независимое их появление в различных родах очитковых и не позволяет определить, какая ЖФ могла быть исходной в подсемействе. Ранее высказывалось предположение, что “первично травянистые” растения могли являться исходными для семейства толстянковых, и от них образовались “мягкодревесные” и типичные “древесные” (имеющие развитую вторичную ксилему и специализированные покровные ткани) формы [30]. Среди проанализированных видов анатомическое строение, близкое к гипотетическому предку, характерно только для *Phedimus stellatus*, помещенного в качестве вершинной ветви “*Rhodiola*”-кластера. Подобное положение на древе может указывать как о сохранении предкового состояния признака, так и о вторичном упрощении в результате “отравнения” (термин по [31]).

Весьма вероятным представляется нам и то, что длиннопобеговые ЖФ, свойственные видам *Hylotelephium*, произошли от полурозеточных. Из топологии древа видно, что именно длиннопобеговость является аутапоморфией для дальневосточных очитковых, а не розеточные и полурозеточные побеги, как это считалось ранее [7]. ЖФ с такими побегами характеризуют базальный род *Sinocrassula*, клады *Orostachys* и *Meterostachys sikokiana*.

Не находит однозначного объяснения и сохранение в кладе *Phedimus/Aizopsis* еще одного плезиоморфного [7] признака – киптокарпных листовок. Апоморфность ортокарпных листовок *Crasulaceae* считается бесспорной [22], однако на представленном филогенетическом дереве виды, характеризующиеся плезиоморфным состоянием этого признака, занимают вершинное положение, что ставит под сомнение последнее утверждение.

Таким образом, наше исследование подтвердило наличие существенных противоречий между традиционными взглядами на эволюцию и родственные связи восточноазиатских очитковых. Очевидно, что необходимы дальнейшие исследования для того, чтобы достоверно установить таксономическую структуру подсемейства и естественные границы родов, а также положение этих таксонов в семействе.

Исследование было выполнено при финансовой поддержке РФФИ (проект № 05-04-4875а) и ДВО РАН (проект № 06-III-A-05-143).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Eggli U., Hart't H., Nyffeler R. Toward a consensus classification of the Crassulaceae // Evolution and Systematics of the Crassulaceae. Leiden: Backhuys Pub., 1995. P. 173–192.
2. Hart't H. Intrafamilial and generic classification of the Crassulaceae // Evolution and Systematics of the Crassulaceae. Leiden, Backhuys Pub., 1995. P. 151–158.
3. Berger A. *Crassulaceae* // Die Nat(rlichen Pflanzenfamilien. Leipzig: Gustav Fischer Verlag, 1930. P. 352–483.
4. Thorn R.F. The Classification and geography of the flowering plants: Dicotyledons of the class Angiospermae // Bot. Rev. 2000. V. 66. № 4. P. 441–647.
5. Ham van R.C.H.J. Phylogenetic relationships in the Crassulaceae inferred from chloroplast DNA variation // Evolution and Systematics of the Crassulaceae. Leiden: Backhuys Pub., 1995. P. 16–30.
6. Mayuzumi S., Ohba H. The phylogenetic position of Eastern Asian Sedoideae (Crassulaceae) as inferred from Chloroplast and nuclear DNA sequences // Systematic Botany. 2004. V. 29. № 3. P. 587–598.
7. Ham van R.C.H.J., Hart't H. Phylogenetic relationships in the Crassulaceae inferred from chloroplast DNA restriction-site variation // Am. J. Bot. 1998. V. 85. № 1. P. 123–134.
8. Mort M.E., Soltis D.E., Soltis P.S. et al. Phylogenetic relationships and evolution of Crassulaceae inferred from MATK sequence data // Amer. J. Bot. 2001. V. 88. № 1. P. 76–91.
9. Гончарова С.Б. О таксономии представителей подсемейства Sedoideae (Crassulaceae) российского Дальнего Востока. (I) Роды *Hylotelephium* и *Aizopsis* // Ботан. журн. 2000. Т. 85. № 5. С. 121–128.
10. Гончарова С.Б. О таксономии Sedoideae российского Дальнего Востока. (II) Роды *Rhodiola* и *Orostachys* // Ботан. журн. 2000. Т. 85. № 9. С. 120–128.
11. Ohba H. Systematic problems of Asian Sedoideae // Evolution and Systematics of the Crassulaceae. Leiden: Backhuys Pub., 1995. P. 151–158.
12. Кожевников Ю.П. Заметки о родах *Rhodiola* и *Sedum* (Crassulaceae) // Ботан. журн. 1988. № 3. С. 414–423.
13. Wen J., Zimmer E.A. Phylogeny and biogeography of *Panax* L. (the ginseng genus, Araliaceae): Inferences from ITS sequences of nuclear ribosomal DNA // Mol. Phylog. Evol. 1996. V. 6. № 2. P. 167–177.
14. Bonfield J.K., Smith K.F., Staden R. A new DNA sequence assembly program // Nucl. Acids Res. 1995. V. 23. P. 4992–4999.
15. Galtier N., Gouy M., Gautier C. SeaView and Phylo_win, two graphic tools for sequence alignment and molecular phylogeny // Comp. Applic. Biosci. 1996. V. 12. № 4. P. 543–548.
16. Gontcharov A.A., Gontcharova S.B. Sequence and secondary structure evolution of ITS rDNA in the family Crassulaceae // Proc. Int. Conf. “Evolutionary botany of certain plant-groups of the East Eurasian floristic element related to Japanese flora on the basis of chromosomes” Hiroshima: Hiroshima Univ., 2004. P. 18–21.
17. Swofford D.L. PAUP* Phylogenetic analysis using parsimony (and other methods). Beta version 10. Sunderland: Sinauer Associates, 2002.
18. Huelsenbeck J.P., Ronquist F. MrBayes: Bayesian inference of phylogenetic trees // Bioinformatics. 2001. V. 17. P. 754–755.
19. Posada D., Crandal K.A. MODELTEST: Testing the model of DNA substitution // Bioinformatics. 1998. V. 14. P. 817–818.
20. Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap // Evolution. 1985. V. 39. P. 783–791.
21. Ohba H., Bartholomew B.M., Turland N.J., Fu K. New combinations in Phedimus (Crassulaceae) // Novon. 2000. № 10. P. 400–402.
22. Ohba H. Generic and Infrageneric Classification of the Old World Sedoideae (Crassulaceae) // J. Fac. Sci. Univ. Tokyo (Bot.). 1978. Sec. III. V. 12. № 4. P. 139–198.
23. Бялт В.В. Конспект рода *Orostachys* Fisch. // Новости систематики высших растений. Л.: Наука, 1999. Т. 32. С. 40–50.
24. Fu K.J., Ohba H. *Crassulaceae* // Flora of China. Beijing: Science Press; St. Louis: Missouri Botanical Garden Press, V. 8. P. 202–268.
25. Greuter W., McNeill J., Barrie F.R. et al. International Code of Botanical Nomenclature (Saint Louis Code) adopted by the Sixteenth International Botanical Congress St. Louis, Missouri, July – August 1999 // Regnum Vegetabile. V. 138. Konigstein: Koeltz Sci. Books, 2000. 474 p.
26. Uhl C.H., Moran R. Chromosomes of Crassulaceae from Japan and South Korea // Cytologia. 1972. № 37. P. 59–81.
27. Grulich V. Generic division of Sedoideae in Europe and adjacent regions // Preslia. 1984. V. 56. № 1. P. 29–45.
28. Бялт В.В. Crassulaceae // Флора Восточной Европы. СПб.: Мир и семья, 2001. С. 249–285.
29. Числа хромосом цветковых растений флоры СССР: Семейства Aceraceae–Menyanthaceae. Л.: Наука, 1990. 509 с.
30. Mes T.H.M., Bederode van J., Hart't H. Origin of the woody macaronesian Sempervivoideae and phylodenetic position of the East African species of *Aeonium* // Bot. Acta. 1996. № 109. P. 477–491.
31. Хохряков А.П. Циклы развития побегов в связи с проблемой “травянистости” // Труды Московского общества испытателей природы. 1976. С. 141–155.