

Tartu Ülikool  
Loodus- ja Tehnoloogiateaduskond  
Ökoloogia- ja Maateaduste Instituut  
Botaanika õppetool

Jekaterina Grober

**SUGUKONNA NELGILISED (*CARYOPHYLLACEAE*)  
FÜLOGENEES**

Bakalaurusetöö

Juhendaja: teadur Silvia Pihu

Tartu 2015

## Sisukord

Sõnastik.....	3
Sissejuhatus.....	5
1. Sugukonna nelgilised ( <i>Caryophyllaceae</i> ) üldiseloomustus.....	7
1.1. Nelgilised APG ( <i>Angiosperm Phylogeny Group</i> ) III süsteemis .....	7
1.2. Nelgilised Eestis .....	10
2. Traditsiooniline nelgiliste süstemaatika .....	12
3. Molekulaarsed meetodid nelgiliste süstemaatikas.....	14
3.1. Tuuma ribosomaalne DNA ITS.....	14
3.2. Kloroplasti DNA järjestus <i>matK</i> .....	15
3.3. Nelgiliste fülogenees <i>matK</i> ja tuuma ribosomaalse DNA ITS järjestuste alusel.....	16
3.4. Nelgiliste fülogenees kloroplasti geenide ( <i>matK</i> , <i>trnL-F</i> , ja <i>rps16</i> ) alusel.....	18
4. Morfoloogilised ja anatoomilised tuunused fülogeneesi uuringutes .....	22
5. Nelgiliste evolutsioon .....	24
Arutelu .....	27
Kokkuvõte.....	29
Summary.....	30
Tänuavaldused .....	31
Kasutatud kirjandus .....	32

## Sõnastik

**Basaalne rühm** – alusrühm, fülogeneesipuus alusel ehk juure lähedal paiknev, varase tekkega, uuritavas rühmas fülogeneetiliselt vana alamrühm (Bremer jt 2013).

**Ekson** – eukarüootse geeni DNA-lõik, mis ühendatakse pre-mRNA splaissingu (kokkupõime) teel teiste eksonite mRNA pidevasse järjestusse (Heinaru 2012).

**Endeem** – liik või muu takson, mille levik piirdub mingi suhteliselt väikese maa-alaga (valdkonna, mäestiku, saarega). Vähesel leviku põhjus võib olla taksoni noorus (neoendeemidel: need pole veel jõudnud levida kõikjale, kus on neile sobivaid elutingimusi) või vastupidi, reliktsus (paleoendeemidel ehk reliktidel: nende levila on ahenenud) (Masing 1992).

**Flavonoidid** – vees lahustuvad antioksidantsete omadustega taimepigmentid, taimede sekundaarsed metaboliidid. Sisalduvad viljades, õites, lehtedes (Bremer jt 2013).

**Fülogenees** – põlvnemiskäik, organismirühma evolutsioon (Bremer jt 2013).

**Halofüüt** – sooltaimed, taimed, mis taluvad või eelistavad leeliselisi sooldunud muldi või soolarohket vett (Masing 1992).

**Homoplastiline** – feneetiline sarnasus, mis pärineb paralleelsest evolutsioonist mitte ühisest ellasest (Kumar 2000).

**Hübriidiseerumine** – looduslik hübriidisatsioon, järglaste moodustumine eri taksonitesse kuuluvate isendite ristumisel (Masing 1992).

**Geen** – spetsiifilise bioloogilise funktsiooniga geneetiline determinant. Pärilikkuse ühik, mis asub kromosoomi kindlas punktis (lookuses). DNA segment, mis kodeerib mingit kindlat RNA-d ja mRNA kaudu kindlat polüpeptiidi ning mida saab eksperimentaalselt eristada cis-trans- või komplementatsioonitestiga (Heinaru 2012).

**Graad** – taksonite rühm, mis on ühendatud morfoloogiliste ja anatoomiliste tunnuste, mitte ainult põlvnemise alusel. Võib olla ka para- ja polüfüleetiline (Bremer jt 2013).

**Indel** – insertioon- või deletsioonmutatsioon (Heinaru 2012).

**Intron** – eukarüootsete geenide DNA-aluste vahejärjestused, mida ei esine töödeldud RNA-transkriptis, kuiõrd nad lõigatakse splaissingul primaarsest RNA-transkriptist välja (Heinaru 2012).

**Klaad** – monofüleetiline rühm, eristatud eelkõige põlvenemise alusel (Bremer jt 2013).

**Kosmopoliit** – väga laialdase levikuga (vähemalt kolmel mandril) liigid (Masing 1992).

**Monofüleetiline rühm** – ühist eellasest pärinev taksonite rühm, kuhu kuuluvad kõik ühise eellase järeltulijad, enamasti iseloomustatud sünapomorfsete tunnustega (Bremer jt 2013).

**Parafüleetiline rühm** – ühisest ellasest pärinev taksonite rühm, kuhu ei kuulu aga mitte kõik nende ühise eellase järeltulijad, sageli iseloomustatud sünpleiomorfsete tunnustega (Bremer jt 2013).

**Paralleelne evolutsioon** – sarnaste adaptiivsete tunnuste evolutsioon eri organismidel, mille areaalid võivad olla eraldatud, aga neil on sarnane looduslikku valiku eripära (Kumar 2013).

**Polüfüleetiline rühm** – taksonite rühm, kuhu on ühendatud erinevaist esivanematest pärinevad organismid, ühendamise aluseks on sarnasus, mitte päritolu (Bremer jt 2013).

**Splaissing** – ehk kokkupõime, protsess, mille käigus RNA-st elimineeritakse eksonite vahele jäävad intronite järjestused ja eksonite järjestused seotakse kovalentselt (Heinaru 2012).

**Sõsarrühm** – fülogeneesipuul kõrvalasuv klaad, vaadeldavale rühmale lähim takson (Bremer jt 2013).

**Sünapomorfne tunnus** – organismide rühmas esinev ühine tunnus, mis määratleb selle rühma ja mis esines juba nende viimasel ühisel eellasel (Bremer jt 2013).

**Terminaalne** – lõpul olev (ÕS 2013).

**Transversaalne** – põiki või risti kulgev (ÕS 2013).

## Sissejuhatus

Loodusteaduste üks harudest on süstemaatika, mis jagab eluslooduse taksonoomilisteks ühikuteks kasutades fülogeneetilisi meetodeid. Enne mikroskoobi leiutamist olid inimesed võimelised jälgima ainult silmaga nähtavaid erinevusi. Optilised mikroskoobid lubasid uurida taimi rakulisel tasemel. Kasutusel olid morfoloogilised meetodid: morfoloogiline, anatoomiline, karpoloogiline ehk viljade uurimine, teratoloogiline ehk väärarendite uurimine; lisaks ka füsioloogiliste protsesside uurimine ja palünoloogilised meetodid ehk õietolmu uurimine. Aga sellised tunnused võivad olla arenenud paralleelse evolutsiooniga ja siis nad ei peegelda fülogeneetilisi suhteid või ei anna piisavalt informatsiooni arengukäigust. Viimaste 60 aastate jooksul on kasutusele võetud molekulaarsed meetodid ja suurema lahutusvõimega mikroskoobid. Selline areng annab võimaluse kontrollida, kas nähtavate tunnuste põhjal koostatud süsteem on kooskõlastatud molekulaarsete andmetega või mitte. Kasutades molekulaarseid andmeid on võimalik vältida subjektiivset väliste tunnuste interpretatsiooni ja saada rohkem kontrollitavaid tulemusi.

Kaasaegses taimesüstemaatikas on kasutusel 2009.a ilmunud APG III õistaimede süsteem, kus on 477 sugukonda umbes 270 000 taimeliigiga (Bremer jt 2009). APG III on fülogeneesil põhinev süsteem, mis kirjeldab ja klassifitseerib teadaolevaid õistaimede seltside ja sugukonnade sugulussuhteid.

Kasutuses on rahvusvahelise nomenklatuurikoodeksi (IAPT 2011) kohaselt järgmised taksonoomilised üksused:

- Riik (inglise keeles *kingdom*, ladina keeles *regnum*)
- Hõimkond (inglise keeles *division* või *phylum*, ladina keeles *divisio* või *phylum*)
- Klass (inglise keeles *class*, ladina keeles *classis*)
- Selts (inglise keeles *order*, ladina keeles *ordo*)
- Sugukond (inglise keeles *family*, ladina keeles *familia*)
- Perekond (inglise keeles *genus*, ladina keeles *genus*)

- Liik (inglise keeles *species*, ladina keeles *species*)

Lisaks on kasutusel fülogeneesipuudel põhinevad rühmad – klaad ja graad, mis mõnikord ühendavad endas eri tasemega taksonid.

Süsteematika põhiüksuseks on liik. On olemas mitu liigi kontseptsiooni, nendest on laiemalt tuntud: tüpoloogiline, evolutsiooniline, fülogeneetiline, ökoloogiline, bioloogiline, morfoloogiline, geneetiline, feneetiline. Fülogeneetilise liigikontseptsiooni järgi on liigis ühendatud ühise eellasega organismid. Arvamused taimeliikide arvust varieeruvad ulatuslikult, sõltuvalt autoritest; see number tuleneb sellest, kelle andmeid on kasutatud ja nimetatud usaldusväärseteks.

De Jussieu (1789) enda töös eristab 34 nelgiliste perekonda, aga ei räägi veel liikide arvust. Betham ja Hooker (1862) eristavad 800 nelgiliste liike ja pakuvad, et nelgiliste sugukonda kuulub kuni 1200 liiki. Bittrich (1993b) eristab juba 2200 nelgiliste liiki.

Käesolevas töös on toodud ülevaade nelgiliste (*Caryophyllaceae* Juss.) sugukonna süsteemi kujunemisest ning probleemidest ja lahendamata küsimustest nelgiliste süsteemikas. Nelgiliste sugukonna suurus ja mitmekesisus teeb selle huvitavaks ja raskeks uurimisobjektiks. Selle sugukonna koosseisu kuuluvad liigid väga mitmekesiste morfoloogiliste ja anatoomiliste tunnustega, nende hulgas on endeemid ja kosmopoliidid. Praegu ei ole nelgiliste mitmekesisuse tekkemehhanism ja evolutsiooni käik täielikult selged, mis teeb nelgiliste sugukonna fülogeneesi uurimise ahvatlevaks ja väljakutseid pakkuvaks.

## 1. Sugukonna nelgilised (*Caryophyllaceae*) üldiseloomustus

Nelgiliste sugukond kuulub taimede (*Plantae*) riiki, õistaimede (*Anthophyta*) hõimkonda, päriskaheiduleheliste (*Eudicotyledonae*) klassi, nelgilaadsete (*Caryophyllales*) seltsi (Eesti eElurikkus). Nelgilised on suur sugukond, mis koosneb 86 perekonnast (Bittrich, 1993b).

Sugukonnas on ühe- ja mitmeaastaseid rohttaimi ja poolpöõsaid (Viljasoo jt 1971). Levila on koondunud Vahemere ja Lähis-Ida piirkonda (Fior jt 2006), aga on teada ka endeemseid nelgiliste perekondi Põhja-Ameerikas, Lõuna-Ameerikas, Aafrikas ja Aasias (Greenberg jt 2011). Nelgiliste esindajaid on ka Austraalias (Miller jt 2012) ja Euroopas (Witt jt 2013).

XX sajandi lõpul loeti sugukonna koosseisu 86 perekonda ja 2200 liiki (Bittrich 1993b), aga juba käesoleva sajandi alguses avastati mitu uut liiki (Ilcim jt 2013, Yilmaz jt 2011). Paljud sugukonna liikidest on halofüüdid ja valdav enamik neist eelistab elada kuivades ja avatud kasvukohtades. Mõned liigid on levinud ainult mäestikes (Fior jt 2006). Vähemalt seitse perekonda on levinud polaaraladel, mõned liigid kasvavad isegi kuni 7000 meetri kõrgusel (mis on kõrgeim piirkond, kus veel kasvavad taimed) ja antarktika paadikann (*Colobanthus quitensis*) on üks vähestest õistaimedest Antarktikas (Greenberg jt 2011).

### 1.1. Nelgilised APG (*Angiosperm Phylogeny Group*) III süsteemis

Nagu ülalpool mainitud, kuulub nelgiliste sugukond nelgilaadsete (*Caryophyllales*) seltsi. 2009 aastal väljaantud APG III süsteem paigutab nelgilaadsete seltsi ülemseltsi *Caryophyllanae*. Nelgilaadsete selts on ebakindla positsiooniga ja basaalne asteriidide suhtes (Bremer jt 2009, Joonis 1). Asteriidide suhtes basaalsel asetust fülogeneesipuul toetab ka hilisem uuring, mis põhineb *trnK* introni ja *matK* geeni järjestustel (Crawley jt 2012).

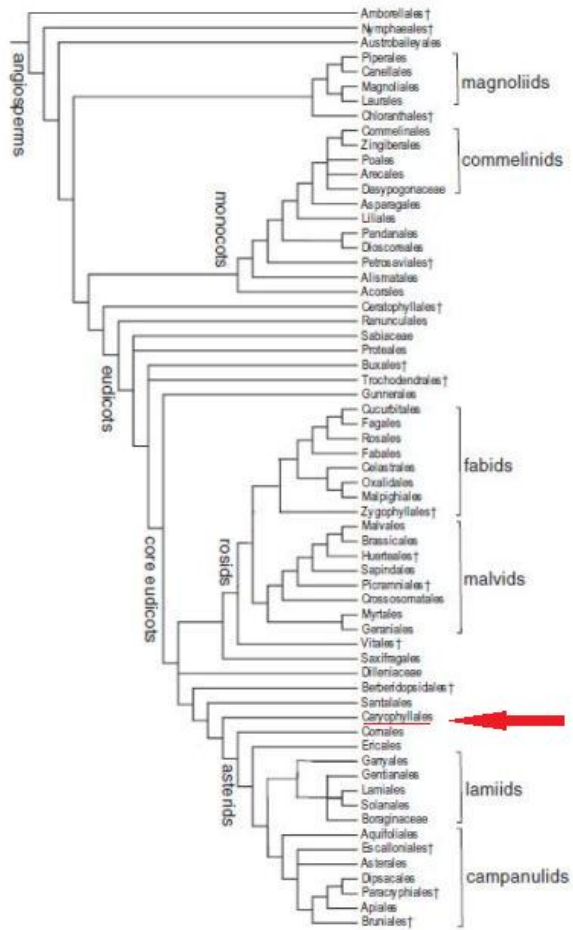
Vaatamata nelgilaadsete seltsi ebakindlale positsioonile, on selts selgelt piiretletud: seda toetavad nii molekulaarsed andmed kui ka morfoloogilised ja anatoomiliste tunnused (Brockington jt 2011, Crawley jt 2012, Hilu jt 2003). Vastavalt APG III süsteemile kuuluvad nelgilaadsete hulka järgmised sugukonnad:

- *Achatocarpaceae* Heimerl
- kivilehised (*Aizoaceae* Martinov)

- rebasheinalised (*Amaranthaceae* Juss.)
- armulillelised (*Anacampserotaceae* Eggli & Nyffeler)
- *Ancistrocladaceae* Planch. ex Walp.
- manokapuulised (*Asteropeiaceae* Takht. ex Reveal & Hoogland)
- *Barbeuiaceae* Nakai
- basellalised (*Basellaceae* Raf.)
- kaktuselised (*Cactaceae* Juss.)
- nelgilised (*Caryophyllaceae* Juss.)
- kraakenipuulised (*Didiereaceae* Radlk.)
- *Dioncophyllaceae* Airy Shaw
- huulheinalised (*Droseraceae* Salisb.)
- kastelehelised (*Drosophyllaceae* Chrték, Slavíková & Studnička)
- frankeenialised (*Frankeniaceae* Desv.)
- *Gisekiaceae* Nakai
- *Halophytaceae* A.Soriano
- *Limeaceae* Shipunov ex Reveal
- *Lophiocarpaceae* Doweld & Reveal
- *Molluginaceae* Bartl.
- allikrohulised (*Montiaceae* Raf.)
- kanntaimelised (*Nepenthaceae* Dumort.)

- imelillelised (*Nyctaginaceae* Juss.)
- *Phytenaceae* Takht.
- kermesmarjalised (*Phytolaccaceae* R.Br.)
- tinajuurelised (*Plumbaginaceae* Juss.)
- kirburohelised või tatralised (*Polygonaceae* Juss.)
- portulakilised (*Portulacaceae* Juss.)
- *Rhabdodendraceae* Prance
- märipõõsalised (*Sarcobataceae* Behnke)
- jojobipõõsalised (*Simmondsiaceae* Tiegh.)
- *Stegnospermataceae* Nakai
- *Talinaceae* Doweld
- tamariskilised (*Tamaricaceae* Link)

THE ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP



Joonis 1. Õistaimede fülogeneesipuu APG III järgi, kus seltside ja sugukondade suhted on toetatud nii kingapaelameetodi kui ka Bayesi analüüsi alusel. Selts nelgilaadsed on basaalne asteriidide suhtes (APG III 2009).

## 1.2. Nelgilised Eestis

Eesti floorasse kuulub 21 nelgiliste perekonda rohkem kui 70 liigiga (Eesti eElurikkus). Valdavalt kasvavad sugukonna esindajad kuivadel ja päikesepaistelisel aladel, aga on liike, mis võtavad osa kuuse-segametsade rohurinde moodustamisest. Mõned liigid on levinud vesistel kasvukohtadel või mererannikutel. Nelgilised kuuluvad ka meetaimede ja umbrohtude hulka. Paljude perekondade esindajad kuuluvad dekoratiivtaimede hulka, mis võivad metsistuda (Viljasoo jt 1971).

Eestis on kaitse all 6 nelgiliste sugukonda kuuluvat liiki: (RT I 1994, 46, 773):

1. palu-liivkann (*Arenaria procera* Spreng.)
2. madal kadakkaer (*Cerastium pumilum* Curtis)
3. aasnelk (*Dianthus superbus* L.)
4. ida-võsalill (*Moehringia lateriflora* (L.) Fenzl)
5. rand-kesakann (*Sagina maritima* G.Don)
6. palu-põisrohi (*Silene chlorantha* (Willd.) Ehrh.)

## 2. Traditsiooniline nelgiliste süstemaatika

Traditsiooniliselt jagatakse sugukond *Caryophyllaceae* kolmeks alamsugukonnaks (Bittrich 1993b):

### 1. Alamsugukond *Paronychioideae* (Juss.) Meisn

1.1. Triibus *Polycarpaeae* DC.

1.2. Triibus *Paronychieae* (Juss.) Dumort.

1.3. Triibus *Corrigioleae* Dumort.

### 2. Alamsugukond *Alsinoideae* (DC.) Fenzl

2.1. Triibus *Alsineae* DC.

2.2. Triibus *Pycnophylleae* Mattfeld

2.3. Triibus *Geocarpeae* Palmer&Steyermark

2.4. Triibus *Habrosieae* (Fenzl) Pax

2.5. Triibus *Scleranthaeae* (Juss.) DC.

### 3. Alamsugukond *Caryophylloideae*

3.1. Triibus *Caryophylleae*

3.2. Triibus *Drypideae* Fenzl

3.3. Triibus *Sileneae* DC.

Bittrich (1993b) pakkus, et alamsugukonnad alsinelised (*Alsinoideae*) ja nelgilised (*Caryophylloideae*) koos moodustavad monofüleetilise rühma, mis põhineb nn nelgiliste-tüüpi embrüoloogial, mis erineb *Paronychioideae* alamsugukonna maavitsaliste-tüüpi embrüoloogiast. Maavitsaliste, nelgiliste ja maltsaliste embrüoloogiatüübid on väga sarnased. Kõik kolm alustavad arengut terminaalse raku transversaalse jagunemisega kaherakuliseks embrüoks.

Maavitsalise- ja maltsalise-tüüpi embrüo arengus basaalne rakk jaguneb transversaalselt ja nelgilise-tüüpi embrüo basaalne rakk ei jagune (Raghavan 2006). Kromosoomide baasarv, mis on suurem alsiineliste alamsugukonnas ( $x = 6-19$ ) ja nelgiliste alamsugukonnas ( $x = 10-18$ ) kui *Paronychioideae* alamsugukonnas ( $x = 8-9$ ), võib samuti toetada alsiineliste ja nelgiliste monofüleetilisust (Greenberg jt 2011).

Vastavalt Bittrich'ile (1993b) põhineb edasine alamsugukonnade jaotus triibusteks pigem morfoloogiliste ja anatoomiliste tunnuste (nagu emakate arv ja õietolmu kuju) subjektiivsel interpretatsioonil, mitte fülogeneetilistel suhetel.

Alsiinelised on nelgiliste sugukonna suurim alamsugukond, aga selle siseseid suhteid on vähe uuritud. Bittrich (1993b) jagas alsiinelisi 28 perekonda viieks triibuseks. Perekondade eristamiseks on kasutatud peamiselt õite tunnuseid. Aga need tunnused võivad olla evolutsiooniliselt labiilsed ja plastilised (Eggens jt 2006, Sanderson jt 1996) ning sellepärast ei esinda alati homoloogilisi tunnuseid fülogeneetiliste gruppide moodustamiseks. Selgitamaks alsiinelisi alamsugukonda kuuluvate rühmade suhteid ning avastada võimalikku konvergentsi on tarvis uuringuid molekulaarsel tasemel (Harbaugh jt 2010). Selline vajadus ei piirdu ainult alsiineliste alamsugukonnaga, vaid puudutab tervet nelgiliste sugukonda.

### 3. Molekulaarsed meetodid nelgiliste süstemaatikas

Nelgiliste sugukond on suur ja mitmekesine, seepärast on problemaatiline valida morfoloogilisi või anatoomilisi tunnuseid, mis annaksid usaldusväärseid tulemusi fülogeneetiliste suhete uurimisel. Sugukonna morfoloogilised tunnused on kompleksed ja võimalik, et ka homoplastilised (mis tähendab, et nad omavad feneetilist sarnasust tõenäoliselt paralleelse evolutsiooni tagajärjel, mitte pärandusena ühisest eellasest). See eripära muudab taksonid raskesti diagnoositavaks ja klaadid halvasti eristatavateks (Fior jt 2006).

Enamik nelgiliste süstemaatika kaasaegseid uuringuid on tehtud molekulaarsete meetoditega. Erinevad tööühikud on kasutanud erinevaid DNA järjestusi, näiteks tuuma ribosomaalse DNA ITS järjestust (Fior jt 2006, Greenberg jt 2011) või kloroplasti *matK* (Harbaugh jt 2010, Fior jt 2006, Greenberg jt 2011), et uurida nelgiliste sugukonna sugulussuhteid ja evolutsiooni toimumise võimalikke teid (Fior jt 2006, Frajman jt 2009, Greenberg jt 2011, Harbaugh jt 2010, Keshavarzi jt 2013, Mihhailova jt 2015, Smissen jt 2002).

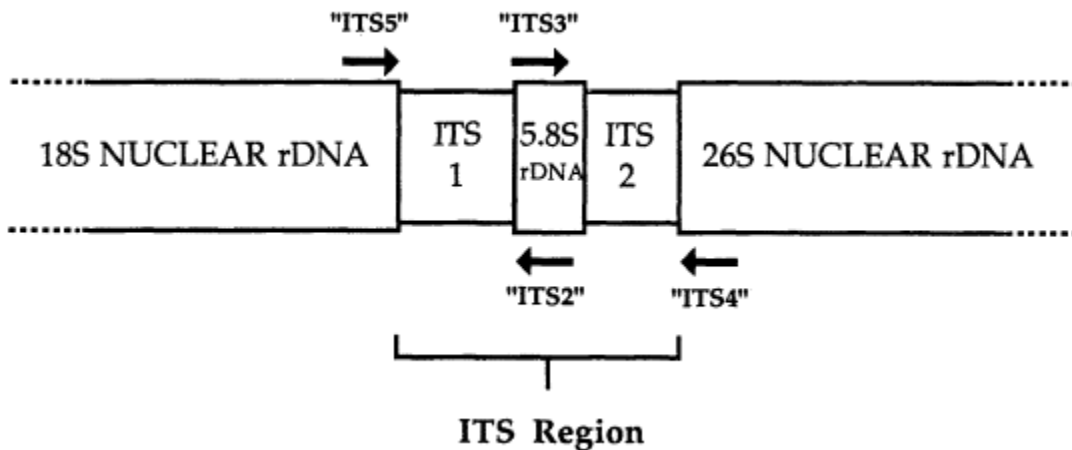
Nelgiliste süstemaatikas on tehtud uuringuid ka teiste meetoditega näiteks RAPD (Mengoni jt 2001, Oxelman 1996), AFLP (Minder 2007, Lauterbach 2012) ja isoensüümide varieeruvuse analüüs (Cai jt 1989, Dolan 1994). Aga selles töös nad ei paku huvi, sest on tehtud üksikute liikide kohta ja ei anna piisavat informatsiooni sugukonna fülogeneesi kohta.

Paljud molekulaarse fülogeneetika uurijad (Crawley jt 2012, Fior jt 2006, Frajman jt 2009, Harbaugh jt 2010, Smissen jt 2002) pakuvad, et nelgiliste eespool nimetatud alamsugukonnad ei ole siiski monofüleetilised.

#### 3.1. Tuuma ribosomaalne DNA ITS

ITS (inglise keeles *Internal Transcribed Spacer*) on tuuma ribosomaalse DNA sisemine transkribeeritav speisser (Joonis 2.). See on DNA regioon, mis on laialt kasutatav õistaimede süstemaatika uuringutes (Baldwin jt 1995). ITS järjestusel põhinev analüüs annab piisavalt usaldusväärset informatsiooni fülogeneesi ja evolutsiooni kohta (Baldwin jt 1995, Fior jt 2006, Greenberg jt 2011, Li jt 2011).

ITS on äärmiselt varieeruv molekul ning on võimeline akumuldeerima palju mutatsioone, mis annab potentsiaali üles leida järjestuste lahknevused piisava valimi korral. Samal ajal see tõstab homoplastiliste muutuste tõenäosust, seega sellised andmed sisaldavad rohkem „müra“ võrreldes konserveerunud, valke kodeeritavate järjestustega. Uuringud näitasid, et vaatamata „mürale“ on ITS järjestus säilitanud tugeva fülogeneetilise signaali (Fior jt 2006).



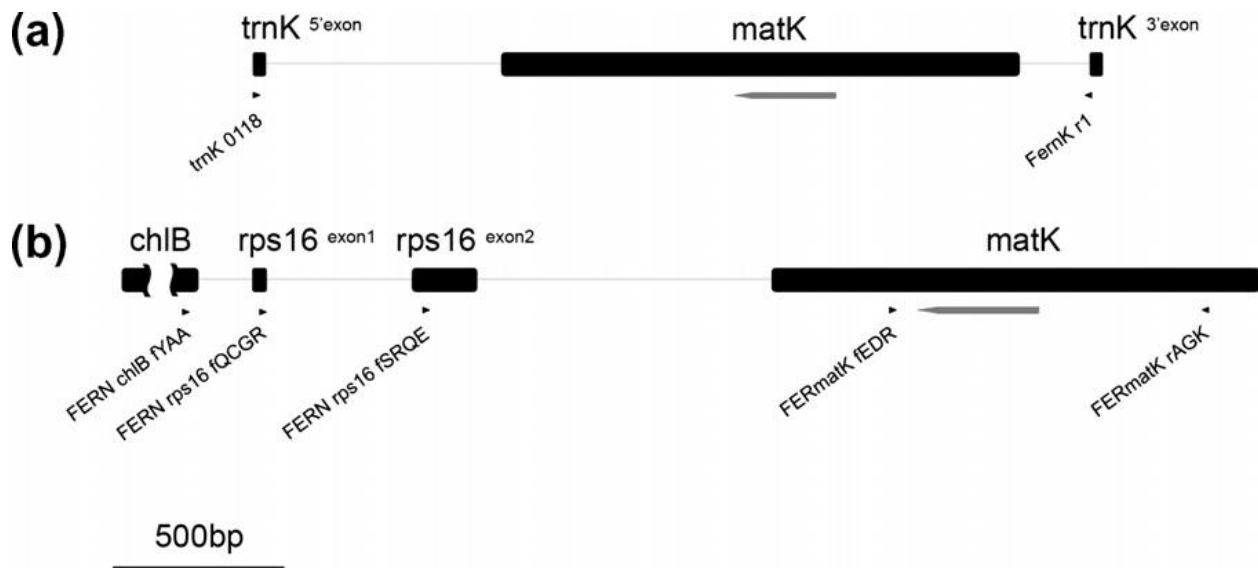
Joonis 2. 18-26S tuuma ribosomaalse DNA ITS regiooni ehitus ja selle amplifitseerimisel kasutatavad praimerid. Umbkaused praimerite positsioonid on näidatud nooltega (Baldwin 1993). Praimerite järjestused (5' -> 3'): "ITS2" = GCTGCGTTCTTCATCGATGC; "ITS3" = GCATCGAT- GAAGAACGCAGC; "ITS4" = TCCTCCGCTTATTGATATGC; "ITS5" = GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG (White jt 1990).

### 3.2. Kloroplasti DNA järjestus *matK*

*MatK* geeni (Joonis 3.) kasutatakse päriskaheiduleheliste süstemaatika uuringutes. Selle uurimine annab nii fülogeneetilist informatsiooni kui ka andmeid võimalikku evolutsiooni tee kohta.

*MatK* (Maturase K) geen on 1600 aluspaari pikk (enamikes õistaimedes) ja asub *trnK* introni kõrval; mõlemad on transkribeeritavad ühe transkriptina. *MatK* geeni eristab teistest õistaimede süstemaatikas kasutatavatest geenidest suur arv nukleotiidseid asendusi, mittesünonüümseid mutatsioone ja indele. Kombineerides *matK* järjestusi teiste geenide järjestusega, võib saada

informatsiooni õistaimede fülogeneesist ja evolutsioonist (Hilu jt 2003, Kuo 2011, NCBI andmebaas).



Joonis 3. Sõnajalgade *matK* ja selle kõrval olevate geenide praimerite kaart ning geenide järjekord plastiidi genoomis. Nooled näitavad praimerite positsiooni ja suunda. Hallid nooled näitavad, kus paiknevad liini-spetsiifilised pöördpraimerid, mis olid disainitud *matK* 5' otsa ja ülesvoolu paiknevate regioonide amplifikatsiooniks (Hilu jt 2003).

### 3.3. Nelgiliste fülogenees *matK* ja tuuma ribosomaalse DNA ITS järjestuste alusel

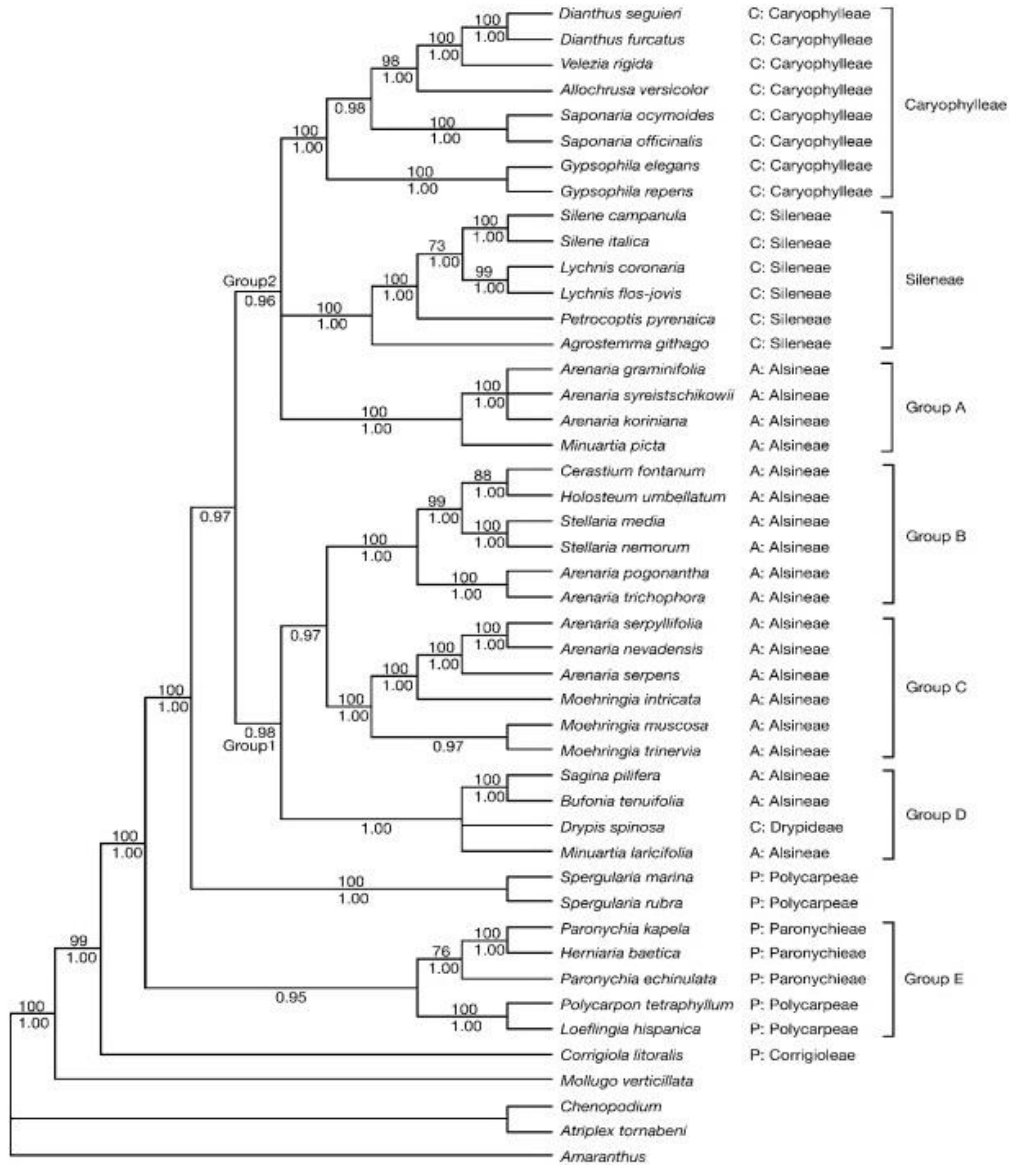
Vastavalt Fior'i ja kaasautorite (2006) *matK* ja nrDNA ITS järjestuste analüüsile ükski alamsugukondadest ei ole monofüleetiline (Joonis 4), aga *Caryophylloideae* monofüleetilisus ei ole siiski veel päriselt ümber lükatud (Fior jt 2006).

Alamsugukond *Alsinoideae* on parafüleetiline koos alamperekonna *Eremogone* (kuulub perekonda *Arenaria*) ja *Spergella* alamperekonnanaga (kuulub perekonda *Minuartia*), nad on tihedalt seotud *Caryophylloideae* alamsugukonnaga (Fior jt 2006).

Suurt toetust omab perekondade *Spergula* ja *Spergularia* sissevõtmine *Alsinoidea-Caryophylloideae* klaadi (Fior jt 2006).

Alamsugukond *Paronychioideae* moodustab basaalse graadi, kus triibus *Corrigioleae* on teiste sugukonna liikmetele sõsarrühm (Fior jt 2006). See uuring on tähtis, sest ITS järjestuste kasutus

perekonna ja liigi tasemel avaldas potentsiaali sugukonna *Caryophyllaceae* fülogeneesi probleemi lahendamiseks.



Joonis 4. Parsimooniametodil koostatud range konsensuspuu, mis põhineb ITS ja *matK* kombineeritud analüüsil. Kingapaela-metodil saadud toetus (BP) ja järelanalüüsi tõenäosus (PP) on märgitud vastavalt haru all või peal. Harud on näidatud, kui  $BP \geq 70\%$  ja  $PP \geq 0.95$ . Perekondade klassifikatsioon (Bittrich 1993b) on näidatud alamsugukonna lühendiga (P = *Paronychioideae*, A = *Alsinoideae*, C = *Caryophylloideae*) liigist paremal ja sellele järgneb triibuse nimi (Fior jt 2006).

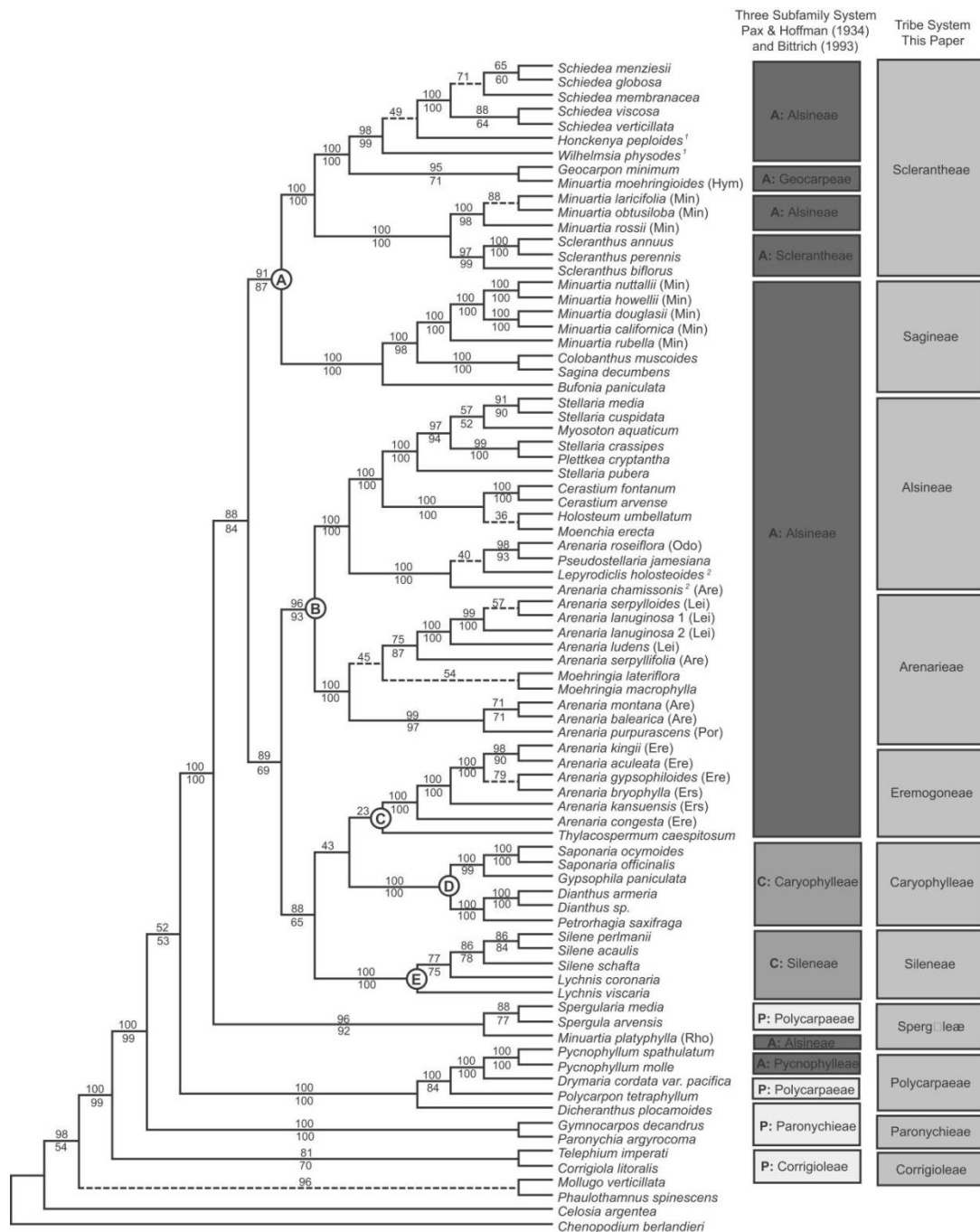
### 3.4. Nelgiliste fülogenees kloroplasti geenide (*matK*, *trnL-F*, ja *rps16*) alusel

Harbaugh jt (2010) uurisid nelgiliste sugukonna süstemaatikat, fokuseerides alamsugukonna *Alsinoideae* monofüleetilisuse testimisele. Lisaks nad uurisid kasutatava süstemaatika kehtivust ning selgitasid endeemsete liikide päritolu (nagu Hawaii *Schiedea*) kloroplasti geenide (*matK*, *trnL-F*, ja *rps16*) alusel (Joonis 5). Analüüsi tulemuste järgi mitu triibust ja perekonda (eriti *Alsinoideae* sees) ei ole monofüleetilised. Suured perekonnad nagu *Arenaria* ja *Minuartia* on polüfüleetilised (Harbaugh jt 2010).

Harbaugh jt (2010) leidsid, et rühm, mida tuntakse *Paronychioideae* alamsugukonnana, moodustab basaalse klaadi nelgiliste sugukonnas. Alamasugukonnad *Alsinoideae* ja *Caryophylloideae* moodustavad monofüleetilise rühma, kus on kaks peamist klaadi, mis ei vasta Bittrich (1993b) poolt pakutavatele alamsugukondadele. Alamsugukonna *Caryophylloideae* monofüleetilisus ei ole nende uuringutega siiski täiesti välistatud.

Kolme kloroplasti geenijärjestuse (*matK*, *trnL-F*, ja *rps16*) fülogeneetilise analüüsi tulemused tõid esile mitu olulist taksonoomilist ja biogeograafilist järeldust:

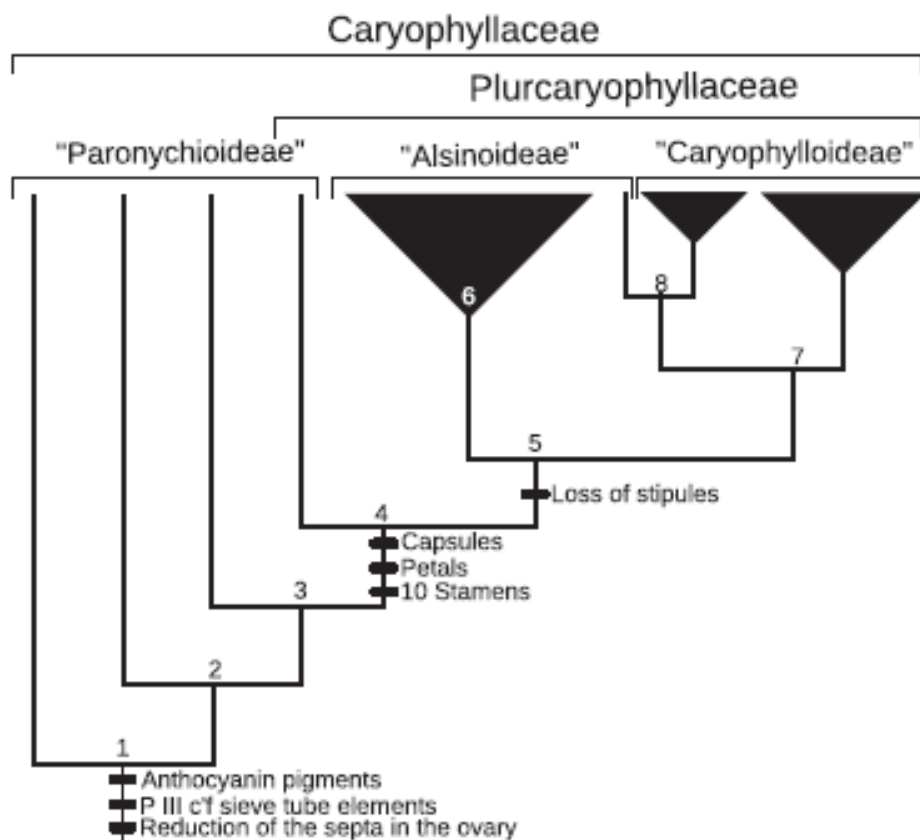
1. *Caryophyllaceae* alamsugukonnad, nagu nad on praegu jagatud, ei ole loomulikud rühmad ja sellisest süstemaatikast tuleb loobuda.
2. Liigirikkad *Alsinoideae* perekonnad *Arenaria* ja *Minuartia* ja mitu teist perekonda ei ole loomulikud rühmad ning nende fülogenees vajab täiendavaid uuringuid.
3. Mitu väiksemat perekonda paiknevad fülogeneesipuus suuremate perekondade sees, nagu näiteks perekonnad *Myosoton* Moench ja *Plettkea* Mattf. perekonnas *Stellaria* ja perekond *Velezia* perekonnas *Dianthus*.
4. Endeemse Hawaii perekonna *Schiedea* lähisugulased on paar põhjapiirkondade taksonit *Honckenya peploides* (L.) Ehrh. ja *Wilhelmsia physodes* (Fisch. ex Ser.) McNeill (Harbaugh jt 2010).



Joonis 5. Maksimaalse tõepära meetodil saadud nelgiliste fülogeneesipuu, mis on saadud kombineeritud *matK*, *trnL-F* ja *rps16* järjestuste analüüsil. Number haru peal näitab maksimaalse tõepära kingapaela analüüsi väärtust, number haru all esindab maksimaalse parsimoonia kingapaela analüüsi väärtust (puuduva numbril puhul väärtus on <50). Katkendlikud harud esindavad harusid, mis on kokku pandud maksimaalse tõenäisuse konsensuspuul (Harbaugh jt 2010).

Lisaks leidsid Harbaugh jt (2010), et alamsugukond *Paronychioideae* on taksoni basaalne graad. Triibus *Corrigioleae* on monofüleetiline ja sõsarrühm ülejäänud sugukonnale. Triibus *Paronychieae* on monofüleetiline ja triibus *Polycarpeae* on polüfüleetiline. Varasemas uuringus Smissen jt (2002) leidsid, et alamsugukond *Paronychioideae* ei moodusta basaalset graadi, vaid on polüfüleetiline; koos *Spergularia* perekonnaga on see rohkem suguluses *Alsinoideae* taksoniga kui *Polycarpeae* triibusega.

Greenberg jt (2011) kasutasid oma töös kloroplastide geene ja ITS järjestusi. Nende töö kinnitab valdavalt Harbaugh (2010) tulemusi (Joonis 6). Lisaks pakuvad nad uue klaadi – *Plurcaryophyllaceae*, kuhu kuulvad traditsioonilised *Alsinoidea*, *Caryophylloideae* ja *Sperguleae*.



Joonis 6. Traditsiooniliselt tunnustatud alamsugukonnad ja uus klaad nimega *Plurcaryophyllaceae* (Greenberg jt 2011).

Greenberg'i töörühma peamised tulemused:

1. Alamsugukond *Paronychioideae* varajaselt lahknenu liinina ei moodusta monofüleetilist rühma.
2. Alamsugukonnad *Alsinoideae* ja *Caryophylloideae* koos moodustavad klaadi.
3. Alamsugukond *Caryophylloideae* praeguses mahus ei ole monofüleetiline, sest sisaldab klaadi, mis on traditsiooniliselt paigutatud alamsugukonda *Alsinoideae*.
4. Ükski suurematest perekondadest (*Arenaria*, *Cerastium*, *Dianthus*, *Gypsophila*, *Minuartia*, *Paronychia*, *Silene*, *Stellaria*) ei ole praeguses mahus rangelt monofüleetilised (Greenberg jt 2011).

Alamsugukondade polü- ja parafüleetilisus võib olla selgitatud ka analüütiliste vigadega, puudulike andmetega või hübriidiseerumisega, mis on toimunud *Caryophyllaceae* suuremate liinide vahel.

#### 4. Morfoloogilised ja anatoomilised tunnused fülogeneesi uuringutes

Liikide identifitseerimine ja klassifitseerimine toetub enamasti morfoloogiliste või anatoomiliste tunnustele, sest DNA määramine looduses ei ole veel võimalik.

Nagu ülalpool mainitud, kuulub nelgiliste sugukonna koosseisu üle 2200 liiki. Sugukonna sees tunnused varieeruvad ulatuslikult. Lisaks juba teadaolevatele liikidele kirjeldatakse pidevalt uusi liike, mis samuti vajavad klassifitseerimist. Liike avastatakse erinevates maailma osades ja erinevatest perekondadest.

Nelgiliste alamsugukondade, perekondade ja liikide eristamiseks kasutatakse järgmisi morfoloogilisi tunnuseid: lehe ehitus, paigutus, pikkus ja roodumus; õietupe ja kroonlehtede värvus ja ehitus (Bramwell 1974, Galbraith 1977, Krall jt 2007, Stace 2011). Mõnedes määrajates kasutatakse eristamistunnuseks taime pikkust (Bramwell 1974, Galbraith 1977). Clive Stace (2011) kasutab määramistunnuseks seeme ehitust.

Uute liikide kirjeldamisel kasutatakse samuti anatoomilisi ja morfoloogilisi tunnuseid. Türgis kirjeldati ja klassifitseeriti uus liik *Dianthus* perekonnast toetudes selle kroonlehtede ja tuppelhtede kujule ja pikkusele (Ilcim jt 2013). Lõuna-Ameerikas kirjeldati ja pakuti klassifikatsioon kahele uuele *Minuartia* perekonna liigile, toetudes lehtede roodumusele, kroon- ja tuppelhtede pikkusele (Nicola jt 2013). Austraalias sai kirjeldatud uued liigid perekonnast *Stellaria*. Milleri töörühm kasutas klassifitseerimistunnusteks lehtede paigutust, õisiku struktuuri, õie ehitust ja õietolmu suurust ja kuju (Miller jt 2012).

Teised nelgiliste fülogeneesi ja süstemaatika uurijad kasutavad ka õietolmu ja seemnete kuju ja suurust oma uuringutes (Jürgens jt 2012, Mostafavi jt 2013, Mostafavi jt 2014). Huvi pakkuvaks tunnuseks võib nimetada teraatide ehk teratoloogiliste struktuuride (organismide väärendid) varieeruvust ja olemasolu (Olson 2012).

Teisteks tähelepanuväärivateks tunnusteks võib nimetada nektari keemilist koostist, sekundaarsete metaboliitide ja pigmentide (nagu flavonoidid ja karotenoidid) varieeruvust.

Sekundaarsed metaboliidid omavad kaitse funktsiooni ja osalevad signaali ülekandes. Fülogeneetiliselt lähedased liigid produtseerivad enamasti sarnaseid sekundaarseid metaboliite, seega metaboliitide sarnasus võib viidata liikide sugulususele (Volodin jt 2013).

Nektari keemiline koostis võib olla korrelatsioonis õie anatoomilise ehitusega ja tolmllemistüübiga, aga see teooria vajab lisauuringuid. Õie anatoomiline ehitus on omakorda hea tunnus liigi määramiseks (Witt jt 2013).

Pigmentid osalevad signaali ülekandes, tolmllemises ja omavad kaitse funktsiooni, mis viitab sellele, et õie anatoomilised tunnused võivad olla seotud erinevate pigmentide levikuga fülogeneetiliselt lähedaste liikide vahel (Brockington jt 2011).

## 5. Nelgiliste evolutsioon

Õistaimede varase evolutsiooni uuringute põhiprobleem seisneb selles, et taimed on pehmekoelised ja fossiilseid andmeid on väga vähe. Selleks, et saada aru kuidas ja millal on toimunud erinevate liinide lahknemine peab kasutama bioinformaatilisi meetodeid. Viimased andmed näitavad, et õistaimede vanus on 180-140 Ma (Bell jt 2010). Nelgiliste sugukonna lahknemisaja kohta puudub informatsioon usaldusväärsetest allikatest.

Viimastel aastatel on toimunud kiire sekveneerimismeetodite areng, mille tõttu molekulaarne analüüs on muutunud odavamaks ja kiiremaks. Nendel põhjustel on paranenud õistaimede sugulussuhete arusaam. See võimaldab leida seoseid morfoloogiliste ja anatoomiliste tunnuste ja molekulaarsete andmete vahel.

Evolutsiooni rekonstruktsiooni raskust tekitav koht on sobivate tunnuste valik. Erinevad tööühmad uurivad mitmesuguseid tunnuseid, selleks et valida neid, mis kõige paremini sobivad erinevate sugukondade sugulussuhete uurimiseks. Nelgilised on suur sugukond ning tunnused varieeruvad ulatuslikult, sellepärast paljud tööühmad keskenduvad madalama taseme taksonoomilistele ühikutele nagu alamsugukond või klad (mis koosneb alamsugukondadest või liikidest).

Süsteematika ja evolutsiooni uurijad pakuvad erinevaid sekundaarseid metaboliite ja pigmente sobivaks uurimistunnuseks (Brockington jt 2011, Volodin jt 2013, Witt jt 2013).

Rekonstrueerides morfoloogiliste ja anatoomiliste tunnuste muutusi ja levikut fülogeneesi puul on võimalik saada informatsiooni perekondade või suuremate rühmade lahknemissündmustest, sidudes seda fossiilsete andmetega, on võimalik teha eeldusi ka nende vanusest.

Greenberg ja teised pakuvad, et esimestel *Caryophyllaceae* esindajatel olid abilehed, vabad tupplehed, väiksed õied mõnede tolmukatega, nad olid ühe-seemnelised või ebaregulaarselt avanevatega kupardega. Arvatavasti abilehed kadusid *Alsinoideae-Caryophylloideae* klaadi lahknemisel. Seltsis *Caryophyllales* pärinevad kroonlehed tolmukatest ja selleks, et saada paremat ülevaadet evolutsiooni käigust, on vaja läbi viia kroonlehtede ja tolmukate arvu muutuse analüüs (Greenberg jt 2011).

Evolutsiooni kiiruseks perekonnas *Dianthus* on hinnatud 2.2–7.6 liiki aastamiljoni kohta (Valente jt 2010). Selline kiirus võib olla selgitatud kuiva kliimaga Pleistotseeni ajastikul (Kvaternaari ajastu teine pool), eeldades seost kliima ja bioloogilise mitmekesisuse vahel. Kliima muutus (kuiv suvi) võis vallandada suvel õitsevate taimede evolutsiooni. Erinevalt paljudest teistest õistaimedest *Dianthus* õitseb suvel, mitte kevadel (Valente jt 2010).

Perekonna *Acanthophyllum* uuringud näitasid, et klaadi vanus võib olla kuni 11.1 Ma (Pirani jt 2014). Varasemate uuringute järgi selle klaadi vanus varieerub 2.48–5 Ma (Frajman jt 2009, Valente jt 2010).

Analüüsid perekonna *Arenaria* endemismi leiti, et kiire evolutsioon on tõenäoliselt toimunud peale viimast isolatsiooni sündmust või selle ajal (Yossef jt 2011).

Praegu ei ole veel selge, millised füüsilised barjäärid või ökoloogilised faktorid takistasid perekonna kosmopoliitset levikut. Isolatsioon eellasest andis võimaluse iseseisvaks evolutsiooniks ja endemismi väljakujunemiseks. Pakutakse, et isolatsioon on toimunud 9 Ma tagasi Vahemere piirkonnas (Yossef jt 2011).

Nelgilistel esineb ka polüploidisust. Polüploidisus on tavaline nähtus paljude taimede seas. Näiteks perekonnas *Dianthus* on esindatud tetra- ja heksaploidisus, on leitud populatsioonid:

1. ühe ploidsuse tasemega;
2. mitme ploidsuse tasemega, aga sama karüotüübiga;
3. erinevate karüotüüpidega.

Eeldatakse, et heksaploidisus perekonnas *Dianthus* on evolutsiooni käigus arenenud mitu korda teineteisest sõltumatute autopolüploidiseerumiste tagajärjel. Seda teooriat toetab fakt, et heksaploidid on leitud kõikide polüploidsete taksonite seas (Weiss jt 2002).

Polüploidisust esineb ka teistes nelgiliste perekondades. *Silene aegaea* on allotetraploid (kromosoomid on saadud erinevatest liikidest) ja tema polüploidisust selgitatakse geeni duplikatsiooni, liinide sorteerumise või hübriidiseerumisega. Seda järeldust toetab fakt, et *Silene*

*aegaea* omab kahte lookust, mis on tihedamini suguluses teiste liikidega (kromosoomide doonoritega), kui omavahel (Popp jt 2001).

Perekonna *Silene* liikides *S. conica* ja *S. noctiflora* on toimunud sõltumatud evolutsioonilised sündmused, mis on paralleelse evolutsiooni tunnused. On nähtud erinevaid muutusi plastiidide genoomis (mis tavaliselt on õistaimedes konserveerunud) nagu deletsioonid, suured indelid, inversioonid. Hetkel ei ole veel täpselt selge, mis mehhanismide järgi nelgiliste evolutsioon on toimunud. Eeldatakse, et seda on mõjutanud nii adaptiivsed kui ka mitte-adaptiivsed mehhanismid (Sloan jt 2014).

Evolutsiooni kiirust määravad paljud erinevad faktorid. Enamik mutatsioone tekivad reparatsioonisüsteemide vigade tõttu või on põhjustatud rekombinatsioonist. Loodusliku valiku tugevus mõjutab molekulaarse kella tiksumist. Liinide fikseerumine toimub juhuslikult, aga selle tõenäosus sõltub selle tihedusest populatsioonis. Lisaks mõjutab ahelduse tasakaalutus lookuste esinemist populatsioonis.

## Arutelu

Toetudes Smissen jt (2002), Harbaugh jt (2010), Fior jt (2006) ja Greenberg jt (2011) tööühmade tulemustele võib järeldada, et Bittrich’u poolt pakutud alamsugukonnad (*Paronychiodeae*, *Alsinoideae*, *Caryophylloideae*) ja ükski suurematest perekondadest (*Arenaria*, *Cerastium*, *Dianthus*, *Gypsophila*, *Minuartia*, *Paronychia*, *Silene*, *Stellaria*) praeguses mahus ei ole monofüleetilised rühmad.

Smissen jt (2002), Harbaugh jt (2010), Fior jt (2006) ja Greenberg jt (2011) on teinud tuuma ribosomaalse ITS järjestuse ja kloroplasti DNA erinevate regioonide analüüse. Nende analüüsides tulemustel koostatud fülogeneetilised puud kinnitavad enamasti teineteist. Sellest võib järeldada, et need molekulaarsed andmed sobivad ka edaspidiseks tööks nelgiliste sugukonna uuringutes.

Sugukonna suuruse tõttu oleks mõistlik keskenduda sugukonnast madalama tasemega rühmade sugulussuhete analüüsile, mis hiljem annaks võimaluse koostada terve sugukonna fülogeneetilist puud. Triibuste *Sileneae* ja *Alsinoideae* on võrreldes teiste sugukonna triibustega põhjalikumalt uuritud, aga nende süstemaatika vajab lisauuringuid, et välistada triibusesse mitte kuuluvaid liike. Edasiarendamist vajavad paljude perekondade sugulussuhete uuringud, mille monofüleetilisus ei ole geneetiliste analüüsides toetatud.

Edaspidisteks analüüsides sobivad üleval mainitud tuuma ribosomaalne ITS järjestus ja kloroplasti kromosoomide mitu regiooni. Parimaid tulemusi on andnud kombineeritud analüüsid. Lisaks molekulaarsetele andmetele tähelepanuvääriivateks tunnusteks võib nimetada nektari keemilist koostist, sekundaarsete metaboliitide ja pigmentide varieeruvust.

Evolutsiooni kulgemistee uuringuteks on võimalik jälgida morfoloogiliste või anatoomiliste tunnuste muutust ja varieeruvust fülogeneesipuu ulatuses. Nelgiliste sugukonna puhul ei ole veel leitud ühiseid tunnusi, mis lubaksid seda teha. Mõnede suuremate perekondade uurimisel on leitud võimalikud variandid, nagu näiteks tupplehtede suuruse ja arvu varieeruvus või polüploidus.

Kasutades ruumilise struktuuri uurimismeetodeid ja koostades algoritmilisi süsteeme, on võimalik määrata morfoloogiliste tunnuste päritolu ja arengukäiku. Sellised meetodid võivad anda häid tulemusi määramissüsteemi parandamiseks (Korona 1987). Nelgiliste sugukond on

suur ja seetõttu selle uurimiseks on võimalik valida erinevaid morfoloogilisi tunnuseid näiteks kroon- ja tupplehtede arvu ja lõhestuvuse varieeruvus.

## Kokkuvõte

Käesoleva töö eesmärgiks oli anda kirjanduse põhjal ülevaade nelgiliste (*Caryophyllaceae* Juss.) sugukonna süsteemi kujunemisest ning probleemidest ja lahendamata küsimustest nelgiliste süstemaatikas.

Sugukonna nelgilised (*Caryophyllaceae*) uuringud on näidanud, et praegu kasutusel olev süsteem (Bittrich 1993b) ei ole loomulik ja sellest tuleb loobuda. Täieliku nelgiliste fülogeneesipuu koostamiseks on vaja läbi viia täiendavaid uuringuid. Sugukonna tunnuste lai varieeruvus ja võimalik hübriidiseerumine suuremate liinide vahel raskendavad fülogeneetilist analüüsi.

Toetust leiavad analüüsid, mis põhinevad tuuma ribosomaalse ITS introni ja kloroplasti erinevate regioonide geneetilistel andmetel. Need andmed sobivad täiendavate uuringute läbiviimiseks nelgiliste sugukonna fülogeneetiliste suhete väljaselgitamiseks.

Sugukonna nelgilised evolutsiooni uuringud ei anna täpset vastust sugukonna lahknemisajast. Samuti ei ole veel täielukult selge, mis mehhanismide abil evolutsioon on toimunud, suure tõenäosusega see on nii adaptiivsete kui ka mitteadaptiivsete mehhanismide kombinatsioon. Sugukonnas on leitud paralleelse evolutsiooni tunnuseid, hübriidiseerumise sündmuste jälgi, mitmes perekonnas polüploidisuse varieeruvust, sekundaarsete metaboliitide varieeruvust. Need andmed võivad olla kasulikud evolutsiooni käigu väljaselgitamiseks.

## Summary

### Phylogeny of the family *Caryophyllaceae*

The aim of the current paper was to give an literature-based overview of the family *Caryophyllaceae* system development and problems in the family systematics.

Studies of the family *Caryophyllaceae* have shown that the old Bittrich system is not natural and it should be rejected. Further studies are required to build a complete phylogenetic tree. Huge variability of family characteristics and possible hybridization between the major lineages complicate phylogenetic analysis.

There is strong support for the phylogenetic trees based on nuclear ribosomal ITS sequences and genetic data from the different regions of chloroplast (mainly introns). These data can be used for further studies of the phylogenetic relationships of the family *Caryophyllaceae*.

Evolutionary studies of the family *Caryophyllaceae* do not provide a certain answer to the family divergence time. Mechanisms of evolution are also not yet clear. It is possible that there is a mixture of adaptive and non-adaptive mechanisms. There are found signs of the parallel evolution, hybridization events, polyploidy variation in several genera, as well as variation of secondary metabolites. These data may be useful for elucidating the evolution and phylogeny of the family.

## **Tänuavaldused**

Täna oma juhendajat toe, abi ja soovitude eest töö valmimisel. Samuti avaldan tänu doktorant Ene Koogile asjalike ja väga kasulike kommentaaride ja abi eest.

## **Kasutatud kirjandus**

- Baldwin, B. G. 1993. Molecular phylogenetics of Calycadenia (Compositae) based on ITS sequences of nuclear ribosomal DNA: chromosomal and morphological evolution reexamined. *American Journal of Botany*, 80(2), 222-238.
- Baldwin, B. G., Sanderson, M. J., Porter, J. M., Wojciechowski, M. F., Campbell, C. S., & Donoghue, M. J. 1995. The ITS region of nuclear ribosomal DNA: a valuable source of evidence on angiosperm phylogeny. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 82, 247-277.
- Bell, C. D., Soltis, D. E., & Soltis, P. S. 2010. The age and diversification of the angiosperms re-revisited. *American Journal of Botany*, 97(8), 1296-1303.
- Betham G., Hooker J. D. 1862. *Genera plantarum ad exemplaria imprimis in herbariis kewensibus servata definita*. Reeve & Company, London.
- Bittrich, V. 1993b. *The families and genera of vascular plants*, vol. 2. Springer, Berlin.
- Bramwell, D. 1974. *Wild flowers of the Canary Islands*. Stanley Thornes, London, Burford.
- Bremer, B., Bremer, K., Chase, M., Fay, M., Reveal, J., Soltis, D., ... & Stevens, P. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 141(4), 399-436.
- Bremer, K., Bremer, B., & Thulin, M. 2013. *Sissejuhatus õistaimede fülogeneesi ja süstemaatikasse*. Tartu Ülikooli Kirjastus, Tartu.
- Brockington, S. F., Walker, R. H., Glover, B. J., Soltis, P. S., & Soltis, D. E. 2011. Complex pigment evolution in the Caryophyllales. *New Phytologist*, 190(4), 854-864.
- Cai, Q., & Chinnappa, C. C. 1989. Studies on the *Stellaria longipes* polyploid complex (Caryophyllaceae): characterization of the genetic basis of isozymes. *Canadian journal of botany*, 67(10), 2960-2966.
- Crawley, S. S., & Hilu, K. W. 2012. Caryophyllales: Evaluating phylogenetic signal in trnK intron versus matK. *Journal of Systematics and Evolution*, 50(5), 387-410.
- de Jussieu, A. L. 1789. *Genera plantarum secundum ordines naturales disposita juxta methodum in horto regio parisiensi exaratam, anno 1774*. Parisiis.
- Dolan, R. W. 1994. Patterns of isozyme variation in relation to population size, isolation, and phytogeographic history in royal catchfly (*Silene regia*; Caryophyllaceae). *American Journal of Botany*, 81(8), 965-972.

- Eggens, F. 2006. Systematics in Sileneae (Caryophyllaceae)-Taxonomy and Phylogenetic patterns. Acta Universitatis Upsaliensis. Digital Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Science and Technology 251, 37.
- Fior, S., Karis, P. O., Casazza, G., Minuto, L., & Sala, F. 2006. Molecular phylogeny of the Caryophyllaceae (Caryophyllales) inferred from chloroplast matK and nuclear rDNA ITS sequences. American Journal of Botany, 93(3), 399-411.
- Frajman, B., Eggens, F., & Oxelman, B. 2009. Hybrid origins and homoploid reticulate evolution within Heliosperma (Sileneae, Caryophyllaceae)—a multigene phylogenetic approach with relative dating. Systematic Biology, 58(3), 328-345.
- Galbraith, J. 1977. A field guide to the wild flowers of South-East Australia. Collins, Sydney, London.
- Greenberg, A. K., & Donoghue, M. J. 2011. Molecular systematics and character evolution in Caryophyllaceae. Taxon, 60(6), 1637-1652.
- Harbaugh, D. T., Nepokroeff, M., Rabeler, R. K., McNeill, J., Zimmer, E. A., & Wagner, W. L. 2010. A New Lineage Based Tribal Classification of the Family Caryophyllaceae. International journal of plant sciences, 171(2), 185-198.
- Heinaru, A. 2012. Geneetika: õppik kõrgkoolidele. Tartu Ülikooli Kirjastus, Tartu.
- Hilu, K. W., Borsch, T., Müller, K., Soltis, D. E., Soltis, P. S., Savolainen, V., ... & Chatrou, L. W. 2003. Angiosperm phylogeny based on matK sequence information. American Journal of Botany, 90(12), 1758-1776.
- Ilcim, A., Behçet, L., & Mükemre, M. 2013. Dianthus vanensis (Caryophyllaceae), a new species from Turkey. Turkish Journal of Botany, 37(2), 219-224.
- Jürgens, A., Witt, T., & Gottsberger, G. 2012. Pollen grain size variation in Caryophylloideae: a mixed strategy for pollen deposition along styles with long stigmatic areas? Plant systematics and evolution, 298(1), 9-24.
- Keshavarzi, M., and S. Esfandani Bozchaloyi. 2013. Leaf and stem comparative anatomical analysis of three genera of Alsinoideae (Caryophyllaceae). Iran. J. Bot. 20 (1), 71-79.
- Korona, V.V.(Корона В.В.). 1987. Основы структурного анализа в морфологии растений. Издательство Уральского Университета, Свердловск. (vene keeles)
- Krall, H., Kukkk, T. jt. 2007: Eesti taimede määraja.—2. parandatud ja täiendatud trükk. Eesti Loodusfoto, Tartu.

- Kumar, J.L. 2000. Advanced Learner's Dictionary of Botany. Anmol publications Pvt. Ltd., New Delhi.
- Kuo, L. Y., Li, F. W., Chiou, W. L., & Wang, C. N. 2011. First insights into fern matK phylogeny. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 59(3), 556-566.
- Lauterbach, D., Burkart, M., & Gemeinholzer, B. 2012. Rapid genetic differentiation between ex situ and their in situ source populations: an example of the endangered *Silene otites* (Caryophyllaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 168(1), 64-75.
- Li, D. Z., Gao, L. M., Li, H. T., Wang, H., Ge, X. J., Liu, J. Q., ... & Duan, G. W. 2011. Comparative analysis of a large dataset indicates that internal transcribed spacer (ITS) should be incorporated into the core barcode for seed plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(49), 19641-19646.
- Masing, V. 1992. *Ökoloogialeksikon: loodusteaduslik oskussõnastik*. Eesti Entsüklopeediakirjastus, Tallinn.
- Mengoni, A., Barabesi, C., Gonnelli, C., Galardi, F., Gabbrielli, R., & Bazzicalupo, M. 2001. Genetic diversity of heavy metal-tolerant populations in *Silene paradoxa* L.(Caryophyllaceae): a chloroplast microsatellite analysis. *Molecular Ecology*, 10(8), 1909-1916.
- Mihhailova, J. V., & Rodinov, A.V. (Михайлова, Ю. В., & Родионов, А. В.). 2015. молекулярно-генетические признаки в систематике и филогенетике Sileneae. 50 лет без КИ Мейера: XIII Московское совещание по фи, 196. (vene keeles)
- Miller, C. H., & West, J. G. 2012. A Revision of the genus *Stellaria* (Caryophyllaceae) in Australia. *Journal of the Adelaide Botanic Garden* (25), 27-54.
- Minder, A. M., Rothenbuehler, C., & Widmer, A. 2007. Genetic structure of hybrid zones between *Silene latifolia* and *Silene dioica* (Caryophyllaceae): evidence for introgressive hybridization. *Molecular Ecology*, 16(12), 2504-2516.
- Mostafavi, G., & Mehregan, I. 2014. Pollen micro-morphology of the *Minuartia* species (Caryophyllaceae) in Iran. *J. International Journal of Modern Botany*, 4(1), 8-21.
- Mostafavi, G., Assadi, M., Nejadiattari, T., Sharifnia, F., & Mehregan, I. 2013. Seed micromorphological survey of the *Minuartia* species (Caryophyllaceae) in Iran. *Turkish Journal of Botany*, 37(3), 446-454.

- Nicola, M. V., & Pozner, R. 2013. A new species of *Minuartia* (Caryophyllaceae) restricted to the high Andes of South America. *Phytotaxa*, 111(1), 53-56.
- Olson, M. E. 2012. The developmental renaissance in adaptationism. *Trends in Ecology & Evolution*, 27(5), 278-287.
- Oxelman, B. 1996. RAPD patterns, nrDNA ITS sequences and morphological patterns in *Silene* section *Sedoideae* (Caryophyllaceae). *Plant systematics and evolution*, 201(1-4), 93-116.
- Pirani, A., Zarre, S., Pfeil, B. E., Bertrand, Y. J., Assadi, M., & Oxelman, B. 2014. Molecular phylogeny of *Acanthophyllum* (Caryophyllaceae: Caryophylleae), with emphasis on infrageneric classification. *Taxon*, 63(3), 592-607.
- Popp, M., & Oxelman, B. 2001. Inferring the history of the polyploid *Silene aegaea* (Caryophyllaceae) using plastid and homoeologous nuclear DNA sequences. *Molecular phylogenetics and evolution*, 20(3), 474-481.
- Raghavan, V. 2006. Double fertilization: embryo and endosperm development in flowering plants. Springer Science & Business Media, Germany.
- Sanderson, M. J., & Hufford, L. (Eds.). 1996. Homoplasy: the recurrence of similarity in evolution. Academic Press, San Diego.
- Sloan, D. B., Triant, D. A., Forrester, N. J., Bergner, L. M., Wu, M., & Taylor, D. R. 2014. A recurring syndrome of accelerated plastid genome evolution in the angiosperm tribe *Sileneae* (Caryophyllaceae). *Molecular phylogenetics and evolution*, 72, 82-89.
- Smitsen, R. D., Clement, J. C., Garnock-Jones, P. J., & Chambers, G. K. 2002. Subfamilial relationships within Caryophyllaceae as inferred from 5' *ndhF* sequences. *American Journal of Botany*, 89(8), 1336-1341.
- Stace, C. 2011. *New flora of the British Isles*. Cambridge University press, Cambridge.
- Valente, L. M., Savolainen, V., & Vargas, P. 2010. Unparalleled rates of species diversification in Europe. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 277(1687), 1489-1496.
- Weiss, H., Dobeš, C., Schneeweiss, G. M., & Greimler, J. 2002. Occurrence of tetraploid and hexaploid cytotypes between and within populations in *Dianthus* sect. *Plumaria* (Caryophyllaceae). *New Phytologist*, 156(1), 85-94.

- White, T. J., Bruns, T., Lee, S. J. W. T., & Taylor, J. W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: a guide to methods and applications*, 18, 315-322.
- Viljasoo, L. 1971. Eesti NSV floora VIII. Valgus, Tallinn.
- Witt, T., Jürgens, A., & Gottsberger, G. 2013. Nectar sugar composition of European Caryophylloideae (Caryophyllaceae) in relation to flower length, pollination biology and phylogeny. *Journal of evolutionary biology*, 26(10), 2244-2259.
- Volodin, V.V., Štšadrin, D., Põlina, J., Druz, J., Volodina, S., Tšadin, I., & Dajnan, L. (Володин, В. В., Шадрин, Д., Пылина, Я., Друзь, Ю., Володина, С., Чадин, И., & Дайнан, Л.) 2013. Молекулярная филогения и хемотаксономия экидистероидсодержащих растений семейств Caryophyllaceae Juss. и Asteraceae Dumort. имени ЮА Овчинникова, 9(1), 21. (vene keeles)
- Yilmaz, Ö., Kaynak, G., Daskin, R., & Meriçlioglu, A. 2011. *Dianthus goekayi* (Caryophyllaceae), a new species from Turkey. In *Annales Botanici Fennici* (Vol. 48, No. 1, pp. 74-78). Finnish Zoological and Botanical Publishing Board.
- Youssef, S., Baumel, A., Véla, E., Juin, M., Dumas, E., Affre, L., & Tatoni, T. 2011. Factors underlying the narrow distribution of the Mediterranean annual plant *Arenaria provincialis* (Caryophyllaceae). *Folia Geobotanica*, 46(4), 327-350.

### **Interneti leheküljed:**

APG III. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III

[<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1095-8339.2009.00996.x/pdf>] 25.mai 2015

Eesti eElurikkus – Klassifikatsioon

[[http://iris.ut.ee/elurikkus/elr\\_tree.php?lang=est&id=18036&rank=50&id\\_intro=2](http://iris.ut.ee/elurikkus/elr_tree.php?lang=est&id=18036&rank=50&id_intro=2)] 25.mai 2015

Eesti õigekeelsussõnaraamat ÕS 2013" (Eesti Keele Sihtasutus, Tallinn 2013).

[<http://www.eki.ee/dict/qs/>] 31.märts 2015

IAPT. International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Melbourne Code) adopted by the Eighteenth International Botanical Congress Melbourne, Australia, July 2011.

[<http://www.iapt-taxon.org/nomen/main.php>] 20.mai 2015

NCBI andmebaas

[[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP\\_051040.2](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_051040.2)] 25.mai 2015

Riigi Teataja. Loodusobjekti kaitse alla võtmise korra ning II kategooria kaitsealuste taime-, seene- ja loomaliikide ning kivististe nimekirjade kinnitamine

[<https://www.riigiteataja.ee/akt/30298>] 25.mai 2015

## **Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks**

Mina, \_\_\_\_\_ Jekaterina Grober \_\_\_\_\_,  
(*autori nimi*)

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose  
Sugukonna nelgilised (*Caryophyllaceae*) fülogenees \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
(*lõputöö pealkiri*)

mille juhendaja on \_\_\_\_\_ Silvia Pihu \_\_\_\_\_,  
(*juhendaja nimi*)

- 1.1. reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;
  - 1.2. üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.
2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
  3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, **25.05.2015**