

*“Large scale phylogenetic patterns of diversification in
Bryophytes”*

PhD thesis presented by
Benjamin Laenen

Lophocolea heterophylla

Photo B.Laenen

Université de Liège

*“Large scale phylogenetic patterns of diversification in
Bryophytes”*

Benjamin Laenen

Thèse déposée en vue de l'obtention du grade de docteur en
Sciences biologiques

Promoteur : Alain Vanderpoorten

Année 2013

“Evolution has no pinnacle and there is no such things as evolutionnary progress”

Matt Ridley

“Evolution is within us, around us, between us, and its workings are embedded in the rocks of aeons past”

Richard Dawkins

© Copyright. Aux termes de la loi belge du 30 juin 1994, sur le droit d’auteur et les droits voisins, seul l’auteur a le droit de reproduire partiellement ou complètement cet ouvrage de quelque façon et forme que ce soit ou d’en autoriser la reproduction partielle ou complète de quelque manière et sous quelque forme que ce soit. Toute photocopie ou reproduction sous une autre forme est donc faite en violation de ladite loi et des modifications ultérieures.

Summary

In the course of land plant colonization, many once-dominant plant lineages have either gone extinct or been reduced to an ecological role that represents just a shadow of their past glory. The coincidence of the diversification of each land plant lineage with a decline in species numbers of the previously dominant group has promoted the sequential replacement hypothesis. Bryophytes, which comprise 15-20,000 species of liverworts, mosses, and hornworts, are considered the closest modern relatives of the ancestors to the earliest land plants. The ancient origin of bryophytes and their low level of endemism, together with the close resemblance between fossil and extant taxa raised the hypothesis that bryophytes exhibit a low evolutionary potential. This hypothesis was further circumstantiated by the interpretation of bryophyte species striking range disjunctions in terms of vicariance (ancient vicariance hypothesis, AVH), leading to the consideration of bryophytes as “unmoving, unchanging sphinxes of the past”. In bryophytes, molecular dating analyses evidenced, however, that disjunctions that are spatially consistent with an ancient vicariance hypothesis are much more recent than what that hypothesis would predict, pointing to a major role of dispersal to explain current range disjunctions (Long Distance Dispersal Hypothesis, LDDH). Bryophytes disperse by spores and asexual diaspores, which are assumed to play a complementary role, the former contributing to random LDD and the latter to frequent short-distance dispersal (SDD). Due to fertilization constraints, spores are much more frequently produced by monoicous species than by dioicous ones. Therefore, if, as theory predicts, spores are involved in LDD, range size should also be correlated with sexual condition and monoicous species are expected to exhibit larger ranges than dioicous ones. Inheritability in mating systems and associated life-history traits is, therefore, expected to lead closely related species to exhibit more similar range sizes than distantly related ones, resulting in the intriguing hypothesis that distribution ranges are, similarly, phylogenetically conserved. Alternatively, if range sizes are not explained by the inheritability of mating systems and correlated life-history traits, but result from the asymmetric division of an ancestral range (vicariance), range sizes of sister species are expected to be dissimilar.

In this thesis, I analyzed an 8-genes phylogeny of the liverwort Tree of Life to address the following questions:

- Are liverworts, in line with the sequential replacement hypothesis and as the AVH predicts, a slowly evolving lineage? Did they, on the contrary, dynamically take advantage of the new ecological opportunities offered by the emergence of gymnosperm or angiosperm dominated forests and experience bursts in diversification rates?
- Can the range of the disjunct distributions exhibited by bryophyte species be explained, as expected by the LDDH, in terms of the heritability of dispersal traits and mating systems, potentially leading to the heritability of range size? Conversely, does asymmetric range inheritance through vicariance, in agreement with the AVH, lead to the absence of phylogenetic signal in range size?
- What are the evolutionary trade-offs among mating systems and other life-history traits, shaping the life-history strategies in liverworts?
- What are the taxonomical consequences of mating system evolution in liverworts?

In full contradiction with views of the group as a ‘sphinx of the past’ with limited evolutionary capacities and slow rates of molecular evolution, we show that liverworts experienced several shifts in diversification rates that peak in the late Cenozoic. Altogether, our results contradict the sequential replacement hypothesis. In line with the interpretation that many adaptations of bryophytes to life in a terrestrial environment, such as water-conducting structures, stomata, and endosymbioses are not the precursors of the ones of vascular plants but instead evolved independently, the results indicate that bryophytes evolved in parallel to vascular plants and are still in an active period of diversification.

Rejection of the sequential replacement hypothesis points to a much more recent evolutionary origin of extant liverwort diversity that is incompatible with the timing of continental drift and therefore points to a recent long-distance dispersal hypothesis. Despite the strong heritability of dispersal life-history traits, range size was not heritable in the group. In fact, the only trait that correlated to range size was the production of

asexual specialized diaspores, challenging the idea that spores only are involved in LDD and potentially obscuring the correlation between mating systems and range size.

Recurrent transitions from dioicous to monoicous lineages were observed across the liverwort Tree of Life, suggesting that they are adaptive. Although not involved in range size, shifts in mating systems are correlated to a suite of adaptive life-history traits during specific habitat transitions.

The fast rates of homoplastic evolution in mating systems, as well as the suite of life-history traits that correlates to it, suggest that these characters might be taxonomically misleading and gave an example of application in the genus *Leptoscyphus*. A more complete re-assessment of liverwort taxonomy in the context of the 'Liverwort Tree of Life' project will certainly offer the appropriate framework to propose a revised classification and allow a more accurate assessment of character evolution and biogeographical patterns in the group.

Résumé

Au cours de l'évolution des plantes terrestres, des lignées ayant dominé les écosystèmes se sont éteintes ou ont été réduites à un rôle écologique mineur en comparaison de leur dominance passée. La conjonction d'événements majeurs d'extinction dans des lignées anciennes et la diversification des lignées plus récentes a promu l'hypothèse du remplacement séquentiel des lignées végétales. Dans ce contexte, les bryophytes, un groupe paraphylétique avec une diversité approximative de 15 à 20 000 espèces, incluant les hépatiques, les mousses et les anthocérotes, sont considérées comme étant la première lignée ayant divergé chez les plantes terrestres. Leur ancienne origine, leur faible taux d'endémisme à l'échelle mondiale ainsi que la grande similitude morphologique des espèces actuelles et fossiles a mené à l'hypothèse que les bryophytes sont en état de stase évolutive avec peu de chances d'évolution future. Cette idée fut ensuite appuyée par l'observation de disjonctions transocéaniques importantes à l'échelle spécifique interprétées comme le résultat d'événements de vicariance très ancienne. Cependant, ces dernières années, des phylogénies moléculaires datées ont rajeuni considérablement l'âge de ces disjonctions, mettant ainsi en exergue le rôle primordial de la dispersion à longue distance pour expliquer les patrons de distribution observés chez les bryophytes. Dans ce groupe, la dispersion s'opère via des spores et des propagules asexuées, les premières impliquées dans les longues dispersions, les secondes responsables de la propagation à plus courte échelle. La contrainte d'une fécondation en milieu aqueux, rend la production de spores nettement plus fréquente chez les espèces monoïques par rapport aux dioïques, chez qui la plus faible fréquence de production est due à la séparation spatiale des sexes. En conséquence, la théorie prédit que l'aire des espèces monoïques serait plus étendue que celle des espèces dioïques. Le caractère héritable des systèmes de reproduction et des traits d'histoire de vie permettrait d'émettre l'hypothèse originale d'une héritabilité phylogénétique des tailles d'aires de répartition. Si les tailles d'aires de répartition sont a contrario inexplicables par l'héritabilité des systèmes de reproduction et des traits d'histoire de vie associés, l'hypothèse d'une division asymétrique (vicariance) d'une aire ancestrale rendant la tailles des aires des espèces filles différentes, doit être avancée.

Au cours de cette thèse, j'ai utilisé une phylogénie des hépatiques faisant partie intégrante du projet « Liverwort Tree of Life » pour répondre aux questions suivantes :

- Est-ce que l'hypothèse du remplacement séquentiel s'applique chez les hépatiques, qui pourraient alors être considérées comme une lignée avec un faible potentiel évolutif ? Ou, au contraire, l'émergence des gymnospermes puis des angiospermes leur a-t-elle été profitable par la création de nouvelles niches écologiques ?
- Les distributions disjointes observées chez les bryophytes peuvent-elles être expliquées, comme prévu par l'hypothèse de la dispersion à longue distance, par l'héritabilité des traits d'histoire de vie et des systèmes de reproduction, entraînant potentiellement une héritabilité de la taille de l'aire ? Au contraire, est-ce que l'absence de signal phylogénétique dans la taille d'aires pourrait être expliquée par une asymétrie de celle-ci due à la vicariance ?
- Quels sont les compromis évolutifs entre systèmes de reproduction et traits d'histoire de vie et quels impacts, ces compromis ont-ils sur les stratégies évolutives chez les hépatiques ?
- Quelles sont les conséquences taxonomiques des transitions entre systèmes de reproduction chez les hépatiques ?

En totale contradiction avec l'image de « fossiles vivants » associée aux hépatiques, nous montrons qu'elles ont connu deux périodes d'accélération de leur diversification avec les taux les plus élevés trouvés au Cénozoïque. Ces résultats contredisent donc l'hypothèse du remplacement séquentiel des flores terrestres. En conséquence, certains caractères des bryophytes tels que des structures vasculaires, stomates et endosymbioses ne seraient pas les précurseurs de ceux des plantes vasculaires mais bien le résultat d'une évolution en parallèle qui serait toujours en cours.

L'inapplicabilité de l'hypothèse du remplacement séquentiel des flores en faveur d'une origine récente de la diversité chez les hépatiques, rend caduque l'interprétation des disjonctions par la dérive des continents et pointe vers le rôle prépondérant de la dispersion à longue distance. Nous montrons cependant que la taille des aires de répartition n'est pas héritable malgré la forte héritabilité des systèmes de reproduction et des traits d'histoire de vie. De plus, seulement un trait d'histoire de vie, la production de propagules asexuées, est corrélé avec la taille de l'aire de répartition ce qui souligne leur rôle, précédemment considéré comme négligeable, dans la dispersion à longue distance.

Nous avons observé des transitions récurrentes des systèmes de reproduction, dans le sens allant de la dioécie vers la monoécie, suggérant un rôle adaptatif de cette dernière au cours de l'évolution des hépatiques. Bien qu'ayant un rôle mineur dans la taille des aires de répartition, nous montrons que les transitions de systèmes de reproduction impliquent donc des changements de stratégie adaptative notamment lors de transition d'habitats.

Finalement, le taux élevé d'homoplasie dans l'évolution des systèmes de reproduction ainsi que leur conséquence sur les traits morphologiques suggère que ces derniers pourraient être taxonomiquement ambigus. Nous donnons ici un exemple de conséquences taxonomiques d'une transition de système de reproduction dans le genre *Leptoscyphus*. Le projet « Liverwort Tree of Life » pose donc les jalons pour construire un cadre solide en vue d'une révision taxonomique qui permettra une analyse plus précise de l'évolution des caractères morphologiques et des patrons biogéographiques dans ce groupe.

Acknowledgments

I would like to thank first my supervisor Alain Vanderpoorten for his constant support during these four years and for the many scientifically rich discussions we had together. I thank also Jon and Blanka Shaw, in charge of the Litol project, who let me the leadership for analyzing the diversification aspects inside the important Liverwort Tree of Life project. I want also particularly to thank the Pr. Robert Gradstein for his help on the scoring of characters in liverworts. Thanks also to Nicolas Devos who let me participate in his work on the genus *Radula*. Thanks to Jesus Muñoz, who hosted me one month in his lab in Madrid, to Michael Stech, for the recurrent stays I have done in Leiden University, to Stuart MacDaniel, for hosting me three months in his lab at the University of Florida, and to Laura Forrest, David Bell and David Long for their help during my stay at the Royal Botanical Garden in Edinburgh. I am grateful to the FNRS and the FRIA, to SYNTHESYS grants, NSF and the WBI.

I also thank all the members of the lab, permanent or temporary, for the scientific discussions but also good moments we shared together; Jairo Patiño, Virginie Hutsemékers, Silvia Calvo, Manuel Gil Lopez, Ruben Mateo, Mercia Silvia, Laurent Gohy and Florian Zanatta.

Thanks to my family for their support, especially to my godmother Janick, who despite the difficulty of life has always been supportive. Thanks also to my father and mother in law, Luc and Yvette for their general interest and the constant care they provided.

Finally, I want to thank Aurélie Désamoré, with whom I have shared all the good and bad moments during those four years, and with whom I want to share the future ones.

Benjamín

Table of contents

•	Summary (English – Français)	4
•	Acknowledgments	8
•	General introduction	10
•	Chapter one: “ <i>Old but still active: bryophytes are not a sphinx of the past</i> ”	17
•	Chapter two: “ <i>Range size heritability in liverworts: does sex really matter?</i> ”	35
•	Chapter three: “ <i>Evolution of sexual systems, dispersal strategies and habitat selection in the liverwort genus Radula</i> ”	54
•	Chapter four: “ <i>Striking autapomorphic evolution in Physotheca J.J.Engel & Gradst. (Marchantiophyta: Lophocoleaceae) blurred its actual relationships with Leptoscyphus Mitt.</i> ”	67
•	Discussion	74
•	List of publications	85