

**Tesi di Dottorato in Biologia Avanzata**

**Sistematica molecolare**

**Analisi filogenetica delle *Dipsacaceae* Juss. e del genere**

***Lomelosia* Rafin.**

**XIX Ciclo**

**2003-2006**

**Candidato Mariano Avino**

**Tutor Prof. Paolo Caputo**

**Cotutor Prof. Aldo Moretti**

**SOMMARIO**

1	Introduzione	3
1.1	Le Dipsacaceae Juss.	3
1.1.1	Le Dipsaceae e le Knautieae.	7
1.1.2	Le Scabioseae.	11
1.2	Lomelosia Rafin.	13
1.2.1	Morfologia.	13
1.2.2	Biogeografia.	14
1.2.3	Considerazioni storiche.	14
1.2.4	Descrizione dei gruppi secondo Verláque (1986b).	18
1.2.5	Cariologia.	27
1.2.6	Palinologia.	33
1.2.7	L'evoluzione del genere secondo Verláque (1986b).	40
1.2.8	Lavori successivi su Lomelosia.	44
1.3	Obbiettivi.	45
2	Materiali e metodi	45
2.1	Scelta dei marcatori.	45
2.2	Scelta dei taxa.	47
2.3	Estrazione di DNA.	48
2.4	Analisi su gel d'agarosio.	48
2.5	Amplificazione del marcatore via PCR.	48
2.6	Sequenziamento.	49
2.7	Analisi dei dati mediante tools bioinformatici.	51
3	Risultati	51
3.1	Analisi filogenetica delle Dipsacaceae.	51
3.2	Analisi filogenetica di Lomelosia.	57
4	Discussione	64
4.1	Le Dipsacaceae.	64
4.2	Il genere Lomelosia.	68
5	Bibliografia	85

## 1 Introduzione

### 1.1 Le *Dipsacaceae* Juss.

Le *Dipsacaceae* Juss. sono una piccola famiglia di Angiosperme del Vecchio Mondo, composte da tredici generi e 250 - 350 specie (Ehrendorfer, 1964a, Verláque 1977). La famiglia fu descritta dal botanico francese A. L. de Jussieu (1748-1836), nel suo *Genera Plantarum* (1789); a lui si deve la costituzione di una famiglia dei “*dipsacarum genera*” che trova in *Dipsacus*, comunemente noto come cardo dei lanaioli, il suo genere più rappresentativo. Sister group (fig. 1) della famiglia delle *Valerianaceae* Batsch, in particolare con *Triplostegia* Wall. ex DC (Judd *et al.*, 1994; Backlund & Donoghue, 1996; Backlund & Bremer, 1997; Bell *et al.*, 2001; Donoghue *et al.*, 2001; Bell & Donoghue, 2003; Zhang *et al.*, 2003; Bell, 2004; Pyck & Smets, 2004). La segregazione di quest’ultima famiglia dalle *Dipsacaceae* ha consentito a queste ultime di non subire grandi modifiche in termini di composizione dei taxa, diversamente da quanto osservato per l’aumentato numero dei generi. Infatti, la distribuzione dei taxa all’interno della famiglia è sempre stata oggetto di accese controversie, per cui, i confini di generi e sezioni (nonché delle tribù) sono stati più volte riarrangiati nel corso del tempo in base alla generale similarità morfologica dei taxa e alla loro diversità in dettagli strutturali.

Le caratteristiche morfologiche (fig. 1) tradizionalmente usate per distinguere le *Dipsacaceae* sono: la presenza di un’infiorescenza a capolino, o meglio da un capolino di capolini (sincefalo), costituita tipicamente da molti fiori assai piccoli, posti su un ricettacolo provvisto di setole o bratteole scariose che s’inseriscono fra i fiori stessi, ermafroditi o femminili, da attinomorfi (di rado) a zigomorfi; la presenza di un epicalice (incluso nei fiori), fatto a guisa di collare costituito da bratteole connate che possono o meno espandersi distalmente in una corona, contenente all’interno il calice che circonda l’ovario infero e uniovulato e che avvolge il frutto favorendo la dispersione del seme, grazie ad appendici dette reste calicine, lisce o piumose che possono funzionare come pappo o come ganci per la diffusione epizoocora, a seconda delle caratteristiche morfologiche. La corolla è costituita da 4 o 5 petali, liberi o a volte 2 fusi a formare un labbro. L’androceo è costituito da 4 stami epipetali [2 soltanto in *Pterocephalidium diandrum* (Lag.) G. López]. L’ovario è infero, uniloculare, con un solo ovulo anatropo. Lo stigma è semplice o bilobato.

Il frutto si presenta secco, indeiscente, racchiuso nell'epicalice e spesso sormontato da un calice persistente; il seme è privo di endosperma. Le foglie sono opposte e prive di stipole, indivise o in vario modo pinnate, fino a lirate; nei generi *Cephalaria*, *Knautia* e *Scabiosa*, come anche nelle *Valerianaceae*, le foglie sono spesso arrangiate in rosette basali, mentre le foglie cauline sono quasi sempre opposte.

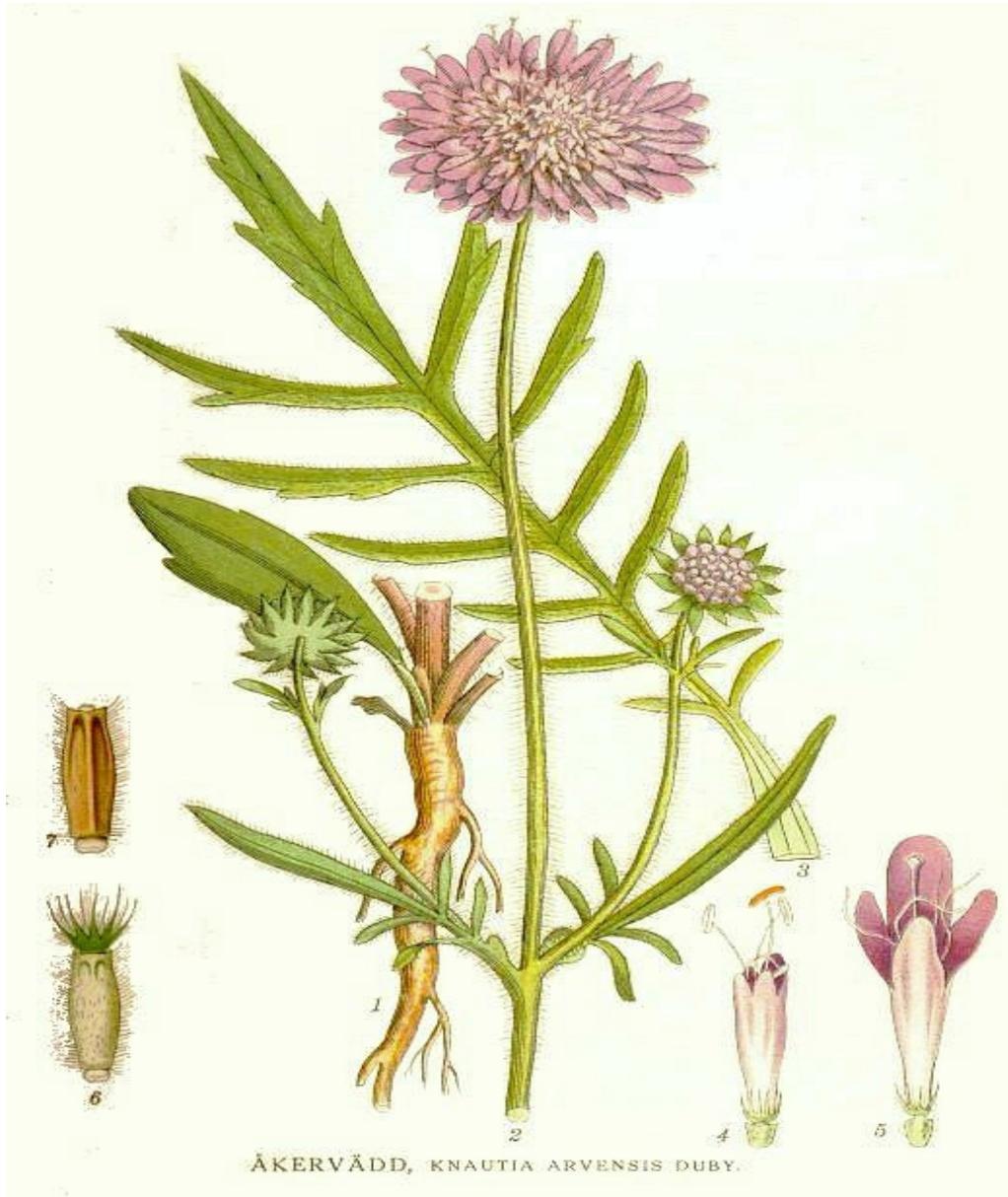


Figura 1: Caratteristiche morfologiche delle *Dipsacaceae*.

Differenti gruppi di *Dipsacaceae* si sono specializzati, in diversi areali, con modalità diverse di dispersione dei frutti in tutti i casi orientate verso un progressivo miglioramento dei meccanismi necessari a tale scopo sotto l'influsso della selezione.

Tali meccanismi sono collegati, come già detto, alla morfologia delle reste calicine. In *Dipsacus*, l'irrigidimento e l'allungamento ad uncino delle brattee, assieme all'habitus simile a quello di un cardo rendono possibile un efficace catapultamento degli acheni quando la pianta viene sfiorata dagli animali. Nei generi anemocori, le brattee sono ridotte. In *Pterocephalus* le setole del calice aumentano di numero, si allungano e si rivestono di peli formando un pappo; in *Scabiosa*, l'epicalice si adorna di una larga corona membranacea con funzione di paracadute; in *Knautia*, la formazione di un elaiosoma ricco di sostanze nutritive alla base del frutto (fig. 1) facilita la dispersione ad opera delle formiche (mirmecocoria). Infine, in alcune specie di *Cephalaria* e *Scabiosa*, la presenza di denti ingranditi del calice o dell'epicalice ha portato alla formazione di frutti adesivi che assicurano le diaspore ai corpi degli animali garantendone la loro diffusione (epizoocoria).

Le *Dipsacaceae* sono suddivise nei seguenti generi:

- 1) *Cephalaria* Schrad. ex Roem. & Schult.: calice terminante a scodellina o coppa, a lembo peloso con più di 5 denti o setole; involucri a brattee esterne assai simili alle interne ed a quelle del ricettacolo.
- 2) *Dipsacus* L.: pagliette del ricettacolo rigide, aculeate, pungenti; piante aculeate o setolose a involucri spinosi.
- 3) *Knautia* (L.) Coulter: ricettacolo provvisto solo di peli o setole; epicalice a tubo privo di solchi, dorsoventralmente compresso, provvisto di elaiosoma.
- 4) *Lomelosia* Raf.: epicalice con 8 fovee sommitali, sormontato da una corona ialina. Presenta inoltre un diaframma molto elaborato.
- 5) *Pseudoscabiosa* Devesa: epicalice grossolanamente tetragono, provvisto di una corona ialina o verde. Calice con 5 reste rigide o con molte reste piumose.
- 6) *Pterocephalidium* (Lag.) G. López: Epicalice asimmetrico, con una singola resta sommitale. Calice con reste piumose; due stami.
- 7) *Pterocephalus* Adans.: calice con 10-30 lunghe setole barbato-piumose.
- 8) *Pycnocomon* Hoffmanns. & Link: brattee del capolino saldate fra loro sino a metà della lunghezza; fiori con epicalice a lembo cortissimo e corona a 5 lobi, bianco-giallastra o rosea.
- 9) *Scabiosa* L.: calice con non più di 5 setole glabre o cigliate; epicalice provvisto di 8 costole, con corona ialina espansa
- 10) *Sixalix* Raf.: epicalice parzialmente lignificato, svasato alla sommità e sormontato da una breve corona ialina.
- 11) *Succisa* Haller: calice (all'interno dell'epicalice) a 5 raggi setolosi; epicalice a 4 angoli e 4 denti.

12) *Succisella* Beck: calice caduco; epicalice a tubo glabro, a denti ottusi.

13) *Pterocephalodes* Meyer & Ehrendorfer: capolini sferici con prominenti brattee fiorali lanceolate; calice con 8-molte reste abbastanza ampie; epicalice densamente piumoso; assenza di diaframma.

Le *Dipsacaceae* sono piante annuali, biennali o perenni erbacee, solo alcune eccezioni in qualche genere (*Pterocephalus*, *Cephalaria* e *Scabiosa*) diventano suffrutescenti.

La distribuzione delle *Dipsacaceae* (fig. 2) è principalmente circum-mediterranea, con estensioni nel Medio ed Estremo Oriente (soprattutto Cina e Giappone) e in Africa (dalle montagne dell'Africa Centrale al Sud Africa).

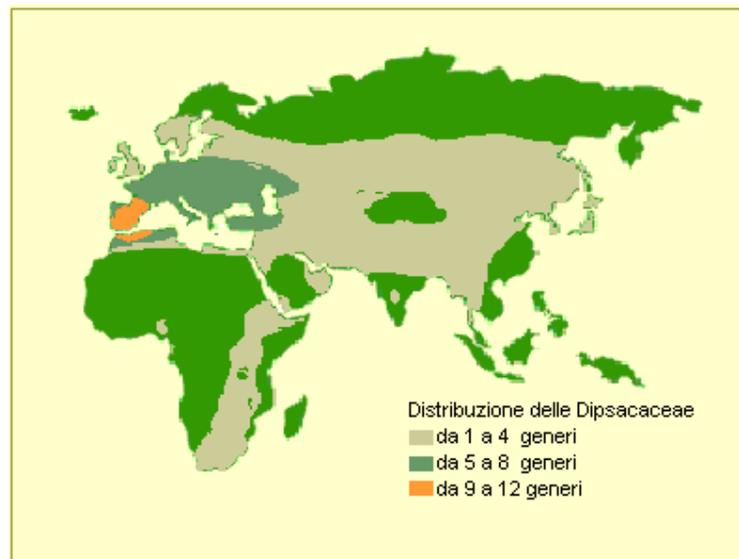


Figura 2:  
delle *Dipsacaceae*.

Distribuzione

L'area del mediterraneo occidentale può essere considerata come il centro di differenziazione delle specie di *Dipsacaceae*, mentre la regione himalayana può essere considerata l'origine di molte tra le specie più primitive della famiglia (Verlâque, 1986a).

Molte *Dipsacaceae* hanno un ampio pattern di distribuzione Est/Ovest Mediterraneo. Caputo e Cozzolino (1995) interpretarono tale distribuzione come il prodotto di molti eventi di vicarianza, alcuni dei quali potrebbero essere relativi alla separazione tra l'antico Mediterraneo e la Paratetide datata a metà Miocene (Hsü *et al.*, 1977). Eventi successivi potrebbero esser stati la causa geografica di alcuni pattern cladogenetici; in particolare, la crisi di salinità del tardo Miocene (Hsü *et al.*, 1977; Bocquet *et al.*, 1978) potrebbe aver giocato un ruolo fondamentale per diverse di esse, specialmente nella suddivisione tra *Lomelosia* e *Pycnocomon*.

La riproduzione vegetativa assolve un ruolo piuttosto marginale in questa famiglia salvo che nei generi *Knautia*, *Succisa* e *Succisella*, nei quali lo sviluppo di rizomi o di stoloni costituisce il mezzo più efficace di propagazione. Da un punto di vista economico-commerciale l'importanza delle *Dipsacaceae* appare alquanto modesta e si riferisce sia ad antiche tradizioni di medicina popolare (*Knautia arvensis* somministrata in casi di infiammazioni pettorali e nelle eruzioni cutanee; *Scabiosa* impiegata contro la scabbia) sia alla coltivazione di due specie di *Dipsacus* (*D. fullonum*, *D. ferox*) i cui capolini venivano utilizzati per cardare la lana.

L'organizzazione tassonomica delle *Dipsacaceae* è molto variata nel corso degli ultimi 150-200 anni nonostante la presenza di capolino ed epicalice le cui peculiarità indicassero l'origine comune delle *Dipsacaceae*: il numero dei generi riconosciuti è, infatti, variato da cinque (Bentham e Hooker, 1873) a diciannove (Van Tieghem, 1909). Tale discrepanza è determinata essenzialmente dal fatto che diversi autori hanno sostenuto pareri discordanti su includere o meno, nella famiglia, i generi *Morina* L. [con i recenti segregati *Acanthocalyx* (A.P. de Candolle) Van Tieghem e *Cryptothladia* (Bunge) M.J. Cannon] e *Triplostegia*.

Le *Dipsacaceae* sono state divise storicamente in tre tribù (Verlákue, 1985b, 1986a): *Dipsaceae* Rchb., *Knautieae* e *Scabioseae* DC..

### **1.1.1 Le *Dipsaceae* e le *Knautieae*.**

La tribù delle *Dipsaceae* comprendeva i generi *Dipsacus* (20 specie in 2 sezioni) e *Cephalaria* (80 specie in 4 sottogeneri) (Verlákue, 1985b). I due generi si distinguono per la lunghezza relativa delle brattee ricettacolari ed involucrali, con le prime più corte delle seconde in *Dipsacus* e con la situazione inversa in *Cephalaria*. *Dipsacus* (fig. 3) è distribuito in un areale molto ampio ma discontinuo, con centri di differenziazione in Europa *occidentale* ed Asia centro-orientale (Verlákue, 1986b, Caputo e Cozzolino 1995).



Figura 3: Capolino di *Dipsacus sylvestris* Huds.

Il genere *Cephalaria* (Figura 1) comprende specie distribuite in tre regioni: la maggior parte delle specie (circa sessanta) occupano l'area del bacino mediterraneo, le restanti sono distribuite tra l'Africa occidentale e meridionale (con circa quindici specie) e la Russia siberiana (con cinque specie).



Figura 1: Capolino di *Cephalaria leucantha* (L.) Schrad. ex Roem. & Schult.

La tribù delle *Knautieae* comprendeva un unico genere dall'elevato polimorfismo, *Knautia* (Figura 2), distribuito in tutto il mediterraneo ed Europa centro-settentrionale.



Figura 2: Capolino di *Knautia macedonia* Griseb.

*Knautia* si differenzia da tutti gli altri generi della famiglia per gli epicalici, contraddistinti da un breve pedicello rifrangente chiamato elaiosoma, tale struttura è coinvolta nella dispersione mirmecocora dei semi (Figura 3).

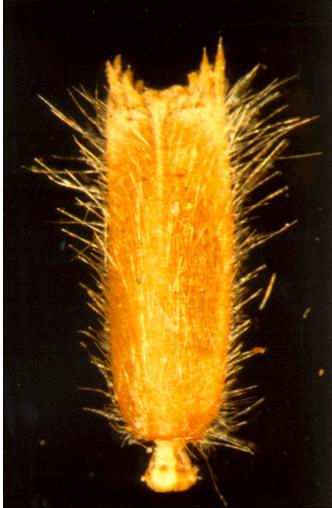


Figura 3: Epicalice di *Knautia macedonia*.

Successivamente grazie a studi filogenetici (figg. 7 e 9) su marcatori morfologici e molecolari (Caputo & Cozzolino, 1994; Caputo *et al.*, 2004) la tribù delle *Knautieae* è stata assorbita nella tribù delle *Dipsaceae* e questa a sua volta si è arricchita di altre specie storicamente appartenenti alle *Scabioseae*.

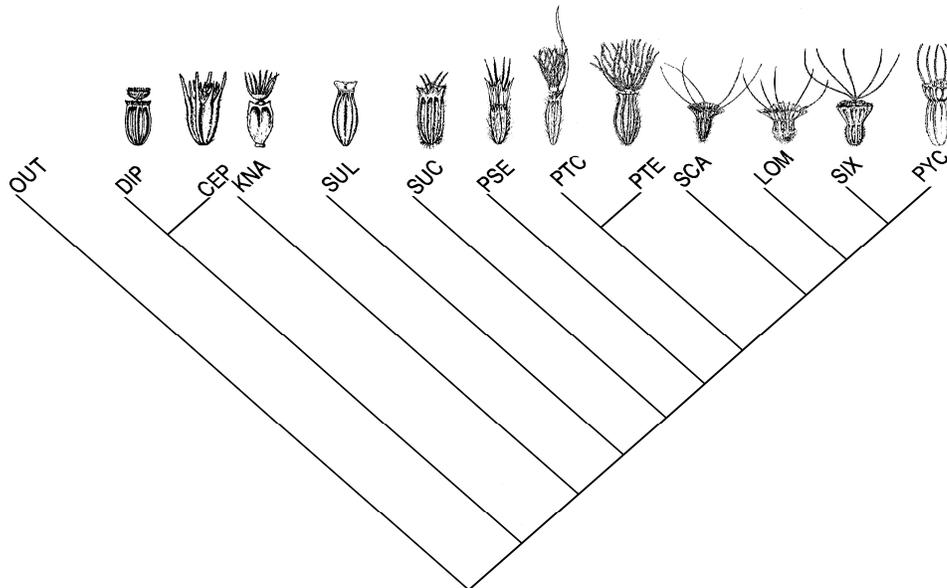


Figura 7: Albero filogenetico di Caputo e Cozzolino (1994) – Modificato. Out= outgroup; Sul=*Succisella*; PTC=*Pterocephalidium*; gli altri acronimi corrispondono alle prime tre lettere del nome del genere.

### 1.1.2 Le *Scabioseae*.

La vasta tribù delle *Scabioseae* era riconoscibile per le caratteristiche del frutto: l'epicalice avvolge il frutto assumendo un aspetto tubolare che termina superiormente con una corona membranosa all'interno della quale si trova un calice ridotto a reste dall'aspetto setoloso (fig. 8).



Figura 8: Epicalice di *Succisa pratensis* Moench.

Quasi in tutti i taxa è presente un diaframma che contribuisce a mantenere nella giusta posizione l'ovario e quindi l'achenio. Sopra l'epicalice c'è una struttura chiamata epidiaframma, anch'essa di morfologia molto variabile all'interno del taxa. La pentameria, è un'autopomorfia che si è sviluppata proprio in questa tribù a partire da un fiore tetrametro considerato primitivo per le *Dipsacaceae*.

Il genere *Scabiosa* era tradizionalmente diviso in cinque sezioni. Dopo gli studi di Verlaque (1984, 1985a, 1986a, b), Devesa (1984a, b) e Mayer & Ehrendorfer (1999), che dimostrarono storie evolutive indipendenti per le sue sezioni, Greuter e Raus (1985) designarono il genere *Scabiosa* s.s. L. per le specie tradizionalmente appartenenti al genere *Scabiosa* sect. *Scabiosa* prima e sect. *Sclerostemma* Mertens & Koch poi, *Lomelosia* alla sect. *Trochocephalus* Mertens & Koch, *Sixalix* per le specie appartenenti alla sect. *Cyrtostemma* Mertens & Koch, *Pseudoscabiosa* per molte specie arcaiche un tempo isolate nella sect. *Asterothrix* Font Quer.

Nello stesso periodo il nome *Pycnocomon rutifolium* (Vahl) Hoffmanns. & Link veniva ripreso per riferirlo alla specie *Scabiosa rutifolia* Vahl, formalmente collocata in *Scabiosa*, sect. *Pycnocomon*.

Similmente nel genere *Pterocephalus* erano, in passato, incluse varie specie atipiche che poi sono state segregate in *Pycnocomon* [Grueter & Burdet, 1985; *Pycnocomon intermedium* (Lag.)

Greuter & Burdet = *Pterocephalus intermedius* (Lag.) Coutinho], *Pterocephalidium* [López Gonzáles, 1987; per le specie *Pterocephalidium diandrum* (Lag.) G. López = *Pseudoscabiosa diandra* Devesa = *Pterocephalus diandrus* (Lag.) Lag.] e *Pterocephalodes* V. Mayer & Ehrend. (Mayer & Eherendorfer, 2000; nome adottato per tre taxa della regione himalayana). Come nel caso di alcuni taxa formalmente messi insieme nel concetto ampio di *Scabiosa*, i taxa segregati da *Pterocephalus* non sono vicini da un punto di vista filogenetico. Alla luce di recenti pubblicazioni di Mayer & Eherendorfer (1999, 2000) la tribù delle *Scabiosae* dovrebbe includere meno taxa rispetto a quelli precedentemente ascritti. Poiché l'omologia di parti dell'epicalice, soprattutto per quanto riguarda l'ontogenesi della parte distale (la corona che è membranacea in vari taxa), è stata spesso mal interpretata, come conseguenza di modificazioni diffuse in risposta a pressioni adattative nella dispersione del frutto, che favorivano omoplasie sia nella corona che nel calice. Tali lavori suggerirono che una circoscrizione monofiletica delle *Scabioseae* dovesse includere solo *Lomelosia*, *Pterocephalus* s.s., *Pycnocomon*, *Scabiosa* s.s. (*Scabiosa* sect. *Scabiosa* nel loro studio) e *Sixalix* (*Scabiosa* sect. *Cyrtostemma* nel loro studio), escludendo *Pseudoscabiosa*, *Pterocephalidium*, *Succisa*, *Succisella* e *Pterocephalodes*. Quest'ultima tendenza è confermata anche dagli studi sulle sequenze nucleari di spaziatori interni trascritti (ITS) e dall'introne plastidiale *trnL* (Caputo *et al.*, 2004), includendo *Lomelosia* e *Pycnocomon*, entrambi in relazione sister group con un clado contenente *Pterocephalus*, *Scabiosa* e *Sixalix*; l'altro clado include invece *Pseudoscabiosa*, *Succisa* e *Succisella*, sister group a *Knautia*, *Pterocephalidium*, *Dipsacus* e *Cephalaria*. Tale ipotesi filogenetica (fig. 9) indica che gli adattamenti alla dispersione del seme sono stati fondamentali nell'evoluzione delle *Dipsacaceae*, con simili pressioni selettive causate dall'avvento di forme di epicalice simili e modi di dispersione paralleli nei vari taxa. Per questa ragione, la morfologia dell'epicalice è ingannevole.

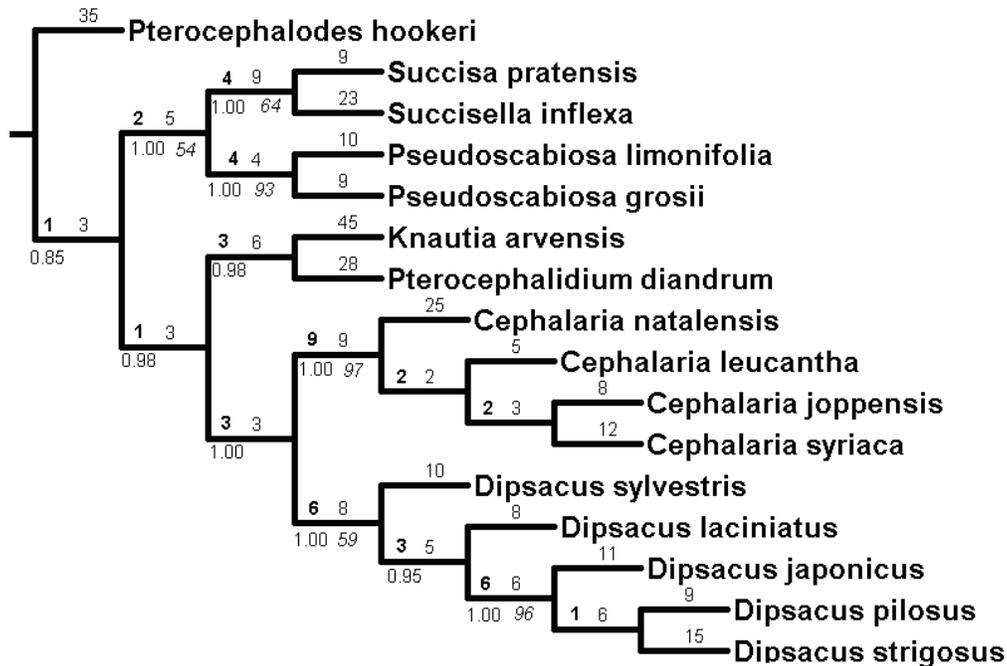


Figura 9: Albero di consenso stretto delle *Dipsacaceae*, tratto dal lavoro di Caputo *et al.*, (2004, fig. 1).

## 1.2 *Lomelosia* Rafin.

Il genere *Lomelosia*, appartenente alla tribù delle *Scabioseae* (Verl aque, 1986a, b),   costituito da circa 50 specie (Verl aque, 1986b; Mayer & Ehrendorfer, 1999) distribuite per lo pi  dalla regione mediterranea al Medio Oriente.   il gruppo pi  diversificato e numericamente pi  importante della tribù *Scabioseae* (Verl aque, 1986b); tuttavia, in ragione della sua ripartizione geografica (gran parte del Medio Oriente) non avuto grande attenzione da parte dei botanici.

### 1.2.1 Morfologia.

Il genere si presenta molto evoluto da un punto di vista morfologico (Verl aque, 1986b) e si caratterizza per la presenza di:

- Un capolino sempre raggiato a corolla pentamera,
- Un calice con 5 reste (quasi mai 10) rigide e pubescenti,
- Una corona dell'epicalice sviluppata in limbo ialino, glabro, multinervo e pi  o meno svasato,
- Un tubo, non scanalato, sovente irsuto alla base, con 8 foveole sommatiali profonde che assicurano una chiusura perfetta e intensamente lignificata per un anello continuo esterno di fibre longitudinali raddoppiato con un anello interno di sclerenchima orizzontale.

### 1.2.2 Biogeografia.

Il genere è ampiamente diffuso dal bacino mediterraneo alla catena montuosa himalayana. È costituito da circa 30 specie perenni e 20 specie annuali (Verl que, 1986a) che colonizzano terreni xerici a diverse temperature. Le perenni, rupicole, vivono sulle scogliere, sulle rocce, nelle frane su pietrame arido, su basse (gruppo *L. cretica*), medie (taxa primitivi, gruppo di *L. crenata* e *L. argentea*), ed alte altitudini (gruppo orofilo di *L. graminifolia*); qualcuna abita nelle steppe ciottolose (*L. candolley* e il gruppo *L. caucasica*) o su terreni sabbiosi secchi (*L. camelorum* e *L. argentea*). La ripartizione geografica ristretta o spezzettata della maggior parte delle perenni contrasta con le aree vaste e continue delle specie annuali (eccetto *L. divaricata*). Hanno invaso regioni aride o semidesertiche a bassa altitudine, su pietrame, campi incolti (gruppi di *L. argentea* e di *L. micrantha*), bordi di strade (gruppi di *L. stellata* e di *L. rotata*) e talvolta nelle steppe (gruppo di *L. olivieri*).

### 1.2.3 Considerazioni storiche.

Il genere *Lomelosia*, le cui specie erano state considerate appartenenti al genere *Scabiosa* s.l., è stato per la prima volta elevato a rango di genere da  . L ve e D. L ve nel 1974 e Holub nel 1977 con il nome *Trochocephalus* Mertens & Koch. Tuttavia, nel quarto volume di “Flora telluriana” di Rafinesque, del 1838, tre nomi sono riferiti alle specie che appartengono a questo gruppo e che antedatano il nome *Trochocephalus*: *Pleiopsora* Rafin., di non certa applicazione, *Tremastelma* Rafin., che corrisponde ad una specie annuale dalle caratteristiche morfologiche peculiari, e *Lomelosia* Rafin.

Il gruppo in questione, in conseguenza degli studi morfologici, cariologici, palinologici e bioevolutivi effettuati da R gine Verl que (1986a, b) risultava abbastanza distinto all’interno delle *Scabioseae*, tale da poter essere considerato un genere a parte, cosa che per  non accade. Infatti, Verl que, pur riconoscendolo appartenente ad una linea evolutiva propria ed indipendente, che identifica col nome phylum N  4 (in cui fa parte anche il genere *Tremastelma*), considera lo stesso incluso, come sezione *Trochocephalus*, nel genere *Scabiosa* s.l., ed inoltre ben distinto dal genere *Tremastelma*, con la quale condivide le seguenti sinapomorfie di phylum: frutto con un tubo scavato da 8 foveole e provvisto di una struttura anatomica complessa, anello esterno di fibre longitudinali ed interno di sclerenchima con fibre orizzontali; differendo per il numero cromosomico apolide di base ( $x=7$  in *Tremastelma*,  $x=9$  in *Lomelosia*) e per il numero di reste calicine (10 in *Tremastelma* e 5 in *Lomelosia*).

Greuter & Burdet (1985) associarono le due entit  in un unico rango evolutivo, che trattarono come genere, cui danno nome *Lomelosia*, che conterebbe, quindi, la specie *Tremastelma*

*palaestinum* (unica di quel genere), ribattezzata come *Lomelosia brachiata* (Sibth. & Sm.) Greuter & Burdet.

Tale collocazione è stata poi confermata anche dagli studi (fig. 10) di Mayer & Ehrendorfer (1999), che partendo dagli studi di Régine Verlaque, dimostrarono come le due entità dovessero confluire insieme all'interno del genere *Lomelosia*. Essi ridefinirono le sinapomorfie del gruppo: brattee involucrali libere, epicalice con un epidiaframma allungato ed orizzontale, fossette profonde ed un secondo anello sclerenchimatico, polline triporato da breviassiale a subequiassiale angulapercolato ed opercolato e numero cromosomico di base  $x = 9$ .

La conferma della monofileticità del gruppo arrivò poi anche dalla prima analisi filogenetica, ottenuta utilizzando marcatori morfologici, fatta da De Castro & Caputo nel 2001 (fig. 11).

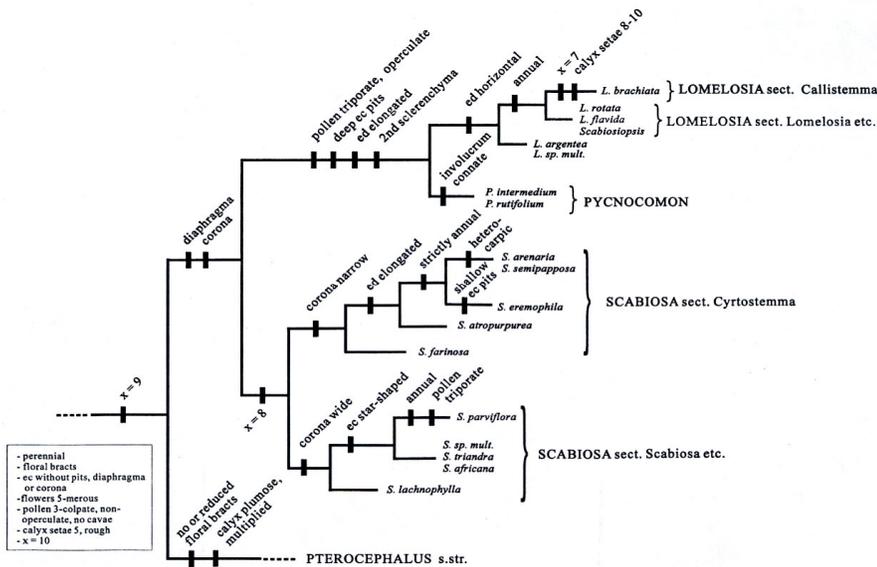


Figura 11. Albero di consenso stretto delle *Scabioseae*, tratto da Mayer & Ehrendorfer (1999, fig. 14).

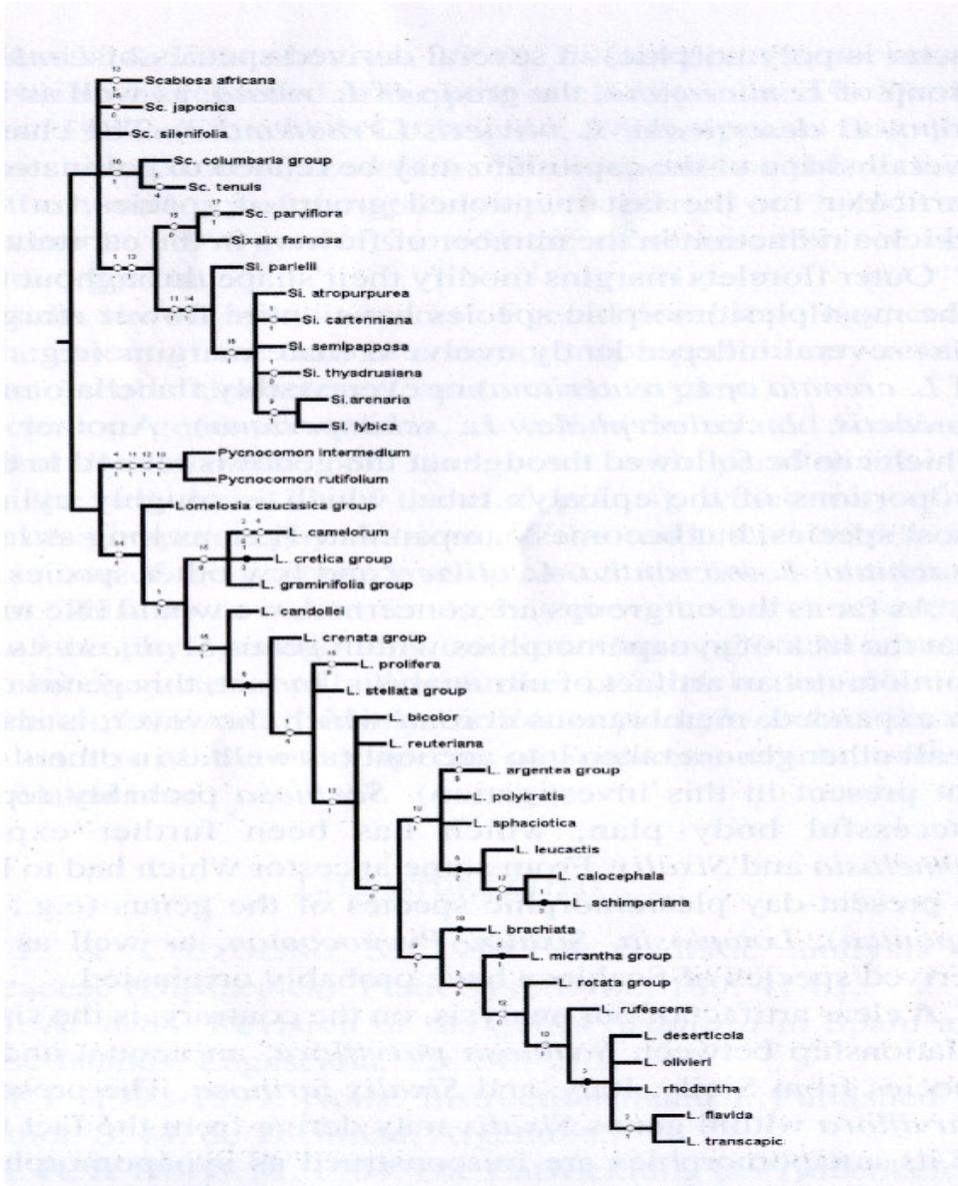


Figura 11: Albero di consenso stretto del genere *Lomelosia*, tratto dal lavoro di De Castro & Caputo (2001, fig. 1).

La posizione del genere *Lomelosia* nella famiglia è stata analizzata da diversi studi filogenetici (Caputo & Cozzolino, 1994; Mayer & Ehrendorfer, 1999; Caputo *et al.*, 2004). Questi denotano come esso sia un genere naturale ed anche abbastanza derivato all'interno della tribù delle *Scabioseae*. In Caputo e Cozzolino (1994) *Lomelosia* risultava sister group al genere *Scabiosiopsis*, di cui parleremo in seguito, ed insieme formavano un clado sister al clado *Sixalix/Pycnocomon*. In Mayer & Ehrendorfer (1999) *Lomelosia* è sister group a *Pycnocomon* ed insieme formano un clado sister al gruppo *Pterocephalus* (in posizione basale)/*Sixalix* (considerata *Scabiosa* sezione *Cyrtostemma*)/*Scabiosa* (considerata *Scabiosa* sezione *Scabiosa*).

Di notevole interesse per la nostra analisi è anche la posizione del genere *Pycnocomon*. Sia Verlaque (1986a), sia Caputo e Cozzolino (1994) ritenevano che *Pycnocomon* fosse affine al genere *Sixalix*, condividendo con esso la presenza di fenestrature nella corona e di un epicalice lignificato. Verlaque (1986a) e Mayer & Ehrendorfer (1999), tuttavia, mostravano che la fine organizzazione degli epicalici di *Sixalix* era molto diversa da quella di *Pycnocomon*, essendo questi ultimi molto più simili alla struttura degli epicalici di *Lomelosia*, per la presenza di profonde foveole ed un secondo anello di sclerenchima nella propria anatomia strutturale. I due generi condividono anche il numero cromosomico di base ( $x = 9$ , tuttavia plesiomorfico per la famiglia), il polline triporato ed opercolato. Le somiglianze tra gli epicalici di *Pycnocomon* e di *Sixalix* erano quindi da interpretare come convergenza adattativa in quanto entrambi i generi disperdono gli epicalici mediante rotolamento sulla sabbia, essendo taxa psammofili. Inoltre in particolare, la chiusura dell'epicalice in *Pycnocomon* e la sua struttura molto lignificata, sono molto simili a quelle di alcune specie arcaiche del genere *Lomelosia* come *L. cyprica* (Verlaque, 1986a).

Ritornando a *Lomelosia*, poco si sa della sua classificazione infragenerica. A tal riguardo, quando era considerata come sezione *Trochocephalus* del genere *Scabiosa* s.l. (Verlaque 1986a, b), essa è stata suddivisa in tre linee evolutive, a seconda del tipo di polline, ed 11 gruppi evolutivi, a seconda della forma dell'epicalice e del capolino e della distribuzione geografica. La filogenesi delle specie di ogni gruppo venne fatta da Verlaque in base a caratteristiche cariologiche.

La ripartizione in gruppi venne poi ripresa da Mayer & Ehrendorfer (1999) e De Castro & Caputo (2001), che, in più, distinsero nel genere nuove entità elevandole a rango di sezione. Ciò accadde con *Lomelosia brachiata*, che diventò unica della sezione *Callistemma*, e con alcune specie dalla distribuzione mediorientale che costituirono la sezione *Olivieraneae* (Rech.) Mayer & Ehrendorfer ripresa dal gruppo di *Scabiosa olivieri* della sezione *Trochocephalus* (Verlaque, 1986b) escludendo *L. candolley*. In passato questa sezione era stata addirittura considerata come sezione del genere *Scabiosa* s.l. (Rechinger, 1989b).

Discorso a parte merita una popolazione iraniana della specie *Lomelosia flavida*, che è stata considerata (Rechinger, 1989a) per alcuni anni come un genere a parte, molto vicino a *Lomelosia* (Caputo & Cozzolino, 1994), di nome *Scabiosiopsis* Rech. con l'unica specie *S. enigmatica* Rech., distinta dalle altre *Lomelosia* per la presenza di 5 reste ti tipo schiacciato e denticolato-ciliato, caratteristica poi considerata non sufficiente già da Mayer & Ehrendorfer (1999), per considerarla come genere a parte. La stessa specie è stata poi declassata a livello di popolazione della già citata *Lomelosia flavida*, con la quale condivide tutte le altre caratteristiche morfologiche.

#### 1.2.4 Descrizione dei gruppi secondo Verláque (1986b).

**Gruppo con taxa primitivi.** Annovera 4 specie endemiche. Perenni, con habitus da legnoso a frutescente, provviste di foglie intere, piccoli capolini sferici, frutti poco evoluti. Vi fanno parte:

*Lomelosia camelorum* (Coss. & Durieu) Greuter & Burdet: Algeria (deserto);

*L. cyprica* (Post) Greuter & Burdet: Cipro (massicci secchi verso i 1000 m);

*L. paucidentata* (Hub. -Mor.) Greuter & Burdet: Turchia, Antalia (verso i 1100 m).

Da notare che queste specie portano diaspore chiuse e ben lignificate simili a *Pycnocomon* (Verláque, 1986a). *L. camelorum* possiede le più piccole fovee, reste e corona del genere e brattee involucrali leggermente fuse alla base. *L. cyprica* ha polimorfismo di posizione delle 5 reste calicine: mutiche alla periferia del capolino, bi- o tripartite sulle diaspore centrali.

**Gruppo di *L. cretica*.** 5 specie perenni frutescenti. Foglie spesso intere e setacee e grandi capolini solitari raggiati, frutti a lembo zigomorfo e reste corte. Differenziazione geografica dovuta all'intervento di barriere geografiche. 5 endemiche di aree ristrette del Mediterraneo.

*L. cretica* (L.) Greuter & Burdet (fig. 12): Baleari, Sicilia, Calabria, Favignana, Panarea e Lampedusa.

*L. hymettia* (Boiss. & Spruner) Greuter & Burdet: Sporadi, Attica, S-E Peloponneso;

*L. variifolia* (Boiss.) Greuter & Burdet: Carpazi, Rodi, S-E Turchia;

*L. albocincta* (Greuter) Greuter & Burdet: Creta occidentale, Massiccio di Levka (verso i 1500 m);

*L. minoana* (PH Davis) Greuter & Burdet: Creta centrale (verso i 1000 m).

Le prime si trovano tra 0 e 600 m di altitudine, le altre di alte e medie altitudini.



Figura 12: *Lomelosia cretica*.

**Gruppo legnoso di *L. graminifolia*.** 4 endemiche. Foglie lineari intere (da 2 a 3 mm di lunghezza), fuse e raccolte alla base, capolini solitari e raggiati, frutti di 1 cm, le reste sono della stessa lunghezza del limbo che è svasato e le fovee sono mascherate da lunghi peli bianchi del tubo. Orofile ad alta altitudine, crescono su prati franosi.

*L. hololeuca* (Bornm.) Greuter & Burdet e *L. pseudograminifolia* (Hub. - Mor.) Greuter & Burdet: Anatolia centrale;

*L. rodhopensis* (Stoj. & Stef.) Greuter & Burdet: Tracia;

*L. epirota* (Halacsy & Bald.) Greuter & Burdet: Epiro;

Invece la specie *L. graminifolia* (L.) Greuter & Burdet (fig. 13) ha un'ampia distribuzione: dalle Alpi agli Appennini, fino ai Balcani (Macedonia).



Figura 13: *Lomelosia graminifolia*.

**Gruppo di *L. crenata*.** 5 specie perenni. Portamento legnoso e cespitoso, foglie pennatifide disposte in rosette basali e capolini solitari raggiati da 2 a 4 cm, diaspore di circa 1 cm, presentano un limbo svasato, fovee visibili, reste visibili 2 o 3 volte più lunghe del limbo. 3 specie mediterranee endemiche e 2 eurasiatiche diffuse ampiamente della serie *Isetensis*. Vivono su pietrame tra i 500 e i 2000 m.

*L. robertii* (Barratte) Greuter & Burdet: Tunisia;

*L. pulsatilloides* (Boiss.) Greuter & Burdet (fig. 14): Spagna;

*L. crenata* (Cyr.) Greuter & Burdet: Grecia, N-E Algeria e N-O Tunisia, Sicilia, Sud Italia e Jugoslavia, Albania, Cipro.

*L. pseudisetensis* [(Lacaita) Pign.] Greuter & Burdet: terreni sabbiosi del Sud-Italia;

*L. isetensis* (L.) Sojak: Kazakhstan, steppe e zone semi desertiche;

*L. austro-altaica* (Bobr.) Greuter & Burdet: Sud dei Monti Altai.



Figura 14: *Lomelosia pulsatilloides*.

**Gruppo euroasiatico di *L. caucasica*.** 8 specie. Perenni legnose, foglie intere, capolini chiari molto raggiati da 3 a 6 cm, solitari di diversi colori, diaspore provviste di un lungo tubo esile, ristretto a livello delle fovee, sormontate da 5 o 6 reste dritte, 2 o 3 volte più lunghe del limbo più svasato. Si dividono in 3 serie che si riscontrano su pietrame delle steppe:

Serie *Olgeanae* Bobr.: *L. olgae* (Albov) Greuter & Burdet: Ovest Caucaso;

Serie *Gumbeticae* Bobr.: *L. gumbetica* (Boiss.) Greuter & Burdet: Est Caucaso;

Serie *Elegantes* Bobr.: *L. caucasica* (M. Bieb.) Greuter & Burdet (fig. 15, Caucaso ed Armenia), *L. balianii* (Diratz.) Greuter & Burdet (Chine Pontique), *L. sulphurea* (Boiss. & Huet) Greuter & Burdet (S-E Turchia), *L. speciosa* (Royle) Sojak (Cachemire), *L. songarica* (Schrenk) Sojak (Pamir, Tian-Chan, Dzoungarie e Tarbatagai).



Figura 15: *Lomelosia caucasica*.

**Gruppo *L. argentea*.** 6 specie, 2 annuali, 4 perenni. Fusto giallo molto ramificato e con foglie pubescenti pennatifide a segmenti lineari; capolini modesti di 2,5 cm, molto raggiati; frutti di piccola taglia (epicalice di 5 mm); reste sporgenti da 2 a 6 volte più lunghe di quelle del limbo, molto nascoste.

Distribuzione da Est a Ovest (ristretta) a larga fascia di altitudine (0-2500 m). *L. argentea* ha ampia distribuzione, mentre le 3 endemiche perenni condividono l'area con le 2 annuali.

Taxa annuali (campi incolti dai 300 ai 1000 m):

*L. cosmoides* (Boiss.) Greuter & Burdet: S-E Bulgaria, Ovest Turchia;

*L. hispidula* (Boiss.) Greuter & Burdet: Tracia, Bulgaria, Ovest Turchia.

Taxa perenni (terreni secchi e ciottolosi di medie ed alte altitudini):

*L. brachycarpa* (Boiss. & Hohen.) Soják: Iraq, Kurdistan (800-1500 m);

*L. polykratis* (Rech.) Greuter & Burdet: Samos, Chios, S-O Turchia (700-2000 m);

*L. sphaciotica* (Roem. & Schult.) Greuter & Burdet: Creta (verso i 2000 m);

*L. argentea* (L.) Greuter & Burdet (fig. 16): Algeria, Spagna, Francia, Sicilia e Italia del Sud, dai Balcani fino alla Palestina, Caucaso e Ucraina.

Quest'ultima cresce su suoli sabbiosi, ma anche su pietrame, campi e terreni incolti. Specie perenne che può fiorire nei primi anni e vivere per lungo tempo (taxa annuali, biennali o perenni).



Figura 16: *Lomelosia argentea*.

**Gruppo di *L. olivieri*.** 3 specie. Erbacee, di piccola taglia e singolari per: fusti biancastri, ramificati; capolini numerosi, piccoli, raggiati (dozzina di fiori) provvisti di un epicalice da 3 a 5 brattee molto larghe ed acuminose alla sommità; frutti minuscoli, da 2 a 3 mm, con limbo e reste completamente stellate. Vivono in steppe, su territori vasti, continui e in parte simpatrici:

*L. candolliana* (Wall. ex C. B. Clarke) Greuter & Burdet: perenne, Balouchistan, Pakistan, Est Afghanistan e Cachemire (dai 1000 ai 2000 m);

*L. flavida* (Boiss. & Haussk.) Greuter & Burdet: Iran (verso i 1000 m);

*L. olivieri* (Coul.) Sojak: Kurdistan, Sud Caucaso, Persia, Afghanistan, Pakistan, Kazakhstan, (regioni semi-desertiche dai 0 ai 2700 m).

**Gruppo *L. micrantha*.** 6 o 7 annuali. Foglie caulinarie pennatifide con segmenti dritti, brattee involucrali uguali o superiori ai fiori, infiorescenze più raggiate di taglia media (da 1,5 a 3 cm.), capolini fruttiferi sovente ovoidali con piccole diaspore (6 mm) con reste molto lunghe. Aree continue (*L. micrantha*) o ristrette (*L. divaricata*). Campi incolti su pietrame e colline secche a debole altitudine.

*L. divaricata* (Jacq.) Greuter & Burdet (fig. 17): Spagna, Sicilia, dalla Tracia al Kurdistan;

*L. micrantha* (Desf.) Greuter & Burdet: da N-E Balcani al Turkestan;

*L. reuteriana* (Boiss.) Greuter & Burdet: Ovest Turchia;

*L. bicolour* (Kotschy) Greuter & Burdet: Kurdistan;

*L. lycia* (Stapf) Greuter & Burdet: Lycia;

*L. macrochaete* (Boiss. & Haussk.) Greuter & Burdet: Iran.



Fig. 17: *Lomelosia divaricata*.

**Gruppo *L. prolifera*.** *Lomelosia prolifera* (L.) Greuter & Burdet (fig. 18) è un'entità monospecifica marginale, foglie intere dentate e capolini giallastri subsessili raggiati (da 3 a 5 cm), fiori periferici ligulati. Reste piccole rispetto ad un grande limbo svasato. Medio Oriente (Cipro, Sud Turchia, Palestina, Libano, Siria), campi incolti e bordi di strada sino a frange litorali, dai 0 ai 200 m.



Figura 18: *Lomelosia prolifera*.

**Gruppo occidentale di *L. stellata*.** Bacino Mediterraneo, polimorfo. Grandi capolini fruttiferi sferici, brattee fiorali scariose, larghe alla base e più acuminose alla sommità. Diaspore, le più grandi della famiglia, raggiungono 2 cm di diametro in ragione dello sviluppo orizzontale del limbo ialino multinervo.

*L. monspeliensis* (Jacq.) Greuter & Burdet: brattee involucrali trifide, capolini sferici (da 1,5 a 2,5 cm);

*L. simplex* (Desf.) Raf.: brattee involucrali intere, capolini raggiati da 2 a 2,5 cm di diametro;

*L. stellata* (L.) Rafin.(fig. 19): brattee involucrali intere, capolini raggiati da 2.5 a 5 cm di diametro;

In questo gruppo simpatico, troviamo le sole specie annuali endemiche del bacino mediterraneo. In Europa (Iberia, Sud Francia e costa ligure) vivono ai bordi delle strade e nei suoli incolti da 0 ai 1000 m; in Africa del Nord si trovano su colline e pianure fino ai 2000 m.



Figura 19: *Lomelosia stellata*.

**Gruppo orientale di *L. rotata*.** 7 annuali, vicariante in Oriente del gruppo precedente, con il quale ci sono caratteri comuni (portamento, foglie, pelosità, grandezza dei frutti, capolini fruttiferi sferici). *L. rotata* si distingue per le sue brattee oblanceolate erbacee e per il ripiano calicino glabro senza peli ghiandolari, capolini più raggiati, aumento del numero dei nervi del limbo e suddivisione crescente dei petali laciniati. 7 specie ruderali, in parte simpatiche, Vicino e Medio Oriente ai bordi di strade, campi incolti e pietrame dai 0 ai 2000 m.

*L. rotata* (MB.) Greuter & Burdet: dai Balcani all'Afghanistan;

*L. aucheri* (Boiss.) Greuter & Burdet: Siria;

*L. leucactis* (Patzak) Greuter & Burdet: N-E Iraq;

*L. persica* (Boiss.) Greuter & Burdet: dal Kurdistan al Turkménistan;

*L. calocephala* (Boiss.) Greuter & Burdet: Sud Turchia, Libano, Siria, Nord Iraq e N-O Iran;

*L. porphyroneura* (Blakelock) Greuter & Burdet: Palestina e deserto della Siria;

*L. palaestina* (L.) Raf. (fig. 20): dalla Palestina al Sinai fino all'Iraq.



Figura 20: *Lomelosia palaestina*.

**Specie *Lomelosia brachiata* (Sm.) Greuter & Burdet.** Specie annuale polimorfa (fig. 21) della quale sono state descritte due varietà: la var. *palaestinum* (taglia esile a foglie basali intere e capolini di taglia media) e la var. *lyratum* (Vis.) Hayek (pianta più robusta con foglie decussate alla base e grandi capolini molto raggiati).

Descritta in origine da Linneo (1771) come *Knautia palaestina*, è stata in seguito inserita nei generi *Scabiosa* (Sibthorp & Smith, 1806), *Asterocephalus* (Reichenbach, 1850) e *Pterocephalus* (Coulter, 1824; De Candolle, 1830; Bentham & Hooker, 1873). Mertens & Koch (1823) constatarono la singolarità del taxon costituendo la sezione monospecifica *Callistemma*, che Boisser (1875) elevò a rango di genere. Il nome per il genere *Tremastelma* è stato creato, invece, da Rafinesque nel 1838.

Questa specie si trova nel bacino mediterraneo centrale ed orientale: Sicilia, Italia del Sud, Balcani ed isole adiacenti, Turchia occidentale e Cipro. Le due varietà simpatriche abitano in sodaglia e su scarpate rocciose tra i 0 ed i 600 m, talvolta possono risalire fino ai 1200 m di altezza.

Essa presenta un involucri erbaceo dialifillo con grandi capolini raggiati, pentameri e con stimma piatti. Le diaspore sono considerate tra le più complesse della famiglia e sono costituite da:

— un calice stipite prolungato per 10 reste compresse dorsoventralmente, piumose e biancastre come quelle di *Pterocephalus*, ma rigide e stese orizzontalmente come quelle di *Scabiosa*.

— una corona sviluppata in un limbo membranoso ialino, molto svasata e multinerva (40 nervature).

— un tubo con 8 fessure nella parte inferiore e provvisto di 8 foveole profonde sommitali con struttura anatomica e chiusura identiche a quelle di tutte le altre *Lomelosia*.

Questa specie possiede degli epicalici tali da predisporla a due diversi tipi di disseminazione:

— anemocora: grande limbo ialino svasato (frutti di tipo “planare pesante”)

— epizocora: reste stese, numerose, rigide, più o meno spinte ed irte con lunga e rigida seta.

Verl aque (1986b) ipotizza per questo specie una derivazione da quella che essa chiama sezione *Trochocephalus*.



Figura 20: *Lomelosia brachiata*.

### 1.2.5 Cariologia.

Verl aque (1986b) ha dato il pi  grosso contributo agli studi cariologici dell'intero genere analizzando oltre il 40% delle specie appartenenti ad esso. Dai suoi studi si evidenzia come

— Le specie perenni molto legnose o frutescenti con foglie intere, possiedono i cromosomi pi  lunghi (TL = da 3,6 m a 4  m, L e M): gruppi di *L. cyprica*, di *L. cretica* e di *L. graminifolia*.

— Le specie perenni legnose cespitose, con foglie decussate, presentano dei cromosomi più piccoli ( $L = 3 \mu\text{m}$  circa e  $M$ ): gruppo di *L. crenata*.

— Le specie perenni erbacee, con foglie decussate, hanno dei cromosomi Lunghi e Medi analoghi ai precedenti, in alcune si aggiungono dei cromosomi Corti: gruppo di *L. argentea*.

— Per contro, i 5 complessi annuali si caratterizzano tutte per cromosomi di lievi dimensioni: Medi e Corti solamente.

All'interno di ogni gruppo si denota:

— Tra le 4 specie arcaiche, solo *L. cyprica* è stata presa in esame (Verl aque, 1982, 1986b):  $2n = 18$ . Il suo ideogramma contrasta con quello delle altre specie del genere per la sua complessit a (numerose, satelliti, costrizioni secondarie), la sua simmetria (4st) e la disparit a dei suoi cromosomi  $1 TL = 4,2 \mu\text{m}$  (i pi  lunghi del genere) ed  $8 M =$  da  $1,6$  a  $2,4 \mu\text{m}$ . Questo cariotipo sembra dunque analogo a quello del genere *Sixalix*, con una coppia TL due volte pi  grande delle altre, e portante su ciascun braccio una costrizione secondaria. Una tale morfologia dei cromosomi fa pensare che a partire da un taxon ancestrale con  $x = 10$ , si sia ottenuto con una fusione centrica di 2 bivalenti (un centromero terminale su uno subterminale) all'interno di questo genere, un nuovo numero di base  $x = 9$ . Questa ristrutturazione cromosomica, ancora visibile in *L. cyprica*,   senza dubbio prodotta sulle specie arcaiche, pi  o meno intermedie, al giorno d'oggi estinte.

— All'interno delle 5 specie del gruppo della *L. cretica*, *L. minoana* (Montmollin, 1982, Creta, Monte Dikti; 1986), *L. cretica* (Arrigoni & Mori, 1980 in Sicilia; Verl aque, 1980a, 1982, 1986b), *L. albocincta* (Montmollin, 1986) e *L. hymettia* (Phitos, 1988) sono state esaminate, con una numero diploide costante di  $2n = 18$ .

Il cariotipo del gruppo sembra molto complesso con delle coppie cromosomiche molto differenti (satelliti grandi, numerose costrizioni secondarie) di taglia ben distinta:  $TL = 3,9 \mu\text{m}$ ,  $L = 3 \mu\text{m}$  e  $M =$  da  $1,6 \mu\text{m}$  a  $2,5 \mu\text{m}$ .

Come in *L. cyprica*, in *L. cretica*, l'aspetto ed il comportamento della prima coppia (su due grandi bivalenti) si traduce in una ristrutturazione cromosomica, per disploidia discendente, in un taxon ancestrale ancora vicino alle 2 specie, e per estensione dei 2 gruppi, che ai giorni nostri possono essere considerati i pi  arcaici del genere. Per Verl aque (1986b), nel Mediterraneo occidentale, *L. cretica* insegue un'evoluzione indipendente in ciascun isola grazie a deriva genetica.

— 3 delle 5 specie del gruppo di *L. graminifolia* sono state esaminate e sono caratterizzate per lo stesso numero cromosomico diploide:  $2n = 18$ . I cariotipi di *L. graminifolia* (Frey, 1969a, 1970; Siljak-Yakovlev, 1981; Altamura *et al.*, 1984; Verl aque, 1986b; Baltisberger, 1987) e di *L. epirota* (1986b) si rivelano molto vicini, con dei cromosomi della stessa taglia ( $1 TL =$  da  $3,5$  a  $3,6 \mu\text{m}$  e  $8 M =$  da  $1,5 \mu\text{m}$  a  $2,5 \mu\text{m}$ ), che differiscono solamente per la posizione del centromero di una

coppia M e per una costrizione secondaria per la prima coppia TL. Rispetto ai primi due gruppi, qui gli ideogrammi si distinguono per la loro più grande simmetria e i loro cromosomi più semplici, di taglia inferiore. Per quanto riguarda *L. rodhopensis* (Frey, 1969b, 1970; Verláque, 1986b), l'età dei preparati non ha permesso la realizzazione di un ideogramma.

— All'interno del gruppo di *L. crenata* (5 rappresentanti), *L. isetensis* (Magulaev, 1979), e *L. crenata* (Damboldt *et al.*, 1981; Verláque, 1986b; Baltisberger & Baltisberger, 1995; Baltisberger, 1999) sono state esaminate. Esse possiedono lo stesso numero cromosomico diploide;  $2n = 18$ . Per queste due specie nella maggior parte dei casi si riscontrano cromosomi di tipo: L = da 3,2  $\mu\text{m}$  a 3,3  $\mu\text{m}$  e M = da 1,6  $\mu\text{m}$  a 2,5  $\mu\text{m}$ , in *L. crenata* a volte si possono avere anche le seguenti misure: L = 2,7  $\mu\text{m}$  e M = da 1,5  $\mu\text{m}$  a 2  $\mu\text{m}$ .

— 3 degli 8 rappresentanti del complesso eurasiatico di *L. caucasica* sono state studiate. Questo gruppo ha differenze di razze di-, tetra-, esaploidi ( $2n = 18, 36, 54$ ). Sfortunatamente non si hanno informazioni sull'origine dei campioni. Nonostante questo, sembra che *L. gumbetica* (Magulaev, 1979) e *L. olgae* (Magulaev, 1984) sia unicamente diploide, *L. caucasica* (Frey, 1969a, 1970; Magulaev, 1986; Daniela 1997) sia raramente diploide, ma soprattutto tetraploide e talvolta esaploide. Queste specie possiedono dei cromosomi Medi e Lunghi, con centromeri mediani, 2 coppie con satelliti.

— Nel gruppo di *L. argentea* (4 perenni e 2 annuali), 2 specie sono state considerate: *L. sphaciotica* di Creta con  $2n = 18$  (Montmollin, 1986) e *L. argentea* con  $2n = 18$  per diverse popolazioni (Verláque, 1980, 1980a, 1986b) e con  $2n = 16$  nella popolazione dalla Ex Jugoslavia (Baltisberger *et al.*, 1993). In effetti, il paragone degli ideogrammi e delle formule cromosomiche degli esemplari esaminati mette in evidenza una certa variabilità del cariotipo all'interno delle popolazioni della Grecia e quelle di Turchia, Siria ed Iran. Se la dimensione dei cromosomi resta costante (L = 2,8  $\mu\text{m}$ ; M = da 1,8 a 2,3  $\mu\text{m}$ ; C = da 0,9 a 1,4  $\mu\text{m}$ ), per contro, la posizione dei centromeri delle 5 paia C varia e, nelle popolazioni orientali, le quali hanno una costrizione secondaria supplementare sulla prima paio. L'asimmetria e la complessità crescente da Ovest ad Est del cariotipo di *L. argentea* sono forse legate da un proprio polimorfismo. Questa modificazione degli ideogrammi sembra essere analoga a quella già riscontrata tra i vari taxa o specie di uno stesso complesso.

— Le specie *L. olivieri* (Verláque, 1980, 1980a, 1982; Khatoon & Ali, 1993) e *L. candolley* (Khatoon & Ali, 1993) sono state esaminate nel gruppo di *L. olivieri* (3 rappresentanti):  $2n = 18$ .

— 2 delle 6 annuali del gruppo di *L. micrantha* sono state esaminate. Benché molto vicine morfologicamente con lo stesso numero cromosomico diploide di  $2n = 18$ , queste due specie possiedono cariotipi ben distinti. I cromosomi di *L. divaricata* (Verláque, 1982, 1986b) sembrano

più asimmetrici, più complessi e più piccoli ( $M =$  da  $1,7 \mu\text{m}$  a  $1,9 \mu\text{m}$ ;  $C =$  da  $1,1 \mu\text{m}$  a  $1,3 \mu\text{m}$ ) rispetto a quelli di *L. micrantha* (Frey, 1969a; Magulaev, 1979; Verláque, 1982, 1986b;  $M =$  da  $1,6 \mu\text{m}$  a  $2 \mu\text{m}$  e  $C$  da  $1,2 \mu\text{m}$  a  $1,3 \mu\text{m}$ ).

— L'annuale *L. prolifera* (Frey, 1969a; Verláque, 1986b; Slavik *et al.*, 1993) solo rappresentante di un'unità marginale, si caratterizza altresì per un numero cromosomico diploide  $2n = 18$ . In Metafase I, si osservano 9 bivalenti di dimensioni vicine ad un comportamento normale.

— Sono stati esaminati i 3 taxa annuali del gruppo di *L. stellata*. *L. monspeliensis* (Verláque, 1980a, 1982, 1986b) possiede un numero cromosomico diploide di  $2n = 18 +$  da 0 a  $2B$ . Il suo cariotipo è molto difficile da stabilire visto che, eccetto per le prime paia  $M$  (st) da 2 a  $2,2 \mu\text{m}$ , la posizione dei centromeri delle altre sette paia, ben più piccoli (da 1 a  $1,6 \mu\text{m}$ ) sembra variare. Questo fenomeno, senza dubbio dovuto ad un forte polimorfismo della specie, è accentuato a causa della ridotta taglia dei cromosomi.

Per contro, *L. stellata* (Verláque, 1982, 1986b) e *L. simplex* (Verláque, 1980a, 1982, 1986b) hanno per lo più la stessa cariologia e possiedono piccoli e numerosi cromosomi:  $2n = 27, 28, 30$ . Quest'ultimo dato ci dice che in ragione della variabilità dei cromosomi entro le popolazioni, l'appaiamento sembra impossibile, così come la realizzazione di un ideogramma medio o di una formula cromosomica. In effetti, la ricerca di cromosomi omologhi rivela l'esistenza di: da 3 a 4 triplete di cromosomi di  $1 \mu\text{m}$  circa:  $C$  (m-sm); da 6 a 7 paia di cromosomi medi:  $M$  (m-sm); 4 cromosomi solitari:  $M$  e  $C$  (st). Si tratta dunque di una specie triploide poco stabile generata non per autopoliploidia (come *L. parviflora*) ma piuttosto per allopoliploidia segmentaria, a partire da due taxa differenti ma relativamente vicini. Piccoli problemi si pongono quando si parla di queste due specie: le loro origini, il loro modo di formazione e soprattutto la loro stabilità. Considerato che esse sono annuali triploidi allogame, con un numero cromosomico dispari e che si riproducono senza troppa difficoltà (all'interno di un'area molto vasta), ciò costituisce un caso rarissimo ed una "prodezza della natura" (Verláque, 1986b). Infatti, certi taxa si stabilizzano con  $2n = 28$  e creano un nuovo numero cromosomico di base secondario  $n = 14$ . Ciò è caratteristico in prevalenza della specie *L. stellata* della Penisola Iberica caratterizzata dall'aver dei cromosomi isobrachiati e satellitiferi, i suoi pollini sono d'altronde normali ed omogenei. In più, questo fenomeno tocca anche la specie settentrionale, isolata e sporadica (Francia), *L. simplex*, che è singolare per l'aver degli "sganciamenti" di frammenti distali sui cromosomi 7 e 8. Questa "satellitizzazione", comparabile a quella di *L. cretica* di Maiorca, rivela una certa deriva genetica del taxon che insegue la sua evoluzione entro i limiti dell'area di appartenenza. Per contro, le specie meridionali (Penisola Iberica ed Africa del Nord) di *L. stellata* sono più polimorfiche e cariologicamente instabili:  $2n = 27, 28$  (in generale) e 30 (per un solo individuo). All'interno dei tessuti somatici, si osservano dei

piccoli satelliti poco numerosi (da 1 a 2 paia) e mai degli sganciamenti. In conclusione le due specie comprendono dei rari individui tetraploidi, in maggioranza triploidi e qualche diploide. Comunque, la casualità di ricombinanti genetici, l'isolamento geografico e la selezione naturale hanno generato in Spagna (*L. stellata*) e a Nord dell'area (*L. simplex*) dei taxa stabilizzati a  $2n = 28$  (con dei cariotipi particolari), allorché all'interno del resto del territorio le popolazioni non sono ancora fissate. L'intensa auto-regolazione meiotica ( $n = 13$  e  $n = 14$ ) e la grande plasticità cariologica di queste specie annuali rende più comprensibile la loro stabilità ed il loro polimorfismo. Il loro modo di formazione sembra simile a quello di *L. parviflora* (diploide  $\rightarrow$  triploide  $\rightarrow$  tetraploide), inoltre, la rarità dei diploidi potrebbe spiegare la quasi assenza dei tetraploidi e lo sviluppo dei soli triploidi. Tuttavia la loro origine rimane un enigma, considerato che sia poco probabile che *L. monspeliensis* (la sola annuale morfologicamente vicina a questa specie) sia la chiave dell'origine di queste due specie triploidi, essendo i loro cariotipi troppo differenti. Infatti, all'interno di questo gruppo, a partire da una stessa specie ancestrale estinta ai giorni nostri sono nate numerose specie diploidi. Una di queste *L. monspeliensis* ( $2n = 18$ ) ha differenziato dei cromosomi eterobrachiati laddove l'incrocio di altri taxa, provvisti di cromosomi per la maggior parte isobrachiati, ha creato *L. stellata* da cui sarebbe derivata poi, *L. simplex*. *L. stellata*, a sua volta, innesco del processo di poliploidizzazione, ha stabilizzato individui ipertriploidi con  $2n = 28$ , e ha permesso la formazione di un nuovo numero di base secondario  $n = 14$  (unico nella famiglia).

— 5 dei 7 rappresentanti del complesso di *L. rotata* sono stati oggetto studi citotassonomici. Numero di base di *L. rotata* è  $2n = 18$  (Verláuque, 1986b). Per contro la realizzazione dell'ideogramma e della formula cromosomica sono più difficili da ottenere. Le prime 3 paia M ( $1sm + 1st + 1m$ ) da 2 a 2,4  $\mu m$  e le tre altre C (1  $\mu m$ ) sono molto stabili, al contrario le 3 paia intermedie M (m-ms di 1,6  $\mu m$ ) sembrano variabili (centromeri, costrizioni e satelliti). In più, come in *L. cretica* e *L. stellata*, all'interno di certe popolazioni (Armenia) su 2 delle 3 paia di cromosomi instabili M, si osservano delle satellizzazioni di frammenti distali a livello delle costrizioni secondarie. La meiosi si svolge in maniera normale ( $n = 9$ ), con l'eccezione di quei rari ponti cromosomici in anafase I. *L. aucheri*, morfologicamente molto simile a *L. rotata*, possiede lo stesso numero cromosomico diploide:  $2n = 18$  (Kliphuis & Barkoudah, 1977: Siria). Dai conteggi ancora di Kliphuis (1977) in Israele, *L. palaestina* è tetraploide con un numero cromosomico di  $2n = 36$ . *L. persica* (Verláuque, 1980a, 1982, 1986b) presenta una forte instabilità genetica che si traduce nell'esistenza di granulazioni di cromatina su cromosomi B in metafase e per delle variazioni cromosomiche intra-individuali (aneusomatia) con  $2n = 18$  (60% delle cellule),  $2n = 17$  (10% delle cellule),  $2n = 16$  (20% delle cellule) ed infine nel 10% della metafase, la disposizione dei cromosomi, le loro costrizioni ed il loro bandeggio le riuniscono in maniera uguale che il loro

conteggio diventa impossibile, (16, 17 o 18).  $2n = 18$  resta il numero più frequente, quindi *L. persica* possiede numero di base  $x = 9$  che è proprio del genere. I numeri 17 e 16 vengono fuori da fenomeni di disploidia discendente. Con numero diploide  $2n = 16$ , *L. calocephala* (Verl aque, 1982, 1986b)   caratterizzata da un numero cromosomico nuovo di base,  $x = 8$ , unico nel genere. L'ideogramma di questa specie non sembra rimarcabile per la sua forte asimmetria e per la presenza di numerose costrizioni secondarie e satelliti. In ragione della forma dei suoi cromosomi e del numero di base essa costituisce il taxon pi  evoluto del complesso (Verl aque, 1986b) e dello stesso genere (esclusa *L. brachiata*), dal punto di vista cariologico. In conclusione le differenziazioni morfologiche e cariologiche del complesso si realizzano congiuntamente (Verl aque, 1986b). A partire dalle due specie diploidi *L. rotata* e *L. aucheri* con  $2n = 18$ , pi  anziane, si riconoscono due vie evolutive distinte. La prima conduce a *L. palaestina* con  $2n = 36$ , grazie alla poliploidia, mentre la seconda, associata a disploidia discendente, comincia ad apparire in *L. aucheri* e si stabilizza in *L. calocephala* ( $2n = 16$ ). Inoltre questo disegno mette in evidenza il parallelismo esistente all'interno della differenziazione dei due complessi vicarianti di *L. stellata* e di *L. rotata*; comunque, all'interno del Mediterraneo orientale i processi evolutivi sembrano effettuarsi pi  rapidamente della costa occidentale.

— L'annuale *L. brachiata* possiede un numero diploide  $2n = 14$  determinato da Strid e Franzen (1981), Verl aque (1980a, 1982, 1986b), Baltisberger (1991) e Baltisberger & Baltisberger (1995). Quindi essa   caratterizzata da  $x = 7$ , unica ad avere questo numero cromosomico di base nelle *Scabioseae*. La sua formula cromosomica corrisponde all'ideogramma, identico per le due variet :

$$3 L (m) + 4 M (1 st + 3 sm).$$

Esso   assai simmetrico e singolare per la presenza di 5 costrizioni secondarie e due paia di cromosomi satelliferi e talvolta si nota la presenza di due cromosomi B. Inoltre si   constatato l'esistenza di una ripartizione irregolare dei cromosomi che creano un numero non trascurabile di gameti con  $n = 6$  e  $n = 8$ . Senza dubbio l'origine di numerosi pollini anormali osservati si spiega con perturbazioni che si traducono nell'instabilit  cromosomica di questa specie molto giovane che sembrerebbe tuttavia in attiva espansione. Riguarda alla sua origine, si pensi che sia avvenuta per disploidia discendente (Verl aque 1986b; Mayer & Ehrendorfer, 1999) dal gruppo di *L. rotata* ( $x = 8$ ).

Riassumendo, il genere *Lomelosia*   caratterizzato da un numero di base predominante  $x = 9$ , tuttavia possiede anche dei numeri molto pi  rari come  $x = 7$ ,  $x = 8$  e  $n = 14$ . La poliploidia, qui, gioca un ruolo non trascurabile e si riscontra all'interno di unit  morfologiche ben particolari:

— tra le specie perenni, all'interno del gruppo eurasiatico di *L. caucasica* con 2x, 4x, 6x (limite Nord-Est della sezione),

— tra le annuali, all'interno del complesso di *L. stellata* con 2x, 3x, 4x (Mediterraneo occidentale) e di *L. rotata* con 2x, 4x (Medio Oriente). Inoltre, nel primo dei due complessi di specie annuali, le triploidi fissate per aneuploidia hanno generato un numero di base secondario inedito  $n = 14$ , allorché nelle seconde, la disploidia discendente ha creato due nuovi numeri di base primari  $x = 8$  (gruppo *L. rotata*) e  $x = 7$  (*Lomelosia brachiata*). Questa stessa disploidia discendente si trova senza dubbio all'origine del numero  $x = 9$  del genere *Lomelosia* a partire da un capostipite ancestrale con  $x = 10$ . Le ristrutturazioni cromosomiche necessarie al cambiamento sono ancora percettibili nelle specie primitive *L. cyprica* e in grado minore in *L. cretica*. I cromosomi di taglia molto disparati dei taxa arcaici (TL, L, M), tendono poco a poco ad uniformarsi con quelli delle specie perenni più distaccate (L, M), le più grandi paia quasi sempre isobrachiati. In più, nelle specie annuali i cariotipi perdono di nuovo la loro simmetria che, nell'evoluzione della maggior parte dei cromosomi, in particolare in quelli più lunghi, diviene più e più volte eterobrachiata (M e C). Si può facilmente distinguere una formula cromosomica di serie dei vari complessi: primitive perenni (TL, L, M), cespitose (L, M), erbacee (L, M, C) ed annuali (M, C). La ripartizione delle paia di cromosomi per classe di taglia nelle specie perenni rimane inalterata, laddove le differenze entro le specie (*L. graminifolia* s.l.), i taxa (*L. crenata*) o popolazioni (*L. argentea*) sono da ricercarsi sempre a livello della posizione dei centromeri dei cromosomi più piccoli (M e C). Per contro, nei gruppi annuali, le specie sembrano differenziarsi maggiormente sul piano cariologico, per esempio *L. micrantha* (4M + 5C) e *L. divaricata* (2M + 7C), oltre che *L. stellata* s.l. e *L. rotata* s.l.

### 1.2.6 Palinologia.

Il genere *Lomelosia* risulta essere il più diversificato della famiglia dal punto di vista palinologico. I suoi pollini, sempre triporati ed opercolati, si ripartiscono in quattro unità distinte:

- granuli verrucosi breviasse: gruppi di *L. argentea* e *L. rotata*;
- granuli spinosi subequiasse: gruppo di *L. olivieri*;
- granuli spinosi breviasse: gruppi rimanenti;
- granuli spinosi e verrucosi subequiasse: *Lomelosia brachiata*.

**Pollini spinosi breviassse.**

Questa unità è molto importante perché racchiude otto dei dodici gruppi del genere, in particolare i complessi di specie legnose perenni (i taxa primitivi e i gruppi di *L. cretica*, *L. graminifolia*, *L. crenata* e *L. caucasica*) ed i tre complessi annuali: *L. micrantha*, *L. prolifera* e *L. stellata*.

I pollini di questa unità sono di dimensioni medie per la famiglia. Nelle perenni, le piccole spine, più numerose ed erette in generale, lasciano intravedere la superficie perforata e spesso priva di esina; esse si fondono qualche volta alla loro sommità solamente in *L. camelorum* e *L. crenata*. Per contro, le spine molto dense si inclinano e si fondono spesso nelle specie annuali. Come nei generi *Scabiosa* e *Sixalix*, all'interno dello strato infratectale si osservano degli elementi di grande taglia (soprattutto nelle specie perenni) che sembrano generate dalla fusione parziale o totale di parecchi tronchi di columelle. Questi ultimi, molto numerosi e ristretti soprattutto nelle annuali, si suddividono in multiple ramificazioni: nella metà superiore nelle specie perenni e talvolta alla base nelle annuali. In tutte le specie appartenenti a questa unità, l'esina si ispessisce fortemente nella regione equatoriale, inoltre la presenza di un leggero ispessimento ai poli permette di scindere questa unità in due complessi:

— il primo riunisce le specie primitive e molto legnose (gruppo di *L. cyprica*, *L. cretica* e di *L. graminifolia*) nonché l'annuale *L. monspeliensis*. Al pari delle specie appartenenti al genere *Pycnocomon*, l'esina subisce un ispessimento massimo all'equatore (da 2 a 4  $\mu\text{m}$ ) e più lieve ai poli (da 0,5 a 3  $\mu\text{m}$ ), rimanendo esile tra le due zone. Equatorialmente, l'aumento delle dimensioni è ben visibile nelle specie annuali e giusto un po' percettibile in *L. monspeliensis* (ispessimento minimo di 0,5  $\mu\text{m}$ ).

— il secondo gruppo comprende i taxa più evoluti: le perenni dei gruppi di *L. crenata* e *L. caucasica* ed i tre complessi annuali (escluso *L. monspeliensis*). La loro esina si ispessisce unicamente all'equatore. In questa unità si evincono le seguenti variazioni infraspecifiche.

—Nei taxa primitivi, in *L. cyprica* alcune spine prominenti si curvano ad uncino, allorché in *L. camelorum* la maggior parte delle stesse si smussano assomigliando a "bacule" irregolari. Inoltre, queste specie producono il 50% di polline "normale" (spine dritte e distanziate tra loro) e il 50% di granuli addensati per un fenomeno di proliferazione di tutte le spine, le piccole soprattutto, che si saldano su stesse.

—In *L. cretica*, solo le popolazioni siciliane generano dei pollini normali ed omogenei. A Minorca, il 50% dei granuli censiti è diporato ovoidale (con un poro a ciascuna estremità) ed il 50% dei granuli è triporato subtriangolare. A Maiorca, al contrario, c'è un aumento del numero dei pori,

con un 30% di polline tripurato, 35% di polline tetrapurato di forma quadrangolare e con un 35% di granuli a forma mostruosamente pericolare.

— I pollini tetrapolari si ritrovano in *L. pulsatilloides*, *L. rodhopensis* e *L. divaricata* nella proporzione dal 20 al 30%, in *L. camelorum* e *L. speciosa* la loro presenza sembra più sporadica. Infine, si osserva in *L. simplex* il 20% di pollini di- e tetrapurati.

Secondo Verláque (1986b), questo polimorfismo pollinico sembra essere il risultato di perturbazioni sull'instabilità cromosomica associata ad una deriva genetica, essa stessa legata ad isolamento geografico di questi taxa. Anche le variazioni intrafiorali si accompagnano in generale ad un aumento del numero dei pori, della taglia dei granuli, delle altezze e della densità degli elementi sculturali; queste seguono lo stesso andamento dell'evoluzione globale dei pollini nel genere. Van Campo (1966) scrisse a questo proposito che i limiti delle variazioni intrafiorali ed intraspecifiche sono interessanti da considerare e permettono in certi casi di interpretare più facilmente le variazioni intrageneriche. Questa constatazione, elaborata a partire da multipli esempi assunti in differenti famiglie, si riproduce fortemente all'interno di certi taxa, ed in particolare per la specie primitiva *L. camelorum* (caratterizzata da una larga fluttuazione sculturale).

Dai rappresentanti più arcaici alle specie annuali più evolute si possono distinguere certe tendenze evolutive (Verláque, 1986b). Per quanto riguarda la forma dei pollini, i lati diritti, dai contorni equatoriali triangolari della maggior parte delle specie, divengono concavi nella specie perenne tetraploide *L. caucasica* e nell'annuale *L. prolifera*.

La scultura aumenta parallelamente all'interno di ciascun degli otto gruppi di questa unità. Se le grandi spine delle specie perenni sono uguali o più grandi di quelle delle specie annuali, queste ultime, per contro, hanno le spine piccole che si moltiplicano e si fondono tra loro. La stessa altezza degli elementi ornamentali degli opercoli progredisce con l'evoluzione.

L'ispessimento dell'esina cresce regolarmente all'equatore (da 1 a 3  $\mu\text{m}$ ), all'inverso, ai poli esso si riduce a poco a poco all'interno dei taxa più arcaici e scompare nelle specie più evolute.

Il breviasse si accentua all'interno dell'unità ( $P/E =$  da 0,81 a 0,51) in maniera discontinua tra i gruppi e progressivamente all'interno di ciascuno di essi. In effetti, la comparazione delle caratteristiche morfologiche e palinologiche rivela un'evoluzione a "dents de scie" (Verláque, 1986b) implicando parecchie tappe successive. Nelle specie perenni, ciascuna classe di rapporto  $P/E$  che contiene uno o due gruppi, corrisponde alle principali suddivisioni suggerite dagli studi cariologici:

$P/E =$  da 0,81 a 0,76: specie arcaiche *L. cyprica* e *L. camelorum*,

$P/E =$  da 0,73 a 0,62: gruppi più evoluti legnosi di *L. cretica* e *L. graminifolia*,

P/E = da 0,65 a 0,51: gruppi più evoluti di *L. crenata* e *L. caucasica*.

Nelle specie annuali i tre stadi corrispondono a tre complessi distinti da cui la differenziazione morfologica rapida ed indipendente si realizza all'interno di zone geografiche separate:

*L. stellata* s.l. P/E = da 0,80 A 0,65 (Mediterraneo occidentale)

*L. micrantha* s.l. P/E = da 0,68 a 0,67 (metà Nord-Est dell'area di interesse)

*L. prolifera* P/E = 0,51 (sud del Medio Oriente).

La coincidenza dei valori di P/E all'interno dei gruppi di 2 tipi biologici non sembra meno sorprendente, per quanto le specie annuali siano più evolute di quelle perenni. Come per la tribù delle *Dipsaceae*, si ritrova il delicato problema della coesistenza di specie di caratteri derivati ed ancestrali. Il caso più lampante concerne la specie annuale assai evoluta *L. monspeliensis* che presenta un breviasse analogo a quello di un taxon a tutti gli effetti relittuale come *L. cyprica*. Potrebbe aver agito il fenomeno della neotenia, considerato che *L. monspeliensis* sia la sola specie annuale dell'unità a fiori attinomorfi e con polline poco breviasse, con un esina ispessita ai poli. A questi criteri molto primitivi si aggiungano dei tratti biogeografici (ruderales a larga distribuzione), morfologici (polimorfismo e frutti molto elaborati), cariologici (cariotipo asimmetrico) e palinologici (struttura e scultura complesse) che testimoniano il suo grado di differenziazione ben superiore a quello della maggior parte delle specie perenni.

All'interno dell'unità, quindi, se l'evoluzione si realizza a denti di sega, certe fasi importanti potrebbero presentarsi marcate per l'insorgenza di quei caratteri molto ancestrali (spesso minori) e per il ricorso attivo della differenziazione di altri caratteri (in generale maggiori). Questa "dedifferenziazione" delle annuali sembra provocare un "ringiovanimento" dei taxa ed un apporto di nuovo potenziale evolutivo che favorisce la progressione accelerata delle linee evolutive. Questo processo precursore contrasta con l'avanzamento più lento e spesso continuo delle specie perenni. Questo fenomeno si ripete all'interno di tutte le unità polliniche del genere.

### **Pollini spinosi subequiasse.**

Questa unità pollinica abbastanza identificabile ed omogenea si limita a tre specie del gruppo di *L. olivieri*. I granuli di questo complesso possiedono delle dimensioni impressionanti, in più, soprattutto una forma strana con degli ispessimenti caratteristici dell'esina formanti tre bande che vanno da un polo all'altro e passano per il centro dell'interpolo. Il tectum porta tre tipi di spine sempre più grandi ai poli che all'equatore. Le superiori (H/D) costituiscono, per la loro forte taglia e la loro forma curiosa, un caso unico nelle *Dipsacaceae*. Il loro diametro, costante, si restringe

bruscamente per dar vita ad un'esile spina. Le spine medie (h/d), molto numerose e ripartite uniformemente, non si saldano mai tra loro; infine, le più piccole (1µm circa) sembrano irregolari.

Al contrario delle altre due unità del genere, i pollini subequiasse di questo complesso mostrano un ispessimento massimale dell'esina ai poli. Da una parte all'altra delle bande ispessite (ai poli da 17 a 27µm e all'equatore da 14,5 a 18,5µm) l'esina si mostra nettamente più esile. Le columelle, estremamente numerose e tutte di grande diametro (3 µm circa), si dispongono, fianco a fianco, quasi senza spazio. Le loro ramificazioni principali parallele si originano spesso alla base del tronco e si orientano lungo l'asse verticale. All'interno del terzo superiore dell'infratectum, esse si suddividono a loro volta in innumerevoli piccole ramificazioni secondarie connesse da ponti di sporopollenina (aspetto granuloso).

All'interno di questa unità, la specie perenne *L. candolley* si distingue dalle due annuali essenzialmente per i suoi pollini di dimensioni inferiori (asse ed esina) provvisti di pori ovoidali e di spine mucronate (h) meno numerose e più piccole. Al contrario, le due annuali sono vicine e difficili da separare, considerato che l'ampiezza delle variazioni della specie polimorfa *L. olivieri* ingloba pressoché *L. flavida*. Quest'ultima possiede comunque un'esina un poco meno sviluppata ai poli.

All'interno di questo gruppo l'evoluzione sembra aver portato alla diminuzione del rapporto P/E, all'aumento della taglia dei pollini, dei pori, degli elementi della scultura e dello spessore dell'esina. Infatti, se si considera la percentuale delle dimensioni dell'esina in rapporto a quella degli assi P ed E, si constata che l'esina varia poco (8% degli assi), al contrario dell'ispessimento equatoriale che si accentua leggermente ed ai poli si attenua. Queste tendenze evolutive sono dunque identiche a quelle dell'unità precedente.

Il gruppo di *L. olivieri* forma un'entità pollinica assai particolare con delle caratteristiche proprie (forma, ispessimento, spine, infratectum) che lo isolano dal resto del genere. L'origine di questo gruppo resta di conseguenza assai problematica. Essa potrebbe essere avvenuta in maniera marginale e precoce durante la differenziazione del genere. Ciò sembra per, Verláque (1986b), poco probabile, visto che, all'eccezione della loro forma sferica, i suoi pollini offrono un esempio, di caratteri molto avanzati, che richiamano per certi versi quelli della specie *L. brachiata*. La separazione del gruppo di *L. olivieri* sembrerebbe, per Verláque, più tardiva, vincolata alla colonizzazione di un territorio nuovo (Sud-Est dell'area del genere) e la differenziazione di caratteri morfologici inediti (involucro da 3 a 5 brattee protettrici e frutti di piccola taglia). Verláque quindi ritiene adatto, per spiegare la singolarità pollinica di questo gruppo, ricorrere di nuovo ad un fenomeno di "dedifferenziamento". La subequiasità dei pollini corrisponderebbe all'insorgenza di

tratti ancestrali (tendenza che altrove è più sfocata) laddove le altre caratteristiche avrebbero subito delle innovazioni di grande ampiezza.

### **Pollini verrucosi subequiasse.**

Questa unità pollinica è composta dai gruppi di *L. argentea* e di *L. rotata*, vale a dire da 4 specie perenni e da una dozzina di annuali. In rapporto agli altri granuli subequiasse, le caratteristiche dei pollini di questa unità, di taglia molto piccola, risiedono nella sostituzione delle grandi spine con delle verruche. Queste ultime (H), più abbondanti nelle perenni (*L. sphaciotica* specialmente) hanno in *L. argentea* delle forme irregolari con dei piccoli “becchi”. Le spine (h), più numerose soprattutto nelle annuali, si fondono sovente alla loro sommità.

Come per gli altri pollini breviasse del genere, i contorni equatoriali triangolari presentano in generale dei lati diritti, i lati concavi caratterizzano le specie più avanzate che sono: la perenne *L. argentea* e le due annuali dello stesso gruppo (*L. hispidula* e soprattutto *L. cosmoides*) e nel complesso annuale di *L. rotata*, due taxa realizzano una disploidia discendente: *L. persica* ( $2n = 18, 17, 16$ ) e *L. calocephala* ( $2n = 16$ ). Come nelle specie più evolute della prima unità, l'esina dei pollini breviasse verrucosi si ispessisce unicamente all'equatore. Le columelle, numerose e poco distanziate, offrono delle taglie molto variabili nelle specie perenni, per l'anastomosi completa di certi tronchi. Al contrario, nelle annuali esse sembrano molto omogenee e assai più ristrette, con, qualche volta, delle fusioni parziali laterali sui tronchi dalla base fino alla sommità.

Ci sono comunque delle perturbazioni, come in *L. brachycarpa* e *L. rotata* per esempio, che producono dal 10 al 20% di pollini quadrati tetraporati di grossa taglia anziché dei micropollini, e la specie tetraploide *L. palaestina* possiede dei granuli triporati di dimensione molto variabile.

L'evoluzione palinologica di questa unità sembra analoga a quella della prima unità (breviasse spinoso) ed avviene in maniera parallela, ma separata in ciascuno dei due gruppi (*L. argentea* e *L. rotata*), con:

- diminuzione del rapporto P/E
- aumento dell'altezza degli elementi ornamentali dell'opercolo,
- sviluppo, in numero e taglia, degli elementi sculturali dell'esina,
- trasformazione dei lati dei pollini, da poco convessi a diritti, in lati a poco a poco più concavi.

Comunque, nei pollini verrucosi il subequiasse si accentua (da 0,68 a 0,42 invece che da 0,81 a 0,51), l'ornamento dell'esina diviene più complesso e più intenso, infine le columelle sembrano più abbondanti.

All'interno del gruppo *L. argentea*, le due annuali molto vicine morfologicamente, sembrano divergere grazie alla differenziazione preferenziale di un carattere pollinico: il breviasse in *L. cosmoides* (scultura poco evoluta) e lo sviluppo degli elementi sculturali in *L. hispidula* (P/E si dimostra vicino a quello delle perenni del gruppo). Per le altre, l'insularità sembra aver giocato un ruolo favorevole nell'evoluzione pollinica dello stabile endemismo della specie di Creta *L. sphaciotica* (P/E = 0,49; scultura prominente).

All'interno del complesso di *L. rotata*, che sembrerebbe, per numerosi ambiti, il gruppo più evoluto del genere, il valore elevato del rapporto P/E sorprende (da 0,68 a 0,49), considerato che i taxa perenni più antichi e quelli annuali mostrano un breviasse simile. All'interno dei due complessi annuali vicarianti, *L. rotata* e *L. stellata*, che si sviluppano parallelamente, solo la dedifferenziazione (neotenia) di certi caratteri (fiori attinomorfi, P/E elevato), che accomuna questi ad una progressione folgorante di tutti gli altri (morfologia, cariologia e biogeografia), fornisce una spiegazione plausibile alla loro evoluzione. Se si allarga questa discussione alle tre unità polliniche, si nota che, secondo Verlaque, i tre gruppi che presentano queste particolarità sono i soli del genere ad avere introdotto delle reali innovazioni morfologiche (brattee e frutti) e cariologiche (poliploidia, disploidia).

### **Polline di *Lomelosia brachiata***

Descritto da Erdtman (1952, 1956) questo polline si presenta sferico (110  $\mu\text{m}$ ), triporato (pori di 18  $\mu\text{m}$  di diametro), con esina di 14  $\mu\text{m}$  di ispessimento ricoperto di piccole spine e di grosse verruche (4-3  $\mu\text{m}$ ). Verlaque (1986b) considera i suoi pollini ben identificabili ed indipendenti nell'ambito della tribù. La novità è trovare differenze tra le due varietà nella differenziazione sculturale del polline.

La forma del polline è subequiassiale di dimensioni importanti, anche molto variabili: P = da 124 a 147  $\mu\text{m}$ ; E = da 137 a 155  $\mu\text{m}$ ; P/E = da 0,90 a 0,94  $\mu\text{m}$ . Contorni equatoriali subtriangolari con coste da poco concave ad erette. Per quanto riguarda l'apertura, i pollini sono triporati, angulaperturati; il poro è delimitato per un anello ispessito (da 1 a 2  $\mu\text{m}$ ) esteriormente, striato ed otturato per un opercolo ricoperto da una decina di elementi ornamentali compatti: clavule larghe e lobi di 14  $\mu\text{m}$  di altezza. Per quanto riguarda la scultura del polline, l'esina è spinosa e verrucosa o con bacule a seconda della varietà:

— var. *lyratum*: bacule (H/D = da 5 a 6/3  $\mu\text{m}$ ) entro le quali si trovano numerosissime spine poco elevate (h/d = da 1,5 a 2/1  $\mu\text{m}$ ), diritte e raramente saldate.

— var. *palaestinum*: verruche (H/D = da 4 a 5/5  $\mu\text{m}$ ) circondate di spine assai variabili e meno numerose e più alte (h/d = da 2 a 3/1  $\mu\text{m}$ ), inclinate e saldate per 2, 3 o 4 alla loro sommità.

Inoltre si osserva su un'importante quantità di pollini una proliferazione delle verruche e soprattutto delle spine che si fondono poi per decina.

Per quanto riguarda la struttura, l'esina differenzia due ispessimenti, uno massimale da 5 a 6  $\mu\text{m}$  ai poli ( $E_p$  = da 18 a 19  $\mu\text{m}$ ) ed uno molto più piccolo di 1  $\mu\text{m}$  circa all'equatore ( $E_e$  = da 13 a 15  $\mu\text{m}$ ); entro queste due zone, l'esina si dimostra più fine (da 12 a 14  $\mu\text{m}$ ). Le columelle si suddividono quasi fin dalla base (tronchi praticamente non visibili) in ramificazioni primarie verticali e parallele, molto numerose, dello stesso diametro e pressate le une contro le altre. Queste si scindono a loro volta in multiple ramificazioni secondarie, tutte collegate da grossi ponti di sporopollenina che danno al granulo un aspetto verrucoso. Infine, la faccia interna della nexina porta, ovunque sul granulo, una fine endoscultura.

Da notare che esiste più differenza tra i pollini di queste due varietà simpatriche che all'interno di numerose specie di gruppi di taxa lontani. La proliferazione degli elementi sculturali della var. *palaestinum* sembra connessa a certe perturbazioni cariologiche (Verláuque, 1986b), consecutive a ristrutturazioni cromosomiche imperfettamente stabilizzate causate da disploidia discendente. Questi fenomeni sono forse dello stesso ordine di quelli che toccano pure le specie appartenenti a gruppi primitivi di *Lomelosia*, *L. camelorum* in particolare (Verláuque, 1986b). Tra le due varietà sopra descritte, dalla var. *palaestinum* verso la var. *lyratum* più avanzata, l'evoluzione molto attiva si accompagna ad uno sviluppo dell'ispessimento dell'esina, della taglia dei pollini, delle aperture e di tutti gli elementi sculturali; le verruche si trasformano in bacule più elevate e le spine si moltiplicano. Le percentuali delle dimensioni dell'esina in rapporto a quelle degli assi ( $E_e/E$ ,  $E_p/P$ ) rivelano: una progressione dell'ispessimento equatoriale, una leggera riduzione dell'ispessimento dell'esina entro l'equatore ed ai poli ed un'importante diminuzione degli ispessimenti polari. In ragione della forte variabilità della taglia dei granuli, la differenza dei rapporti  $P/E$  ( $i = \pm 0,03 \mu\text{m}$ ) delle due varietà non sembra essere molto significativa.

Questi pollini, infine, sembrano avere tendenze evolutive analoghe alle altre tre linee filetiche descritte.

### 1.2.7 L'evoluzione del genere secondo Verláuque (1986b).

All'interno di questo genere, l'unità pollinica meglio rappresentata, con granuli breviasse spinosi, sembrerebbe essere probabilmente la più arcaica all'interno del genere. Essa avrebbe dato origine, in maniera brutale (senza intermediari) nel Mediterraneo orientale alle due unità più evolute e ben distinte: ad Est, l'unità con pollini subequiasse spinosi (gruppo *L. olivieri*), in Medio Oriente, l'unità con pollini breviasse verrucosi (complesso di *L. argentea* e *L. rotata*). Queste tre unità presentano delle tendenze evolutive analoghe: diminuzione del rapporto  $P/E$ , riduzione

dell'ispessimento dell'esina ai poli ed accentuamento dello stesso all'equatore, infine aumento della complessità sculturale e strutturale dell'esina.

Discorso a parte merita *Lomelosia brachiata* che Verl aque considera, come gi  pi  volte detto, un genere a parte. L'ex *Tremastelma palaestinum* presenta tutta una serie di affinit  morfologiche profonde (struttura anatomica, chiusura e foveole del tubo) con l'ex sezione *Trochocephalus*, tale che   proprio l  che ne andrebbe ricercata l'origine. La cariologia apporta le prime risposte a questa ipotesi. In effetti, *L. brachiata* possiede un numero cromosomico unico all'interno della trib  ( $x = 7$ ). Parecchie tappe ipotetiche sarebbero necessarie per spiegare la creazione di questo numero, poich  *Lomelosia* possiede quasi solo un unico numero di base ( $x = 9$ ). *L. calocephala* per  si distingue per un numero cromosomico di base diverso,  $x = 8$ , e questo potrebbe spiegare i differenti stadi di disploidia discendente da  $x = 9 \rightarrow x = 8 \rightarrow x = 7$ . L'assetto cromosomico di *L. brachiata*, quindi, potrebbe aver avuto origine da una seconda ristrutturazione cromosomica pi  profonda, questa ipotesi sarebbe confermata anche dai risultati palinologici. Infatti, dal paragone dei pollini di *Lomelosia brachiata* con quello delle altre tre linee filetiche si riconoscono certe somiglianze:

— con il gruppo di *L. olivieri* (seconda linea), in ragione della subiequissit  dei granuli, dell'ispessimento e della struttura molto complessa dell'esina,

— con la linea 3 per la scultura dell'esina, a volte verrucosa, a volte spinosa, e pi  precisamente col complesso di *L. rotata* in funzione della forma comune degli elementi ornamentali degli opercoli.

Alla fine Verl aque sceglie, tra le due ipotesi, la seconda, facendo risalire l'origine di *L. brachiata* al gruppo di *L. rotata*, interpretando le analogie con il gruppo di *L. olivieri*, come dei semplici parallelismi. Origine che verrebbe confermata dai dati ecologici e morfologici di questa specie, molto vicini a quelli delle specie orientali del gruppo di *L. rotata*. Inoltre il punto di differenziazione di questa specie potrebbe quindi essere localizzato verso ovest, dal Medio verso il Vicino Oriente.

Secondo Verl aque l'evoluzione, come nella trib , avrebbe portato ad un perfezionamento della protezione e della dispersione delle diaspore. Anche per quanto riguarda l'aspetto generale della pianta (portamento, foglie, capolini) troviamo le stesse tendenze evolutive della trib . La differenziazione sembra realizzarsi in modo brutale e rapido, per radiazione adattativa di una dozzina di gruppi ben distinti, ciascuno formante un gruppo omogeneo per caratteri morfologici ed ecologici. All'interno di ogni gruppo i taxa sembrano evolvere pi  lentamente soprattutto per isolamento geografico. Le specie di uno stesso gruppo si distinguono tuttavia per criteri minori (colore dei fiori, pelosit , dimensioni delle foglie e dei capolini). L'individuazione delle specie

perenni è più semplice di quelle annuali che sono molto polimorfe. La differenziazione di 8 fovee sommitali, lignificate, profonde (chiusura) e di un anello interno di sclerenchima orizzontale (raddoppiato da un anello esterno di fibre longitudinali) conferisce una protezione estrema alle diaspore che sono le più coriacee della famiglia. Questa innovazione appare già nel gruppo delle specie arcaiche, ma si accentua con l'evoluzione soprattutto nelle specie annuali (aumento del numero di strati di fibre e di sclereidi e della taglia e lignificazione delle foveole).

Al fine di migliorare la disseminazione dei frutti, le 5 reste calicine, all'inizio corte e dritte, si allungano e svasano fino a diventare a poco a poco orizzontali; il calice subsessile diviene allora lungamente stipite. Parallelamente il limbo si sviluppa e diventa visibile grazie alla moltiplicazione dei nervi che lo sottendono, tra i gruppi e all'interno degli stessi, nel seguente modo:

da 16 a 20 nervi nelle specie arcaiche *L. camelorum* e *L. cyprica*;

da 20 a 28 nei gruppi di *L. graminifolia*, *L. crenata*, *L. caucasica*, *L. argentea* e *L. olivieri*;

da 24 a 36 nei complessi di *L. micrantha*;

32 in *L. prolifera*;

da 28 a 36 nel complesso di *L. rotata*;

da 32 a 40 nel complesso di *L. stellata*.

I frutti di questo genere sembrano dunque molto specializzati e perfettamente adattati all'anemocoria. Comunque, a partire dalle specie meno evolute, provviste di diaspore di taglia media, due linee divergenti sembrerebbero condurre alla differenziazione dei frutti nel seguente modo:

da quelli grossi che planano pesantemente (*L. rotata* e *L. stellata s.l.*) a quelli piccoli, che planano lievemente (gruppo *L. olivieri*).

All'interno di questo genere, le caratteristiche biogeografiche si rivelano di grande importanza. In generale, i taxa tipici di quei gruppi perenni possiedono una distribuzione ristretta al Mediterraneo occidentale e ad un territorio più vasto verso Est. Alla periferia di quest'area centrale sono imprigionate dalla nascita, su alcuni massicci montuosi e all'interno di qualche isola, diverse unità tassonomiche, sottoposte ad endemismo ristretto, le quali si riscontrano a livello di specie nel Vicino e Medio Oriente ma infraspecifiche nel Mediterraneo centrale ed occidentale. Le specie perenni sono tutte pressoché allopatriche, la loro differenziazione si realizza per isolamento morfologico ed ecologico fra i gruppi, e dopo geograficamente all'interno di ciascun gruppo. Al contrario, le annuali, in gran parte simpatriche, si estendono su vaste aree continue, (eccetto *L. divaricata*) situate principalmente in Vicino e Medio Oriente. Fra i gruppi e all'interno di essi, l'individuazione delle specie sembra il risultato di trasformazioni più profonde, di ordine morfologico (frutto), palinologico e cariologico. Soltanto i complessi più evoluti occupano territori

più delimitati, in periferia della zona di residenza del genere: *L. stellata* s.l. nel Mediterraneo occidentale, *L. olivieri* s.l. ad Est Iran, Kazakistan) e *L. rotata* s.l. dal Medio Oriente verso la penisola araba.

Il centro della differenziazione iniziale del genere sembrerebbe impossibile da localizzare (in ragione della distribuzione geografica distaccata delle specie arcaiche); per contro il centro attuale di differenziazione delle specie perenni è da considerarsi il Mediterraneo centrale ed orientale, e quello delle annuali è da localizzare da Est verso il Medio Oriente. Lo studio della differenziazione geografica dei differenti gruppi mostra che, dopo un periodo di espansione, la maggior parte delle specie perenni sono entrate in una fase di cedimento nel Vicino Oriente. Senza dubbio, principalmente sotto l'effetto delle pulsazioni climatiche del quaternario, i taxa del Mediterraneo occidentale e centrale sono stati compressi dentro aree di rifugio disgiunte, dove essi vivono senza diffondersi; allorché le perenni in Oriente sembrano un po' più dinamiche. Al contrario, le specie annuali sembrano ovunque in piena progressione, la loro differenziazione all'interno dei gruppi, perciò, non è dovuta da un isolamento geografico (alla periferia dell'area centrale), ma sembra abbastanza di origine genetica e prende luogo all'interno del territorio della specie dominante del gruppo (ad esempio nel gruppo di *L. argentea*).

Il genere *Lomelosia*, quindi, costituisce, per Verlaque, un gruppo naturale e coerente, per morfologia, anatomia e cariologia, dall'aspetto omogeneo, ma dal più alto grado di complessità e diversificazione nella famiglia. La differenziazione di tutti i caratteri si realizza ad una velocità differente, rapida fra le tre linee evolutive e gli undici gruppi, lenta all'interno di ciascun gruppo. In più, l'evoluzione non è semplice e lineare; interverrebbero, infatti, meccanismi complessi, tra i quali figurano la neotenia, particolarmente visibile nelle specie annuali delle tre linee evolutive. Questa non differenziazione, senza dubbio il risultato di riarrangiamenti cromosomici profondi, provocherebbe il mantenimento di certi tratti morfologici e palinologici primitivi, ma rende le specie dinamiche nei processi evolutivi.

Questo genere sembra, dunque, a tutti gli effetti, molto evoluto; il suo dinamismo, il suo polimorfismo ed i suoi multipli aspetti precursori sono accentuati. All'opposto di altri gruppi della tribù (*Scabioseae*), dalle potenzialità più ridotte, esso utilizza, per la sua differenziazione, di volta in volta un aggregato dei processi evolutivi conosciuti: radiazione adattativa, deriva genetica, isolamento geografico, poliploidia, a volte dopo aneuploidia, disploidia discendente, riarrangiamenti cromosomici (diminuzione della taglia e cambiamento progressivo della simmetria del cariotipo), neotenia ecc... Tutti questi fenomeni avrebbero causato una speciazione intensa e, a volte, persino esplosiva, specialmente nel Mediterraneo orientale e nel Medio Oriente (numerose specie), laddove, nel Mediterraneo occidentale, la differenziazione sembra più lenta. Comunque, i gruppi di specie

perenni sembrano, al momento, in via di regressione, in rapporto ai gruppi molto dinamici e più recenti delle specie annuali che sono in piena espansione.

### 1.2.8 Lavori successivi su *Lomelosia*.

Mayer & Ehrendorfer (1999) effettuarono studi ultrastrutturali sull'epicalice delle *Scabioseae*. Essi notarono, nei nostri generi d'interesse, come l'aumento dell'ispessimento della parte superiore dell'epicalice, rispetto all'altro genere che possiede fossette, ossia *Pycnocomon*, sarebbe maggiore, cosicché le stesse fossette, in *Lomelosia*, risulterebbero più profonde. Il diaframma (una protrusione della parte distale del lato interno del tubo dell'epicalice che contribuisce a mantenere meglio il frutto "in loco") è presente in tutte le *Lomelosia* tranne che in *L. songarica*. In essa si pensa che il diaframma non sia un'assenza plesiomorfica, bensì una sua integrazione nella costruzione di appoggi per le fossette più elaborati. La parte superiore del diaframma, l'epidiaframma, si mostra molto differente nel genere: in *L. cretica* esso risulta più o meno in posizione eretta nei frutti maturi, come in *Pycnocomon*. Tutti gli altri taxa possiedono frutti con un epidiaframma più o meno orizzontale. Un'analisi sui vari stadi di sviluppo dei frutti di *L. caucasica* e *L. rotata*, dalla pianta giovane a quella matura, mostra che durante la fioritura l'epidiaframma è eretto verticalmente. Durante la maturazione, poi, si gira verso il basso, fino ad una posizione quasi orizzontale in *L. caucasica* e perfettamente orizzontale in *L. rotata*. I frutti di *Lomelosia brachiata* presentano anch'essi un epidiaframma orizzontale.

*Lomelosia caucasica* viene considerata abbastanza arcaica dai due studiosi, vista la presenza in essa di un epicalice quadrilaterale nella sezione trasversale, condizione plesiomorfica negli altri generi della tribù, laddove esso è leggermente costituito da otto spigoli o più o meno intero in tutte le altre specie.

Concludendo i due autori riconoscono per il genere *Lomelosia* il seguente nuovo carattere sinapomorfico: epicalice con un epidiaframma allungato. La loro filogenesi finale mostra, per *Lomelosia* un profilo evolutivo abbastanza diverso da quello di *Scabiosa* s.s. e *Sixalix* (*Scabiosa* clade per gli autori), ma include importanti sinapomorfie condivise con *Pycnocomon* (numero cromosomico apolide, polline, diaframma ed epidiaframma). Quindi la separazione di *Scabiosa* sect. *Trococephalus* come genere *Lomelosia* da *Scabiosa* come proposta da Greuter & Burdet (1985) appare ben fondata. Inoltre essi confermano anche l'integrazione di *Tremastelma palaestinum* in *Lomelosia*, come Greuter & Burdet (1985) grazie a caratteri comuni (epidiaframma allungato orizzontale, fossette profonde, secondo anello sclerenchimatico). Anche per i due autori i numeri cromosomici di base  $2n = 16, 17, 18$  in *L. persica* e  $2n = 16$  in *L. calocephala* (Verlâque, 1986b) indicherebbero un fenomeno di disploidia discendente come origine di *Lomelosia brachiata*.

De Castro & Caputo (2001), nella loro analisi filogenetica, costruirono una matrice di 19 caratteri morfologici multistato ottenendo 27 alberi a massima parsimonia di lunghezza 55. In questa analisi viene confermata la monofileticità per i gruppi di *L. caucasica*, *L. cretica* (sinapomorfia di gruppo: habitus suffruticoso camefita, cioè perenne con germogli erbacei e gemme che crescono a pochi dm dal terreno), *L. graminifolia*, *L. crenata*, *L. prolifera*, *L. stellata*, *L. argentea*, *L. micrantha* e *L. rotata*. Dall'albero di consenso si evincono una serie di trend evolutivi. Innanzitutto sembra che le specie più arcaiche abbiano un habitus perenne, identificato nel gruppo di *L. caucasica*, considerato il più arcaico del genere e da esse si siano derivate forme con habitus annuale. Quest'ultimo stato comunque si sarebbe diffuso più volte indipendentemente nell'ambito del genere. Inoltre molte specie del genere presentano capolini raggiati, condizione derivata nella famiglia, ma che sembra plesiomorfica nel genere in questione, laddove i capolini globosi si trovano soprattutto nelle specie derivate (gruppi di *L. micrantha*, *L. rotata* ed alcune specie del gruppo di *L. olivieri*), anche se sono presenti pure nelle forme più arcaiche, come *L. camelorum*. Altra caratteristica è il margine dei fiori che si presenta intero nei gruppi più antichi e indipendentemente evolve in margine crenato (gruppi di *L. crenata*) o flagellato (alcune specie del gruppo di *L. rotata*) in gruppi più derivati. Ancora, la forma del tubo dell'epicalice che è grossolanamente cilindrica in molte specie, ma diviene campanulata in *L. brachiata*, *L. micrantha*, *L. olivieri*, ed in poche altre specie.

### **1.3 Obbiettivi.**

Due sono gli obiettivi principali del lavoro di tesi. Innanzitutto ampliare e verificare l'analisi filogenetica sulla famiglia delle *Dipsacaceae* effettuata da Caputo *et al.*, (2004) raddoppiando il numero di marcatori e di taxa. Inoltre realizzare, per la prima volta, un'analisi filogenetica del genere *Lomelosia* basata su marcatori molecolari, verificando quindi le tendenze evolutive del genere evidenziate dagli studi di Verlaque (1986b) e comparando la nostra con l'analisi filogenetica morfologica ottenuta da De Castro & Caputo (1999).

## **2 Materiali e metodi**

### **2.1 Scelta dei marcatori.**

Per poter costruire un albero filogenetico è necessario avere dati riguardanti i taxa in esame con un grado di variabilità che permetta comparazioni. Il DNA nucleare codificante per gli RNA ribosomali (rDNA) è stato ampiamente impiegato negli studi di filogenesi, grazie al suo elevato

grado di conservatività. L'rDNA 18S, ad esempio, costituisce una delle regioni di DNA più conservate ed è stato impiegato per ricostruire complessi rami filogenetici che includono regni, phyla, classi ed ordini. Le regioni ITS (intergenic transcribed spacer) invece, sono mediamente variabili e con un indice di conservazione adeguato per indagini a livello di piccole famiglie e di grandi generi (Suh *et al.*, 1993; Kim & Jansen, 1994; Baldwin *et al.*, 1995). Oltre all'appropriato tasso di variabilità, gli ITS presentano anche vantaggi di natura sperimentale: essi, infatti, appartengono al DNA ribosomale nucleare, che costituisce una frazione abbondante del DNA totale, inoltre sono compresi tra regioni di DNA altamente conservate (il 18 S, il 5,8 S e il 25 S); entrambe le caratteristiche permettono, di norma, una facile amplificazione via PCR, mediante l'uso di primer quasi universali, che riescono a fornire prodotti di amplificazione sequenziabili dalle alghe verdi alle monocotiledoni (fig. 21).

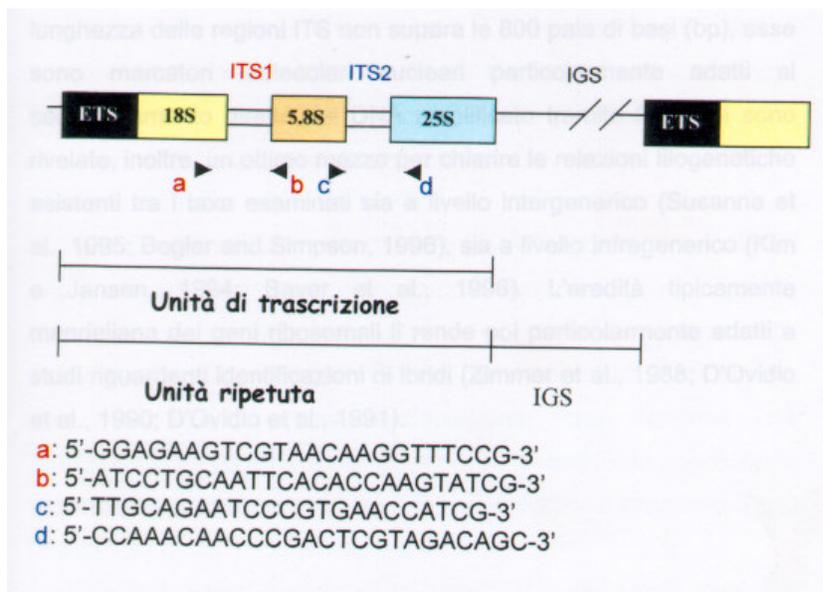


Figura 21: Struttura di un'unità ripetuta ribosomale e primer utilizzati.

Per questi motivi, nella presente analisi è stato considerato questo marcatore. Per la famiglia si è presi in esame sia gli ITS1 che 2, per il genere solo l'ITS1.

Altro marcatore preso in esame (sia per il genere che per la famiglia) è la regione genica *psbB-psbH*, che si trova compresa tra due geni, *psbB* e *psbH* (fig. 22), che codificano per due subunità polipeptidiche del fotosistema II, le quali giocano un ruolo essenziale nelle interazioni con le altre subunità del PS II e nel coordinare le molecole di clorofilla (Bukharov *et al.*, 1988). Altri due piccoli geni (*psbT* e *psbN*), la cui funzione non è ancora ben chiara, si trovano compresi all'interno dalla regione considerata (fig. 22).

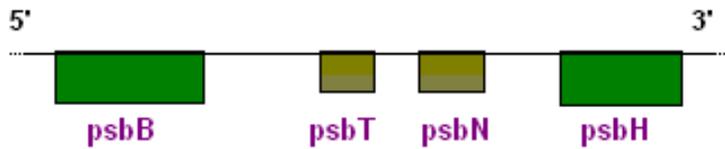


Figura 22: Diagramma strutturale del marcatore *psbB-psbH*.

Il marcatore intronico *trnL* e lo spaziatore intergenico *trnL-trnF* sono stati presi in considerazione per lo studio della sola famiglia, il primo, e per entrambe le analisi, il secondo. Il marker *trnL* (fig. 23) è l'introne compreso tra i 2 esoni codificanti il *trnA* per la leucina (UAA), mentre il *trnL-trnF* (fig. 23) è lo spaziatore tra i geni codificanti per il *trnA* della leucina (UAA) e quello per la fenilalanina (GAA). Un *trnA* è una sequenza non tradotta che per avvolgimento secondario assume una struttura tale da avere da un lato il cosiddetto anticodone, che si accoppia col codone sull'mRNA e da un altro un sito dove avviene una reazione di amminoacilazione con un amminoacido specifico per ogni classe di *trnA*. L'introne del *trnL*, del gruppo I, ha proprietà autocatalitiche nello splicing e forma una struttura secondaria, è posizionato, quasi sempre, tra il primo ed il secondo nucleotide al 3' dell' anticodone. Date le sue caratteristiche, la sequenza di questo introne viene impiegata per indagini filogenetiche in ambiti ristretti (Gielly & Taberlet, 1995a, b, 1996). Lo spaziatore intergenico ha un grado di polimorfismo tale da potere essere usato anch'esso per scopi filogenetici a livello intragenerico o intraspecifico (Fangan *et al.*, 1994).

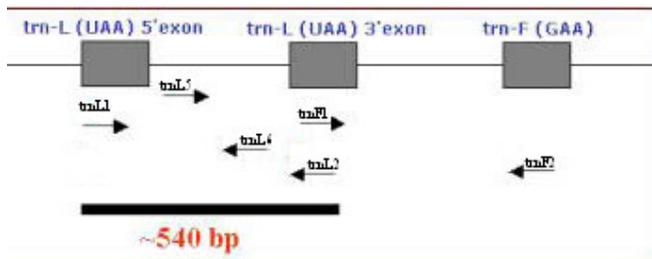


Figura 23: Schema dell'organizzazione del *trnL* e del *trnL-trnF* plastidiali.

## 2.2 Scelta dei taxa.

Le specie dai quali si è estratto il DNA sono elencate in tabella 1 e coprono tutti i rappresentanti dei generi della famiglia e tutti i rappresentanti dei gruppi del genere *Lomelosia*, più *Lomelosia brachiata*, descritti da Verl aque (1986b). Nell'analisi, cruciale   anche la scelta degli outgroup che sono stati inseriti in base alle precedenti analisi filogenetiche effettuate sull'ordine (Judd *et al.*, 1994; Backlund & Donoghue, 1996; Backlund & Bremer, 1997; Bell *et al.*, 2001;

Donoghue *et al.*, 2001; Bell & Donoghue, 2003; Zhang *et al.*, 2003; Bell, 2004; Pyck & Smets, 2004), per lo studio della famiglia, e su quest'ultima (Caputo *et al.*, 2004; Mayer & Ehrendorfer, 1999, 2000) per lo studio del genere. Nel primo caso si sono scelte specie appartenenti alle famiglie delle *Valerianaceae* e delle *Morinaceae*. Nel secondo caso si sono coperti tutti i generi della tribù *Scabioseae* e la maggior parte dei generi rimanenti della famiglia.

Il materiale vegetale impiegato è stato in parte prelevato da campioni d'erbario prestatati da altri giardini botanici, in parte raccolto in natura.

### 2.3 Estrazione di DNA.

Una piccola quantità di tessuto vegetale (possibilmente foglie), è stata raccolta e pestata con azoto liquido. L'estrazione del DNA genomico è stata condotta utilizzando il Dneasy Plant Mini Kit QIAGEN (Sigma) o la metodica descritta da Doyle & Doyle (1990).

### 2.4 Analisi su gel d'agarosio.

La lunghezza in coppie di basi e la concentrazione approssimativa del DNA estratto sono state stimate mediante elettroforesi su gel di agarosio allo 0,8% in TEB 10X a cui viene aggiunto  $1/10^5$  del volume di bromuro di etidio (10 mg/ml). Il DNA estratto è stato fatto migrare contemporaneamente ad un marcatore di peso molecolare noto, il genoma del fago  $\lambda$  digerito con l'enzima di restrizione Hind III (Marker II, Boehringer). Al termine dell'elettroforesi, il gel è stato osservato al transilluminatore (UV) e fotografato.

### 2.5 Amplificazione del marcatore via PCR.

La tecnica di Reazione di Polimerizzazione a Catena (Chain Polymerase Reaction) è stata utilizzata allo scopo di amplificare le regioni di DNA in esame.

Al fine di ottenere i marcatori ITS1, ITS2, *trnL*, *trnF-trnL* e *psbB-psbH*; la reazione di PCR è stata così allestita:

DNA	1-8 ng
Tampone	1/10 del volume finale
MgCl <sub>2</sub>	0,5-2,5 mM
dNTPs	200 $\mu$ M
primer	0,50 $\mu$ M
<i>Taq</i> polimerasi	2,5 U.E.
H <sub>2</sub> O	q.b. al volume finale
Volume finale	50 $\mu$ l

Le reazioni sono state effettuate utilizzando apparecchi Perkin Elmer Gene Amp PCR System 9600 e 9700; i campioni sono stati denaturati, all'inizio della reazione, per 3 minuti e poi si precedeva per ogni ciclo secondo il seguente schema:

- denaturazione 94°C per 30 secondi
- annealing 55°C per 1 minuto
- estensione 72°C per 45 secondi

I cicli sono stati ripetuti 30-35 volte e il tempo di estensione veniva incrementato di 3 secondi per ogni ciclo e prolungato a 7 minuti alla fine dell'ultimo ciclo.

Questi valori sono stati frequentemente modificati per alcuni campioni che richiedevano temperature di annealing comprese tra i 52°- 65°C.

I marcatori analizzati, sono stati amplificati utilizzando le seguenti coppie di primer appositamente disegnati a partire da sequenze di letteratura:

ITS1	JK14 (24 bp):	5'-GGAGAAGTCGTAACAAGGTTTCCG-3'
	JK11(26bp):	5'-ATCCTGGAATTCACAACCAAGTATCG-3'
ITS2	JK27 (23bp):	5'-TTGGAGAATCCCGTGAACCATCG-3'
	SN3 (25 bp):	5'-CCAAACAACCCGACTCGTAGACAGC-3'
<i>trnL</i>	<i>TRNL1</i> (20 bp):	5'-CGAAATCGGTAGACGCTACG-3'
	<i>TRNL2</i> (20 bp):	5'-GGGGATAGAGGGACTTGAAC-3'
<i>trnL-trnF</i>	<i>TRNF1</i> (20 bp):	5'-GGTTCAAGTCCCTCTATCCC-3'
	<i>TRNF2</i> (20 bp):	5'-ATTTGAACTGGTGACACGAG-3'
<i>psbB-psbH</i>	BHP1 (21 bp):	5'-AGATGTTTTTGTGCTGGTATTGA-3'
	BHP2 (20 bp):	5'-TTCAACAGTTTGTGTAGCCA-3'

Il prodotto di PCR ottenuto veniva sottoposto a elettroforesi su gel d'agarosio 1.5 % in TEB 10X con un marcatore di peso molecolare per valutarne lunghezza e concentrazione.

I frammenti amplificati sono stati successivamente purificati mediante il kit GFX PCR DNA Purification Qiagen.

## 2.6 Sequenziamento.

Le moderne tecniche di sequenziamento automatico riprendono la metodica del sequenziamento secondo Sanger *et al.*, (1977) modificata per il *cycle sequencing*.

La novità, introdotta solo da pochi anni, consiste nella marcatura dei ddNTP con fluorocromi di colore diverso per ogni singolo nucleotide: infatti, ogni volta che un ddNTP viene incorporato in una catena nascente di un acido nucleico, la polimerizzazione s'arresta, ma in questo caso, anziché

allestire 4 reazioni, i ddNTP sono distinguibili in base al diverso colore, per cui è possibile effettuare una singola reazione.

I fluorocromi emettono fluorescenza ad una specifica lunghezza d'onda che viene identificata da un detector in seguito all'emissione di un raggio laser; successivamente questa informazione viene elaborata da un computer e convertita in un elettroferogramma.

La tecnica di sequenziamento utilizzata non prevede l'allestimento del gel di sequenza in quanto sfrutta il principio dell'elettroforesi capillare: la separazione delle molecole di DNA è effettuata mediante un capillare di diametro estremamente ridotto alle cui estremità viene applicato un certo voltaggio che consente il movimento delle molecole nella soluzione. In prossimità del catodo le molecole attraversano una finestra all'interno della quale vengono rilevate da un raggio. Il segnale è inviato ad un registratore e quindi ad un computer.

Dopo aver purificato i frammenti amplificati, è stata allestita la PCR di sequenza utilizzando l'ABI Prism Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit, che si avvale dell'enzima AmpliTaq DNA polimerasi.

Questo enzima è una forma mutante della *Taq* polimerasi, sprovvisto dell'attività esonucleasica 5'-3' e con capacità di discriminare tra i dideossinucleotidi drasticamente ridotta.

Ciascuna reazione ha un volume finale di 5 µl e contiene:

1 µl di Terminator Ready Reaction Mix

100 ng di DNA

1.6 µ di primer

H<sub>2</sub>O bidistillata sterile fino a 5 µl

I primer utilizzati per la reazione di sequenza sono stati gli stessi impiegati nelle reazioni di PCR amplificative.

Utilizzando l'apparecchio Perkin Elmer GeneAmp PCR System 9600, le condizioni di sequenziamento sono le seguenti:

- 96°C per 10 secondi (denaturazione)
- 50°C per 5 secondi (annealing)
- 60°C per 4 minuti (estensione)

per un totale di 25 cicli.

Anche in questo caso la temperatura di annealing è stata occasionalmente portata a 55°C per consentire ai primers un'ibridazione più efficiente.

I terminatori in eccesso sono stati allontanati aggiungendo ad ogni reazione 20 µl di Acqua bidistillata sterile, 1/10 del volume finale di Na-acetato 3 M (pH 5,2) e 2 volte il volume di EtOH 95% ed incubando a -80°C per 30 minuti; il tutto è centrifugato a 4°C per 30 minuti alla massima

velocità. Il precipitato viene lavato 2 o 3 volte con EtOH 70 % freddo ed asciugato sottovuoto. Ogni campione viene risospeso in 20 µl di tampone di caricamento costituito da formammide: Blu destrano in rapporto di 5:1, sciolti in EDTA 25 mM, pH 8. Infine, i campioni vengono denaturati a 94°C per 3 minuti prima del caricamento nel sequenziatore ABI mod. 310.

## 2.7 Analisi dei dati mediante tools bioinformatici.

Gli elettroferogrammi delle sequenze ottenute vista la loro lunghezza (~ 600 basi) sono state letti separatamente dal lato forward e da quello reverse e confrontati al fine di ottenere una sequenza consenso. Il software usato è stato Sequence Navigator; le sequenze delle varie specie sono state poi importate nel programma BioEdit ver. 6.0.7 (Hall, 1999), che è stato impiegato per tutte le manipolazioni necessarie delle sequenze. Le sequenze sono così state allineate grazie al software *ClustalW* (Thompson *et al.*, 1994). Tali sequenze allineate sono state sottoposte ad analisi filogenetica usando il programma Nona (Goloboff, 1993-1999), sottoambiente del programma winclada (Nixon, 1999). I parametri sono stati settati come segue: *hold* 10000 (massimo numero di cladogrammi ad eguale parsimonia conservati in memoria); *hold/* 100 (massimo numero di cladogrammi ad eguale parsimonia conservati in memoria per ogni ripetizione dell'algoritmo di ricerca); *mult\** 100 (algoritmo di ricerca euristica con 100 ripetizioni); *max\** attivata (riarrangiamento approfondito sui cladogrammi ottenuti da ogni ripetizione dell'algoritmo). Le indel sono state trattate come dati mancanti. Gli stessi software sono stati usati anche per il calcolo dell'indice di decadimento dei cladi e per l'analisi di bootstrap.

## 3 Risultati

### 3.1 Analisi filogenetica delle *Dipsacaceae*.

I dati della matrice ITS1 ed ITS2 per 35 taxa sono costituiti da 589 caratteri, 274 dei quali informativi. L'analisi filogenetica di parsimonia (escludendo indel equivoci nelle posizioni da 58 a 96 e da 285 a 303 dell'allineamento ITS1 e nelle posizioni da 14 a 62, da 95 a 99 e da 215 a 219 dell'ITS2) ha prodotto 5 alberi ad eguale parsimonia (lunghezza=885; CI=0,55; RI=0,58; escludendo le autapomorfie : lunghezza=764; CI=0,48; RI=0,58). Nell'albero di consenso stretto (fig. 24A) le *Dipsacaceae* sono monofiletiche, con *Pterocephalodes hookeri* sister group al clado che contiene il resto della famiglia. Quest'ultimo gruppo presenta un collasso basale, all'interno del quale si ritrovano varie unità monofiletiche: una che include *Succisa* e *Succisella*, un'altra che include le due specie di *Pseudoscabiosa*, e due cladi più ampi. Uno di essi, completamente risolto,

include *Knautia* e *Pterocephalidium*, in relazione di sister group con le specie di *Cephalaria* e *Dipsacus*; l'altro include tutti gli altri taxa della famiglia. In quest'ultimo clado, il genere *Pycnocomon* è incluso in *Lomelosia*.

I dati della matrice dello spaziatore intergenico *trnF-trnL* per 35 taxa sono costituiti da 404 caratteri (63 dei quali informativi). L'analisi di parsimonia (escludendo gli indel equivoci nelle posizioni da 232 a 233 dell'allineamento *trnF-trnL*) ha prodotto 4 alberi ad eguale parsimonia (lunghezza=157; CI=0,87; RI=0,91; senza caratteri non informativi: lunghezza=100; CI=0,80; RI=0,91). Anche questo albero di consenso (fig. 24B) mostra vari collassi, ed i pochi cladi visibili sono quello con *Pterocephalodes* e *Dipsacus pilosus*, quello con le rimanenti specie di *Dipsacus*, un gruppo che include tutte le specie esaminate di *Cephalaria*, un clado che include *Lomelosia* e *Pycnocomon*, ed un altro con *Pterocephalus*, *Scabiosa* e *Sixalix*.

I dati della matrice dell'introne *trnL* per 35 taxa sono costituiti da 627 caratteri, 54 dei quali informativi. L'analisi di parsimonia (escludendo indel equivoci nelle posizioni da 149 a 158 dell'allineamento del *trnL*) hanno dato 273 alberi a massima parsimonia (lunghezza=155; CI=0,89; RI=0,89; senza caratteri non informativi: lunghezza=81; CI=0,79; RI=0,89). L'albero di consenso stretto (fig. 24C) presenta collassi estesi, e nell'ingroup mostra solo pochi cladi. In particolare, un clado che include le due specie di *Pycnocomon* e le tre specie di *Lomelosia*, un altro con tutte le specie di *Dipsacus* ed un terzo includente *Pterocephalus* e le specie di *Scabiosa* e *Sixalix*.

I dati della matrice *psbB-psbH* includono solo 31 taxa e sono costituiti da 670 caratteri (45 dei quali informativi). L'analisi di parsimonia (escludendo indel equivoci nelle posizioni da 156 a 164, da 200 a 218 e da 375 a 378 dell'allineamento del *psbB-psbH*) ha prodotto un singolo albero a massima parsimonia (lunghezza=121; CI=0,91; RI=0,87; senza caratteri non informativi: lunghezza=57; CI=0,80; RI=0,87). Il cladogramma MP presenta diversi cladi collassati (fig. 24D); *Dipsacus japonicus* è sister group al resto della famiglia, e solo il clado che include *Succisella* e *Pseudoscabiosa* ed un altro che include *Pterocephalus*, *Scabiosa*, *Sixalix*, *Lomelosia* e *Pycnocomon* sono risolti.

Il paragone tra i tassi di sostituzione nelle sequenze (Robinson *et al.*, 1998, Robinson-Rechavi & Huchon, 2000) tra le tribù, i cladi principali, i singoli generi, i gruppi ecologici informali (ad esempio anemocori contro mirmecocori) del cladogramma in Fig. 25 (usando sia la matrice completa che le sue partizioni) hanno mostrato che nessuna linea filetica si è evoluta in modo significativamente più veloce delle altre.

Il test ILD (Farris *et al.*, 1994), con 50 repliche, è stato effettuato per verificare incongruenze tra tutte le possibili coppie di regioni del DNA studiate. Nessuna regione ha mostrato significative incongruenze con le altre. Come conseguenza, i quattro dataset sono stati combinati in

una singola matrice (poiché non sono state trovate sequenze di letteratura per la regione *psbB-psbH* dei tre outgroup e di un ingroup, rispettivamente *Acanthocalyx*, *Nardostachys*, *Pterocephalodes*, e *Triplostegia*, ed il materiale vegetale non era disponibile, le suddette regioni di questi taxa sono state sostituite con caratteri sconosciuti). La matrice combinata dei 35 taxa è costituita da 2290 caratteri (436 dei quali informativi).

L'analisi di parsimonia (escludendo tutti gli indel elencati sopra) ha prodotto un singolo cladogramma MP (lunghezza=1334; CI=0,65; RI=0,68; senza caratteri non informativi: lunghezza=1014; CI=0,55; RI=0,68).

Questo albero completamente risolto (fig. 25) è stato radicato con *Morina* ed *Acanthocalyx* (*Morinaceae*). Un clado monofiletico che include tutte le *Valerianaceae* studiate è sister group ad un clado nel quale *Triplostegia* è a sua volta sister group delle *Dipsacaceae*. La famiglia risulta divisa in due cladi principali, uno dei quali (Clado A) include *Pterocephalus*, *Sixalix* (due specie), *Scabiosa* (tre specie), *Lomelosia* (quattro specie) e *Pycnocomon* (due specie); l'altro clado principale (Clado B) include *Pterocephalodes*, *Succisa*, *Succisella*, *Pseudoscabiosa* (due specie), *Knautia*, *Pterocephalidium*, *Cephalaria* (quattro specie) e *Dipsacus* (cinque specie).

Il Clado A è sua volta diviso in due gruppi monofiletici; uno dei quali mostra *Pterocephalus* alla base, in relazione di sister group con *Sixalix* e *Scabiosa*. Quest'ultimo genere è rappresentato in questo studio da *S. japonica*, *S. africana* e *S. uniseta*.

L'altro gruppo monofiletico, il clado B, include *Lomelosia* e *Pycnocomon*. *L. brachiata* è basale al gruppo che include le due specie di *Pycnocomon*; queste ultime sono a loro volta sister di una successione di taxa che include *L. cretica*, *L. palaestina* e *L. simplex*.

Il Clado B mostra *Pterocephalodes* come taxon basale, in relazione sister con i rimanenti taxa. Quest'ultimo clado è a sua volta diviso in due unità monofiletiche. La prima include *Succisa* e *Succisella* in relazione di sister group ed entrambi a loro volta sister group di un clado che include *Pseudoscabiosa limonifolia* e *P. grosii*. Più internamente vi è un gruppo basale che include il genere *Knautia* e *Pterocephalidium*, i quali sono a loro volta sister group ad un clado che include *Cephalaria* e *Dipsacus*. All'interno di *Cephalaria*, *C. natalensis* è basale, seguita da un gruppo che include *C. leucantha*, *C. joppensis* e *C. syriaca*. Il genere *Dipsacus* presenta *D. sylvestris* basalmente e poi un clado interno con *D. japonicus*, *D. pilosus* e *D. strigosus*.

I valori di bootstrap (Felsenstein, 1985), come anche l'indice di decadimento (Bremer, 1994) sono più alti all'interno del clado A che nel clado B (fig. 25). In particolare, nell'ultimo gruppo, solo il clado che include *Succisa*, *Succisella* e *Pseudoscabiosa*, il clado del genere *Cephalaria* e quello del genere *Dipsacus* mostrano una percentuale di bootstrap sopra il 50%.

Il test dell'elisione ha prodotto una matrice di 15954 caratteri (3855 dei quali informativi), per i dataset elisi combinati. L'analisi filogenetica della matrice ha fornito un singolo cladogramma MP (35 taxa; lunghezza=15242; CI=0,60; RI=0,65; senza caratteri non informativi: lunghezza=12438; CI=0,51; RI=0,65) la cui topologia differisce da quella delle analisi combinate (fig. 25) per la posizione di *Triplostegia*, che è sister group ad un clado che include le *Valerianaceae* e le *Dipsacaceae*; per quella di *Pterocephalodes*, che è sister group a tutte le rimanenti *Dipsacaceae*; per la posizione di *Pterocephalidium* e *Knautia*, che sono una dopo l'altro alla base del clado che include *Pseudoscabiosa*, *Succisa* e *Succisella*.

L'ottimizzazione diretta delle sequenze (Wheeler, 1996, 2003) ha prodotto una matrice di 2534 caratteri (390 dei quali informativi). Le analisi filogenetiche mostrano due cladogrammi a massima parsimonia (35 taxa, lunghezza=1446; CI=0,66; RI=0,72; escludendo i caratteri non informativi: lunghezza=1097; CI=0,56; RI=0,72). La topologia dell'albero di consenso è molto simile a quella delle analisi combinate (fig. 24), eccetto per la posizione di *Pterocephalodes* che è il taxon basale della famiglia, per un collasso basale nel clado B e per relazione di sister group tra il clado che include *Knautia* e *Pterocephalidium* e quello che include *Pseudoscabiosa*, *Succisa* e *Succisella*.

L'analisi bayesiana ha prodotto un albero di consenso la cui topologia è molto simile a quella del singolo albero MP descritto sopra. Le sole differenze (vedi riquadri in fig. 25) sono la posizione di *Triplostegia* (sister group di un clado che include le *Valerianaceae* e le *Dipsacaceae*) e le posizioni relative di due specie di *Dipsacus* e di due specie di *Cephalaria*. Le Probabilità Posteriori (fig. 25 e riquadri) sono alte.

Per verificare che i dati morfologici e cariologici possano essere interpretati come sinapomorfie per i vari cladi, i cambiamenti non ambigui del numero dei lobi della corolla, dei tipi di polline e del numero aploide dei cromosomi sono stati trasferiti (fig. 26) sul cladogramma a massima parsimonia ottenuto dal dataset completo.

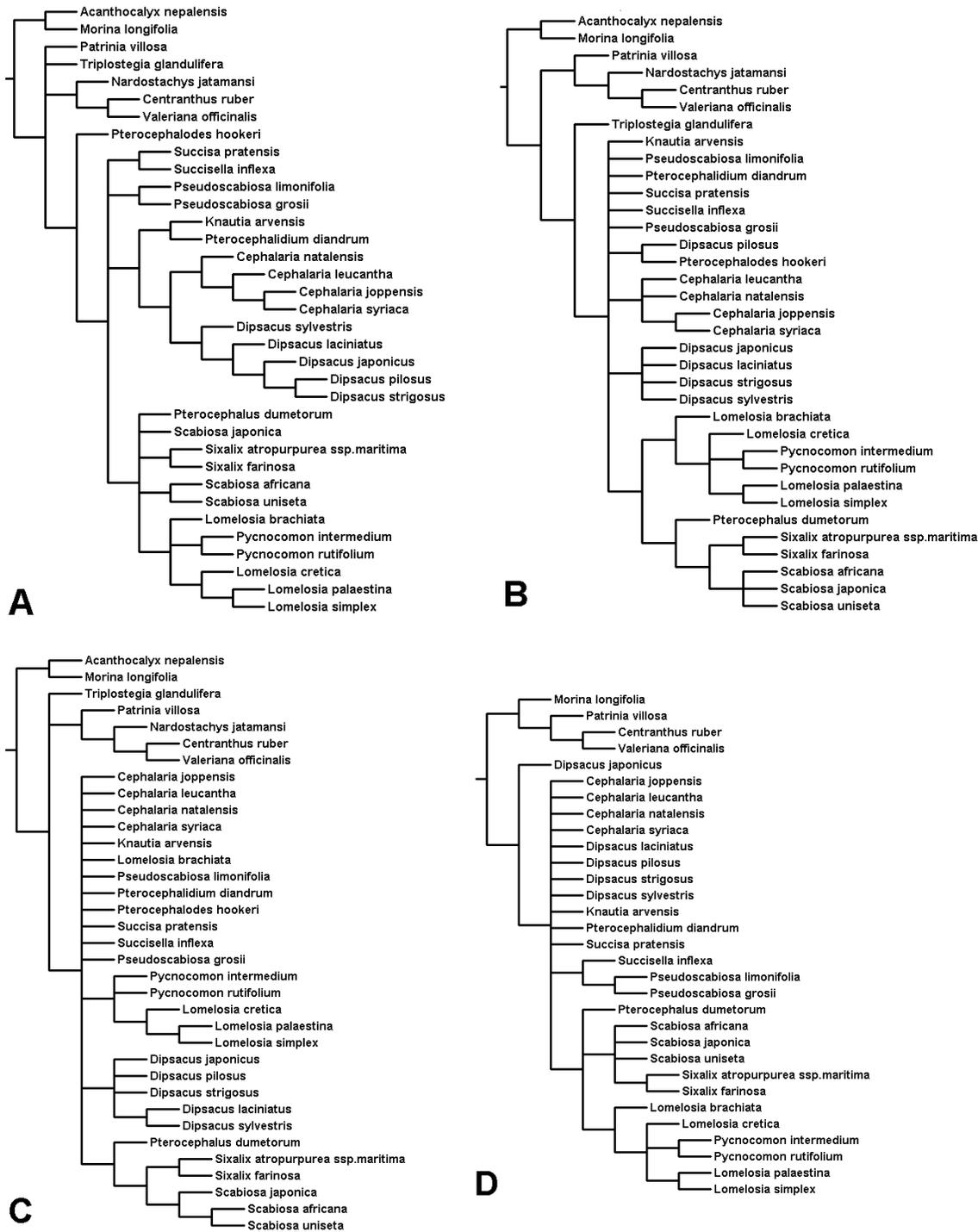


Figura 24: Alberi di consenso stretto dei marcatori ITS (A), *trnL-trnF* (B), *trnL* (C) e *psbB-psbH* (D) dell'analisi filogenetica delle *Dipsacaceae*.

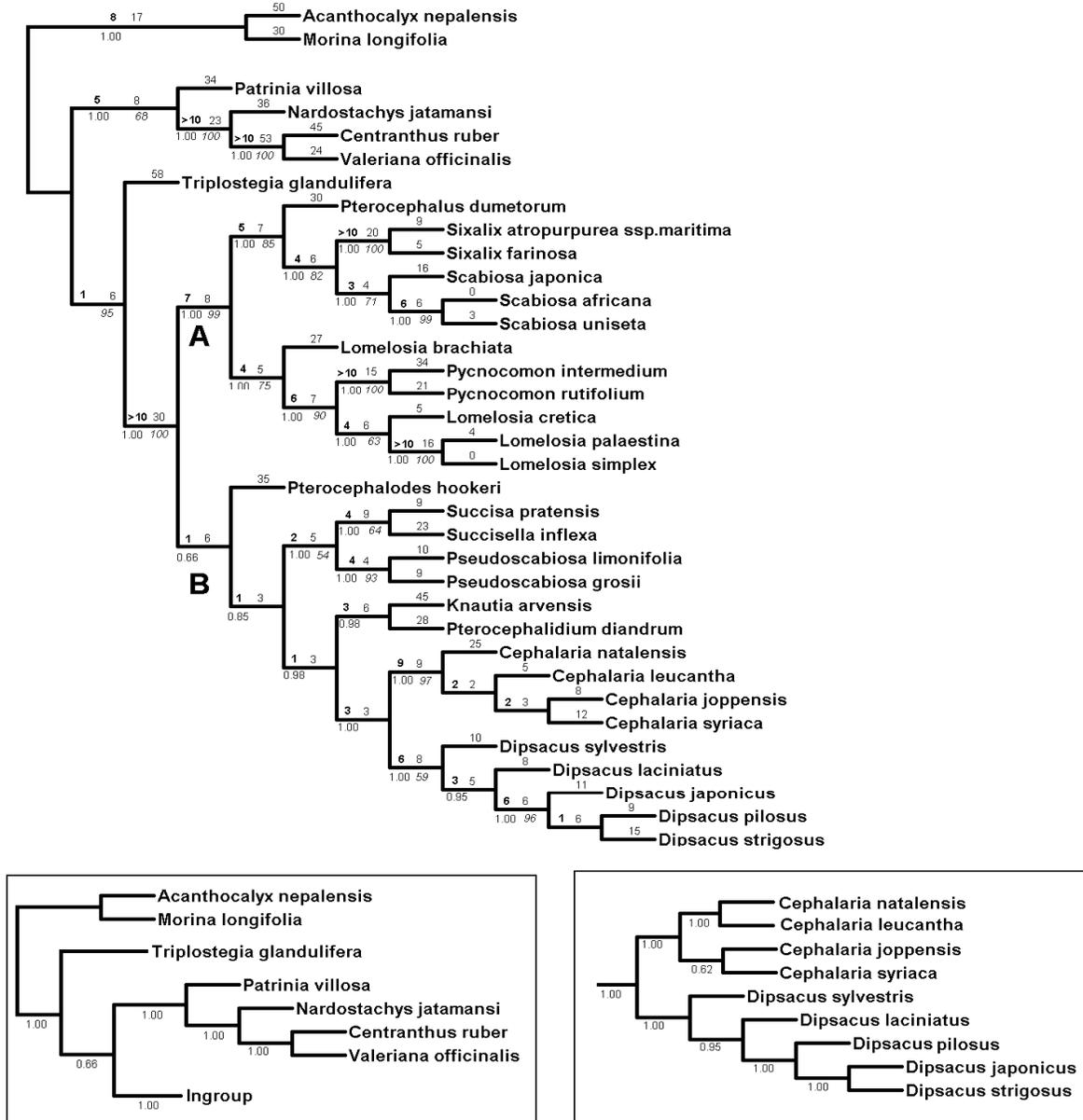


Figura 25: Albero di consenso stretto della matrice combinata dei quattro marcatori. Ad ogni nodo sono raffigurati in alto l'indice di decadimento dei cladi (in grassetto) e il numero di sinapomorfie di gruppo, in basso la probabilità posteriore e il bootstrap (se maggiore del 50%, in corsivo). Il clado delle *Scabioseae* è raffigurato con la lettera A, quello delle *Dipsaceae* con la lettera B. I riquadri sottostanti indicano, laddove presenti, topologie differenti nell'analisi bayesiana (si veda il testo per i dettagli).

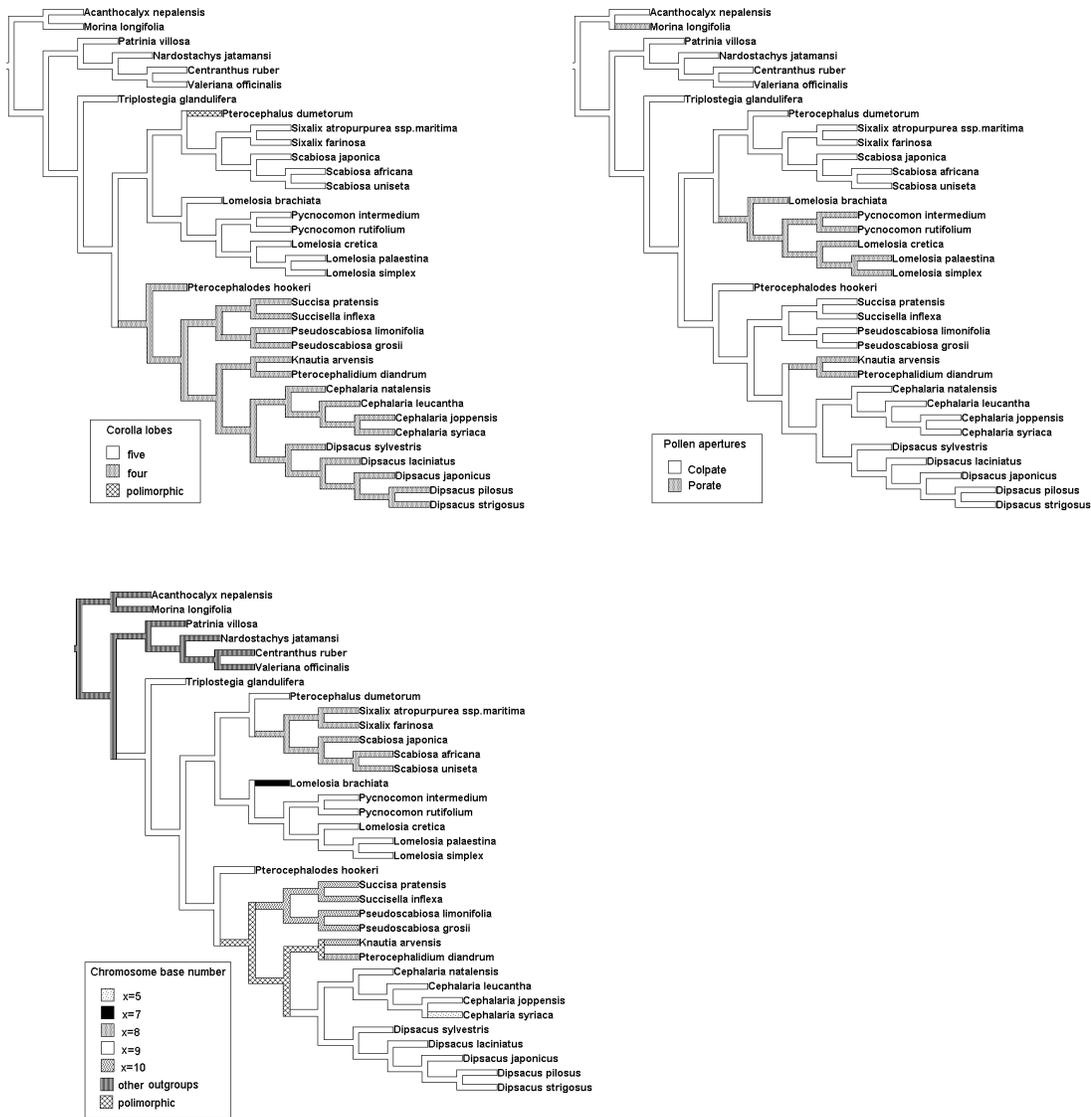


Figura 26: Cambiamenti non ambigui del numero di lobi di corolla, del tipo di polline e del numero cromosomico apolide di base trasferiti sul cladogramma MP ottenuto dalla matrice finale.

### 3.2 Analisi filogenetica di *Lomelosia*.

I dati della matrice delle sequenze ITS1 includono 42 taxa e sono costituiti da 320 caratteri, 41 dei quali informativi. L'analisi di parsimonia ha prodotto 279 alberi ad eguale parsimonia (lunghezza=318; CI=0,63; RI=0,70; escludendo i caratteri non informativi: lunghezza=250; CI=0,53; RI=0,70).

I dati della matrice dello spaziatore intergenico *trnF-trnL* includono 42 taxa e sono costituiti da 389 caratteri, 32 dei quali informativi. L'analisi di parsimonia ha prodotto 12 alberi ad eguale

parsimonia (lunghezza=144; CI=0,91; RI=0,92; escludendo i caratteri non informativi: lunghezza=49; CI=0,79; RI=0,92).

I dati della matrice del gruppo genico plastidiale *psbB-psbH* includono 40 taxa e sono costituiti da 696 caratteri, 39 dei quali informativi. L'analisi di parsimonia ha prodotto 3990 alberi ad eguale parsimonia (lunghezza=159, CI=0,85; RI=0,83; eliminando i caratteri non informativi: lunghezza=97; CI=0,67; RI=0,83).

La matrice totale, ottenuta unendo le sequenze allineate di tutti i marcatori, è costituita da 36 taxa e 1404 caratteri, 145 dei quali informativi. Tale matrice ha prodotto 9 alberi ad eguale parsimonia (lunghezza 607; CI=0,69;RI=0,69 (eliminando i caratteri non informativi: lunghezza = 395, C.I.= 0,53 e R.I.= 0,69).

L'albero di consenso di figura 27, ottenuto dalle sequenze dell'ITS1 mostra un cladogramma con una buona risoluzione tra i generi e diversi collassi all'interno delle *Lomelosia*. Si notano due gruppi principali in relazione di sister group. Il primo è costituito dai generi appartenenti alla tribù delle *Dipsaceae*, che in quest'analisi, lo ricordiamo, costituisce l'outgroup ed il secondo, in basso nel grafico di figura 27, costituito dai generi appartenenti alla tribù delle *Scabioseae*, nostro ingroup. Il clado delle *Scabioseae*, a sua volta, si divide in due gruppi principali sister group tra loro. Il primo contiene i generi *Pterocephalus/Scabiosa/Sixalix* (con il primo in posizione basale), sister group di rappresentanti di *Lomelosia* (*L. brachiata*, *L. candollei* e *L. flavida*). Il secondo è costituito, a sua volta da due gruppi principali in relazione di sister group: il clado di *Pycnocomon* e il gruppo che include le rimanenti specie di *Lomelosia*. Quest'ultimo gruppo si suddivide in due gruppi collassati alla base, il primo contenente le specie *L. kurdica*, *L. leucactis*, *L. macrochaete*, *L. olivieri* e *L. persica*; il secondo che include tutte le altre specie del genere in questione e nel quale si notano i cladi seguenti: *L. crenata/L. pseudisetensis*; *L. songarica/L. sphaciotical/L. argentea/L. hispidula*; *L. simplex/L. isetensis/L. palaestina/L. stellata*; *L. cyprical/L. calocephala/L. micrantha/L. rotata*.

L'albero di consenso di figura 28, ottenuto dalle sequenze dello spaziatore *trnF-trnL*, mostra due gruppi principali in relazione di sister group. Il primo contiene le specie dell'outgroup (tutte appartenenti alla tribù delle *Dipsaceae*) ed il secondo contiene le *Scabioseae*. Quest'ultimo gruppo mostra, a sua volta, altri due gruppi, uno contenente i generi *Pterocephalus/Scabiosa* (con il primo sempre in posizione basale) e l'altro, in relazione sister group con il primo, che include tutte le specie di *Lomelosia* e contiene anche i rappresentanti di *Pycnocomon*. Esaminando più da vicino questo clado si può notare innanzitutto una biforcazione in due cladi principali, uno contenente le specie *L. brachiata*, *L. candollei*, *L. flavida* e l'altro, collassato alla base, contenente le rimanenti specie di *Lomelosia* e *Pycnocomon*. In questo ampio clado si possono notare i gruppi che includono

*L. graminifolia/L. rodhopensis*; *Pycnocomon/L. simplex/L. stellata* (con il primo in posizione basale) ed un unico grande gruppo, risolto alla base e contenente *L. aucheri* in posizione basale, sister group ad un clado che include altri due gruppi, il primo con *L. reuteriana* (basale)/*L. micrantha/L. rotata*; il secondo con *L. phrygia* (basale)/*L. calocephala/L. isetensis/L. leucactis/L. persical/L. porphyroneural/L. prolifera*.

L'albero di consenso di figura 29, ottenuto dalle sequenze del gruppo genico *psbB-psbH*, mostra due cladi principali. L'outgroup contiene sequenze di specie appartenenti alla tribù delle *Dipsaceae*, fatta eccezione per la presenza di *Lomelosia olgae*, *Sixalix farinosa* e *Scabiosa uniseta*. L'ingroup è costituito da *Pterocephalus dumetorum* che è in relazione di sister group al clado che include tutte le altre specie di *Lomelosia* e *Pycnocomon*. Quest'ultimo clado è costituito, a sua volta, da *Lomelosia brachiata*, in posizione basale, in relazione di sister group con le altre specie di *Lomelosia* e di *Pycnocomon*. Tutte queste ultime formano un clado collassato alla base nel quale sono ben riconoscibili i gruppi seguenti: *L. argentea/L. sphaciotica*; *L. aucheri/L. cyprica*; *L. candollei/L. flavida*; *L. isetensis/L. kurdica*; *L. micrantha/L. palaestina/L. simplex*; *L. calocephala/L. leucactis/L. olivieri/L. persical/L. porphyroneura*.

L'albero di consenso di figura 30, ottenuto unendo le tre matrici (ITS1, *trnL-trnF*, *psbB-psbH*) include da 36 taxa; esso ha come outgroup le specie della tribù delle *Dipsaceae* e l'ingroup appare quasi completamente risolto. Quest'ultimo presenta due cladi principali, il primo che comprende i generi *Scabiosa* e *Sixalix*, sister group con l'altro clado, che a sua volta include il genere *Pterocephalus*, in posizione basale, sister group al clado comprendente tutte le *Lomelosia* e le due specie di *Pycnocomon*. Quest'ultimo clado, a sua volta, si divide in due sottogruppi, uno comprendente il clado con le specie *L. brachiata* (in posizione basale)/*L. candollei/L. flavida*, e l'altro che include due altri gruppi: il clado che include le specie di *Pycnocomon* e il clado di tutte le altre specie di *Lomelosia*. Quest'ultimo insieme si divide in due ampi cladi interni. Uno dei due, totalmente risolto, contiene le seguenti specie: *L. kurdica*, *L. olivieri*, *L. prolifera*, *L. leucactis* e *L. persica*. L'altro gruppo presenta un collasso con alla base *L. cretica*; il clado che comprende *L. songarica*, *L. argentea* e *L. sphaciotica*; il clado con *L. pseudisetensis* (in posizione basale), *L. graminifolia* e *L. rodhopensis*; il clado che comprende *L. isetensis*, *L. palaestina*, *L. simplex* e *L. rotata* (con le ultime due in relazione di sister group); il clado che include *L. cyprica*, *L. calocephala*, *L. reuteriana*, *L. micrantha* e *L. rotata*.

I test di congruenza effettuati tra le varie matrici hanno dato tutti risultati negativi.

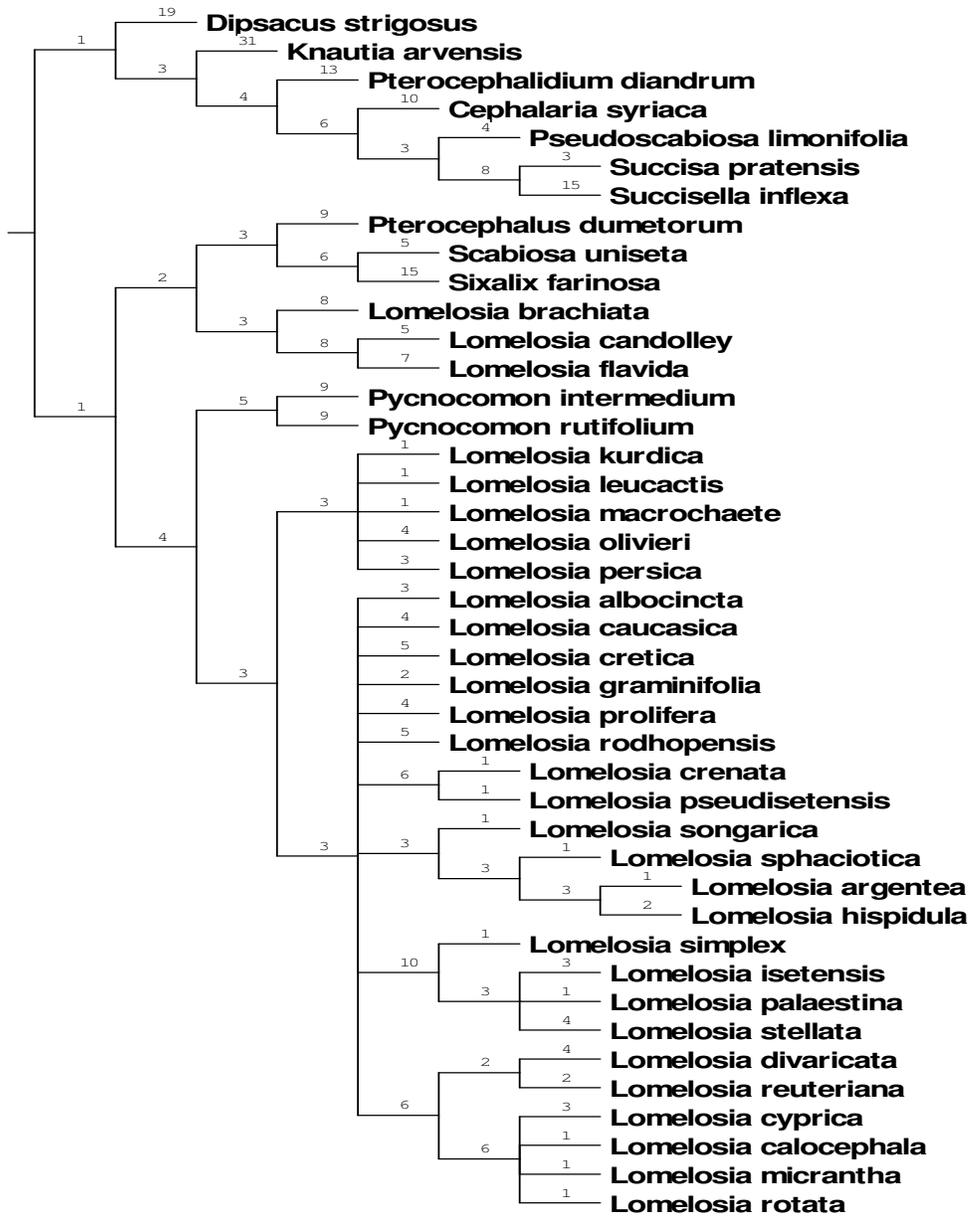


Figura 27: Albero di consenso dello spaziatore ITS1. Sono evidenziati i numeri di sinapomorfie di gruppo.

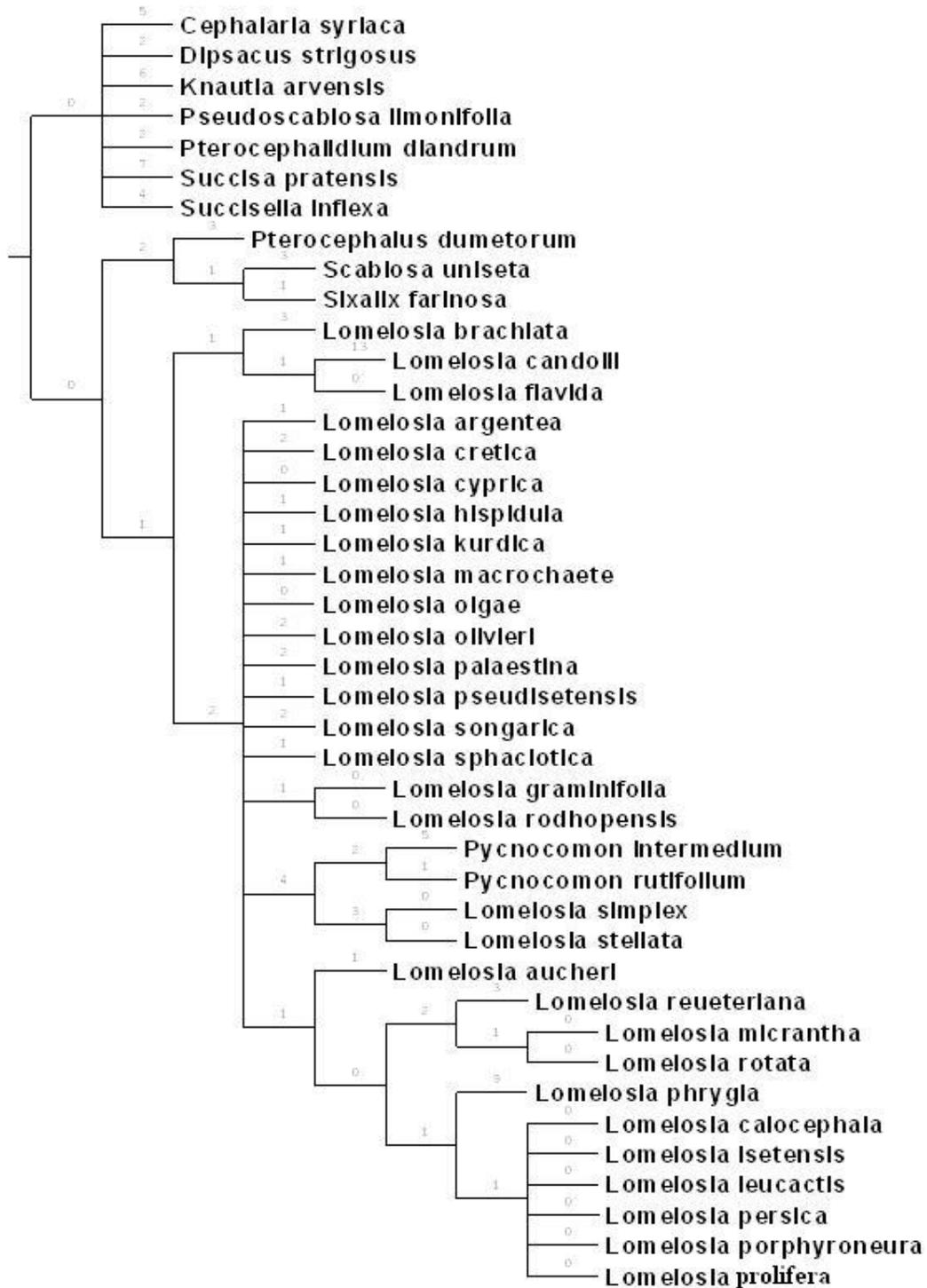


Figura 28: Albero di consenso dello spaziatore *trnF-trnL*. Sono evidenziati i numeri di sinapomorfie di gruppo.

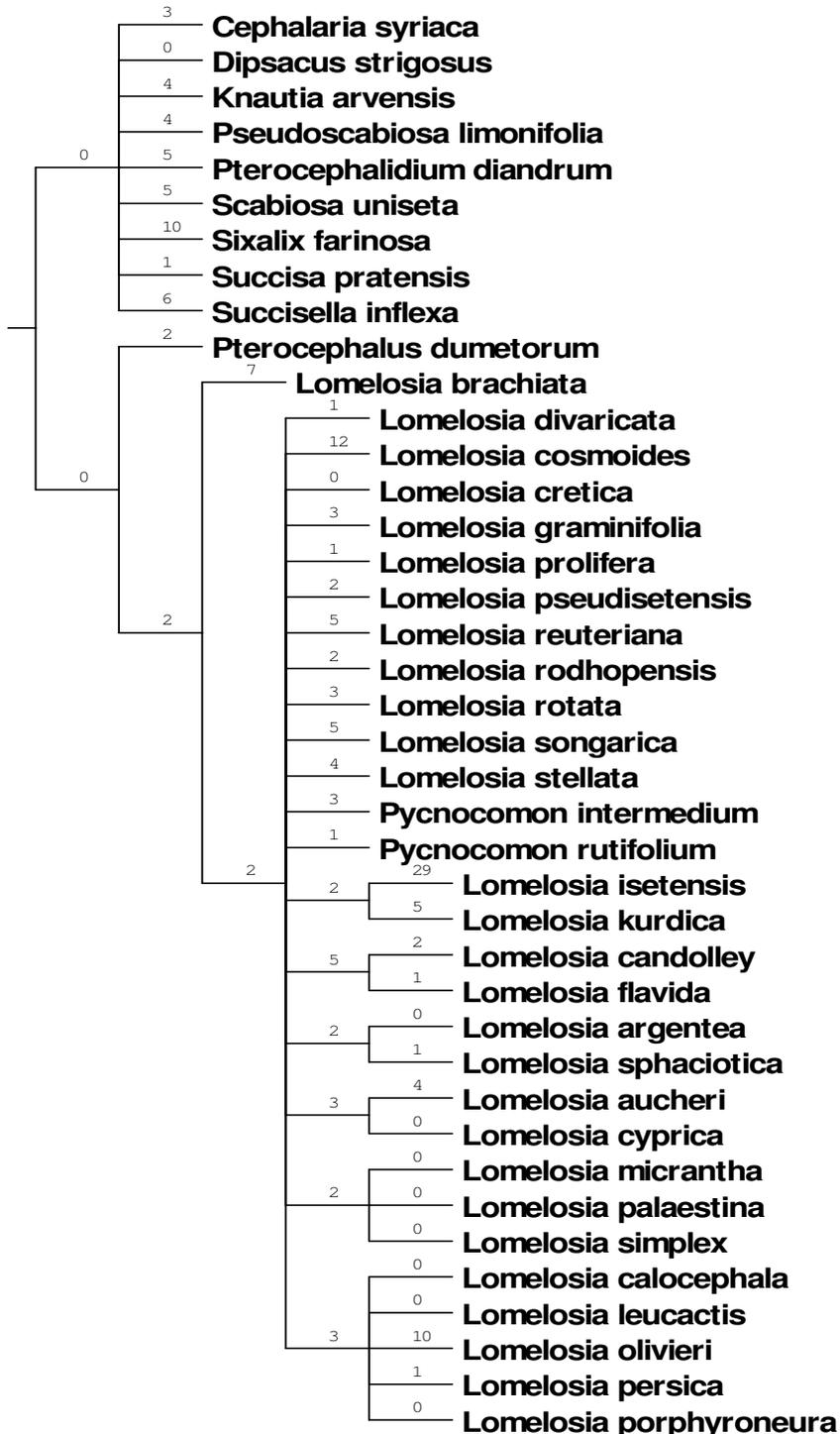


Figura 29: Albero di consenso del gruppo genico *psbB-psbH*. Sono evidenziati i numeri di sinapomorfie di gruppo.

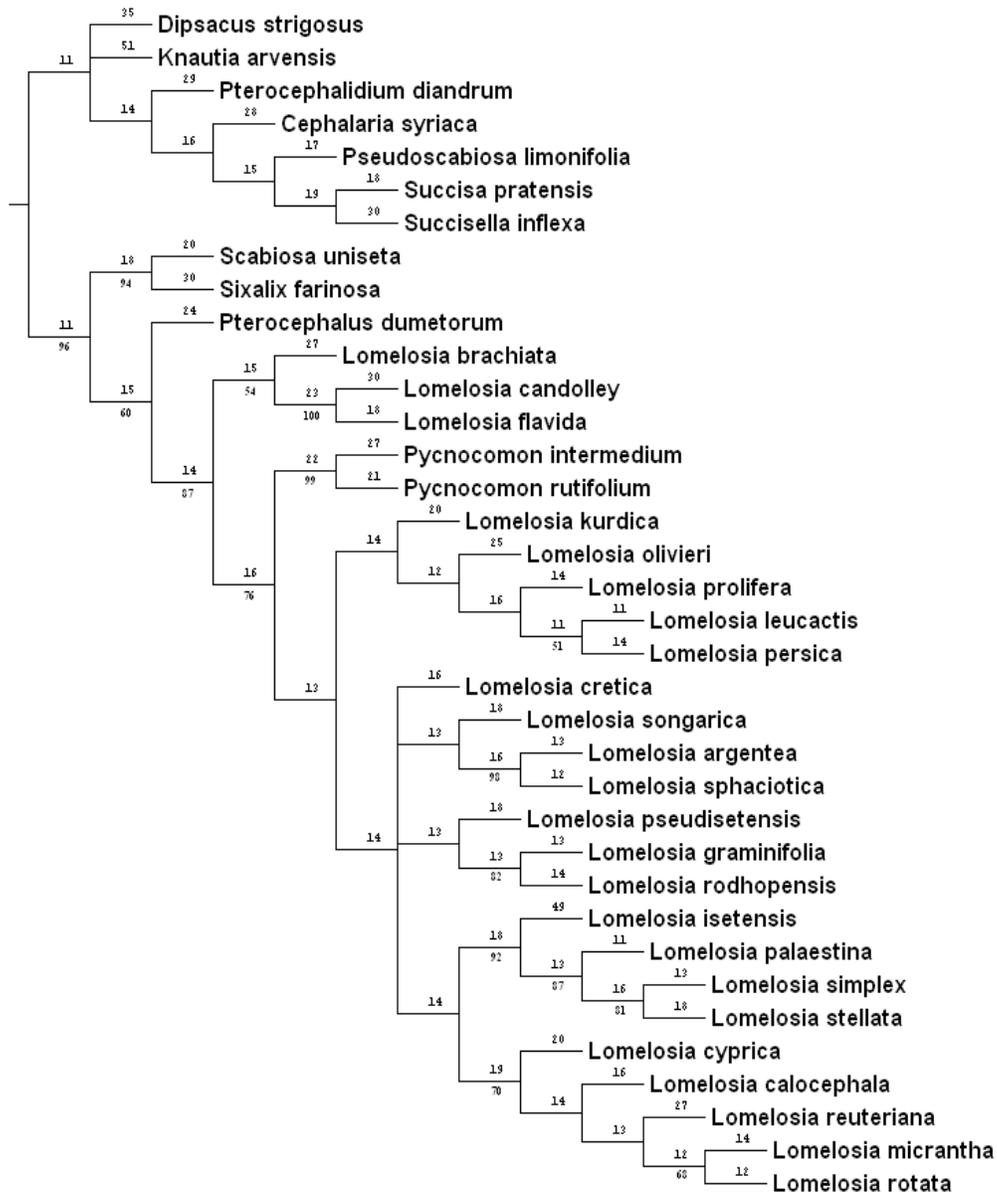


Figura 30: Albero di consenso della matrice combinata dei tre marcatori (ITS1, *trnF-trnL*, *psbB-psbH*). I numeri in alto indicano le sinapomorfie del clado, quelli in basso il valore di bootstrap (indicato solo per l'ingroup e quando il valore è >50%).

## 4 Discussione

### 4.1 Le *Dipsacaceae*.

L'aumento del numero dei taxa (da 19 a 35) e del numero di caratteri (lunghezza della matrice da 1178 a 2290) rispetto all'unica analisi molecolare disponibile per la famiglia (Caputo *et al.*, 2004) ha permesso di studiare vari punti di dettaglio della filogenesi delle *Dipsacaceae* e comprendere meglio l'evoluzione dei vari caratteri. La presenza nell'analisi qui presentata del genere *Pterocephalodes*, come pure di varie specie dei generi *Cephalaria*, *Dipsacus* e *Lomelosia* e di due specie di *Pycnocomon* e di *Pseudoscabiosa* permette inoltre di sviluppare considerazioni sulla filogenesi di questi generi.

In primo luogo, sono appropriate osservazioni sulla posizione di *Pterocephalodes hookeri*. Il genere *Pterocephalodes* recentemente è stato segregato (Mayer & Ehrendorfer, 2000) da *Pterocephalus* sulla base della presenza delle brattee fiorali, della corolla tetramera e della mancanza di un diaframma; tale genere, come circoscritto oggi, include *P. hookeri*, *P. bretschneideri* e *P. siamensis*. Tuttavia, *P. hookeri*, che è stato impiegato nella nostra analisi, è considerato come il taxon più arcaico nel genere, dato il fatto che *P. bretschneideri* e *P. siamensis* condividono alcuni caratteri presumibilmente derivati (tra cui una corona molto sviluppata) nel cladogramma di Mayer & Ehrendorfer (2000, fig. 25).

*Pterocephalodes* compare come il taxon più arcaico del clado B e, in alcune delle analisi effettuate (in particolare, nella partizione nucleare del DNA dell'insieme di dati originale, nel metodo di elisione e nella direct optimization), è effettivamente il gruppo sister al resto della famiglia; in più, il forzare la topologia dell'albero nella figura 25 con *Pterocephalodes* come gruppo sister al resto della famiglia causa l'incremento di un singolo passo evolutivo nella lunghezza dell'albero MP.

Tuttavia, poiché mancano i dati sulle altre due specie del genere, ritengo al momento accettabile la posizione di *P. hookeri* come appare sia nell'albero filogenetico MP che nei risultati dell'analisi bayesiana della matrice completa. Inoltre, la sua posizione all'interno del clado B già è stata postulata da Mayer e da Ehrendorfer (2000), anche se con una topologia abbastanza differente. La posizione basale in un clado differente da quello delle *Scabioseae* (fig. 25) è la prima indicazione non-morfologica della distanza di *Pterocephalodes* da *Pterocephalus*. Inoltre, *P. hookeri* ha un numero cromosomico aploide  $n=9$ , mentre le altre due specie (Mayer & Ehrendorfer, 2000) hanno presumibilmente un numero differente  $n=8$ . Poiché *P. hookeri*, come già detto, è presumibilmente

basale nel genere (Mayer & Ehrendorfer, 2000), si è ricostruito il numero cromosomico primitivo del genere *Pterocephalodes* come  $n=9$  (che è il numero plesiomorfico per la famiglia, fig. 26).

La relazione di sister group fra *Succisa/Succisella* e *Pseudoscabiosa*, anche se ragionevolmente sostenibile con i dati a disposizione (indice di decadimento cladi d.i.=2, probabilità posteriore  $p=1,0$ , ma con valore di bootstrap soltanto del 54%), è difficile da documentare nell'ottica della morfologia. Infatti, questi taxa condividono prevalentemente stati di caratteri plesiomorfici (per esempio, i capolini globosi). Tuttavia, questi taxa condividono anche un numero cromosomico di base  $x=10$ , che può essere interpretato come sinapomorfico per il loro clado (fig. 26).

*Pseudoscabiosa* è un altro genere in cui, come in *Pterocephalodes*, la forma della corona (e forse il relativo ruolo nella dispersione) varia. È indicativo che *P. grosii*, l'unica specie del genere di cui la corona è costituita da quattro lobi (invece che da un orlo membranoso) ha, inoltre, fino a sei reste del calice, lunghe e piumose, mentre le altre due specie, che hanno una corona membranosa, hanno quattro reste molto più corte e più o meno glabre.

Un altro aspetto interessante è la posizione relativa di *Knautia* e di *Pterocephalidium*. La loro relazione di sister group era già stata documentata in Caputo *et al.*, (2004), ma gli autori stessi hanno suggerito che la posizione di questi due generi aveva necessità di ulteriore verifica. L'analisi presentata qui, accresciuta di due ulteriori marcatori e 16 ulteriori taxa ha fornito le stesse conclusioni (topologia di elisione esclusa). La probabilità posteriore per il clado e l'indice di decadimento dei cladi ( $p=0,98$ , d.i.=3) sono comparativamente alti, ma la percentuale del bootstrap è in questo caso molto bassa (< 50%).

Inoltre *Knautia* e *Pterocephalidium* sono gli unici due membri del clado B che condividono il polline triporato (Verláuque, 1985a, b), uno stato del carattere che si comporta come una sinapomorfia all'interno del clado, anche se è omoplasico per la famiglia nel suo complesso (fig. 26). Forzare la topologia dell'albero della fig. 25 con *Knautia* in posizione di sister group al clado contenente *Succisa*, *Succisella* e *Pseudoscabiosa* causa un aumento di tre passi nella lunghezza dell'albero; una topologia forzata con *Knautia* come sister group sia a *Succisa* ed a *Succisella* che al resto del clado B produce un aumento di 7 passi; forzando, ancora, il suddetto genere come sister group del resto della famiglia, si ottiene un aumento 10-passi. *Knautia*, che era considerato da tutta la letteratura passata, un membro della tribù separata e monogenerica *Knautieae*, è stato considerato, in alcuni casi, come molto vicino a *Succisa* ed a *Succisella* (per esempio, Ehrendorfer, 1964b, 1965), principalmente in conseguenza del numero cromosomico di base  $x=10$ , come gruppo sister al resto della famiglia (per esempio, Verláuque, 1985a), o come immediato sister group ad un complesso che corrisponde alle *Scabioseae sensu lato, non* Mayer & Ehrendorfer (per esempio,

Caputo e Cozzolino, 1994). La posizione di *Knautia* come sister group di *Pterocephalidium* in una posizione interna al clado B e le sue autapomorfie morfologiche all'interno della famiglia (cioè, epicalice zigomorfo, pedicello dell'epicalice trasformato in elaiosoma, brattee ricettacolari sostituite da peli rigidi, assenza di evidenti nervature sul tubo del epicalice) possono essere giustificate facilmente alla luce degli adattamenti alla mirmecocoria (Ehrendorfer, 1962), la sindrome di dispersione delle diaspore in *Knautia* (unico caso di mirmecocoria nella famiglia).

All'interno di *Cephalaria* la topologia del cladogramma nella fig. 25 è interamente compatibile con le indicazioni di Verl aque (1985a, 1986b) e di Caputo e Cozzolino (1994). Infatti, *C. natalensis*, appartenente al sottogenere sudafricano *Lobatocarpus* Szab  (con una corona 4-lobata)   basale all'interno del genere, seguito da *C. leucantha*, appartenente al sottogenere mediterraneo paleoendemico *Fimbriatocarpus* Szab  (con una corona fimbriata) e da due rappresentanti del subg. *Cephalaria* (con una corona 8-dentata), distribuito dal Mediterraneo all'Iran.

Questa topologia suggerirebbe un evento iniziale di vicarianza fra il Sudafrica (linea ancestrale del subg. *Lobatocarpus*) ed il bacino mediterraneo (linea ancestrale del resto del genere). Tuttavia, ci si trattiene da ulteriori commenti su questo problema, poich  la topologia riferita all'analisi bayesiana (fig. 25, riquadro a destra)   differente e suggerirebbe un evento successivo di vicarianza, coinvolgente soltanto i subg. *Lobatocarpus* e *Fimbriatocarpus*.

La topologia dell'albero per le specie rappresentative del genere *Dipsacus* non corrisponde alle indicazioni tratte dalla morfologia. Infatti, fra le cinque specie impiegate, due (*D. japonicus* e *D. pilosus*) appartengono (Verl aque, 1985b) alla presunta sezione arcaica *Sphaerodipsacus* Lange, caratterizzata da capolini globosi e dall'assenza dei spine (due probabili plesiomorfie) mentre le altre tre appartengono alla sezione *Dipsacus*, con i capolini oblunghi e coperti di spine.

Tuttavia, n  l'una n  l'altra sezione appaiono monofiletiche, poich  *D. pilosus* e *D. japonicus* sono uniti insieme alle altre specie. Ci  suggerirebbe che la spinosit  ed i capolini allungati siano plesiomorfici per il genere. Tuttavia, anche in questo caso si preferisce non proseguire ulteriormente, poich  nell'analisi presentata non   inclusa nessuna specie asiatica orientale e la topologia dell'albero di consenso dell'introne del *trnL* (figura 24C) darebbe risultati differenti. Tuttavia, aggiungendo sequenze di letteratura di *D. mitis* (per il quale   disponibile soltanto l'ITS) o di *D. asper* o *D. asperoides* (per i quali sono disponibili soltanto le sequenze dell'introne *trnL* e dello spaziatore *trnF-trnL*) ad una matrice includente soltanto specie *Dipsacus* e *Cephalaria* (dati non mostrati), in nessun caso le sezioni *Sphaerodipsacus* o *Dipsacus* diventano monofiletiche, cos  come in nessun caso una singola specie di *Sphaerodipsacus*   basale.

Mayer & Ehrendorfer (1999), in base ad un accurato studio morfologico, hanno suggerito una circoscrizione della tribù *Scabioseae* che includa soltanto *Pterocephalus*, *Lomelosia*, *Pycnocomon*, *Scabiosa* e *Sixalix* (cioè, il clado A della fig. 25). Tuttavia, essi accennano soltanto ad una possibile circoscrizione delle *Dipsaceae* (Mayer & Ehrendorfer, 2000), non dando indicazione sulla posizione di *Knautia*. In questa sede, si suggerisce che la tribù *Dipsaceae* possa essere circoscritta includendo in essa tutti i generi di *Dipsacaceae* che non sono inclusi nelle *Scabioseae*, cioè, *Cephalaria*, *Dipsacus*, *Knautia*, *Pseudoscabiosa*, *Pterocephalidium*, *Pterocephalodes*, *Succisa* e *Succisella* (clado B della fig. 25).

L'individuazione di una sinapomorfia morfologica per le *Dipsaceae* come Circoscritte qui è difficile. Attualmente, soltanto la corolla tetramera sembra sinapomorfica (figura 26), essendo presente in tutti i membri della tribù (Mayer & Ehrendorfer, 1999, 2000; Verlaque, 1985a). Gli outgroup sono pentameri e la pentameria è considerata come uno stato plesiomorfico per le *Dipsacales* (Cannon & Cannon, 1984; Van Steenis, 1948; Weberling, 1975, 1978; Donoghue *et al.*, 2003).

All'interno delle *Scabioseae*, la tetrameria è abbastanza sporadica (Verlaque, 1985a), e ricorre soltanto in *Scabiosa suaveolens* e in tre specie di *Pterocephalus* (che, tuttavia, hanno capolini con fiori tetrameri e pentameri).

La filogenesi del clado A in questo studio (cioè, le *Scabioseae sensu* Mayer et Ehrendorfer) è identica, per i taxa in comune, a quella rappresentata in Caputo *et al.*, (2004) e in Mayer e in Ehrendorfer (2000, figura 25) e quindi non sarà discussa in dettaglio. Essa evidenzia, tuttavia, una differenza rispetto a quella indicata da Mayer e da Ehrendorfer (1999, figura 14), nella posizione del genere *Pterocephalus*. In relazione a questa discrepanza è rilevante la scelta di *P. dumetorum* come rappresentante del genere *Pterocephalus* nelle analisi qui effettuate, poiché, secondo Mayer & Ehrendorfer (2000), questa specie appartiene al gruppo della specie più arcaiche nel genere ("tipo 1") per quanto riguarda la morfologia dell'epicalice.

Particolarmente interessante è la topologia indicata nel cladogramma di figura 25 per le specie del genere *Lomelosia*. Infatti, la sua specie più basale è *L. brachiata* (precedentemente inserita nel genere monospecifico *Tremastelma* Rafin.), una annuale mediterranea con le reste del calice raddoppiate (10 invece di cinque) ed un epicalice piuttosto robusto con 8 grandi foveole. Anche se il numero di specie in analisi (ma si veda oltre) è troppo basso per trarre conclusioni generali, tutta la letteratura precedente (Verlaque, 1986a, b) indica che le annuali con le grandi foveole sono derivate nel genere. Inoltre, il genere *Pycnocomon*, con il suo epicalice prismatico, adattato a rotolare sulla sabbia (Verlaque, 1986b), compare come incluso in *Lomelosia* (percentuale di bootstrap 90, l'indice di decadimento 6) e dovrebbe essere interpretato soltanto come morfotipo

psammofilo di *Lomelosia*, nonostante le sue caratteristiche morfologiche divergenti (involucro connato, eterocarpi). Infatti, *Pycnocomon* e *Lomelosia* condividono lo stesso numero cromosomico di base ( $x = 9$  - tuttavia plesiomorfo per la famiglia.), polline tripurato ed opercolato e la morfologia dell'epicalice con profonde foveole e con un secondo anello di sclerenchima nella struttura anatomica (Mayer & Ehrendorfer, 1999; Verláque, 1986a). In particolare, la chiusura dell'epicalice in *Pycnocomon* e la sua struttura molto lignificata, sono molto simili a quelle di alcune specie morfologicamente arcaiche di *Lomelosia* come *L. cyprica*, non presente nell'analisi qui presentata (Verláque, 1986a).

Le *Dipsacaceae*, quindi, consisterebbero soltanto di due tribù monofiletiche, cioè, le *Dipsaceae* (clado B nella fig. 25) e le *Scabioseae* (clado A nella fig. 25); la tribù delle *Knautieae*, che includere soltanto il genere *Knautia*, non sarebbe congruente, come rango filogenetico, con le altre due e non dovrebbe pertanto essere considerata come una delle subunità principali della famiglia. Le *Dipsaceae*, come già detto, hanno una chiara sinapomorfia morfologica (la corolla tetramera); al contrario le *Scabioseae*, anche se, come attualmente circoscritte, formano un'unità morfologicamente compatta, non hanno sinapomorfie morfologiche evidenti. Infatti, la corona membranosa, più o meno sviluppata, (cioè, lo stato di tutti i membri di *Lomelosia*, di *Pycnocomon*, di *Scabiosa* e di *Sixalix*) è assente dalla maggior parte dei membri di *Pterocephalus* (ed inoltre presente in pochi membri di *Dipsaceae*, alcuni di cui potenzialmente basali); alla stessa maniera, il diaframma (una sporgenza della parte distale del lato interno del tubo del epicalice, che contribuisce ad una migliore copertura del frutto, presente in *Lomelosia*, *Pterocephalus* p.p., *Pycnocomon*, *Scabiosa* e *Sixalix*) è assente dai vari membri di *Pterocephalus* e, inoltre, del tutto assente dalle *Dipsaceae*. Mayer & Ehrendorfer (1999, 2000) suggerirono un numero aploide basale cromosomico  $x=9$  come sinapomorfo per le *Scabioseae* ma, come indicato nella fig. 26, esso è in realtà plesiomorfo per la famiglia. Attualmente, quindi, nessuna sinapomorfia morfologica per la tribù sembra evidente (dal punto di vista molecolare, è stata trovata soltanto una rilevante mutazione di lunghezza nelle sequenze dell'introne del *trnL* di tutte le *Scabioseae*, che consiste in una duplicazione in tandem di un motivo di CATWGAA a partire dalla posizione 283 di *P. dumetorum*). Il diaframma, in potenza, può essere considerata una potenziale sinapomorfia per le *Scabioseae* come qui circoscritte solo nel caso si assumesse la perdita di questa struttura nelle specie di *Pterocephalus*. Ciò, tuttavia, contraddirebbe l'ipotesi di Mayer & Ehrendorfer (2000), i quali indicano chiaramente il diaframma in *Pterocephalus* come sviluppatosi parallelamente a quello di *Lomelosia*, *Pycnocomon*, *Scabiosa* e *Sixalix*.

## 4.2 Il genere *Lomelosia*.

L'albero di consenso ottenuto dalla matrice totale (fig. 30), indica che il clado contenente *Lomelosia* (ed anche *Pycnocomon*) è sister group al genere *Pterocephalus*. Ciò è in disaccordo con le analisi precedenti sulla famiglia, nelle quali *Pterocephalus* o è molto lontano da *Lomelosia* - essendo sister group con *Pterocephalidium* ed insieme alla base di un clado portante tutte le altre *Scabioseae* (Caputo & Cozzolino, 1994) - o si trova alla base del clado *Pterocephalus/Sixalix/Scabiosa*, è sister group al clado *Lomelosia/Pycnocomon* (Caputo *et al.*, 2004, e dati mostrati sopra). A sua volta, anche *Pycnocomon*, dalla letteratura precedente, è sempre apparso molto distante da *Pterocephalus*; infatti esso *Pycnocomon* è (in base ai dati morfologici di Caputo & Cozzolino 1994) interno al suddetto clado delle *Scabioseae* (escluso *Pterocephalus*) ed è sister group di *Sixalix*; la letteratura più recente, molecolare, indica che *Pycnocomon*, come già più volte detto, è sister group o interno a *Lomelosia*. E' difficile spiegare la prossimità di *Pterocephalus* al gruppo *Pycnocomon/Lomelosia* dal punto di vista morfologico. Forse aumentando il campionamento delle specie di *Pterocephalus*, o aggiungendo una specie esterna alla famiglia (come una specie appartenente alle *Morinaceae* J. Agardh, considerate arcaiche rispetto alle *Dipsacaceae*, Backlund & Bremer, 1997; Backlund & Donoghue, 1996; Judd *et al.*, 1994; Bell *et al.*, 2001; Donoghue *et al.*, 2001; Bell & Donoghue, 2003; Zhang *et al.*, 2003; Bell, 2004; Pyck & Smets, 2004) si sarebbero potute ottenere maggiori informazioni, (il valore di bootstrap, 60% per il clado, è infatti piuttosto basso). Si rileva inoltre che le analisi ITS1/*trnF-trnL* (dati non mostrati) indicano una posizione di *Pterocephalus* molto più conforme ai i dati in letteratura vista la sua disposizione in posizione basale, come in Caputo *et al.*, (2004) e nei dati mostrati sopra, in un clado con *Sixalix/Scabiosa*. Infatti, è la sola regione *psbB-psbH* che supporta l'inattesa posizione indicata del genere. Vista l'incongruenza tra i vari marcatori, solo ulteriori ricerche potranno mettere in luce le relazioni tra *Pterocephalus* e *Lomelosia*.

Il clado di *Pterocephalus/Pycnocomon/Lomelosia* è sister group al clado *Sixalix/Scabiosa* (percentuale di bootstrap 94%); ciò è in disaccordo con i dati di Caputo e Cozzolino (1994), che mostrano *Sixalix* come sister group di *Pycnocomon*, grazie alla condivisione di una corona fenestrata, ma è fortemente in accordo con Mayer & Ehrerendorfer (1999), De Castro & Caputo (1999), Caputo *et al.*, (2004) ed i dati mostrati sopra, che spiegano come la corona simile sia frutto di una convergenza adattativa dovuta a simili pressioni selettive.

Una delle novità dell'indagine qui presentata è la non monofileticità di *Lomelosia* che, infatti, risulta parafiletico, data la presenza di *Pycnocomon* al suo interno. Ciò è in disaccordo con tutte le analisi precedenti (a tal riguardo si veda la discussione precedente). In questa sede si aggiunge solo che le relative posizioni di *Pycnocomon* e *L. cyprica* sono molto distanti ed in disaccordo con quanto afferma Verlaque (1986b, si veda sopra). La posizione di *Pycnocomon* in

*Lomelosia* non può essere giudicata basale, ma, comunque ben localizzata e distinta, visto che nell'analisi della matrice totale *Pycnocomon* è un'entità a parte inclusa in un ampio clado contenente quasi tutte le *Lomelosia* (escluse *L. flavida*, *L. candollei* e *Lomelosia brachiata*). Questo clado ha una percentuale di bootstrap elevata (76%), e appare anche in tutti e tre gli alberi di consenso parziali (dati non mostrati).

Passando a discutere delle posizioni relative dei vari gruppi (Verláuque, 1986b) e di alcune sezioni (Mayer & Ehrendorfer, 1999) interni, si preferisce iniziare con il gruppo di *L. olivieri* e la sezione delle *Olivieraneae* (ricordando che questa è simile al gruppo circoscritto da Verláuque, tranne per l'inclusione di *L. deserticola*, *L. rhodantha* e *L. transcaspica* e per l'esclusione di *L. candollei*). Nell'analisi qui presentata (fig. 30) sono presenti tre specie del gruppo informale di Verláuque (*L. olivieri*, *L. flavida* e *L. candollei*) e due specie della sezione (*L. olivieri*, *L. flavida*). Tutti e quattro gli alberi di consenso ottenuti dalle indagini supportano il clado *L. candollei/L. flavida* (percentuale di bootstrap 100%). Queste due specie sono accomunate oltre che per le classiche caratteristiche di gruppo (fusti biancastri, ramificati; capolini numerosi, piccoli, raggianti con una dozzina di fiori provvisti di un epicalice che presenta da 3 a 5 brattee molto larghe ed acuminate alla sommità; frutti minuscoli, da 2 a 3 mm, con limbo e reste completamente stellate) anche e soprattutto dalla presenza di un tipo di polline, spinoso breviassiale, in conseguenza del quale Verláuque considerava queste due specie come appartenenti a una linea filetica indipendente (1986b). Purtroppo, però, l'analisi qui presentata (fig. 30) esclude da quanto detto sopra la specie che ha dato il nome al gruppo e alla sezione, *Lomelosia olivieri*, che come in tutti gli alberi (dati non mostrati), compare in altra localizzazione (nel clado *Lomelosia/Pycnocomon*), dando evidenza del fatto che i caratteri considerati come sinapomorfici per il gruppo, siano in realtà omoplasici e sviluppatisi parallelamente anche in *L. olivieri*. I risultati, inoltre, per quanto detto, sono in disaccordo con quelli di Mayer & Ehrendorfer (1999) e con quelli di De Castro & Caputo (2001) a causa dell'esclusione dalla serie *Olivieraneae* di *L. candollei*. In conclusione una soluzione rispettosa della necessità di attribuire nomi soltanto a gruppi monofiletici suggerirebbe di considerare valida la sect. *Flavidae* (citata anche in Verláuque, 1986b), escludendo da essa *L. olivieri*, ed includendo *L. candollei*.

Di difficile interpretazione è anche la posizione di *Lomelosia brachiata*. Nel cladogramma di fig. 30, essa appare in posizione basale alla sect. *Flavidae*, fuori dal grande clado *Lomelosia/Pycnocomon*. Questa posizione, pur confermata anche dagli alberi parziali ITS e *trnF-trnL* (dati non mostrati), ha valore di bootstrap basso (54%). Ciò è in contrasto con Verláuque (1986b), Mayer & Ehrendorfer (1999) e De Castro & Caputo (1999), che considerano *Lomelosia brachiata* come derivata e quindi interna al genere, date le sue caratteristiche morfologiche molto

evolutive (diaspore di grande taglia di tipo planare, scultura dell'esina verrucosa e spinosa, forma comune degli elementi ornamentali dell'opercolo), con un'origine da ritrovarsi nel gruppo di *L. rotata*, in quest'analisi molto lontano da *L. brachiata*. In merito alla posizione di quest'ultima, si rileva che il clado *L. brachiata*/Flavidae ha caratteri condivisi quali il polline subequiasse, che veniva considerato un parallelismo da Verl que (1986b). Per quanto riguarda i dati citotassonomici di *L. brachiata* Verl que (1986b) e Mayer & Ehrendorfer (1999) considerano che essa si sia originata per disploidia discendente ( $x = 7$ ) dal gruppo di *L. rotata* ( $x = 8$ ); si potrebbe tuttavia, per giustificare l'origine, pensare ad un riarrangiamento cromosomico dalla specie arcaica *L. camelorum*, che sfortunatamente non   presente nelle indagini qui presentate.

Passando all'analisi (fig. 30) delle *Lomelosia* che si trovano nel clado *LomelosialPycnocomon* e contemporaneamente alla collocazione degli altri gruppi come da Verl que (1986b), si rileva che dal gruppo di specie arcaiche, dall'analisi manca sono assenti *Lomelosia camelorum*, che sembra, tra tutte le *Lomelosia*, quella con caratteri meno evoluti, e *L. accidentata*. Sono tuttavia presenti *L. urica* e *L. cyprica*. Tutte e due le specie non hanno una posizione basale. *L. urica* occupa la posizione pi  basale del clado di *L. olivieri*, clado non supportato da un buon valore di bootstrap, ma presente anche nell'albero ITS1 (dati non mostrati). *L. cyprica*, a sua volta, si trova anch'essa alla base del clado, (un po' pi  interno al precedente), di *L. calocephala* (percentuale di bootstrap 70%).

Del gruppo di *L. cretica*, nella nostra analisi sono presenti solo *L. albocincta* (solo ITS1) e *L. cretica*. In merito a questo gruppo, considerato molto arcaico da Verl que (1986a) e De Castro & Caputo (2001), non sono verificabili eventuali sovrapposizioni tra le indicazioni di rapporti ottenute dalla letteratura e presentate qui. *L. cretica*, infatti, si trova alla base dell'unico clado che presenta un ampio collasso. Nell'analisi parziale ITS1 (dati non mostrati), *L. cretica* e *L. albocincta* sono entrambe coinvolte in un ampio collasso. La nostra analisi   in parziale disaccordo con le ipotesi fatte da Verl que (1986b) secondo cui, dato il tipo di cromosomi, tutto questo gruppo potrebbe derivare direttamente o indirettamente da *L. cyprica*, in quanto le due sono abbastanza lontane nell'analisi qui mostrata.

Altro gruppo considerato arcaico (Verl que, 1986b; De Castro & Caputo, 2001)   quello di *L. graminifolia*, di cui sono presenti nell'indagine *L. graminifolia* e *L. rodhopensis*. Le specie (fig. 30) hanno una posizione derivata, ma si trovano in posizione sister tra loro confermando le sinapomorfie morfologiche di gruppo evidenziate da Verl que (1986b) quali: foglie lineari intere (da 2 a 3 mm di lunghezza), raccolte alla base, capolini solitari e raggiati, frutti di 1 cm, reste della stessa lunghezza del limbo che   svasato e fovee mascherate da lunghi peli bianchi del tubo. Questo gruppo non   correlato col gruppo di *L. cretica*, laddove in De Castro & Caputo (2001), esso risulta

incluso in un clado non molto derivato e collassato alla base, con *L. camelorum* e col gruppo di *L. cretica*.

Anche per il gruppo di *L. crenata*, di cui sono presenti nell'indagine *L. pseudisetensis* (una specie molto vicina a *L. crenata* tale da essere considerata in passato una sua varietà) e *L. isetensis*, si nota che il gruppo non è naturale (fig. 30), in particolare *L. pseudisetensis* risulta alla base di un clado costituito da *L. graminifolia* e *L. rodhopensis*. *L. isetensis*, a sua volta, è basale al clado di *L. palaestina*. In De Castro & Caputo (2001) il gruppo di *L. crenata* è invece monofiletico ed è alla base di un clado che ha come sinapomorfia di gruppo il margine dei fiori di tipo crenato.

Per il gruppo di *L. caucasica*, considerato arcaico (Verl aque, 1986b) o, addirittura, il pi  arcaico (Mayer & Ehrendorfer, 1999; De Castro & Caputo, 2001) del genere, sono presenti *L. songarica* e *L. olgae*. In Mayer & Ehrendorfer (1999), *L. caucasica* era considerata alla base del genere *Lomelosia*, vista la presenza di un epicalice quadrilaterale in sezione trasversale, condizione plesiomorfica negli altri generi della trib . Purtroppo (fig. 30), *L. caucasica* non   stata impiegata nell'analisi, ma   presente la specie affine *L. songarica*, che riveste una posizione basale, al clado *L. argentea*/*sphaciotica*. *L. olgae*, (presente solo nella matrice *trnF-trnL*), ed   parte dell'ampio collasso basale dell'albero in cui   coinvolta anche la suddetta *L. songarica*.

Occupandosi adesso dei gruppi che per Verl aque (1986b) sono un pi  derivati, perch  includono specie annuali o biennali, il gruppo di *L. argentea* (come rappresentanti del quale, nella matrice finale, vi sono *L. argentea* e *L. hispidula*), forma (fig. 30) un clado derivato (percentuale di bootstrap 98%). In due altre matrici   presente anche *L. hispidula*: nell'ITS1 le tre si uniscono a formare un gruppo naturale con quest'ultima molto pi  vicina a *L. argentea*, nel *psbB-psbH* (dati non mostrati) le tre pi  *L. cosmoides*, altro rappresentante del gruppo, fanno parte di un ampio collasso. In De Castro & Caputo (2001), molto vicina a tutto il gruppo, ma non interna ad esso,   *L. sphaciotica*. Per Verl aque (1986b), sinapomorfie di gruppo sono: fusto giallo molto ramificato e con foglie pubescenti pennatifide a segmenti lineari; capolini modesti di 2,5 cm, fortemente raggianti; frutti di piccola taglia (epicalice di 5 mm); reste sporgenti da 2 a 6 volte pi  lunghe di quelle del limbo, nascoste.

Del gruppo *L. micrantha*, nell'analisi finale sono presenti solo *L. micrantha* e *L. reuteriana*. Queste due specie sono molto vicine (fig. 30). Esse formano un clado in cui   presente una specie estranea al gruppo, *L. rotata*, che   sister a *L. micrantha* (bootstrap del clado 70%). Nell'albero di consenso *psbB-psbH* (dati non mostrati),   presente un altro rappresentante, *L. divaricata*, che tuttavia rientra in un ampio collasso, cos  come *L. reuteriana*, mentre *L. micrantha* si trova in un piccolo clado collassato alla base con *L. palaestina* e *L. simplex*. Il clado *L. reuteriana*/*L. rotata*/*L. micrantha* compare anche nei dati ottenuti dal marcatore *trnF-trnL*. Lontana da questo clado  

invece *L. macrochaete*. In De Castro & Caputo (2001), il gruppo è monofiletico e molto vicino al gruppo di *L. rotata*.

Per quanto riguarda il gruppo monospecifico di *L. prolifera*, si nota (fig. 30) come esso sia in un clado a parte, poco derivato, insieme con le specie *L. kurdica*, *L. olivieri*, *L. persica* e *L. leucactis*. In De Castro & Caputo esso è molto vicino al gruppo di *L. stellata*.

Del gruppo di *L. stellata*, sono presenti le specie *L. stellata* e *L. simplex*, considerate un tempo due varietà di un'unica specie (*L. stellata*). Il dato viene confermato dalla matrice finale (fig. 30), che presenta per le due specie un clado con percentuale di bootstrap dell'81%. Da notare che alla base di questo clado (bootstrap = 87%) vi è *L. palaestina*, che appartiene ad un altro gruppo (quello di *L. rotata*) in base alla morfologia, ma che condivide caratteristiche morfologiche comuni con le due specie in esame, ed è separata da esse solo per motivi biogeografici (vicariante orientale, Verláque, 1986b).

L'ultimo gruppo di cui è opportuno riferire è quello di *L. rotata*, di cui nella matrice finale compaiono *L. palaestina*, *L. rotata*, *L. persica* e *L. calocephala*. Esso è stato considerato uno dei gruppi più derivati (De Castro & Caputo, 2001), se non il più derivato (Verláque, 1986b). Nell'analisi qui presentata (fig. 30), esso è assolutamente non monofiletico, avendo alcuni rappresentanti che in posizioni lontane come *L. palaestina* e *L. rotata* (di cui si è già detto), e *L. calocephala*, inclusa nello stesso clado di *L. rotata*. Solo *L. persica* e *L. leucactis* formano un sister group con alla base *L. prolifera*. In questo clado (bootstrap 70%) è presente anche *L. porphyroneura* solo nelle matrici *psbB-psbH* e *trnF-trnL* (dati non mostrati); nelle predette matrici tra l'altro il clado è collassato. *L. aucheri* invece, impiegando gli stessi marcatori, è sempre piuttosto lontana da questo clado. Il clado in questione è invece monofiletico in De Castro & Caputo (2001). Confrontando questi risultati con l'evoluzione del gruppo secondo Verláque (1986b) basata su dati cariologici, si individuano forti discordanze, tra l'altro perchè *L. palaestina* esce fuori dal gruppo, anche se la stessa Verláque ne aveva riconosciuto, per il tipo di cromosomi, una linea filetica separata.

Come si nota da quanto detto finora, gli unici gruppi basati sulla morfologia e presenti anche nello studio qui descritto sono quelli di *L. argentea*, *L. graminifolia* e *L. stellata*. Gruppi morfologici che non possono essere confermati perchè rappresentati da una sola specie nell'analisi finale sono quelli di *L. cretica* e *L. caucasica*. Per quanto riguarda la serie *Callistemma* ed il gruppo di *L. prolifera*, essi sono monospecifici. Risultano invece non monofiletici i gruppi di *L. olivieri*, *L. crenata*, *L. micrantha* e *L. rotata*, e la serie *Olivieraneae*.

Analizziamo adesso i vari caratteri applicati sull'albero di figura 30 partendo dal carattere forse fondamentale del genere studiato e cioè l'habitus (fig. 31). In tutte le precedenti analisi

filogenetiche (Verl aque, 1986b; Mayer & Ehrendorfer, 1999; De Castro & Caputo, 2001) appare che le specie perenni, ormai stabilizzate evolutivamente, avessero dato origine a quelle annuali, ancora in attiva evoluzione. Ebbene, aggiungendo *a posteriori* questo carattere (0 per perenne ed 1 per annuale) nella matrice finale e osservandone il comportamento sull'albero si nota una certa corrispondenza con quanto detto. Infatti, lo stato plesiomorfico dell'habitus   quello perenne, essendo tale anche per la trib  *Scabioseae* e per tutta la famiglia. Si presume quindi che *Lomelosia* abbia avuto un antenato comune che quasi sicuramente doveva avere habitus perenne. Nell'albero compare per  immediatamente una biforcazione che porta a due cladi principali. Uno   quello di *L. brachiata* e della serie *Flavidae*; in questo clado il comportamento del carattere diviene ambiguo. Evidentemente ha avuto luogo un percorso evolutivo che non possiamo spiegarci con le specie esistenti al giorno d'oggi. Nell'altro clado, tuttavia, il carattere ha un comportamento non ambiguo, e risulta che le specie pi  derivate, cio  quelle pi  lontane dal nodo ancestore comune, hanno variato lo stato del carattere habitus in annuale. La cosa interessante, tuttavia,   che ogni clado costituito da specie annuali ha alla base una specie perenne. Inoltre si nota che lo stato annuale non   sinapomorfico ma omoplasico, cio  comparso pi  volte indipendentemente.

Verranno ora discussi altri caratteri che sono stati considerati cruciali in varie sistemazioni del genere (soprattutto in De Castro & Caputo, 2001). Ad esempio, il margine dei fiori (fig. 32), che veniva distinto in tre stati: (sub)intero (plesiomorfico), crenato, flabellato (derivato). Nella nostra analisi esso risulta plesiomorfico nel genere *Lomelosia* con lo stato margine dei fiori intero o subintero, che si mantiene anche nel clado *L. brachiata/Flavidae* ed in *Pycnocomon*. Lo stato del carattere flabellato si presenta solo due volte indipendentemente nella nostra analisi in *L. leucactis* e *L. calocephala*. Anche lo stato del carattere crenato non pu  essere considerato sinapomorfico per nessun clado, poich  evolve in diverse posizioni omoplasticamente pi  volte, ma si nota come esso sia presente come carattere condiviso nell'ampio clado comprendente i gruppi di *L. isetensis* e *L. cyprica*.

Il carattere relativo al tubo dell'epicalice (fig. 33), che in De Castro & Caputo (2001) si evolve da specie con tubi dell'epicalice prismatici a specie con tubi campanulati, nell'analisi qui presentata rispecchia questa tendenza. Carattere condiviso per l'intero clado di *L. cretica*   infatti la presenza di un tubo prismatico (presente anche indipendentemente in *L. candollei*) che diventa indipendentemente campanulato in *L. palaestina* e nel clado di *L. micrantha* e *L. rotata*. Il carattere ha uno stato ambiguo negli altri cladi principali del genere.

Anche il carattere relativo al tipo di capolino (dati non mostrati) nel genere *Lomelosia* si evolve dallo stato globoso allo stato raggiato in *L. olivieri* e *L. micrantha*.

Il carattere relativo al numero dei fiori sul capolino (dati non mostrati) è stato considerato una sinapomorfia della sezione *Olivieraneae* (Mayer & Ehrendorfer, 1999; De Castro & Caputo, 2001). Nella nostra analisi, vista la lontananza tra le due specie, esso viene interpretato come una vera e propria convergenza adattativa.

La lunghezza delle brattee involucrali (dati non mostrati) è minore del raggio della testa (capolino) in tutto il genere. Lo stato cambia in modo autapomorfico in *L. micrantha*, in questa specie infatti le brattee involucrali sono più lunghe del capolino.

In alcune specie può esservi un solco tra le foveole e questo carattere, applicato sull'albero di consenso della matrice finale (dati non mostrati), sembra essersi evoluto più volte, indipendentemente nel genere, nelle specie *L. flavida*, *L. olivieri*, *L. leucactis* e *L. calocephala* e nel gruppo di *L. argentea*.

Le nervature della corona possono, in alcune specie del genere, sporgere dal lembo della corona. Aggiungendo questo carattere alla matrice (dati non mostrati) si osserva che lo stato plesiomorfico per *Lomelosia* è quello nel quale le nervature non sporgono. Le nervature sporgenti si evolvono indipendentemente in alcune specie derivate quali *L. brachiata*, *L. leucactis*, *L. reuteriana* e *L. micrantha* e sono comuni nel gruppo di *L. argentea* e nel genere *Pycnocomon*.

Le reste del calice possono essere erette o divaricate. Applicando questo carattere alla matrice finale (dati non mostrati) si osserva che lo stato plesiomorfico è quello di reste divaricate. Lo stato di reste erette si evolve omoplasticamente in *L. prolifera*, *L. cretica* e nel gruppo di *L. graminifolia*.

Altro carattere ritenuto per il passato rilevante nella filogenesi del genere è relativo alla lunghezza delle reste (dati non mostrati), che possono sporgere o meno dalla corona. Nelle specie più arcaiche del genere, le reste sporgono. Esse, invece, si accorciano indipendentemente in *L. cretica*, *L. songarica*, nel genere *Pycnocomon* e nel gruppo di *L. graminifolia*.

Verláuque (1986b) individuò quattro linee filetiche principali nel genere, ricostruite in base al tipo di polline (triporato ed opercolato). Applicando questo carattere alla matrice finale (fig. 34) solo alle specie di *Lomelosia*, si giunge a conclusioni discordanti rispetto a quelle della studiosa francese. Essa considerava plesiomorfici per il genere i pollini spinosi e breviassiali. Ebbene dalla nostra analisi si vede come questo stato del carattere è ambiguo alla base dei cladi di *L. brachiata*, delle *Flavidae* e di *Pycnocomon*. Quindi non è dimostrabile un'origine dai pollini summenzionati dello stato spinoso subequiasse, caratteristico del gruppo delle *Flavidae* e a *L. olivieri*. Si è già notato che *L. brachiata* ha una storia evolutiva, secondo l'analisi qui presentata, molto più vicina a quella delle *Flavidae* che a quella di *L. rotata*.

Secondo Verláque, lo stato verrucoso breviasse è derivato dallo stato di polline spinoso breviasse e ciò è confermato dalle nostre analisi. Tale stato si ritrova nei gruppi di *L. argentea* e *L. rotata*, che quindi avrebbero dovuto avere un recente antenato comune. Ciò è in discordanza con la nostra analisi, dalla quale emerge che questo tipo di polline si è originato nei due gruppi indipendentemente, senza menzionare inoltre il fatto che il gruppo di *L. rotata* non è monofiletico.

Concludendo l'analisi dei caratteri col numero cromosomico di base (dati non mostrati), vi è concordanza con Verláque (1986b) nel ritenere come stato plesiomorfico del genere il numero  $x = 9$ , presente in quasi tutti i gruppi compreso *Pycnocomon*. Si è invece in disaccordo con quanto detto da Verláque sull'origine del numero cromosomico in *L. brachiata* che non deriverebbe da  $x = 9$  per disploidia discendente, ma che si sarebbe evoluto indipendentemente.

L'analisi qui presentata ha dato quindi un quadro dai contorni non limpidissimi. Si è ormai certi dell'inclusione del genere *Pycnocomon* in *Lomelosia* e del fatto che molto presto nell'evoluzione del genere si è separata una linea filetica (con polline spinoso subequiasse) indipendente dallo stesso *Pycnocomon* e da tante altre *Lomelosia*, che ha portato alla nascita della sezione *Callistemma*, con un numero cromosomico nuovo,  $x = 7$ , e della serie *Flavidae*. Per il resto del genere il quadro diventa di più difficile interpretazione. Indubbiamente, si è distinto prima il morfotipo *Pycnocomon*, con caratteristiche proprie quali involucro connato, eterocarpia, corona fenestrata, adattato ad ambienti di spiaggia. È quindi rimasto il resto delle specie, che condivide il numero cromosomico  $x = 9$ , ma per le quali è difficile riconoscere delle sinapomorfie e quindi non si è più in grado di discernere nella successione temporale la formazione delle varie specie o gruppi. Possiamo solo direttamente passare al commento dei cladi più interni, dove è possibile riconoscere dei gruppi conclamati (con elevata percentuale di bootstrap e varie sinapomorfie) quali i gruppi di *L. argentea*, *L. graminifolia*, *L. stellata* (incluso in un clado più ampio con *L. isetensis* alla base e *L. palaestina* a seguire), il clado di *L. leucactis* e *L. persica*, ed il clado di *L. reuteriana*. L'impossibilità a risalire il percorso evolutivo da queste specie al loro antenato comune è dovuta anche all'incongruenza dei marcatori molecolari scelti.

Concludiamo dicendo che l'evoluzione delle *Lomelosia* è certamente iniziata con una specie legnosa, provvista di foglie intere, piccoli capolini sferici e frutti poco evoluti, un numero cromosomico  $x = 9$ , polline tripurato ed opercolato, in un ambiente ristretto con caratteristiche peculiari, probabilmente arido (ciò ha dato vita alla protezione massima delle diaspore visibile nell'epicalice di queste specie). Da questo luogo, probabilmente in una parte della regione mediterranea, il genere si è diffuso un po' dappertutto negli ambienti circostanti, con specie perenni endemiche che raggiungevano la loro stabilità evolutiva, e progredendo in altri posti con la modificazione di alcune caratteristiche morfologiche, tra le quali l'habitus annuale, che meglio ne

permettevano la diffusione sia nel Mediterraneo occidentale (più lentamente) che nel Mediterraneo orientale (più velocemente). In quest'ultima zona, la forte aridità sembra aver potenziato sia i fenomeni di differenziazione del genere portando a nuovi caratteri morfologici sia i fenomeni di dedifferenziazione quali la neotenia col ritorno di caratteri primitivi. Il tutto è stato reso possibile dalla grande plasticità dei cromosomi, con fenomeni come la poliploidizzazione e la disploidia. Oggi si pensa che le specie orientali non abbiano assunto ancora un aspetto definitivo, ma siano ancora in piena evoluzione.

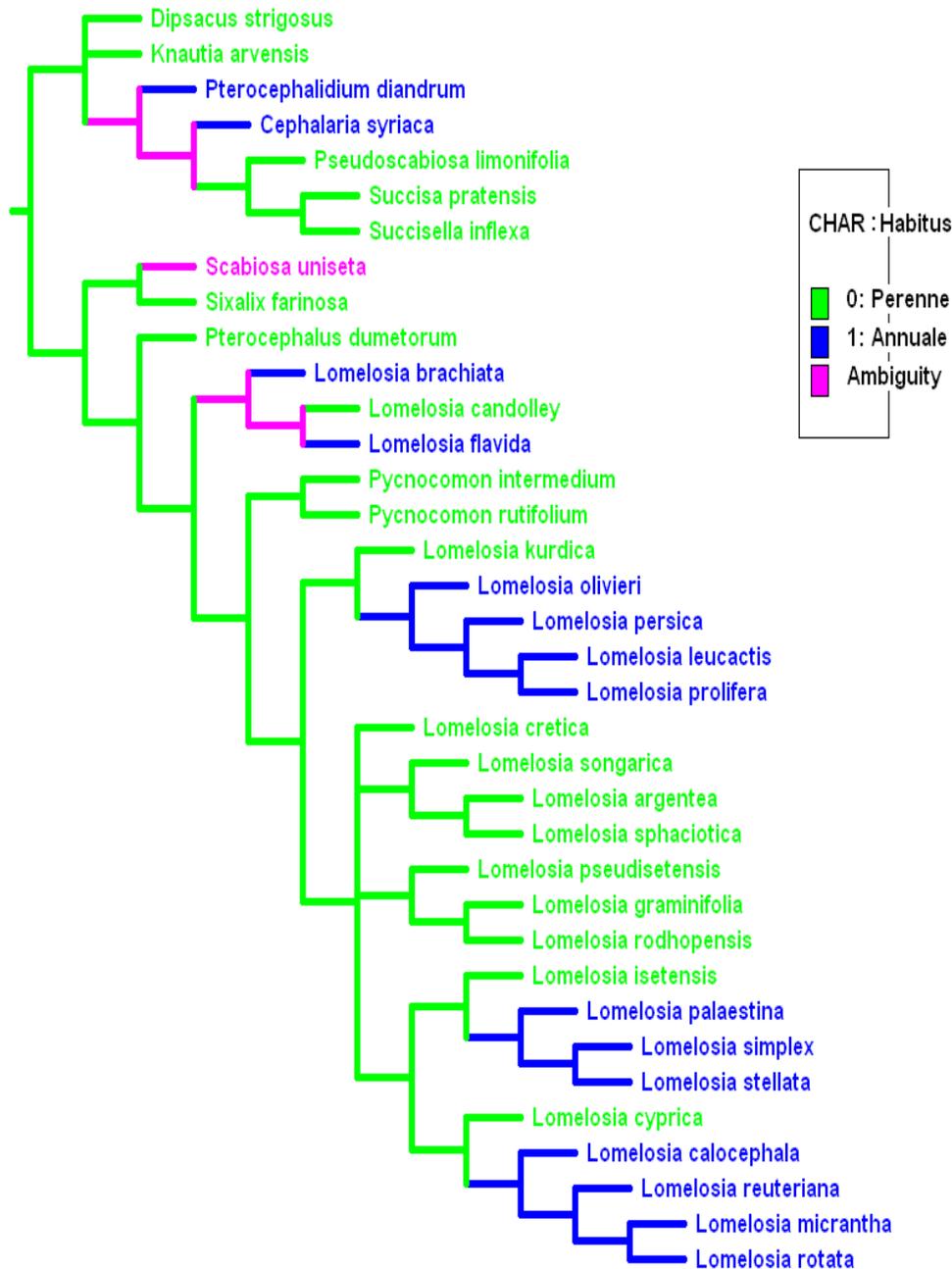


Figura 31: Cambiamenti non ambigui del tipo di habitus trasferiti sul cladogramma MP ottenuto dalla matrice finale.

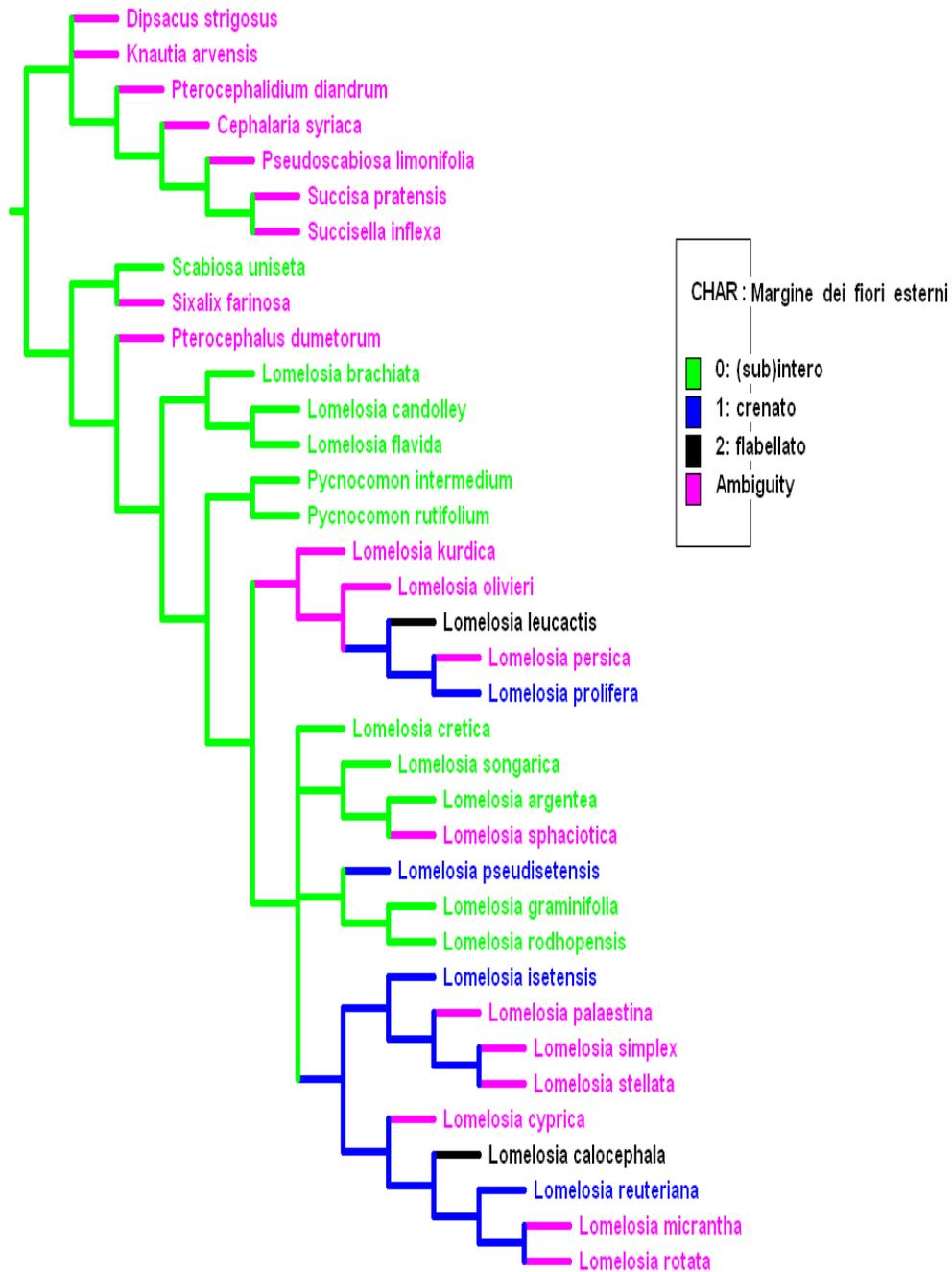


Figura 32: Cambiamenti non ambigui del margine dei fiori esterni trasferiti sul cladogramma MP ottenuto dalla matrice finale.

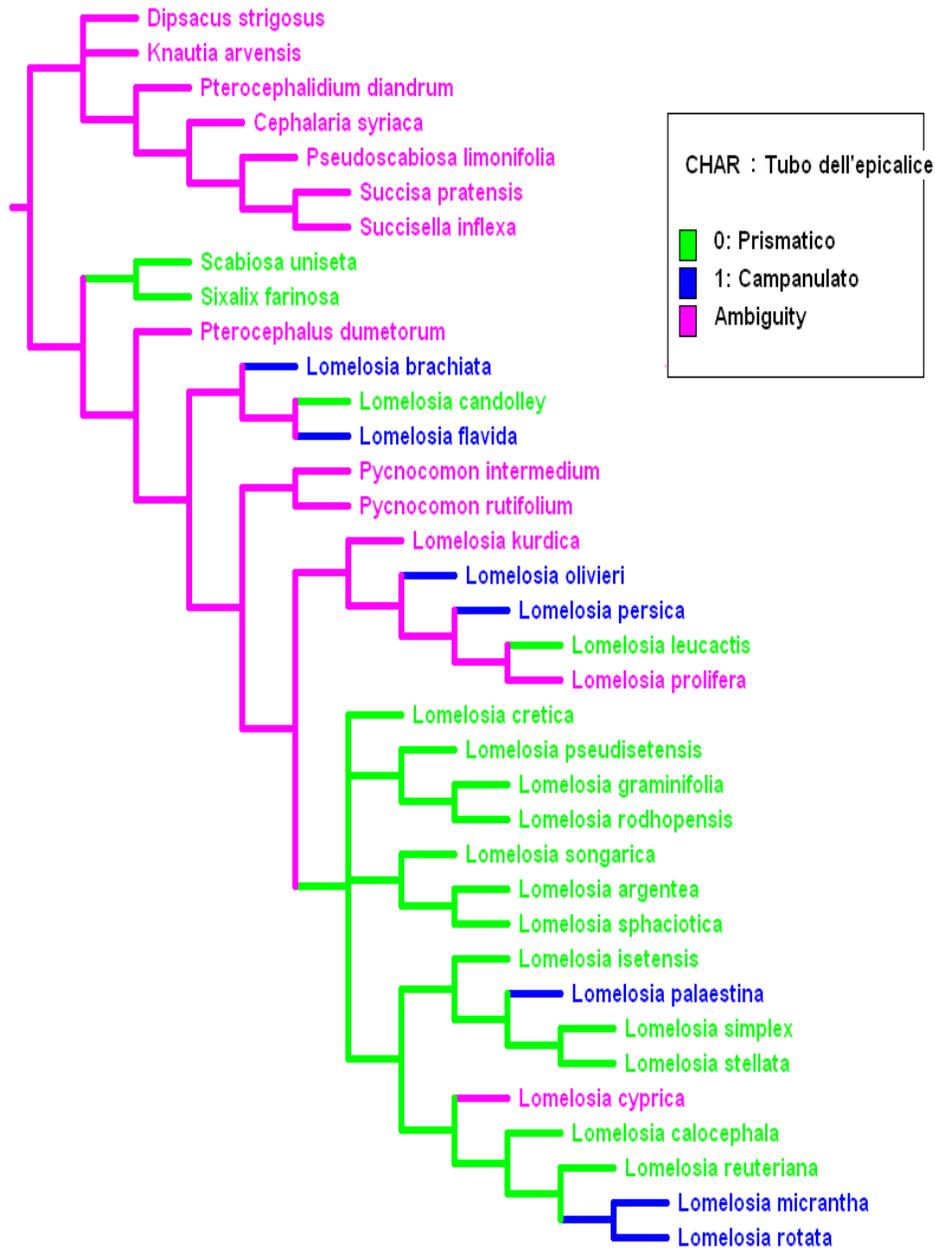


Figura 33: Cambiamenti non ambigui della forma del tubo dell'epicalice trasferiti sul cladogramma MP ottenuto dalla matrice finale.

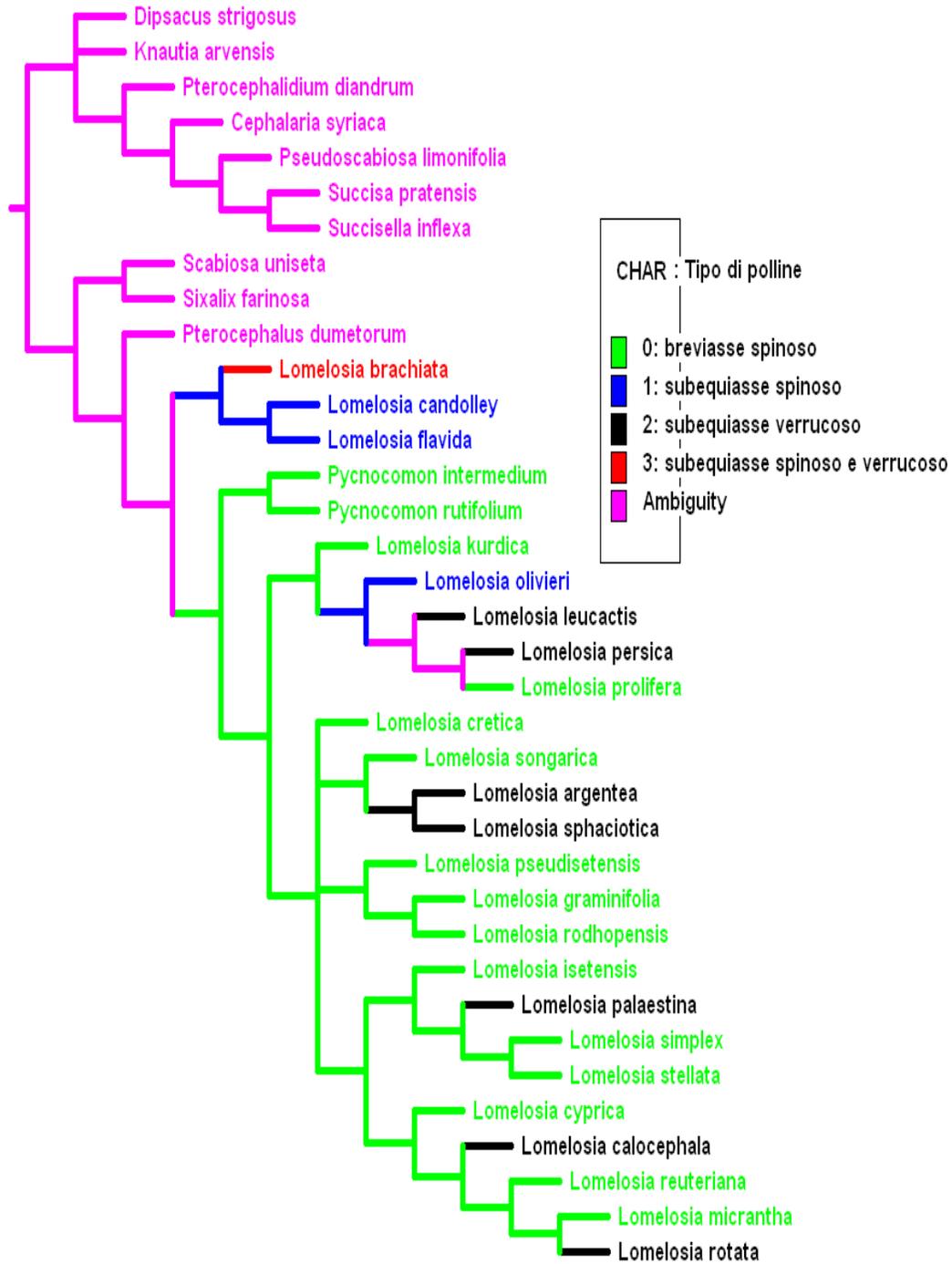


Figura 34: Cambiamenti non ambigui della forma del tipo di polline trasferiti sul cladogramma MP ottenuto dalla matrice finale.

Specie	<i>ITS EMBL accession nos.</i>	<i>trnL-trnF EMBL accession nos.</i>	<i>trnL EMBL accession nos.</i>	<i>psbB-psbH EMBL accession nos.</i>	Origine
<i>Acanthocalyx nepalensis</i> (D. Don) MJ Cannon	AY290015	AF290004	AF290004	-----	Donoghue <i>et al.</i> , Unpublished
<i>Centranthus ruber</i> (L.) DC	AY310448	AF446986	AF446986	AM392458	Bell <i>et al.</i> , 2004 (ITS1, ITS2, <i>trnL-trnF</i> , <i>trnL</i> ); <i>psbB-psbH</i> Voucher n. 1, Avino & Caputo, NAP
<i>Cephalaria joppensis</i> (Rechb.) Coult.	AM296451 AM296452	AM296188	AM295996	AM392459	Voucher n. 2, Avino & Caputo, NAP
<i>Cephalaria leucantha</i> (L.) Roem. & Schult.	AJ426523 AJ426524	AM296189	AJ427376	AM392460	Caputo <i>et al.</i> , 2004 (ITS1, ITS2, <i>trnL</i> ); Voucher n. 3, Avino & Caputo, NAP ( <i>trnL-trnF</i> , <i>psbB-psbH</i> )
<i>Cephalaria natalensis</i> Kuntze	AM296453 AM296454	AM296190	AM295997	AM392461	Voucher n. 4, Avino & Caputo, NAP
<i>Cephalaria syriaca</i> (L.) Roem. & Schult.	AJ426525 AJ426526	AM296191	AJ427377	AM392462	Caputo <i>et al.</i> , 2004 (ITS1, ITS2, <i>trnL</i> ); Voucher n. 5, Avino & Caputo, NAP ( <i>trnL-trnF</i> , <i>psbB-psbH</i> )
<i>Dipsacus japonicus</i> Miq.	AM296455 AM296456	AM296192	AM295998	AM392463	Voucher n. 6, Avino & Caputo, NAP
<i>Dipsacus laciniatus</i> L.	AM296457 AM296458	AM296193	AM295999	AM392464	Voucher n. 7, Avino & Caputo, NAP
<i>Dipsacus pilosus</i> L.	AM296459 AM296460	AM296194	AM296000	AM392465	Voucher n. 8, Avino & Caputo, NAP
<i>Dipsacus strigosus</i> Roemer & Schultes	AM296461 AM296462	AM296195	AM296001	AM392466	Voucher n. 9, Avino & Caputo, NAP
<i>Dipsacus sylvestris</i> Huds.	AJ426527 AJ426528	AM296196	AJ427378	AM392467	Caputo <i>et al.</i> , 2004 (ITS1, ITS2, <i>trnL</i> ); Voucher n. 10, Avino & Caputo, NAP ( <i>trnL-trnF</i> , <i>psbB-psbH</i> )
<i>Knautia arvensis</i> (L.) Coult.	AJ426529 AJ426530	AM296197	AJ427379	AM392468	Caputo <i>et al.</i> , 2004 (ITS1, ITS2, <i>trnL</i> ); Voucher n. 11,

					Avino & Caputo, NAP ( <i>trnL-trnF</i> , <i>psbB-psbH</i> )
<i>Lomelosia albocincta</i>	Pending	-----	-----	-----	Voucher n. 32, Avino & Caputo, NAP
<i>Lomelosia argentea</i>	Pending	Pending	-----	Pending	Voucher n. 33, Avino & Caputo, NAP
<i>Lomelosia aucheri</i>	-----	Pending	-----	Pending	Mus. bot. Berol., 06-04- 1980
<i>Lomelosia brachiata</i> (Sm.) Greuter & Burdet	AM296463 AM296464	AM296198	AM296002	AM392469	Voucher n. 12, Avino & Caputo, NAP
<i>Lomelosia calocephala</i>	Pending	Pending	-----	Pending	Mus. bot. Berol., n. 42883
<i>Lomelosia candolley</i>	Pending	Pending	-----	Pending	Mus. bot. Berol., n. 55197
<i>Lomelosia caucasica</i>	Pending	-----	-----	-----	Voucher n. 34, Avino & Caputo, NAP
<i>Lomelosia cosmoides</i>	-----	-----	-----	Pending	Mus. bot. Berol., B. Balnsa, Pl. d'Orient, 1854
<i>Lomelosia crenata</i>	Pending	-----	-----	-----	Voucher n. 35, Avino & Caputo, NAP
<i>Lomelosia cretica</i> (L.) Greuter & Burdet	AM296465 AM296466	AM296199	AM296003	AM392470	Voucher n. 13, Avino & Caputo, NAP
<i>Lomelosia cyprica</i>	Pending	Pending	-----	Pending	Mus. bot. Berol., n. 1834
<i>Lomelosia divaricata</i>	Pending	-----	-----	Pending	Hamburgische Botanische Staatsinstitute, n. 4148
<i>Lomelosia flavida</i>	Pending	Pending	-----	Pending	Mus. bot. Berol., n. 32621
<i>Lomelosia graminifolia</i>	Pending	Pending	-----	Pending	Voucher n. 36, Avino & Caputo, NAP
<i>Lomelosia hispidula</i>	Pending	Pending	-----	-----	Mus. bot. Berol., n. 286- 97-89-10
<i>Lomelosia isetensis</i>	Pending	Pending	-----	Pending	Mus. bot. Berol., n. 73/96- 86
<i>Lomelosia kurdica</i>	Pending	Pending	-----	Pending	Mus. bot. Berol., n. 73/96- 90
<i>Lomelosia leucactis</i>	Pending	Pending	-----	Pending	Herbarium Department of Biology college of Science University of Mosul, 12-4- 1983
<i>Lomelosia macrochaete</i>	Pending	Pending	-----	-----	Botanic Museum of the University, Copenhagen, n. 1361
<i>Lomelosia micrantha</i>	Pending	Pending	-----	Pending	Herbarium Instituti

					Botanici, 07-07-1979
<i>Lomelosia olgae</i>	Pending	Pending	-----	-----	Mus. bot. Berol., n. 7832
<i>Lomelosia olivieri</i>	Pending	Pending	-----	Pending	Mus. bot. Berol., n. 57279
<i>Lomelosia palaestina</i> (L.) Rafin.	AM296467 AM296468	AM296200	AM296004	AM392471	Voucher n. 14, Avino & Caputo, NAP
<i>Lomelosia persica</i>	Pending	Pending	-----	Pending	Mus. bot. Berol., 4-1990
<i>Lomelosia phrygia</i>	-----	Pending	-----	-----	Mus. bot. Berol., n. 1166
<i>Lomelosia porphyroneura</i>	-----	Pending	-----	Pending	Mus. bot. Berol., 24-03-1989
<i>Lomelosia prolifera</i>	Pending	Pending	-----	Pending	Voucher n. 37, Avino & Caputo, NAP
<i>Lomelosia pseudisetensis</i>	Pending	Pending	-----	Pending	Voucher n. 38, Avino & Caputo, NAP
<i>Lomelosia reuteriana</i>	Pending	Pending	-----	Pending	Mus. bot. Berol., n. J/15679
<i>Lomelosia rodhopensis</i>	Pending	Pending	-----	Pending	Herbarium Ground ex Herb. Hort. Bot. Reg. Kew., 15-03-1955
<i>Lomelosia rotata</i>	Pending	Pending	-----	Pending	Voucher n. 39, Avino & Caputo, NA
<i>Lomelosia simplex</i> (Desf.) Rafin.	AM296469 AM296470	AM296201	AM296005	AM392472	Voucher n. 15, Avino & Caputo, NAP
<i>Lomelosia songarica</i>	Pending	Pending	-----	Pending	Mus. bot. Berol., n. 75082f
<i>Lomelosia sphaciotica</i>	Pending	Pending	-----	Pending	Mus. bot. Berol., 29-12-1994
<i>Morina longifolia</i> Wallich	AY236185	AF446975	AF446975	AM392473	Bell <i>et al.</i> , 2004 (ITS1, ITS2, <i>trnL</i> , <i>trnL-trnF</i> ); Voucher n. 16, Avino & Caputo, NAP ( <i>psbB-psbH</i> )
<i>Nardostachys jatamansi</i> (Jones) DC	AY236190	AF446980	AF446980	-----	Bell <i>et al.</i> , 2004
<i>Patrinia villosa</i> L.	AM296475 AM296476	AM296215	AM296009	AM392474	Voucher n. 17, Avino & Caputo, NAP
<i>Pseudoscabiosa grosii</i> (Font Quer) Devesa	AM296449 AM296450	AM296202	AM296006	AM392457	Voucher n. 18, Avino & Caputo, NAP
<i>Pseudoscabiosa limonifolia</i> (Vahl) Devesa	AJ426535 AJ426536	AM296203	AJ427383	AM392475	Caputo <i>et al.</i> , 2004 (ITS1, ITS2, <i>trnL</i> ); Voucher n. 19,

					Avino & Caputo, NAP ( <i>trnL-trnF</i> , <i>psbB-psbH</i> )
<i>Pterocephalidium diandrum</i> (Lag.) G. López	AJ426537 AJ426538	AM296204	AJ427382	AM392476	Caputo <i>et al.</i> , 2004 (ITS1, ITS2, <i>trnL</i> ); Voucher n. 20, Avino & Caputo, NAP ( <i>trnL-trnF</i> , <i>psbB-psbH</i> )
<i>Pterocephalodes hookeri</i> (C.B. Clarke) V. Mayer & Ehrend.	AY236186	AF446976	AF446976	-----	Bell <i>et al.</i> , 2004
<i>Pterocephalus dumetorum</i> (Brouss. ex Willd.) Coult.	AM296471 AM296472	AM296205	AM296008	AM392477	Voucher n. 21, Avino & Caputo, NAP
<i>Pycnocomon intermedium</i> (Lag.) Greuter & Burdet.	AM296473 AM296474	AM296206	AM296007	AM392478	Voucher n. 22, Avino & Caputo, NAP
<i>Pycnocomon rutifolium</i> (Vahl) Hoffmans. & Link	AJ426541 AJ426542	AM296207	AJ427385	AM392479	Caputo <i>et al.</i> , 2004 (ITS1, ITS2, <i>trnL</i> ); Voucher n. 23, Avino & Caputo, NAP ( <i>trnL-trnF</i> , <i>psbB-psbH</i> )
<i>Scabiosa africana</i> L.	AJ426543 AJ426544	AM296208	AJ427386	AM392480	Caputo <i>et al.</i> , 2004 (ITS1, ITS2, <i>trnL</i> ); Voucher n. 24, Avino & Caputo, NAP ( <i>trnL-trnF</i> , <i>psbB-psbH</i> )
<i>Scabiosa japonica</i> Miq.	AJ426545 AJ426546	AM296209	AJ427387	AM392481	Caputo <i>et al.</i> , 2004 (ITS1, ITS2, <i>trnL</i> ); Voucher n. 25, Avino & Caputo, NAP ( <i>trnL-trnF</i> , <i>psbB-psbH</i> )
<i>Scabiosa uniseta</i> Savi	AJ426547 AJ426548	AM296210	AJ427388	AM392482	Caputo <i>et al.</i> , 2004 (ITS1, ITS2, <i>trnL</i> ); Voucher n. 26, Avino & Caputo, NAP ( <i>trnL-trnF</i> , <i>psbB-psbH</i> )
<i>Sixalix atropurpurea</i> (L.) Greuter & Burdet subsp. <i>maritima</i> (L.) Greuter & Burdet	AJ426549 AJ426550	AM296211	AJ427389	AM392483	Caputo <i>et al.</i> , 2004 (ITS1, ITS2, <i>trnL</i> ); Voucher n. 27, Avino & Caputo, NAP ( <i>trnL-trnF</i> , <i>psbB-psbH</i> )
<i>Sixalix farinosa</i> (Cosson)	AJ426551	AM296212	AJ427390	AM392484	Caputo <i>et al.</i> , 2004

Greuter & Burdet	AJ426552				(ITS1, ITS2, <i>trnL</i> ); Voucher n. 28, Avino & Caputo, NAP ( <i>trnL-trnF</i> , <i>psbB-psbH</i> )
<i>Succisa pratensis</i> Moench	AJ426553 AJ426554	AM296213	AJ427391	AM392485	Caputo <i>et al.</i> , 2004 (ITS1, ITS2, <i>trnL</i> ); Voucher n. 29, Avino & Caputo, NAP ( <i>trnL-trnF</i> , <i>psbB-psbH</i> )
<i>Succisella inflexa</i> (Kluk) G. Beck	AJ426555 AJ426556	AM296214	AJ427392	AM392486	Caputo <i>et al.</i> , 2004 (ITS1, ITS2, <i>trnL</i> ); Voucher n. 30, Avino & Caputo, NAP ( <i>trnL-trnF</i> , <i>psbB-psbH</i> )
<i>Triplostegia glandulifera</i> Wall. ex DC	AY236189	AF446979	AF446979	-----	Bell <i>et al.</i> , 2004
<i>Valeriana officinalis</i> L.	AJ426559 AJ426560	AM296216	AJ427394	AM392487	Caputo <i>et al.</i> , 2004 (ITS1, ITS2, <i>trnL</i> ); Voucher n. 31, Avino & Caputo, NAP ( <i>trnL-trnF</i> , <i>psbB-psbH</i> )

Tabella 1: Specie, EMBL accession numbers ed origini dei campioni in studio.

## 5 Bibliografia

Altamura, L., Colasante, M., D'Amato, G. 1984. - *Numeri cromosomici per la flora Italiana: 1022-1036*. *Informatore Botanico Italiano* 16: 261-270.

Arrigoni, P. V., Mori, B. 1980. - *Numeri cromosomici per la Flora Italiana: 722-727*. *Informatore Botanico Italiano* 12: 145-148.

Backlund, A., Bremer, B. 1997. - *Phylogeny of the Asteridae s. str. based on rbcL sequences, with particular reference to the Dipsacales*. *Plant Syst. Evol.* 207: 225-254.

Backlund, A. A., Donoghue, M. J. 1996 *Morphology and phylogeny of the order Dipsacales*. In *Phylogeny of the Dipsacales*, A. A. Backlund, Doctoral Dissertation. Uppsala: Department of Systematic Botany, Uppsala Univ.

Baldwin, B. G., Sanderson, M. J., Porter M. J., Wojciechowski M. F., Campbell, C. S., Donoghue M. J. 1995. - *The ITS region of nuclear ribosomal DNA: a valuable source of evidence in angiosperm phylogeny*. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 82: 247-277.

Baltisberger, M. 1987. - *Chromosomenzahlen einiger Pflanzen aus Albanien*. Berichte des Geobotanischen Institutes der Eidgenössischen Technischen Hochschule Stiftung Rübel 53: 47-63.

Baltisberger, M. 1991. - *Cytological investigations of some Greek plants*. Flora Mediterranea 1: 157—173.

Baltisberger, M. 1999. - *IOPB chromosome data 15*. Newslett. Int. Organ. Pl. Biosyst. (Pruhonice) 31: 11-12.

Baltisberger, M., Baltisberger, E. 1995. - *Cytological data of Albanian plants*. Candollea 50(2): 457-493.

Baltisberger, M., Mullaj, A., Tartari, V., 1993. - *Mediterranean chromosome number reports 3 (185-203)*. Flora Mediterranea 3: 348-353.

Bell, C. D., 2004. - *Preliminary phylogeny of Valerianaceae (Dipsacales) inferred from nuclear and chloroplast DNA sequence data*. Mol. Phylogenet. Evol. 31: 340–350.

Bell, C. D., Donoghue, M.J., 2003. - *Phylogeny of Morinaceae (Dipsacales) based on nuclear and chloroplast DNA sequences*. Organisms, Evolution, and Diversity 3: 227-237.

Bell, C. D., Edwards, E. J., Kim, S.-T., Donoghue, M. J. 2001. - *Dipsacales phylogeny based on chloroplast DNA sequences*. Harvard Papers in Botany 6:481-499.

Bentham, G., Hooker, J. D. 1873. - *Genera Plantarum 2. Pars I*. - London: Lovell Reeve. & Co.

Bocquet, G., Widler, B., Kiefer, H. 1978. - *The Messinian Model—A new outlook for the floristics and systematics of the Mediterranean area*. Candollea 33: 269-287.

Boissier, E. 1875. – *Flora orientalis, III, Caliciflorae gamopetalae*. Georg. édit., Genève.

Bremer, K., 1994. - *Asteraceae: Cladistics et Classification*. Timber Press, Portland, Oregon.

Bukharov, A. A., Kolosov, V. L., Zolotarev A. S. 1988. - *Nucleotide sequence of rye chloroplast DNA fragment encoding psbB and psbH genes*. Nucl. Acids Res. 16: 8737.

Candolle, A. P. de 1830. – *Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis, IV*. Paris.

Cannon, M. J., Cannon, J. F. M. 1984. - *A revision of the Morinaceae (Magnoliophyta-Dipsacales)*. Bull. Brit. Mus. (Nat. Hist.) Bot. 12:1-35.

Caputo, P., Cozzolino, S. 1994. - *A cladistic analysis of Dipsacaceae (Dipsacales)*. Plant Syst. Evol. 189: 41-61.

Caputo, P., Cozzolino, S. 1995. - *Cladogeny in Dipsacaceae: dispersal and vicariance models*. Boll. Soc. Sarda Sci. Nat. 30: 233-243.

Caputo, P., Cozzolino, S., Moretti, A. 2004. - *Molecular phylogenetics of Dipsacaceae reveals parallel trends in seed dispersal syndromes*. Plant Syst. Evol. 246: 163-175.

Coulter, T. 1824. - *Mémoire sur le Dipsacacées*. Mém. Soc. Phys. Hist. nat. Genève, 2 (2): 13- 60.

Damboldt, J., Graumann, G., Phitos, D., Melzheimer, V. 1981. - *Der Formenkreis von Scabiosa crenata (Dipsacaceae)*. Phyt. Annales Rei Botanicae 21: 85-102.

Daniela, I. 1997. - *IOPB chromosome data 11*. Newslett. Int. Organ. Pl. Biosyst. (Oslo) 26/27: 13—14.

De Castro, O., Caputo, P. 1999 [2001]. - *A phylogenetic analysis of genus Lomelosia Rafin. (Dipsacaceae) and allied taxa*. Delpinoa, n.s., 41: 29-45.

Devesa, J. A. 1984a. - *Revision of the genus Scabiosa in Spain and Balearic Islands*. Lagasalia 12: 143-212.

Devesa, J. A. 1984b. - *Pseudoscabiosa, genero nuevo de Dipsacaceae*. Lagasalia 12: 213-221.

Donoghue, M. J., Bell, C. D., Winkworth, R. C., 2003. *The evolution of reproductive characters in Dipsacales*. J. Plant Sci. 164 (5 Suppl.): S453–S464.

Donoghue, M. J., Eriksson, T., Reeves, P. A., Olmstead, R. G. 2001. - *Phylogeny and phylogenetic taxonomy of Dipsacales, with special reference to Sinadoxa and Tetradoxa (Adoxaceae)*. Harvard Papers in Botany 6:459-479.

Doyle, J. J., Doyle, J. L., 1990. - *Isolation of plant DNA from fresh tissue*. Focus 12: 13-15.

Ehrendorfer, F., 1962. - *Beiträge zur Phylogenie der Gattung Knautia (Dipsacaceae), I*. Cytologische Grundlagen und allgemeine Hinweise. Österr. Bot. Zeit. 109: 276-343.

Ehrendorfer, F., 1964a. - *Cytologie, Taxonomie und Evolution bei Samenpflanzen*. In: Turrill W. B. (ed.) Vistas in Botany. 4. The MacMillan Company, New York, pp.99-186.

Ehrendorfer, F. 1964b. - *Über stammesgeschichtliche Differenzierungsmuster bei den Dipsacaceen*. Ber. dtsh. bot. Gesellsch. 77: 83-94.

Ehrendorfer, F., 1965. - *Evolution and karyotype differentiation in a family of flowering plants: Dipsacaceae*. Genetics Today (Proc. XI International Congress of Genetics, The Hague, The Netherlands, 1963) 2: 399-407. Gesellsch. 77: 83-94.

Erdtman, G. 1952. - *Pollen Morphology and Plant Taxonomy*. Angiosperms. Massachusetts: Chronica Botanica Co Waltham.

Erdtman, G. 1956. - "*LO-Analysis*" and "*Welckers Rule*", a centenary. *Svensk bot. Tidskr.* 50 (1) : 135-41.

Fangan, B. M., Stedje, B., Stabbetorp, O. E., Jensen, E. S., Jakobsen, K. S. 1994. - *A general approach for PCR amplification and sequencing of chloroplast DNA from crude vascular plant and algal tissue*. *BioTechniques* 16: 484-494.

Farris, J. S., Källersjö, M., Kluge, A. G., Bult, C. 1994. - *Testing Significance of Incongruence*. *Cladistics* 10: 315-319.

Felsenstein, J. 1985. - *Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap*. *Evolution* 39: 783-791.

Frey, L. 1969a. - *Chromosome numbers in the genus Scabiosa L. I*. *Fragmenta Floristica & Geobotanica* 15: 179-184.

Frey, L. 1969b. - *Karyological studies in some flowering plants in Poland*. *Fragmenta Floristica & Geobotanica* 15: 261—267.

Frey, L. 1970. - *Chromosome numbers in the genus Scabiosa L. II*. *Fragmenta Floristica & Geobotanica* 16: 391--394.

Gielly, L., Taberlet, P. 1995a. - *Chloroplast DNA polymorphism at the intrageneric level: incidences in resolving plant phylogenies*. *Compte Rendu de l'Academie des Sciences III, Sciences de la Vie* 317: 685-692.

Gielly, L., Taberlet, P. 1995b. - *The use of chloroplast DNA resolve plant phylogenesis: non-coding versus rbcL sequences*. *Molecular Biology and Evolution* 11: 769-777.

Gielly, L., Taberlet, P. 1996. - *A phylogeny of European gentians inferred from chloroplast trnL (UAA) intron sequences*. *Botanical Journal of the Linnean Society* 120: 57-75.

Goloboff, P. A. 1993. - *Nona. Instruction manual*. Distributed by the author.

Greuter, W., Burdet, R. 1985. - *Dipsacaceae*. In Greuter W., Raus T. (Eds.): *Med-Checklist Notulae* 11. *Willdenowia* 15: 71-76.

Greuter, W., Raus, T. 1985. - (Eds.): *Med-Checklist Notulae 11*. *Willdenowia* 15: 71-76.

Hall, T.A. 1999. - *BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT*. *Nucl. Acids Symp. Ser.* 41:95-98.

Holub, J. 1977. - *New names in Phanerogamae* 6. Folia Geobotanica & Phytotaxonomica 12: 417-432.

Hsü, K. J., Montadert, L., Bernouilli, D., Cita, M. B., Erickson, A., Garrison, R. E., Kidd, R. B., Mèlierés, F., Müller, C., Wright, R. 1977. - *History of the Mediterranean salinity crisis*. Nature 267: 399-403.

Judd, W. S., Sanders, R. W., Donoghue, M. J. 1994: *Angiosperm family pairs preliminary phylogenetic analyses*. Harvard Pap. in Bot. 5:1-51.

Jussieu, A.-L. de 1789. - *Genera Plantarum*. 246-248.

Kim, Y. D., Jansen, R. K. 1994. - *Comparison of phylogenetic hypotheses among different data sets in dwarf dandelions (Krigia, Asteraceae): additional information from internal transcribed spacer sequences of nuclear ribosomal DNA*. Pl. Syst. Evol. 190: 157-185.

Khatoon, S., Ali, S. I. 1993. - *Chromosome Atlas of the Angiosperms of Pakistan[M]*. BCC and T Press: Karachi.

Kliphuis, E. 1977. - *IOPB chromosome number reports LVI*. Taxon 26: 257-274.

Kliphuis, E., Barkoudah, Y. I. 1977. - *Chromosome numbers in some Syrian Angiosperms*. Acta Bot. Neerl. 26: 239-249.

Linneo, C. von 1771. - *Genera plantarum, I. VIII*: 197.

Löve, Á., Löve, D. 1974. *Nomenclatural adjustments in the Yugoslavian flora II. Pteridophytes and Dicotyledons*. Preslia 46: 123-137.

López Gonzáles, G., 1987. *Pterocephalidium, un nuevo género ibérico de la familia Dipsacaceae*. Anales Jard. Bot. Madrid 43: 245-252.

Magulaev, A. J. 1979. - *The cytogeography of some Dipsacaceae of North Caucasus*. Problemy Botaniki 14: 67-70.

Magulaev, A. J. 1986. - *Chromosome numbers in some species of flowering plants of the Crimea and Caucasus floras*. Botaniceskij Žurnal SSSR 71: 1575-1578.

Magulaev, A. Vu. 1984. - *Cytotaxonomic study in some flowering plants of the North Caucasus*. Botaniceskij Žurnal SSSR 69(4): 511-517.

Mayer, V., Ehrendorfer, F. 1999. - *Fruit differentiation, palynology, and systematics in the Scabiosa group of genera Pseudoscabiosa (Dipsacaceae)*. Plant Syst. Evol. 216: 135-166.

Mayer, V., Ehrendorfer, F. 2000. - *Fruit differentiation, palynology, and systematics in Pteroccephalus Adanson and Pteroccephalodes, gen. nov.* (Dipsacaceae). Bot. J. Linn. Soc. 132: 47-78.

Mertens, F. K., Koch, W. D. J. 1823. - *In Roehling (J. C.): Deutschland Flora, I.* Franckfurt.

Montmollin, B. de 1982. - 2317. Bulletin de la Société Neuchâteloise de Sciences Naturelles 105: 65-77.

Montmollin, B. de 1986. - *Étude cytotaxonomique de la flore de la Crète. III. Nombres chromosomiques.* Candollea 41: 431-439

Nixon, K. C. 1999. - *Winclada (beta) ver. 0.9.9.* Published by the author, Ithaca, NY.

Phitos, D. 1988. - *Chromosome numbers in some species of the Greek flora.* Botanika Chronika 8: 45-50.

Pyck, N., Smets, E., 2004. - *On the systematic position of Triplostegia (Dipsacales): a combined molecular and morphological approach.* Belg. J. Bot. 137(2): 125-139.

Rafinesque, G. 1838. *Flora Telluriana*, 4 : 95.

Rechinger, K. H. 1989a. - *Scabiosiopsis (Dipsacaceae), eine neue Gattung aus dem Iran.* Willdenowia 19. (1): 153-154.

Rechinger, K. H. 1989b. - *Scabiosa sect. Olivierianae, sect. nova (Dipsacaceae).* Willdenowia vol. 19, n° 1, pp. 137-151 (18 ref.).

Reichenbach, L. 1850. - *Icones florum Germanicae et Helveticae, XII.* F. Hofmeister édit., Lipsiae.

Robinson, M., Gouy, M., Gautier, C., Mouchiroud, D., 1998. - *Sensitivity of the relative-rate test to taxonomic sampling.* Mol. Biol. Evol. 15:1091-1098.

Robinson-Rechavi, M., Huchon, D., 2000. - *RRTree: Relative-Rate Tests between groups of sequences on a phylogenetic tree.* Bioinformatics 16: 296-297.

Sanger, F., Niklen, S., Coulson, A. R. 1977. - *DNA sequencing with chain terminating inhibitors.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74: 5463-5467.

Sibthorp, J., Smith, J. E. 1806-1840. - *Flora graeca.* London.

Siljak-Yakovlev, S. 1981. - *In Chromosome number reports LXXIII.* Taxon 30: 843-844.

Slavik, B., Jarolimova, V., Chrték, J. 1993. - *Chromosome counts of some plants from Cyprus.* Candollea 48(1): 221-230.

Strid, A., Franzen, R. 1981. - *In Chromosome number reports LXXIII.* Taxon 30: 829-842.

Suh, Y., Thien, H. E., Zimmer, E. A. 1993. - *Molecular evolution and phylogenetic implications of internal transcribed sequences of ribosomal DNA in Winteraceae*. Amer. J. Bot. 80: 1042-1055.

Thompson, J. D., Higgins, D. G., Gibson, T. J. 1994. - *CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice*. Nucleic Acids Research 22: 4673-4680.

Van Campo, M., 1966. - *Pollen et phylogénie. Les bréviaxes*. Pollen Spores, 8: 57-73.

Van Steenis, C.G.G. J., 1948. - Dipsacaceae. - In Van Steenis, C. G. G. J., (Ed.): Flora Malesiana 4, pp. 290-292. Batavia: Noordhoff-Kolff N. V.

Van Thieghem, P. 1909. - *Remarques sur les Dipsacées*. Ann. Sci. Nat., Bot., ser. 9, 10: 148-200.

Verlâque, R. 1977. - *Rapports entre les Valerianaceae, les Morinaceae et les Dipsacaceae*. Bull. Soc. bot. Fr. 124: 475-482.

Verlâque, R. 1980. - *Cytotaxonomical studies in some Iranian Dipsacaceae*. Plant Systematics and Evolution 134: 33-52.

Verlâque, R. 1980a. - *In IOPB chromosome number reports LXVII*. Taxon 29: 362-365.

Verlâque, R. 1982. - *In IOPB chromosome number reports LXXVII*. Taxon 31: 770-771.

Verlâque, R. 1984. - *A biosystematic and phylogenetic study of the Dipsacaceae pp. 307-320*. In Grant R., (Ed.): Plant biosystematics. Toronto, Academic Press.

Verlâque, R. 1985a. - *Etude biosystématique et phylogénétique des Dipsacaceae. II - Caractères généraux des Dipsacaceae*. Rev. Cytol. Biol. Veg. Le Botaniste 8: 117-168.

Verlâque, R. 1985b. - *Etude biosystématique et phylogénétique des Dipsacaceae. III - Tribus des Knautieae et des Dipsaceae*. Rev. Cytol. Biol. Veg. Le Botaniste 8: 171-243.

Verlâque, R. 1986a. - *Etude biosystématique et phylogénétique des Dipsacaceae. IV - Tribus des Scabioseae (phylum n° 1, 2, 3)*. Rev. Cytol. Biol. Veg. Le Botaniste 9: 5-72.

Verlâque, R. 1986b. - *Etude biosystématique et phylogénétique des Dipsacaceae. V - Tribus des Scabioseae (phylum n° 4) et conclusion*. Rev. Cytol. Biol. Veg. Le Botaniste. 9: 97-176.

Weberling, F., 1975. - *On the systematics of Nardostachys (Valerianaceae)*. Taxon 24: 443-452.

Weberling, F., 1978. - *Monographie der Gattung Nardostachys DC. (Valerianaceae)*. Bot. Jahrb. Syst. 99: 188-221.

Wheeler, W.C., 1996. - *Optimization alignment: the end of multiple sequence alignment in phylogenetics?* Cladistics 12: 1-9.

Wheeler, W.C., 2003. - *Implied alignment: a synapomorphy- based multiple-sequence alignment method and its use in cladogram search*. Cladistics 19: 261-268

Zhang, W-H., Chen, Z-D., Li, J-H., Chen, H-B., Tang, Y-C. 2003. - *Phylogeny of the Dipsacales s.l. based on chloroplast trnL-F and ndhF sequences*. Mol. Phylo. Evol. 26:176-189.