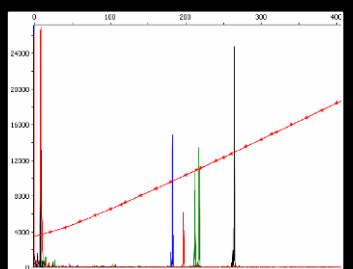
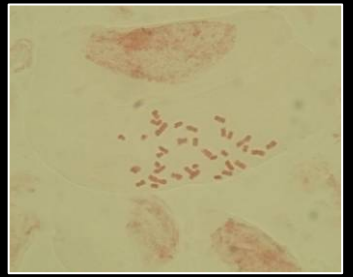
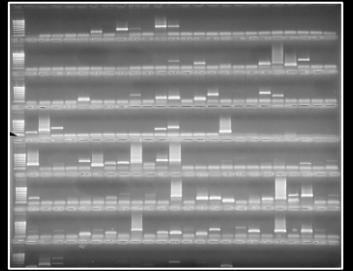


Evolució, filogènia i sistemàtica del complex *Arctium-Cousinia*

TESI DOCTORAL

Sara López Viñallonga

Barcelona 2009





UNIVERSITAT DE BARCELONA
FACULTAT DE BIOLOGIA
Departament de Biologia Vegetal, Unitat de Botànica

Programa de Doctorat: Biologia Vegetal
Bienni: 2002-2004

INSTITUT BOTÀNIC DE BARCELONA (CSIC-ICUB)

**EVOLUCIÓ, FILOGÈNIA I SISTEMÀTICA DEL COMPLEX
*ARCTIUM-COUSINIA***

Memòria presentada per Sara López Viñallonga per a optar al títol de Doctor per la
Universitat de Barcelona

Amb el vist-i-plau dels directors de tesi:

Dra. Núria Garcia Jacas

Dr. Alfonso Susanna de la Serna

i del tutor de tesi:

Dr. Ramon M. Masalles i Saumell

Sara López Viñallonga
Barcelona, 2009

Penseu que el mirall de la veritat s'esmicolà a l'origen
en fragments petitíssims, i cada un dels trossos recull
tanmateix una engruna d'autèntica llum.

Salvador Espriu

Agraïments

Primer de tot vull agrair als meus directors de tesi, la doctora Núria Garcia i el doctor Alfonso Susanna, que em fitxessin per aquest projecte que m'ha convertit en una *friki* de la sistemàtica. El vostre suport incondicional i la vostra ajuda han estat essencials per dur a terme aquest treball; fins i tot us he fet treballar els caps de setmana! Núria, gràcies per salvar-me del “fer per fer”. Alfonso, no te tendré en cuenta que me hayas metido en este berenjenal si me perdonas el pateo buscando la *fedtschenkoana*!

La meva màxima gratitud també és per al Dr. Masalles que en tot moment ha estat disponible per ajudar-me amb la paperassa i m'ha animat sempre que l'he anat a veure. Gràcies per compartir amb mi la teva visió de la botànica i del món en general.

My deepest gratitude to Dra. Olga Tscherneva, the best specialist on the genus *Cousinia*, because without you this thesis should not be possible. Thanks for providing material and knowledge from this big and amazing genus. Tatyana, thanks for your help in my visit to Saint Petersburg. And a special memory for my sweet Valentina. *Spasiba bolshoi!*

I am very grateful to Dr. Joachim Kadereit and Dr. Iraj Mehregan because dealing with the *Arctium-Cousinia* complex with them was as easy as it could be. I enjoyed my first experience writing a paper!

I want to express my sincere gratitude to Dra. Pamela Soltis and Dr. Douglas Soltis because in your lab I learned not only about microsatellites but also many other scientific and not scientific issues. Mónica, gracias por las comidas, las conversaciones y por tus enseñanzas; eres una máquina! Claudia, gracias por las *Gator Nights*, las barbacoas y todo lo demás. Many thanks to the “*manyana team*”. Sam, Richard, Lorena, Meribeth, Stein, Linjing, Hana, Matt and Evgeni, thanks for your support during my stage in the *Soltis Lab*.

Tengo muy reciente la visita a Granada y el *sprint* que hice allí para terminar la tesis. Víctor, muchas gracias porque si no hubieras currado “como un becario” (¡y convaleciente!) no hubiera podido incluir la parte de los micros. ¡Te debo una! Gracias también al doctor Gabriel Blanca por su acogida en el Departamento de Botánica. Quiero agradecer especialmente a Diego por ficharme para el equipo de “Desayuno con molletes” y a Paqui por hacerme un mapa con las localidades donde tenían que estar.

També vull agrair a tothom que ha fet un foradet a les seves campanyes de recol·lecció per trobar aquella planta que els havia demanat i que moltes vegades semblava que s'amagava: Alfonso, Andreas, Àngel, Diego, Igor, Kostya, Noe, Núria, Oriane, Roser... i segur que em deixo algú.

I com no, mooooooltes gràcies als habitants (passats i presents) de l'Insit Botànic pels esmorzars, les sobretaules, els sopars, les birretes i les excursions: Laia (la meva *deskmate* preferida), Mercè (gràcies a tu sóc a l'Insit, no pensis que me n'he oblidat!), Cristina (per portar-me a pasturar i vèncer, una mica, el meu vertígen), Noe (enjutaaaaaaaaaa, vinga que ja queda poquet!!!), Míriam (em deus un guateque), Tamara (mi *coach* personal), Roser

(*sargentu* primer), Giulia, Ana, María, Clara, Neus I., Neus N. (com hem millorat, del zulo petit a les vistes de Montuïc!), Sandra (compartint l'*sprint* final), Encarni (niña!), Núria (*utita trico nasa*), Javi, Jaume, Jordi, Oriane, Sònia, Isma, Teresa, Dani, Mònica, Diego, Igor, Kostya, Andreas, Piotr, Carmen, Anna, Rosa, Jose...Tots heu contribuït a que la carrera d'obstacles d'aquesta tesi hagi estat com a mínim molt agradable.

Moltes gràcies també als que m'heu recolzat/aguantat des de fora del *mundillu* de botànics-*frikis*:

No puedo olvidar mi estancia en Gainesville, donde conocí a mis *awesome* amigos americanos: Elizabeth, thanks for your home, pancakes, parties, movies... Mario, sin ti no hubiera conocido a Elizabeth ni hubiera estado en una genial fiesta Tica. Molly & Urso, tengo ganas de volver a veros en Gainesville, Austin, Cádiz o Barcelona. And my favourite girls: Cocoa & Bella. I miss you guys!!

¿Y qué decir de la gente de *Graná*? Mil gracias porque casi me habéis hecho dudar de dónde está mi casa. Lourdes, gracias por acogerme en la casa más bohemia y entrópica donde he vivido. Rubem, *muito brigada* por ponerme la banda sonora mientras estudiaba y por los gazpachos del servicio de habitaciones. Elder, gracias por las mejores comidas caboverdianas. Olga, gracias por tus leyendas urbanas.

Anna, Agnès, Arantxa, Escrig, Esther, Martona, Melisa, Miguelita, Pasqüi i Jordi: que no s'acabin els viatges ni les copitxueles! Aquest any m'he perdut tots els esdeveniments; espero que no es repeteixi! A los leones!

Míriam, Sergi, Ricard, Joan, Roger, Albert, Cire, Mireia, Marc i Noelia: gràcies per les *birras jueveras*, els superherois, els sopars de nenes, els *aúpa-oso-yoguis* i altres tonteries que m'han mantingut així de jove.

Clara, Laia, Rosa, Francesc, Alberto, Edu, Vicky, Rosa, Nau, Víctor, Alba, Montse, Sara, Dani: Quins *copy-pastes*! Quines *docufarres*! Nos vimos en Berlín?

Tela i Biel, gràcies pels herbaris i converses compartits. De gran vull ser com vosaltres, jeje.

I sobre tot, sobre tot, moltes gràcies al matricarcat de Can Josepet petit: Mumi, Leta, Ter, avi, Iuca, Irene, Ire, Ció, Josep Lluís, Marc, Ricard, Fu, Urpa, Gati, Naga, Pudi, Coet, Grapa, Neula i Rundi. És ben bé que la família sempre hi és quan la necessites!

I he deixat el millor pel final. Ricard, moltes gràcies per... uf, seria massa llarg d'explicar: ABO forever!!

1. Introducció general

1.1. Context taxonòmic del complex *Arctium-Cousinia*

El complex *Arctium-Cousinia* (Susanna et al., 2003; Susanna & Garcia-Jacas, 2007) és un grup natural pertanyent a la tribu Cardueae. Tot i que diversos autors han proposat diferents classificacions d'aquesta tribu, la més àmpliament acceptada estableix una divisió en quatre subtribus: Carlininae, Echinopsinae, Carduinae (inclou el complex *Arctium-Cousinia*) i Centaurinae (Bentham, 1873; Hoffmann, 1894; Bremer, 1994). Recentment s'hi ha incorporat la subtribu Cardopatiinae (Susanna & Garcia-Jacas, 2007).

La tribu Cardueae inclou plantes herbàcies o arbusts perennes, biennals o, més rarament, anuals amb fulles alternes, bràctees involucrals multiseriades, receptacles amb diversos tipus de pàlees, sovint setós, i flòsculs tubulars i actinomorfs amb anteres de base caudada. El seu pol·len és tricolporat, oblat, esfèric o més o menys prolat, espinós, verrucós, escàbrid o gairebé llis (Susanna & Garcia-Jacas, 2007).

Diversos caràcters no trobats en combinació a cap altre grup de la tribu Cardueae caracteritzen el complex *Arctium-Cousinia*: pàlees del receptacle retorçades, aquenis tigrinis (amb un dibuix de línies ondulades), sense nectari, sovint alats, i un papus format per setes decidues individualment. Està format per quatre gèneres: *Arctium* L., *Cousinia* Cass., *Hypacanthium* Juz. i *Schmalhausenia* C. Winkl. Els gèneres *Anura* (Kult.) Tscherneva, *Lipskyella* Juz. i *Tiarocarpus* Rech. f. han estat inclosos al gènere *Cousinia* per Susanna & Garcia-Jacas (2007). Els límits entre aquests gèneres, principalment entre *Arctium* i *Cousinia*, són difícils de distingir i encara no han estat clarament establerts.

El gènere *Arctium*, segons la darrera monografia publicada (Duistermaat, 1996), està format per 11 espècies. Es caracteritza per ser biennal monocàrpic i tenir fulles inermes, cordades i de gran mida i bràctees involucrals amb gloquidis terminals que permeten una eficient dispersió del capítol per exozoocòria. La seva distribució biogeogràfica és

subcosmopolita i el seu centre de distribució és Europa (Duistermaat, 1996; Häffner, 2000).



Fig. 1. *A. minus* (Hill.) Bernh.: hàbit, capítols, detall de bràctees involucrals amb gloquidis terminals.

Cousinia és el tercer gènere més nombrós de la família de les Compostes (després de *Senecio* L. i *Vernonia* Schreb.) i el més nombrós de la tribu Cardueae (Rechinger, 1986; Bremer, 1994; Petit, 1997; Susanna & Garcia-Jacas, 2007) donat que conté entre 500 i 700 espècies, depenent dels autors. Es troba exclusivament a l'Àsia Central i Sudoccidental, concretament a les regions muntanyoses del Turkestan (Tien Shan i Pamir-Alaj) i a la regió Irano-Turània (Rechinger, 1986; Knapp, 1987). Segons Rechinger (1986), el gènere *Cousinia* és únic pel que fa al seu gran nombre d'espècies en una àrea geogràfica tan reduïda i probablement també ho sigui en el grau de diversificació que presenta. Està format per tres subgèneres: subg. *Cousinia*, subg. *Cynaroides* Tscherneva i subg. *Hypacanthodes* Tscherneva (Tscherneva, 1988b).



Fig. 2. *Cousinia libanotica* DC, hàbit. *C. pterocaulos* (C. A. Mey.) Rech. f., capítol. *C. hermonis* Boiss., detall de les bràctees involucrals amb espina terminal recta.

El gènere *Hypacanthium* és endèmic de l'oest del Tien Shan i està format per dues espècies perennes, de fulles armades.



Fig. 3. *Hypacanthium echinopifolium* (Bornm.) Juz., hàbit, capítol i detall de les bràctees involucrals amb espina terminal recta.

Schmalhausenia és un gènere monotípic endèmic de les zones subalpina i alpina del nord del Tien Shan. Es caracteritza per tenir fulles profundament dividides amb punxes nombroses i robustes i pel seus capítols sèssils envoltats d'un densíssim toment llanós.



Fig. 4. *Schmalhausenia nidulans* (Regel) Petrak, hàbit, capítol i detall de les bràctees involucrals amb espina terminal recta.

Considerant criteris moleculars, cariològics i palinològics Susanna et al. (2003) subdivideixen el complex en dos clades sense entitat taxonòmica i amb algunes incongruències morfològiques. El primer grup s'anomena Arctioide i comprèn els gèneres *Arctium* (11 espècies), *Hypacanthium* (dues espècies) i *Schmalhausenia* (una espècie) juntament amb *Cousinia* subgèneres *Cynaroides* (15 espècies) i *Hypacanthodes* (10 espècies). Està caracteritzat per un nombre cromosòmic bàsic $x = 18$ i per un pol·len orbicular i espinós de tipus *Arctiastrum* (Schtepa, 1966, 1976; Kuprianova & Tscherneva, 1982). El segon grup s'anomena Cousinioide i està format exclusivament per *Cousinia* subgènere *Cousinia* (*Cousinia* s.str.), molt més ampli pel que fa a nombre d'espècies (unes 500). Cariològicament està caracteritzat per una sèrie disploide de $x = 9, 10, 11, 12$ i 13 i té un pol·len oblong i llis de tipus *Cousinia* (Schtepa, 1966, 1976; Kuprianova & Tscherneva, 1982).

1.2. Estudis previs sobre el complex *Arctium-Cousinia*

1.2.1. Taxonomia

El gènere *Arctium* va ser descrit per Linné l'any 1753 i el gènere *Cousinia* va ser descrit el 1827 per Cassini basant-se en *Carduus orientalis* Adams, i el cert és que molts autors han discutit la delimitació genèrica d'aquests dos taxons. En canvi, els gèneres *Hypacantium*, descrit per Juzepczuk el 1937, i *Schmalhausenia*, descrit per Winkler el 1892, no han generat aquesta mena de controvèrsies.

Hi ha nombrosos treballs sobre la taxonomia del complex com el que recull el *Prodromus* de De Candolle (1838) que inclou 34 espècies dividides en tres grups establerts segons la morfologia del capítol. El primer intent ambiciós de classificar el complex *Arctium-Cousinia* va ser el 1865 quan Bunge va agrupar 126 espècies en 23 seccions basant-se en l'hàbit, la morfologia del capítol, la textura de les pàlees del receptacle, la forma de les bràctees del receptacle, el color de la corol·la i la presència o absència de pèls al tub de l'antera. Molts tractaments taxonòmics posteriors es basarien en aquesta monografia (Boissier, 1875, 1888; Rechinger, 1953, 1972; Tscherneva, 1962, 1988a). La *Flora Orientalis* de Boissier (1875 i el suplement de 1888) recollia 141 espècies de *Cousinia* agrupades en 14 seccions i 4 espècies del gènere *Arctium* (com molts altres autors dels segles XVIII i XIX, Boissier usa el sinònim il·legítim prelinneà *Lappa*). Més tard, amb un criteri més sintètic, Kuntze (1891) va proposar la transferència de les 187 espècies de *Cousinia* descrites fins llavors al gènere *Arctium*.

Posteriorment, Winkler (1892, 1897) va publicar una altra proposta de classificació del gènere *Cousinia* usant la morfologia del capítol com a principal caràcter taxonòmic per aquest gènere. Va agrupar 267 espècies en tres subgèneres: els subgèneres monotípics *Oligochaete* C. Winkl. i *Dichacantha* Lipsky i el nombrós subgènere *Eu Cousinia* que englobava les 265 espècies restants alhora agrupades en 19 seccions. Més tard, en una sèrie de publicacions aparegudes entre 1896 i 1941 (l·listades a Rechinger, 1953), Bornmüller va introduir unes 30 espècies més. El darrer tractament infragenèric de *Cousinia* va ser publicat el 1988 per Tscherneva. Basant-se en evidències

morfològiques, cariològiques i palinològiques va dividir *Cousinia* en els tres subgèneres acceptats actualment: subg. *Cousinia*, subg. *Hypacanthodes* i subg. *Cynaroides*.

Més recentment, Duistermaat (1996, 1997) analitza amb metodologia cladista dades morfològiques, anatòmiques, cariològiques i pol·líniques i estableix la classificació seccional d'*Arctium* que passa a tenir 11 espècies donat que hi inclou sis espècies de *Cousinia* subgènere *Cynaroides*. L'adscripció d'aquest subgènere, però queda irresolta ja que l'autora insinua la possibilitat de transferir-ne totes les espècies a *Arctium*.

A més de les monografies esmentades, trobem tot un seguit de tractaments parcials del complex *Arctium-Cousinia* tenint en compte només les espècies presents a determinades àrees geogràfiques. Destaquem en primer lloc la Flora de la URSS (Tscherneva, 1962, 1988a) on s'estableixen 50 seccions que agrupen 260 espècies presents als estats d'Àsia Central de l'ex-Unió Soviètica i el Càucas i inclou els gèneres *Arctium*, *Cousinia*, *Schmalhausenia*, *Hypacanthium*, *Anura*, *Lipskyella* i *Tiarocarpus*. En segon lloc, destaquem la Flora d'Iran (Rechinger, 1972 i 1979) on s'estableixen 58 seccions que agrupen 350 espècies del gènere *Cousinia* s.str. presents a Iran, Turkmenistan, Afganistan i les regions muntanyoses de Pakistan. Altres tractaments remarcables són els treballs sobre les espècies caucàsiques de *Cousinia* de Takhtajan (1938) i Tamanian (1999) i el tractament de Davis (1975) per a la Flora de Turquia que inclou també el gènere *Arctium*.

Finalment, cal esmentar treballs sobre taxa superiors que aporten informació rellevant sobre el complex *Arctium-Cousinia* com la revisió sistemàtica de la tribu Cardueae ("Cynareae") de Dittrich (1977), els treballs de Petit et al. (1996), Petit (1997), Häffner & Hellwig (1999), Susanna et al. (2006) i Susanna & Garcia-Jacas (2007) sobre la tribu Cardueae i la filogènia de la subtribu Carduinae de Häffner (2000).

1.2.2. Cariologia

Tot i que els recomptes cromosòmics del complex *Arctium-Cousinia* són nombrosos, si tenim en compte el seu elevat nombre d'espècies, es posa de manifest que manca aquest tipus d'informació pel 75% d'elles. Els nombres cromosòmics trobats fins ara són $x = 9$,

10, 11, 12, 13 i 18 (Poddubnaja-Arnoldi, 1931; Koul, 1964; Fedorov, 1969; Podlech & Dieterle, 1969; Podlech & Bader, 1974; Aryavand, 1975, 1976; Ghaffari, 1984; Tscherneva, 1985; Susanna et al., 2003; Ghaffari et al., 2000, 2006). La majoria d'aquests recomptes són consultables *on line* a la base de dades *Index to chromosome numbers in Asteraceae* (http://www.lib.kobe-u.ac.jp/infolib/meta_pub/G0000003asteraceae_e) implementada per Watanabe (2002).

És important remarcar que $x = 18$ només es dona a les espècies del grup Arctioide (Tscherneva, 1985; Susanna et al., 2003). Aquest nombre és el més alt de la tribu Cardueae i suggereix que el grup Arctioide seria un paleoploide (Tscherneva, 1985), és a dir, que s'hauria originat per antics esdeveniments de poliploïdia.

En contrast, el grup Cousinioide mostra la sèrie disploide $x = 9, 10, 11, 12$ i 13 . Tal i com succeeix a altres grups de la tribu Cardueae, probablement aquesta disploïdia sigui descendent. En aquest sentit, Frankton & Moore (1961), Fernández Casas & Fernández Morales (1979), Siljak-Yakolev (1986) i Garcia Jacas & Susanna (1992) assenyalen que els nombres cromosòmics bàsics alts s'haurien de considerar com a més primitius que els baixos, fet que s'hauria de considerar com una tendència general segons Stebbins (1950, 1971) i Grant (1981).

1.2.3. Palinologia

Ikuse (1956) va ser el primer en descriure el pol·len d'*Arctium*, basant-se en *A. lappa* L. Posteriorment Schtepa (1966), mitjançant l'estudi de 160 espècies de *Cousinia*, es va adonar que algunes tenien el mateix tipus de pol·len que *Arctium*. En un estudi més exhaustiu, va demostrar que eren les espècies dels subgèneres *Cynaroides* i *Hypacanthodes* les que tenien el pol·len similar a *Arctium* –i va suggerir transferir-les a aquest gènere- mentre *Cousinia* s.str. tenia un tipus de pol·len diferent (Schtepa, 1976). Més tard, Kuprianova & Tscherneva (1982) van confirmar l'existència d'aquests dos tipus de pol·len i els van anomenar *Arctiastrum* i *Cousinia* respectivament. Qaid (1990) aporta més dades amb l'estudi de tres espècies d'*Arctium* i set de *Cousinia*.

El pol·len tipus *Arctiastrum* és equinat i prolat esferoidal a subprolat (P/E: 1.0-1.2). Les dimensions de l'eix polar són 34-(47)-60 µm i el diàmetre equatorial fa 29-(37)-44 µm. Les costelles equatorials són poc aparents i interrompudes, essent absents sota el mesocolpus. L'exina és lleugerament més prima als pols. El tipus pol·línic *Cousinia* és prolat (P/E: 1.06-1.78), escàbrid o microequinat amb una evident costella equatorial. Les dimensions de l'eix polar són 33-(53)-70 µm i el diàmetre equatorial fa 26-(36)-53 µm. L'exina és conspicuament més prima als pols que a l'equador. Les perforacions del tectum són menys freqüents i estretes que al tipus *Arctiastrum*.

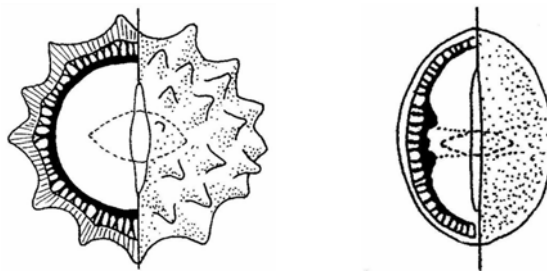


Fig. 5. Tipus pol·línics *Arctiastrum* i *Cousinia*.

El 1996 Duistermaat, mitjançant l'estudi microscòpic de 84 mostres pol·líniques de 73 espècies del complex *Arctium-Cousinia*, arriba a les mateixes conclusions que Schtepa, Kuprianova i Tscherneva i descriu detalladament les característiques dels seus dos tipus pol·línics, el tipus *Arctiastrum* i el tipus *Cousinia*. Malgrat aquesta clara distinció pol·línica, Duistermaat manifesta que el fet que *Cousinia* subgèneres *Cynaroides* i *Hypacanthodes* tinguin el tipus pol·línic *Arctiastrum* no justifica la inclusió de les espècies del dos subgèneres a *Arctium*, donat que a la tribu Cardueae és freqüent trobar el mateix tipus de pol·len a diferents gèneres. Ara bé, alhora suggereix que s'usin les característiques pol·líniques en la delimitació del gènere *Arctium*.

Finalment, l'evidència de que *Schmalhausenia* (Susanna et al., 2003) i *Hypacanthium* (observació feta durant el desenvolupament d'aquesta tesi) tenen el pol·len similar a *Arctium* confirma que el grup Cousinioide té un pol·len de tipus *Cousinia* i el grup Arctioide de tipus *Arctiastrum*. Segons Tscherneva (com. pers.) el pol·len *Arctiastrum* és més primitiu que el de tipus *Cousinia* i reflecteix la natura mesofílica de les espècies que tenen aquest tipus pol·línic, el clade Arctioide.

1.2.4. Biogeografia

Segons Häffner (2000), un dels factors més importants que cal prendre en consideració a l'hora de reconstruir filogènies és la distribució geogràfica dels taxa considerats. Però aquestes dades cal tractar-les amb precaució donat que l'àrea de distribució en cada moment depèn d'esdeveniments històrics i climàtics i altres factors ambientals com els edàfics, tant presents com passats, que sovint són impossibles de reconstruir en detall (Häffner, 2000). Les dades corològiques són la base per a establir teories sobre la localització dels centres d'origen dels taxons sota estudi i per esbrinar com han evolucionat paral·lelament al seu desenvolupament geogràfic (Meusel, 1965).

A la monografia sobre *Arctium* de Duistermaat (1996), les espècies d'*Arctium* s.str. (secció *Arctium*) es defineixen com a subcosmopolites, mentre la resta tenen una distribució centre asiàtica, igual que algunes espècies de *Cousinia*. El centre de distribució d'*Arctium* és Europa (Häffner, 2000) però hi ha espècies naturalitzades pràcticament a tot l'hemisferi nord, on fins i tot algunes d'elles es consideren males herbes, i a alguns països de l'hemisferi sud com Algèria, Egipte, Marroc, Argentina o Austràlia.

El gènere *Cousinia* s. l. té una àrea de distribució extremadament restringida en comparació amb altres gèneres del mateix nombre d'espècies (Rechinger, 1986). Es troba al sud-oest i centre d'Àsia, àrea que es correspon amb la regió biogeogràfica Irano-Turkestània segons Rechinger (1986) o Irano-Turània segons Knapp (1987). Aquesta àrea es considera un centre important de cara a la conservació donat que hi ha una extensa flora paleoxeromòrfica rica en endemismes de rang genèric, específic i subespecífic (Rechinger, 1986).

L'àrea de distribució de *Cousinia* s. l. es subdivideix en dues regions, una occidental i una oriental. La regió occidental conté més de 250 espècies i s'estén des de les terres baixes d'Iraq i l'est de Turquia fins les muntanyes del Kopet Dagh i el Balutxistan iraní i inclou els centres de diversitat 1 a 4 (veure més avall). La regió oriental, amb més de 340 espècies, s'estén des de l'Hindu Kush a través del Pamir-Alaj fins al nord del Tien-Shan i els deserts del nord de Kazakhstan i comprèn els centres de diversitat 5 a 8

(veure més avall). A grans trets cal dir que *Cousinia* subgèneres *Hypacanthodes* i *Cynaroides*, *Schmalhausenia* i *Hypacantium* només creixen a la regió oriental; els dos darrers gèneres són endèmics del Tien-Shan, de la part nord i oest respectivament. *Cousinia* s.str. es troba a ambdues regions.

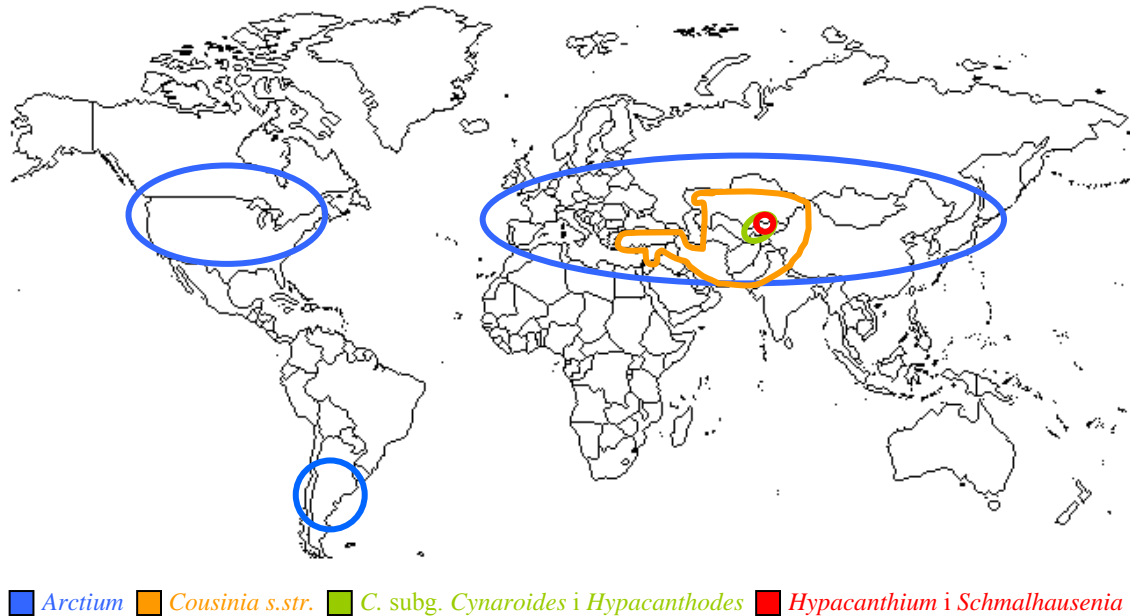


Fig. 6. Àrees de distribució dels diferents taxons del complex *Arctium-Cousinia*.

Segons Tscherneva (1962, 1974), Rechinger (1986) i Knapp (1987) aquests són els vuit centres principals d'especiació de *Cousinia* s. l.:

- 1) SE d'Anatòlia i N dels Monts Zagros al SE de Turquia i NW d'Iran, amb unes 40 espècies principalment concentrades a l'Azerbaidjan.
- 2) Monts Zagros a Iran (principalment a les províncies d'Hamadan, Markazi i Luristan) amb més de 40 espècies.
- 3) Muntanyes d'Elburz, a Iran, amb unes 70 espècies.
- 4) Serralada del Kopet Dagh, amb unes 60 espècies a l'Iran i més de 30 al Turkmenistan.
- 5) Hindu Kush occidental, al centre i W d'Afganistan, incloent les províncies de Ghorat, Ghazni i Gardez, amb més de 40 espècies.
- 6) Hindu Kush oriental, al NE d'Afganistan, incloent les províncies de Bamian, Kabul, Parvan i l'est de Kataghan, amb unes 80 espècies.

7) Pamir-Alaj, a l'Àsia central, és el centre de diversitat més important. A aquesta regió es troben 36 seccions amb 169 espècies, de les quals 130 són endèmiques.

8) Tien-Shan a l'Àsia central, amb més de 60 espècies, de les que 41 són endèmiques.

En aquest context, algunes seccions de *Cousinia* s. l. tenen una àrea de distribució àmplia, com per exemple la secció *Cynaroideae* Bunge (tot i que les seves espècies són endemismes molt restringits), mentre altres seccions són endèmiques de regions relativament reduïdes, com la secció monotípica *Winkleriana* Rech. f. que només es troba a l'oest d'Afganistan (Rechinger, 1972). Segons Tscherneva (1974) la vall del riu Hari Rud (al Turkmenistan) en direcció sud-nord i el meridià de Sistan (61° E) formen una clara frontera dins de l'àrea de distribució de *Cousinia* s. l. i la seva riquesa específica i seccional disminueix dràsticament cap als marges d'aquestes zones.

Com és ben sabut, la capacitat de dispersió de les espècies condiona la seva àrea de distribució. A tot el complex *Arctium-Cousinia* el papus és extremadament fràgil, cosa que desfavoreix la disseminació dels aquenis, i segons Rechinger (1986) podria explicar l'àrea tan limitada d'algunes espècies. Häffner (2000) postula que en aquest grup el papus tindria una funció únicament de protecció. I encara trobem altres adaptacions morfològiques que retenen els aquenis dins del capítol com ara les pàlees del receptacle molt ben desenvolupades, rígides i sovint escàbrides que no generen moviments xerocàstics d'obertura del capítol (Häffner, 2000).

Dins del complex hi ha tres tendències generals pel que fa la dispersió de les diàspores. Una possibilitat és l'ateleccòria, és a dir que en madurar, els aquenis caiguin del capítol dipositant-se al costat de la planta mare, mecanisme freqüent a hàbitats adversos (Häffner, 2000). Un altre mecanisme és la disseminació del capítol sencer que és altament eficient i permet assolir grans distàncies. Un cas especial dins d'aquest mecanisme, present a les espècies amb bràctees involucrals amb gloquidis (algunes espècies del grup *Arctioide* com ara *Arctium* s.str.), és l'exozoocòria en què el capítol queda adherit al pèl dels animals transportant-lo lluny de la planta mare. La resta d'espècies es dispersen com a estepicursors, és a dir, que la tija es trenca arran de terra i és tota la planta, empesa pel vent, la que actua com a diàspora escampant les llavors. Com a cas extrem, es troben casos de sinaptospèrmia, a algunes espècies amb capítols

molt petits, en que les llavors no s'alliberen de l'involucre en madurar o ho fan molt tard.

1.2.5. Filogènia molecular

El treball de Susanna et al. (2003) va ser el primer en usar eines moleculars per establir la filogènia del complex *Arctium-Cousinia*. Es va emprar el gen cloroplàstic *matK* i els espaiadors ITS1 i ITS2 del DNA ribosòmic-nuclear per a descobrir una precisa correlació entre filogènia molecular, palinologia i cariologia dins del complex i es va veure que es podia subdividir clarament en dos clades monofilètics. El primer llinatge, anomenat Arctioide, es caracteritza per un nombre cromosòmic bàsic de $x = 18$ i pol·len de tipus *Arctiastrum* i engloba els gèneres *Arctium*, *Hypacanthium* i *Schmalhausenia* així com els subgèneres *Cynaroides* i *Hypacanthodes* de *Cousinia*. El segon clade, anomenat *Cousinioide* i format exclusivament per *Cousinia* s.str., es caracteritza cariològicament per una sèrie dispoloide $x = 9, 10, 11, 12$ i 13 i per un pol·len de tipus *Cousinia*. També es va posar de manifest la manca de criteris morfològics que recolzessin aquesta subdivisió. Com a exemple, s'esmenta que el caràcter que separaria *Arctium* i *Cousinia* serien les fulles espinoses i pinnatífides a pinnatisectes de *Cousinia* però aquest caràcter és adaptatiu i té poca rellevància taxonòmica. Segons aquests autors, les espines haurien aparegut a dos llinatges diferents; d'una banda a *Cousinia* i d'altra a *Hypacanthium* i *Schmalhausenia* que són morfològicament més propers a *Cousinia* però estan més relacionats amb *Arctium* pel que fa a la filogènia, la palinologia i la cariologia.

Existeixen treballs sobre taxa superiors que aporten informació important sobre el complex *Arctium-Cousinia* basant-se en tècniques moleculars. Garcia-Jacas et al. (2002) proposen una reconstrucció filogenètica de la tribu Cardueae així com la seva delimitació tribal i subtribal basant-se en el marcador cloroplàstic *matK* i el nuclear ITS. Estableixen que el clade germana de la subtribu *Centaureinae* conté els gèneres *Arctium* i *Cousinia*, conjuntament amb *Jurinea* Cass. (inclosos *Outreya* Jaub. & Spach, *Hyalochaete* Dittrich & Rech. f. i *Jurinella* Jaub. & Spach) i *Saussurea* DC. A aquest treball, el gènere *Cousinia* conforma un clade amb alt suport, indicant que es tracta d'un grup robust i conclouen que és un taxó més recent que *Cirsium* Mill. Finalment,

discuteixen la problemàtica en la circumscripció d'alguns gèneres i proposen moure totes les espècies Arctioides de *Cousinia* al gènere *Arctium* com havia proposat anteriorment Duistermaat (1996). Posteriorment, Susanna et al. (2006) revisen les conclusions del treball de Garcia-Jacas et al. (2002), afegint la regió cloroplàstica *trnL-trnF*, però els límits entre aquests gèneres tan conflictius segueixen sense poder ser resolts. Fins i tot se suggereix la possibilitat de transferir les espècies dels quatre gèneres del complex a *Arctium*, tal i com ja havia proposat Kuntze (1891). Pel que fa a *Anura* i *Tiarocarpus*, les anàlisis d'aquest treball recolzen la seva inclusió a *Cousinia*, agrupació coherent amb evidències morfològiques.

1.2.6. Altres

- Quimiotaxonomia

Hi ha molt pocs estudis d'aquest tipus al complex *Arctium-Cousinia*. Un exemple és el treball de Marco et al. (1993) en què, a partir de l'estudi de lactones sesquiterpèniques i altres compostos, els autors conclouen que hi hauria una relació taxonòmica estreta entre *Cousinia* i els gèneres *Centaurea* L. i *Ptilostemon* Iljin. Un altre apunt quimiotaxonòmic relacionat amb aquest complex és que el compost químic anomenat arctiina, present a les subtribus *Carduinae* (inclou el complex *Arctium-Cousinia*) i *Centaureinae* i no a cap altre grup de les Compostes (Hänsel et al., 1964), recolza segons Häfner & Hellwig (1999) la monofília d'aquestes dues subtribus considerades conjuntament.

- Hibridació

Al complex *Arctium-Cousinia* s'han descrit 36 híbrids segons criteris morfològics, ecològics i geogràfics, 30 d'ells pertanyents a *Cousinia* s.str. (Tscherneva, 1962; Rechinger, 1972, 1979; Kamelin, 1973) i 6 a *Arctium* sensu Duistermaat (1996), és a dir, *Arctium* s.str. juntament amb algunes espècies de *Cousinia* subgènere *Cynaroides*. No s'han descrit híbrids a cap dels altres gèneres del complex. Mehregan & Kadereit (en premsa) han complementat aquestes dades amb anàlisis de l'additivitat de seqüències de la regió intergènica nuclear-ribosòmica ITS. Aquests autors han observat que la hibridació és possible en els rangs inter i intraseccional així com dins un mateix clade i entre clades diferents obtinguts al seu estudi filogenètic, i postulen que el 10.7%

de les espècies de *Cousinia* s.str. deuen haver estat implicades en fenòmens d'hibridació interespecífica. Donat aquest baix percentatge, els autors conclouen que la hibridació interespecífica deu haver estat poc important a les espècies del grup Cousinioide. En canvi, no han trobat híbrids entre espècies anuals i perennes de *Cousinia* s.str. ni entre espècies de *Cousinia* s.str. i altres clades del complex *Arctium-Cousinia*. Pel que fa a *Arctium*, el treball de Reppinger et al. (2007) analitza evidències morfològiques i moleculars de tres espècies centroeuropees, *A. lappa*, *A. tomentosum* Mill. i *A. minus* i conclou que hi ha d'haver mecanismes d'aïllament pre-zigòtics, ja que els creuaments entre la F₁ són extremadament rars, i post-zigòtics, donada la pràctica absència d'introgressió entre híbrids de generacions més avançades.

- **Datació**

Tot i que no hi ha cap estudi específic de datació del complex *Arctium-Cousinia*, segons Tamanian (1999), l'origen del gènere *Cousinia* s. l. estaria lligat a l'augment general en l'aridesa del clima que va acompanyar l'assecament del mar Tetis al Miocè tardà, fa aproximadament uns 13 milions d'anys. L'autora considera que les formes ancestrals de *Cousinia* serien antics representants d'*Arctium*.

- **Importància econòmica**

Al gènere *Arctium* s'han descrit moltes propietats medicinals: antiinflamatòries (Knipping et al., 2008), antioxidants (Erdemoğlu et al., 2009), anticanceroses (Matsumoto et al., 2006), antisèptiques (Gentil et al., 2006), coagulants (Chen et al., 2004), hepatoprotectives (Lin et al., 2002) i estimulants de la síntesi de col·lagen (Knott et al., 2008). És usat per a tractar reuma, diabetis, nefrosi, al·lèrgies, regeneració dèrmica, en tractaments per a perdre pes, per alleujar la febre i els símptomes d'insolació, per a prevenir l'osteoporosi, com a antitussiu, protector gàstric, diürètic, depuratiu, estimulant digestiu, etc. Els seus principis actius s'extreuen principalment de l'arrel i l'aqueni. Hi ha un gran nombre de medicaments patentats relacionats amb compostos d'*Arctium* i moltes espècies d'aquest gènere han estat usades en la medicina popular de múltiples països des de l'antiguitat. Hi ha molts menys estudis d'aquest tipus sobre el gènere *Cousinia* però també s'hi han descrit propietats anticanceroses (Shahverdi, 2007). A banda de la medicina, trobem altres aplicacions remarcables. *Arctium* és considerada una planta mel·lífera, els seus brots, fulles i tiges joves tenen

valor culinari i els seus capítols gloquidiats van servir d'inspiració a l'inventor del Velcro®. A certes regions com Estats Units d'Amèrica o Canadà, però, es considera mala herba. D'algunes espècies de *Cousinia* s'extreu cautxú, d'altres reïna i altres es consideren plantes farratgeres.

1.3. Justificació del present treball

La present tesi doctoral se centra en el complex *Arctium-Cousinia* (Cardueae, Compositae) i s'ha plantejat en dos nivells: macroevolutiu (establiment de la filogènia i sistemàtica del complex com a eina per inferir la història evolutiva del grup) i microevolutiu (anàlisi de la variabilitat genètica poblacional com a peça clau per a conèixer la dinàmica evolutiva de les espècies).

Nivell macroevolutiu

El fet de ser el complex *Arctium-Cousinia* un dels grups de major nombre d'espècies del regne vegetal (més de 500), unit a que la seva àrea biogeogràfica és de difícil accés (degut tant a la orografia com a la geopolítica de la zona), fa que el seu coneixement sigui incomplet. Paral·lelament, no existeixen gaires estudis centrats en aquest complex i els que hi ha, tot i ser altament meritoris i rigorosos, no han aconseguit establir satisfactòriament la sistemàtica del grup i han derivat en certes controvèrsies. És per tot això que es fa necessària una nova revisió, que prengui com a punt de partida aquests treballs previs, i els complementi amb la nova informació derivada de les darreres tècniques moleculars.

Una primera aproximació a la filogènia del complex *Arctium-Cousinia* es va presentar al congrés *The International Compositae Alliance* celebrat a Barcelona el juny de 2006 sota el títol "Molecular phylogeny of the *Arctium-Cousinia* group: combined analysis of plastid and nuclear DNA sequences". A aquest treball es van analitzar, mitjançant Inferència Bayesiana, les regions ITS i *rpS4-trnT* de 116 espècies del complex amb l'objectiu d'esbrinar les seves relacions inter i intragenèriques. Per tal d'afinar aquests resultats preliminars, es va ampliar el mostreig a 218 espècies que representaven tots els

gèneres i subgèneres del complex i un 86% de les seves seccions. Es van analitzar els marcadors ITS (218 espècies) i *rpS4-trnT-trnL* (147 espècies) per separat i conjuntament (138 espècies), mitjançant els mètodes d'Inferència Bayesiana, Parsimònia i Màxima Versemblança, per a datar els principals llinatges del complex i per a determinar tant les seves relacions filogenètiques com l'adequació dels marcadors triats per a l'estudi. Aquest treball ha estat publicat a la revista científica *SCI Taxon* amb el títol “Phylogeny and evolution of the *Arctium-Cousinia* complex (Compositae, Cardueae-Carduinae)”.

Paral·lelament, s'ha dut a terme un estudi cariològic d'algunes espècies del complex *Arctium-Cousinia* de les quals no existia cap recompte cromosòmic o bé els que hi havia eren dubtosos. Aquestes dades ens resultaven interessants per a complementar la filogènia que havíem establert anteriorment i per a intentar deduir la història evolutiva del complex. També s'han aportat recomptes del grup *Onopordon* que presenta paral·lelismes amb el complex *Arctium-Cousinia* en alguns aspectes. Aquest treball, titulat “Chromosome counts in the genera *Cousinia*, *Olgaea* and *Syreitschikovia* (Compositae)”, ha estat formalment acceptat a la revista científica *SCI Folia Geobotanica*.

Una tercera aproximació a la sistemàtica del complex *Arctium-Cousinia* ha estat morfològica. Durant una estada d'un mes al *Komarov Botanical Institute* s'han pres mesures biomètriques i fotografies de totes les espècies del grup Arctioide dipositades a l'herbari LE que és on hi ha la col·lecció més gran d'aquest grup. També s'ha estudiat la morfologia a partir de plecs d'altres herbaris i recol·leccions pròpies. Així, en total, s'han estudiat més de 300 plecs. Aquestes dades ens han permès conèixer més a fons les espècies d'aquest llinatge tan controvertit per tal d'establir més acuradament la seva delimitació taxonòmica de nivell genèric i subgenèric. Hem complementat aquesta informació amb la seqüenciació de la regió cloroplàstica *rpl32-trnL* que juntament amb els marcadors ITS i *rpS4-trnT-trnL* ens han servit per elaborar una filogènia més acurada del grup Arctioide i proposar una nova classificació taxonòmica. L'article resultant d'aquest estudi s'ha titulat “The *Arctium-Cousinia* complex: disentangling *Arctium* and *Cousinia* (Cardueae, Carduinae)” i es pretén enviar a la revista científica *SCI Taxon*.

Nivell microevolutiu

No existeix cap estudi previ de genètica poblacional per a cap de les espècies d'aquest complex, de manera que es desconeix per complet quina és la seva dinàmica i la seva estructura genètica. En aquest context, els microsatèl·lits són una eina molt eficaç per estudiar diferents aspectes poblacionals i és per això que s'han usat a la present tesi. Es tracta de repeticions de seqüències de dos a sis nucleòtids del DNA genòmic, generalment localitzats a zones no codificants, que es transmeten a la descendència seguint una herència codominant. Presenten una elevada taxa de mutació, cosa que els fa molt polimòrfics inter i intrapoblacionalment, permetent així una caracterització molt fina de les poblacions estudiades i les seves dinàmiques.

S'ha triat *Arctium minus* com a espècie potencialment més interessant per tenir una distribució subcosmopolita; la més àmplia de tot el complex *Arctium-Cousinia*. El material processat correspon a 14 poblacions procedents d'Argentina, Canadà, Croàcia, Eslovàquia, Espanya (2 poblacions), Estats Units d'Amèrica, França, Itàlia (2 poblacions), Marroc, Noruega, Polònia i Turquia. La primera part d'aquest estudi s'ha dut a terme durant una estada de tres mesos al "Laboratory of Molecular Systematics and Evolutionary Genetics" del "Florida Museum of Natural History" on s'han capturat i optimitzat 18 microsatèl·lits. El nostre objectiu ha estat detectar la potencialitat i utilitat de cadascun d'aquests microsatèl·lits per un posterior estudi centrat en la dinàmica de les poblacions d'*Arctium minus*. Així, s'ha fet una caracterització d'aquests microsatèl·lits i d'algunes de les poblacions esmentades per a determinar diferents paràmetres com la presència d'al·lels nuls, si es troben en equilibri Hardy-Weinberg, si hi ha desequilibri en el lligament, quin nivell de variabilitat presenten, etc. Aquest estudi ha generat un article titulat "Isolation and characterization of novel microsatellite markers for *Arctium minus* (Hill) Bernh. (Compositae)" acceptat a la revista científica *SCI American Journal of Botany (Notes)*.

Partint dels resultats preliminars que s'acaben de descriure, dels 18 microsatèl·lits analitzats s'han escollit els 8 millors i s'han usat per a genotipar 30 individus de cadascuna de les 14 poblacions esmentades (excepte per les de Canadà, Estats Units d'Amèrica, Marroc i Noruega per a les que només es disposava de 16, 14, 17 i 8

individus respectivament). Amb aquest estudi s'ha pretès aprofundir més en la genètica poblacional d'*Arctium minus* i proporcionar eines per a investigar la colonització del continent Americà per aquesta espècie així com esbrinar si la seva distribució s'ha modificat com a adaptació als canvis climàtics de les darreres glaciacions, patint esdeveniments de colls d'ampolla i efectes fundadors. Aquest treball s'ha titulat "Genetic structure and diversity in *Arctium minus* (Compositae): effects of historical climate change and life history" i es pretén enviar a la revista científica *SCI Molecular Ecology*.

2. Objectius generals

Nivell macroevolutiu

- Determinar la utilitat de les regions ITS, *rpS4*, *trnT*, *trnL* i *rpl32* per a resoldre problemes sistemàtics del complex *Arctium-Cousinia*.
- Comprovar la monofília i estudiar la circumscripció dels gèneres inclosos a l'esmentat complex i estimar-ne les relacions filogenètiques subgenèriques i seccionals, mitjançant l'aportació de dades moleculars i cariològiques.
- Comparar les dades filogenètiques moleculars obtingudes amb caràcters morfològics i cariològics per tal de cercar patrons evolutius al complex *Arctium-Cousinia*.
- Estimar l'edat del complex *Arctium-Cousinia* i el temps de divergència dels seus diferents llinatges mitjançant el rellotge molecular.
- Comprovar la monofília del llinatge Arctioide i estimar-ne les relacions filogenètiques de rang genèric, subgenèric i seccional així com aclarir-ne la taxonomia basant-nos en dades morfològiques i moleculars.

Nivell microevolutiu

- Cercar i capturar microsatèl·lits polimòrfics específics per *Arctium minus*.
- Analitzar l'estructura genètica de les poblacions d'*Arctium minus* en una mostra representativa de la seva àrea de distribució, la més àmplia del complex *Arctium-Cousinia*.
- Detectar possibles efectes de les glaciacions en l'estructura poblacional, la variabilitat genètica i la distribució d'*Arctium minus*.
- Estudiar els processos de colonització del continent americà per part d'*Arctium minus*.

Informe dels directors de la Tesi Doctoral referent al factor d'impacte i a la contribució de la doctoranda a cadascun dels articles publicats

Núria Garcia Jacas i Alfonso Susanna de la Serna, investigadors de l'Institut Botànic de Barcelona, directors de la Tesi Doctoral elaborada per Sara López Viñallonga, amb el títol “Evolució, filogènia i sistemàtica del complex *Arctium-Cousinia*”,

INFORMEN

Que els treballs de recerca duts a terme per Sara López Viñallonga com a part de la seva formació predoctoral i inclosos a la seva Tesi Doctoral han donat lloc a 1 publicació i 4 manuscrits (2 enviats a revisió i 2 més pendents d'enviar en el moment del dipòsit de la tesi). A continuació es detalla la llista d'articles així com els índexs d'impacte (segons el SCI de la ISI web of Knowledge) de les corresponents revistes.

1- López-Vinyallonga S., I. Mehregan, N. Garcia-Jacas, O. Tscherneva, A. Susanna & J. W. Kadereit (2009). Phylogeny and evolution of the *Arctium-Cousinia* complex (Compositae, Cardueae-Carduinae). *Taxon* 58: 153–171.

L'índex d'impacte de la revista *Taxon* és en l'actualitat 2.524. Aquesta revista està inclosa a la categoria “Plant Sciences”. Tenint en compte l'índex d'impacte, *Taxon* ocupa el 25è lloc de la seva categoria, que inclou 152 revistes. La responsabilitat de la doctoranda López Vinyallonga en aquest treball ha estat la seqüenciació de tres regions cloroplàstiques de les 150 espècies incloses a l'estudi, la correalització de les anàlisis filogenètiques i la correcció final. Aquest treball ha estat també part de la Tesi Doctoral d'Iraj Mehregan, centrada a un dels dos gèneres del complex, *Cousinia*; la Tesi Doctoral de la nostra doctoranda ha estat centrada en el gènere *Arctium*.

2- López-Vinyallonga, S., A. Susanna & N. Garcia-Jacas (submitted). Chromosome counts in the genera *Cousinia*, *Olgaea* and *Syreitschikovia* (Compositae). *Folia Geobotanica*.

L'índex d'impacte de la revista *Folia Geobotanica* és en l'actualitat 1.133. Aquesta revista està inclosa a la categoria “Plant Sciences”. Tenint en compte l'índex d'impacte, *Folia Geobotanica* ocupa el lloc 51è de la seva categoria, que inclou 152 revistes.

3- López-Vinyallonga, S., A. Susanna & N. Garcia-Jacas (in prep.). The *Arctium-Cousinia* complex: disentangling *Arctium* and *Cousinia* (Cardueae, Carduinae). *Taxon*.

Es preveu enviar aquest article a la revista *Taxon* amb índex d'impacte de 2.524 en l'actualitat. Tenint en compte l'índex d'impacte, *Taxon* ocupa el 25è lloc de la seva categoria, que inclou 152 revistes.

4. - López-Vinyallonga S., Arakaki M., Garcia-Jacas N., Susanna A., Gitzendanner M.A., Soltis D.E. and Soltis P.S. (submitted). Isolation and characterization of novel microsatellite markers for *Arctium minus* L. (Compositae). *American Journal of Botany (Notes)*.

L'índex d'impacte de la revista *American Journal of Botany* és en l'actualitat 2.512. Tenint en compte l'índex d'impacte, ocupa el 26è lloc de la seva categoria, que inclou

152 revistes. Aquesta nota serà una de les notes inaugurals d'una nova sèrie dedicada als resultats d'aïllament de microsatèl·lits a aquesta revista.

5. López-Vinyallonga, S., P. S. Soltis, A. Susanna & N. Garcia-Jacas (in prep.). Genetic structure and diversity in *Arctium minus* (Compositae): effects of historical climate change and life history (in prep.). *Molecular Ecology*.

Es preveu enviar aquest article a la revista *Molecular Ecology* amb índex d'impacte de 5.169 en l'actualitat. Tenint en compte l'índex d'impacte, aquesta revista ocupa el 6è lloc de la seva categoria, que compren 116 revistes.

A més, CERTIFIQUEN:

Que Sara López Viñallonga ha participat activament en el desenvolupament del treball de recerca associat a cadascun dels articles, així com en la seva elaboració. En concret, la seva participació a cadascuna de les tasques ha estat la següent:

- Plantejament inicial dels objectius de cadascun dels treballs.
- Selecció dels materials d'herbari destinats a la seqüenciació (amb una estada a l'Institut Komarov de Sant Petersburg, Rússia).
- Realització de les seqüències de DNA i les anàlisis filogenètiques.
- Desenvolupament i posada a punt dels microsatèl·lits (amb una estada breu al Soltis Laboratory, Florida Museum of Natural History, Gainesville, Florida, USA).
- Càlcul de resultats i anàlisi de dades.
- Redacció dels articles i seguiment del procés de revisió dels mateixos.

Atentament,

Barcelona, 18 de Juny de 2009

Núria Garcia Jacas

Alfonso Susanna

4. Resum global i discussió dels resultats obtinguts

4.1. Nivell macroevolutiu

4.1.1. Filogènia

4.1.1.1. El complex *Arctium-Cousinia*

El present estudi ha confirmat la monofília del complex *Arctium-Cousinia* alhora que ha mostrat que aquest complex es divideix en dos clades, grups germana un de l'altre, que ja havien estat establerts anteriorment sobre criteris morfològics, cariològics i pol·línics. D'una banda el grup Arctioide format pels gèneres *Arctium*, *Hypacanthium* i *Schmalhausenia* i *Cousinia* subgèneres *Hypacanthodes* i *Cynaroides* i d'altra banda el grup Cousinioide constituït per *Cousinia* subgènere *Cousinia*, molt més ampli pel que fa a nombre d'espècies. Cal destacar que hi ha un tercer clade format únicament per *Cousinia tenella* Fisch. & C. A. Mey., la interpretació del qual s'exposa més endavant.

S'ha detectat que el nivell de resolució filogenètica dins del clade Arctioide és major que al Cousinioide. Donat que són grups germans i que l'edat aproximada dels dos llinatges és similar (veure més avall), aquest fenomen seria explicable per la gran diferència en el nombre d'espècies de cadascun dels clades, idea recolzada pel treball de Susanna et al. (2003) en que incloent un nombre similar d'espècies dels dos llinatges s'obté una resolució filogenètica similar a ambdós.

També s'ha constatat que els caràcters apomòrfics i plesiomòrfics no estan distribuïts de manera uniforme als dos llinatges. El clade Arctioide presenta, com *Jurinea*, *Saussurea* (Punt & Hoen, 2009) i alguns grups basals de la subtribu Centaureineae (Garcia-Jacas et al., 2001; Vilatersana et al., 2001), pol·len espinós, estigma llarg i un nombre cromosòmic alt. En canvi, el clade Cousinioide presenta pol·len llis, estigma curt i uns nombres cromosòmics més baixos, com alguns grups derivats de la subtribu (Garcia-Jacas et al., 2001). Així, doncs, interpretem els caràcters arctioides com a plesiomòrfics i els cousinoides com a apomòrfics i pensem que al complex *Arctium-Cousinia* es pot haver donat la tendència evolutiva d'un tipus de pol·len espinós a llis i una reducció del nombre cromosòmic, tendències reconegudes a les Centaureineae.

Pel que fa als caràcters morfològics tradicionalment més usats per a subdividir aquest gran complex d'espècies, principalment la morfologia de les bràctees involucrals i l'armadura de les fulles, amb aquest treball ha quedat palès que hi han evolucionat múltiples vegades en paral·lel.

Les anàlisis de datació molecular, basades en les taxes de substitució de la regió ITS i en la troballa d'un aqueni fòssil d'*Arctium*, permeten concloure que la separació dels dos llinatges principals del complex es va donar fa 14,8 milions d'anys. També s'ha constatat que la diversificació del clade Arctioide es va produir fa 9,7 milions d'anys i la del clade Cousinioide, lleugerament més recent, 8,7 milions d'anys enrere.

A continuació es comenten les característiques principals dels tres clades obtinguts en les anàlisis dutes a terme.

A. El clade de *Cousinia tenella*

La posició de *C. tenella* en la filogènia molecular presentada aquí suggereix la segregació d'aquesta espècie de *Cousinia* subgènere *Cousinia* però les seves característiques cariològiques ($2n = 26$), pol·líniques (pol·len tipus *Cousinia*) i morfològiques (zona apical i branques de l'estil coberts de pèls llargs) la vinculen clarament al clade Cousinioide. La posició d'aquesta espècie com a grup germana de la resta del complex *Arctium-Cousinia* és probablement un artefacte derivat de la seva condició d'annual i autògama. Diferents autors (Bousquet & al., 1992; Laroche & al., 1997; Andreasen & Baldwin, 2001; Soria-Hernanz & al., 2008) han constatat que les plantes anuals acostumen a tenir una taxa d'evolució molecular més elevada que les espècies perennes, fet que s'explica per diferències en el temps de generació, la mida poblacional i la taxa d'especiació. Aquest fenomen de posició incoherent d'espècies anuals s'ha descrit a altres gèneres de la tribu *Cardueae* com *Echinops* L. i *Acantholepis* Less. (Garnatje et al., 2005), *Ptilostemon* Cass. (Vilatersana et al., sotmès) o *Schischkinia* Iljin i *Stizolophus* Cass. (Susanna et al., 2006).

En contrast, la resta d'espècies anuals incloses a aquest estudi s'agrupen en un mateix clade que pertany clarament al llinatge Cousinioide, de manera coherent amb les evidències morfològiques.

B. El clade Cousinioide

La informació que s'aporta sobre el llinatge Cousinioide està condicionada per la pobre resolució filogenètica que resulta de les anàlisis. Aquest fet s'ha constatat comprovant que part dels clades amb un recolzament estadístic superior al 95% no coincideixen amb la taxonomia tradicionalment acceptada. S'ha detectat que les dades analitzades contenen informació filogenètica principalment a les branques distals i que la distribució geogràfica de les espècies sembla un criteri més fiable per a reconèixer relacions filogenètiques entre elles que la taxonomia tradicional, tal i com s'ha evidenciat a altres estudis (González Albaladejo et al., 2005).

Es postula que aquesta pobre resolució filogenètica dins de *Cousinia* s.str. està causada per la suma de múltiples factors. D'una banda, a les anàlisis dutes a terme s'ha obtingut un nombre de caràcters informatius relativament baix en relació al nombre d'espècies del clade Cousinioide, el qual podria ser suficient per a establir-ne la filogènia si no fos perquè els caràcters mostren una homoplàsia considerable. L'explicació més plausible per aquesta limitació és la curta edat del clade en combinació amb el seu elevat nombre d'espècies, ja que hem datat el grup corona d'aquest llinatge en 8,7 milions d'anys i la seva gran diversificació va començar fa només 7 milions d'anys.

Un altre factor a tenir en compte és que moltes espècies de *Cousinia* s. s estan estretament emparentades, són simpàtriques i no se n'ha descrit cap mecanisme d'aïllament reproductiu. Per tant s'han pogut donar processos d'hibridació, que poden haver derivat en especiació, dificultant la reconstrucció filogenètica d'aquest llinatge (Nieto Feliner et al., 2001; Font et al., 2002; Vriesendorp & Bakker, 2005, Suárez-Santiago et al., 2007).

Al clade Cousinioide també es troba un elevat nombre d'espècies alopàtriques i parapàtriques restringides a àrees geogràfiques molt reduïdes i separades entre sí per

barreres topogràfiques. Aquest fet implica que el procés d'especiació predominant en aquest llinatge ha degut ser l'especiació geogràfica. Complementàriament, cal dir que la comparació de diferents estudis de vegetació (Zohary, 1973; Frenzel et al., 1992) suggereix que la distribució geogràfica de *Cousinia* s.str. al darrer màxim glacial estava restringida a la zona nord de la seva àrea actual, cosa que implica que ha hagut de patir canvis substancials durant el Quaternari. Ara bé, tenint en compte que hem datat el grup corona d'aquest llinatge en 8,7 milions d'anys, les oscil·lacions del Quaternari no semblen haver-hi provocat extenses extincions. El que no podem aventurar és si aquestes oscil·lacions climàtiques van representar un estímul per a l'especiació del grup, a través de canvis en la seva distribució geogràfica, com ha passat per exemple a *Primula* L. sec. *Auricula* i *Epimedium* L. (Kadereit et al., 2004; Zhang et al., 2007).

Finalment, cal dir que l'esmentada pobresa de resolució filogenètica ha impedit l'establiment d'una subdivisió plausible d'aquest clade. Malgrat això, s'han detectat algunes agrupacions d'espècies que representen llinatges monofilètics i tenen sentit taxonòmic i/o geogràfic. Un exemple il·lustratiu és l'evolució de l'annualitat, característica extremadament poc freqüent a *Cousinia* s.str., però que segons la nostra filogènia s'hi ha originat dues vegades. Un llinatge d'annuals comprèn les espècies *C. bungeana* Regel & Schmalh., *C. polytimetica* Tscherneva, *C. pusilla* C. Winkl. i *C. prolifera* Jaub. & Spach que a gairebé totes les anàlisis que hem dut a terme s'agrupen amb un suport estadístic notablement alt i pertanyen sense cap dubte al clade Cousinioide. L'altre llinatge està format per *C. tenella* i *C. pygmaea* C. Winkl. i presenta alguns problemes d'adscripció filogenètica donat que apareix com a grup germana de la resta del complex *Arctium-Cousinia*, com s'ha comentat anteriorment.

C. El clade Arctioide

Tot i que la filogènia presentada a aquesta tesi recolza algunes categories subgenèriques del llinatge Arctioide, s'han detectat notables incongruències respecte la classificació reconeguda tradicionalment. Tots els arbres filogenètics resultants de les anàlisis dutes a terme confirmen la monofília del clade Arctioide però alhora constaten que els subgèneres *Cynaroides* i *Hypacanthodes* pertanyents a *Cousinia*, en la seva circumscripció actual, no són monofilètics. També es posa de manifest, dins del gènere

Cousinia, la manca de monofília de les seccions *Abolinia* Tscherneva i *Lacerae* C. Winkl.

A la llum d'aquests resultats es proposa una redefinició del gènere *Arctium* al qual s'han transferit totes les espècies del llinatge Arctioide pertanyents als gèneres *Anura*, *Cousinia*, *Hypacanthium* i *Schmalhausenia*. S'aporten els canvis nomenclaturals pertinents derivats d'aquesta redefinició taxonòmica, alguns d'ells prèviament establerts per autors com Kuntze (1891) i Duistermaat (1996).

La nova classificació del gènere *Arctium* que es presenta a aquesta tesi s'estableix sobre la base de la filogènia molecular obtinguda i amb el recolzament d'evidències morfològiques sempre que ha estat possible. Així, el gènere *Arctium* s'ha subdividit en dos subgèneres anomenats *Arctium* S. López, Susanna & N. Garcia, *comb. nov.* i *Cynaroides* (Tscherneva) S. López, Susanna & N. Garcia, *comb. nov.* Alhora s'ha redefinit el subgènere *Cynaroides* i s'han descartat els taxons no monofilètics, és a dir, el subgènere *Hypacanthodes* i les seccions *Abolinia* i *Lacerae*. També s'han eliminat les seccions monotípiques *Ctenarctium* Juz., *Nanarctium* Juz. ex Tscherneva i *Oligantha* Juz. ja que queden incloses dins altres seccions amb gran suport i finalment el gènere monotípic *Anura* ja que no té entitat taxonòmica ni morfològica.

La resta de seccions tradicionalment incloses a *Arctium* i *Cousinia* es transfereixen íntegrament al nou gènere *Arctium*: sect. *Amberbopsis* (Tscherneva) S. López, Susanna & N. Garcia, *comb. nov.*, *Lappaceum* (Bunge) Duist., *Pseudarctium* (Juz.) Duist. i *Serratulopsis* (Tscherneva) S. López, Susanna & N. Garcia, *comb. nov.* Només se suggereixen lleugers reajustaments a la sect. *Chrysis* (Juz.) S. López, Susanna & N. Garcia, *comb. nov.*, que incorpora la única espècie de la sect. *Ctenarctium* que ha estat eliminada i a la sect. *Pectinatae* (C. Winkl.) S. López, Susanna & N. Garcia, *comb. nov.*, que incorpora la única espècie de la sect. *Oligantha* també descartada. Alhora es proposen les noves seccions *Anura* S. López, Susanna & N. Garcia, *comb. et stat. nov.*, *Hypacanthodes* S. López, Susanna & N. Garcia, *comb. et stat. nov.* i *Schmalhausenia* S. López, Susanna & N. Garcia, *comb. et stat. nov.*

Tant la nova classificació proposada pel gènere *Arctium* com els canvis nomenclaturals associats es resumeixen a la taula següent:

| Espècie | Secció | Subgènere |
|---|---|----------------|
| <i>Arctium arctioides</i> (Schrenk.) Kuntze | <i>Arctium</i> L. | <i>Arctium</i> |
| <i>Arctium atlanticum</i> (Pomel) H. Lindb. | | |
| <i>Arctium nemorosum</i> Lej. | | |
| <i>Arctium minus</i> (Hill) Bernh. | | |
| <i>Arctium lappa</i> L. | | |
| <i>Arctium palladini</i> (Marcow.) R.E.Fr. & E.S. Söderb. | | |
| <i>Arctium tomentosum</i> Mill. | | |
| <i>Arctium leiospermum</i> Juz. & Ye. V. Serg. | | |
| <i>Arctium eriophorum</i> (Regel & Schmalh.) Kuntze | <i>Schmalhausenia</i> | |
| <i>Arctium evidens</i> (Tscherneva) S. López, Susanna & N. Garcia | S. López, Susanna & N. Garcia | |
| <i>Arctium echinopifolium</i> (Juz.) S. López, Susanna & N. Garcia | Garcia | |
| <i>Arctium grandifolium</i> (Kult.) S. López, Susanna & N. Garcia | <i>Amberbopsis</i> (Tscherneva) S. López, Susanna & N. Garcia | |
| <i>Arctium vavilovii</i> (Kult.) S. López, Susanna & N. Garcia | <i>Serratulopsis</i> (Tscherneva) S. López, Susanna & N. Garcia | |
| <i>Arctium macilentum</i> (C. Winkl.) S. López, Susanna & N. Garcia | <i>Hypacanthodes</i> (Tscherneva) S. López, Susanna & N. Garcia | |
| <i>Arctium abolinii</i> (Kult. ex Tscherneva) S. López, Susanna & N. Garcia | | |
| <i>Arctium dolichophyllum</i> (Kult.) S. López, Susanna & N. Garcia | | |
| <i>Arctium egregium</i> (Juz.) S. López, Susanna & N. Garcia | | |
| <i>Arctium fedtschenkoanum</i> (Bornm.) S. López, Susanna & N. Garcia | | |
| <i>Arctium korshinskyi</i> (C. Winkl.) S. López, Susanna & N. Garcia | | |
| <i>Arctium pterolepidum</i> (Kult.) S. López, Susanna & N. Garcia | | |
| <i>Arctium ugamicum</i> (Karmysch.) S. López, Susanna & N. Garcia | | |

| | | |
|---|---|--|
| <i>Arctium lappaceum</i> (Schrenk.) Kuntze | <i>Lappaceum</i> (Bunge) Duist. | |
| <i>Arctium pallidivirens</i> (Kult.) S. López, Susanna & N. Garcia | <i>Anura</i> (Juz) S. López, Susanna & N. Garcia | |
| <i>Arctium umbrosum</i> (Bunge) Kuntze | <i>Pseudarctium</i> (Juz.) Duist. | |
| <i>Arctium amplissimum</i> (Boiss.) Kuntze | | |
| <i>Arctium pseudarctium</i> (Bornm.) Duist. | | |
| <i>Arctium tomentellum</i> (C. Winkl.) Kuntze | | |
| <i>Arctium triflorum</i> (Schrenk.) Kuntze | <i>Pectinatae</i> (C. Winkl.) S. López, Susanna & N. Garcia | |
| <i>Arctium albertii</i> (Regel & Schmalh.) S. López, Susanna & N. Garcia | | |
| <i>Arctium horrescens</i> (Juz.) S. López, Susanna & N. Garcia | | |
| <i>Arctium pentacanthum</i> (Regel & Schmalh.) Kuntze | | |
| <i>Arctium pentacanthoides</i> (Juz. ex Tscherneva) S. López, Susanna & N. Garcia | | |
| <i>Arctium karatavicum</i> (Regel & Schmalh.) Kuntze | <i>Chrysis</i> (Juz.) S. López, Susanna & N. Garcia | |
| <i>Arctium korolkowii</i> (Regel & Schmalh.) Kuntze | | |
| <i>Arctium chloranthum</i> (Kult.) S. López, Susanna & N. Garcia | | |
| <i>Arctium refractum</i> (Bornm.) S. López, Susanna & N. Garcia | | |
| <i>Arctium schmalhauseni</i> (C. Winkl.) Kuntze | | |
| <i>Arctium aureum</i> (C. Winkl.) Kuntze | | |
| <i>Arctium anomalum</i> (Franch.) Kuntze | | |
| <i>Arctium medians</i> (Juz.) S. López, Susanna & N. Garcia | | |
| <i>Arctium haesitabundum</i> (Juz.) S. López, Susanna & N. Garcia | | |

Conscients de la manca de caràcters morfològics prou adients per a recolzar la classificació subgenèrica i seccional del gènere *Arctium* presentada a aquesta tesi, es posa de manifest la necessitat d'un treball més exhaustiu.

4.1.2. Cariologia

Nota: a aquest apartat es manté la terminologia prèvia a la redefinició del gènere *Arctium* i el conseqüent canvi nomenclatural proposat per al llinatge Arctioide perquè és com apareix al manuscrit enviat a la revista *Folia Geobotanica*.

En quant a la cariologia, aquesta tesi confirma que les espècies del grup Arctioide tenen un nombre cromosòmic bàsic de $x = 18$ mentre el grup Cousinioide presenta la següent sèrie dispoloide: $x = 9, 10, 11, 12$ i 13 . La dispoloïdia de *Cousinia* s.str. també s'ha posat de manifest a escala seccional a les seccions *Alpinae* Bunge, *Cousinia*, *Eriocousinia* Tscherneva i *Microcarpae* Bunge.

Tot i que no s'ha pogut establir el sentit de la dispoloïdia del subgènere *Cousinia* sospitem que serà descendent donat que existeixen altres exemples a la mateixa tribu Cardueae en que es dóna aquest cas (Garcia-Jacas et al., 2001). També hi ha altres casos que recolzen la hipòtesi de la dispoloïdia descendent com els treballs de Frankton i Moore (1961), Fernández Casas & Fernández Morales (1979), Siljak-Yakolev (1986) o Garcia-Jacas & Susanna (1992) on s'exposa la idea que els nombres cromosòmics bàsics alts s'han de considerar més primitius que no pas els baixos, cosa que ha estat postulada com una tendència general per Stebbins (1950, 1971) i Grant (1981). Un altre argument a favor de la dispoloïdia descendent és de caire ecològic donat que s'ha especulat que aquesta estaria relacionada amb l'adaptació a ambients extrems (Selvi & Bigazzi, 2002; Watanabe et al., 1999) i les espècies del grup Cousinioide es troben principalment a zones àrides.

Paral·lelament s'ha posat de manifest que els sis nombres cromosòmics bàsics presents al complex *Arctium-Cousinia* no tenen igual ocurrència sinó que $x = 12, 13$ i 18 són els més comuns amb abundàncies relatives del 38.9%, 40.9% i 16.1% respectivament mentre $x = 9, 10$ i 11 només es troben en un 4.7%, 1.3% i 4.0% respectivament.

En superposar els nombres cromosòmics de les espècies incloses al nostre arbre filogenètic Bayesià per les que hi ha recomptes publicats (incloent els nostres propis), s'ha detectat una baixa correspondència entre filogènia i cariologia. Només les espècies del grup Arctioide, amb $2n = 36$, s'agrupen al mateix clade. En canvi, les espècies del

grup Cousinioide, que ja no apareixen agrupades en funció de la classificació seccional tradicional, tampoc s'agrupen en funció dels seus nombres cromosòmics.

Pel que fa a la poliploidia, no n'hem trobat cap cas a tot el complex, cosa infreqüent a la tribu Cardueae donat que és un grup amb moltes espècies poliploides pioneres i colonitzadores. Malgrat això, cal comentar que el nombre cromosòmic bàsic $x = 18$ de les espècies del clade Arctioide és un dels més alts de la tribu Cardueae, cosa que ens ha portat a hipotetitzar que aquest clade possiblement s'hauria originat per antics esdeveniments de poliploidia a partir d'un ancestre $x = 9$, tot i que actualment aquestes espècies estan completament diploiditzades.

Cal afegir que només s'han descrit 26 híbrids i 11 formes intermèdies en aquest gran complex format per més de 500 espècies tot i que és possible que la hibridació sigui més freqüent del que aquesta dada indica però no s'hagi detectat per la manca d'un coneixement taxonòmic prou aprofundit i per l'existència d'espècies molt similars morfològicament. Ara bé, l'absència de nombres cromosòmics poliploides ja esmentada implica que l'especiació per hibridació poliploide probablement no hagi jugat cap paper en l'evolució del complex *Arctium-Cousinia*. En canvi, no hi ha dades que ens permetin deduir el significat evolutiu que hagin pogut tenir els híbrids homoploides, malgrat que pensem que deuen existir, principalment al subgènere *Cousinia*, donada l'existència d'un gran nombre d'espècies estretament relacionades i sovint simpàtriques sense mecanismes evidents d'aïllament reproductiu. Cal tenir en compte, però, que els híbrids homoploides són difícils de detectar donada la manca de caràcters diagnòstics clars com podria ser un canvi en el nombre cromosòmic.

Hem buscat a les Carduinae un cas d'evolució assimilable al complex *Arctium-Cousinia* i hem trobat un clar paral·lelisme amb el grup *Onopordum*. El gènere *Onopordum* L., biennal i colonitzador amb nombre cromosòmic bàsic de $x = 17$ és comparable a *Arctium* pel que fa al cicle vital i al nombre cromosòmic. D'altra banda, les espècies dels gèneres perennes d'Àsia Central *Alfredia* Cass., *Ancathia* DC, *Olgaea* Iljin, *Synurus* Iljin i *Syreitschikovia* Pavlov tenen un nombre cromosòmic bàsic de $x = 13$ i $x = 12$ i són comparables al gènere *Cousinia* s.str.

4.2. Nivell microevolutiu

Pel que fa a la genètica poblacional, els nou microsatèl·lits polimòrfics dissenyats per *Arctium minus* han mostrat poca variabilitat. Aquesta característica es posa de manifest a partir de diferents paràmetres com el reduït nombre d'al·lels per locus (de dos a 10), valors baixos d'heterozigositat esperada (entre 0.015 i 0.487) i observada (entre 0.016 i 0.694), i un valor relativament alt de consanguinitat (0.316). Paral·lelament, sis loci han mostrat una desviació estadísticament significativa de l'equilibri Hardy-Weinberg i nou de 36 comparacions entre parelles de loci han mostrat un significatiu desequilibri en el lligament. S'ha detectat la presència d'al·lels nuls, amb freqüències baixes o moderades, als loci Am31 i Am34 per cinc i tres poblacions respectivament. Els resultats obtinguts s'expliquen per un dèficit d'heterozigots, que pot ser degut a la consanguinitat detectada o un artefacte associat a la presència d'al·lels nuls, i pel fet que *A. minus* és autògam facultatiu.

A partir d'aquesta caracterització dels nou loci microsatèl·lits esmentats a l'anterior paràgraf i dos més que es van acabar d'optimitzar, s'han escollit els vuit millors i s'han usat per a l'estudi de l'estructura de la variabilitat genètica d'*A. minus*. Els patrons de variació genètica detectats són consistents amb l'estil de vida d'*A. minus*.

Pel que fa a la component intrapoblacional, diversos paràmetres ens han mostrat una baixa diversitat genètica per *A. minus* i s'ha vist que les poblacions més polimòrfiques són les procedents d'Eslovàquia (SZI) i nord-oest d'Espanya (ELE) i les menys polimòrfiques han resultat provenir de Turquia (TMA), Marroc (MTA) i nord d'Itàlia (ITR). Paral·lelament s'han obtingut alts valors d'endogàmia i un excés d'homozigots estadísticament significatiu. Tots aquests resultats són explicables per la capacitat facultativa d'autofecundació d'*A. minus* i la curta durada del seu cicle de vida.

En quant a la component interpoblacional, s'ha obtingut que la major part de la variabilitat genètica de l'espècie es troba entre poblacions i no dins de les poblacions degut a un baix flux gènic entre elles juntament amb la capacitat d'autofecundació de l'espècie. Tot i que *A. minus* té un mecanisme de dispersió de llavors força eficient, la seva distribució disjunta i la dinàmica d'aparició/desaparició d'algunes de les seves

poblacions dificulten l'intercanvi genètic entre elles. Paral·lelament, esdeveniments esporàdics de dispersió de llavors a llarga distància semblen l'explicació més plausible per l'absència d'aïllament per distància, detectada tant dins del rang natural d'*A. minus* com amb les poblacions del límit de la seva àrea de distribució.

No s'ha detectat el patró esperat per una espècie que ha patit els canvis climàtics derivats de l'alternança de períodes glacials i interglacials esdevinguts a Europa durant el Pleistocè. Hi ha evidències de que moltes espècies europees van patir colls d'ampolla durant les èpoques glacials, quan es van refugiar al sud del continent (Palmé & Vendramin, 2002; Rendell & Ennos, 2002; Grivet & Petit, 2003; Sharbel et al., 2006). S'han descrit refugis a la Península Ibèrica, la Península Itàlica i als Monts Carpats, principalment (Hewitt, 1996; Petit et al., 2003). A les èpoques interglacials, les espècies haurien recolonitzat Europa des d'aquests refugis donant lloc a un patró de menor diversitat a mesura que ens allunyem dels refugis. A *A. minus* no hem trobat indicis d'aquest patró ja que no hi ha un gradient de major diversitat al sud a menor diversitat al nord ni més diferències entre les suposades àrees de refugi que entre les poblacions del nord, com tampoc entre refugis i les poblacions del nord del continent. Malgrat això, indicis com la presència d'al·lèls privats a les poblacions del sud d'Itàlia i Marroc ens fan pensar que *A. minus* sí que va patir les oscil·lacions climàtiques d'aquest període, refugiant-se al sud i recolonitzant la resta del continent amb la retirada dels gels, però el seu reflex a l'estructura genètica de l'espècie ha quedat emmascarat per esdeveniments de dispersió a llarga distància i la influència humana, principalment.

La manca de diferenciació entre les poblacions europees i les americanes confirmen l'acció humana recent com un dels mecanismes que influeix més decisivament en l'estructura genètica i biogeogràfica d'*A. minus*, tal com ha estat descrit per a d'altres espècies pioneres com *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (Sharbel et al., 2006).

5. Conclusions finals

1. Es confirma la monofília del complex *Arctium-Cousinia* així com la seva subdivisió en dos clades també monofilètics anomenats Arctioide i Cousinioide.
2. En la seva circumscripció actual, s'ha posat de manifest la parafília dels gèneres *Arctium* i *Cousinia* i de *Cousinia* subgèneres *Cynaroides* i *Hypacanthodes* en que s'ha dividit tradicionalment el llinatge Arctioide.
3. Les regions ITS, *rpS4*, *trnT*, *trnL* i *rpl32* proporcionen informació valuosa per a resoldre problemes sistemàtics del complex *Arctium-Cousinia* tot i que al clade Cousinioide aquesta informació no és suficient per a establir una filogènia sòlida del subgènere *Cousinia*.
4. El nivell de resolució filogenètica dins del clade Cousinioide és menor que a l'Arctioide degut a un alt nivell d'homoplàsia, resultant de la curta edat del clade en combinació amb el seu elevat nombre d'espècies, juntament amb la probable existència d'híbrids homoploides no detectats.
5. S'interpreta que els caràcters arctioides serien plesiomòrfics i els cousinioides apomòrfics, detectant una possible tendència evolutiva d'un tipus de pol·len espinós a llis i una reducció del nombre cromosòmic. En canvi, la morfologia de les bràctees involucrals i l'armadura de les fulles, caràcters tradicionalment usats per a subdividir el complex, així com la condició d'annualitat hi han evolucionat múltiples vegades en paral·lel.
6. La separació dels llinatges Arctioide i Cousinioide es va donar fa 14,8 milions d'anys i la seva diversificació s'ha datat en 9,7 i 8,7 milions d'anys, respectivament.
7. S'ha detectat que dins del llinatge Cousinioide les dades analitzades contenen informació filogenètica principalment a les branques distals i que la distribució

geogràfica de les espècies es mostra com un criteri més fiable per a reconèixer relacions filogenètiques entre elles que la taxonomia tradicional.

8. Es postula que el procés d'especiació predominant al clade Cousinioide ha degut ser l'especiació geogràfica donat el seu elevat nombre d'espècies al·lopàtriques i parapàtriques restringides a àrees geogràfiques molt reduïdes i separades entre sí per barreres topogràfiques.
9. Es proposa una redefinició del gènere *Arctium* al qual s'han transferit totes les espècies del llinatge Arctioide pertanyents als gèneres *Anura*, *Cousinia*, *Hypacantium* i *Schmalhausenia* amb la proposta dels canvis nomenclaturals pertinents.
10. El gènere *Arctium* s'ha subdividit en dos nous subgèneres anomenats *Arctium* i *Cynaroides*, s'ha eliminat el subgènere *Hypacanthodes* i s'ha redefinit el subgènere *Cynaroides*, que pertanyien a *Cousinia*, perquè no eren monofilètics.
11. A grans trets, la classificació seccional tradicional d'*Arctium* i *Cousinia* es transfereix al nou gènere *Arctium*. Desapareixen les seccions *Abolinia*, *Ctenarctium*, *Lacerae*, *Nanarctium* i *Oligantha* de *Cousinia* i s'incorporen les seccions *Anura*, *Hypacanthodes* i *Schmalhausenia*.
12. Conscients de la manca de caràcters morfològics prou adients per a recolzar la classificació subgenèrica i seccional del gènere *Arctium* presentada a aquesta tesi, es posa de manifest la necessitat d'un treball més exhaustiu.
13. Els recomptes cromosòmics realitzats confirmen que les espècies del grup Arctioide tenen un nombre cromosòmic bàsic $x = 18$ mentre el grup Cousinioide presenta la següent sèrie disploide, que s'hipotetitza que és descendent: $x = 9, 10, 11, 12$ i 13 , mostrant disploidia també a escala seccional.
14. S'ha detectat una baixa correspondència entre filogènia i cariologia; només les espècies del grup Arctioide, amb $2n = 36$, s'agrupen al mateix clade.

15. La inexistència de poliploidia al complex *Arctium-Cousinia* implica que l'especiació per hibridació poliploide no deu haver estat significativa en la seva evolució. Malgrat això, el nombre cromosòmic bàsic $x = 18$ de les espècies del clade Arctioide ens ha portat a hipotetitzar que podria ser un paleopoliploide originat a partir d'un ancestre $x = 9$.
16. Es posa de manifest el clar paral·lelisme entre el complex *Arctium-Cousinia* i el grup *Onopordum*, definint-se dues línies clarament separades en funció de la forma vital, l'amplitud biogeogràfica i el nombre cromosòmic, en que *Onopordum* seria comparable a *Arctium* i els gèneres *Alfredia*, *Ancathia*, *Olgaea*, *Synurus* i *Syreitschikovia* serien comparables al gènere *Cousinia* s.str.
17. Els microsatèl·lits dissenyats específicament per *Arctium minus* han resultat poc polimòrfics, reflectint la reduïda variabilitat existent a les seves poblacions.
18. Els patrons de variació genètica detectats a *Arctium minus* són consistents amb les seves característiques biològiques. Així la baixa diversitat genètica, els alts valors d'endogàmia i l'excés d'homozigots detectats s'expliquen per la seva capacitat d'autofecundació i el seu curt cicle de vida.
19. La major part de la variabilitat genètica d'*Arctium minus* es troba entre poblacions degut a un baix flux gènic entre elles juntament amb la seva capacitat d'autofecundació.
20. Certs indicis recolzen la idea que *Arctium minus* s'hauria refugiat al sud de la seva àrea de distribució actual durant les glaciacions del Pleistocè i posteriorment hauria recolonitzat Europa. Aquests patrons s'haurien vist emmascarats per influència recent de l'activitat humana i per esdeveniments de dispersió de llavors a llarga distància com s'exemplifica a la colonització del continent Americà.