



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PALERMO

DOTTORATO DI RICERCA IN BIOLOGIA AMBIENTALE E BIODIVERSITÀ
DIPARTIMENTO S.T.E.B.I.C.E.F.
SEZIONE DI BOTANICA ED ECOLOGIA VEGETALE
SETTORE SCIENTIFICO DISCIPLINARE BIO/02

STUDI TASSONOMICI SU *ADENOSTYLES ALPINA* (*ASTERACEAE*) IN ITALIA MERIDIONALE

IL DOTTORE
FILIPPO SCAFIDI

IL COORDINATORE
PROF. MARCO ARCULEO

IL TUTOR
DOTT. GIANNIANTONIO DOMINA

CICLO XXIX
ANNO 2017

INDICE

1. INTRODUZIONE	4
1.1. La famiglia delle <i>Asteraceae</i> Bercht. & J. Presl	7
1.2. Il genere <i>Adenostyles</i> Cass.	8
1.2.1 Il gruppo di <i>Adenostyles alpina</i> (L.) Bluff. & Fingerh.	10
1.2.2 Il genere <i>Adenostyles</i> in Italia meridionale	11
1.2.3 Il genere <i>Adenostyles</i> in Sicilia	12
1.3. Scopo del lavoro	16
2. Obiettivo I. Distribuzione di <i>A. alpina</i> subsp. <i>nebrodensis</i>	17
2.1. Introduzione	17
2.2. Materiali e metodi	17
2.3. Risultati	18
3. Obiettivo II. Indagini morfometriche sul gruppo di <i>A. alpina</i> in Italia meridionale	22
3.1 Introduzione	22
3.2. Materiali e metodi	23
3.3. Risultati	29
4. Obiettivo III. Indagine filogenetica sul gruppo di <i>A. alpina</i> in Italia meridionale	39
4.1. Introduzione	39
4.2. Materiali e metodi	40
4.3. Risultati	50
5. Considerazioni conclusive	64
6. Chiavi dicotomiche per il riconoscimento dei taxa del gruppo di <i>A. alpina</i>	68
7. Scede descrittive dei taxa appartenenti al gruppo di <i>A. alpina</i>	69
8. Ringraziamenti	85
9. Bibliografia	86
10. Appendice	94

1. INTRODUZIONE

La fitodiversità o diversità vegetale, rappresenta la ricchezza floristica di un territorio. Essa è costituita dall'insieme dei taxa che si rinvencono in un dato territorio e dalle loro caratteristiche biogeografiche. Il concetto di fitodiversità è strettamente legato a quello più generale di biodiversità.

Per biodiversità si intende la "variabilità tra gli organismi viventi appartenenti a ecosistemi terrestri, marini e acquatici e i complessi ecologici di cui questi sono parte, essa comprende la diversità all'interno delle specie, tra le specie e tra gli ecosistemi (Secretariat of the Convention on Biological Diversity 2001).

La biodiversità è essenziale per diversi motivi; essa contribuisce alla resilienza e alle capacità degli ecosistemi a far fronte ad eventi catastrofici ed eventi climatici e conserva una serie di risorse utili all'uomo (McGrady-Steed et al. 1997; Naem & Li 1997; Olden et al. 2005). Essa è elemento chiave del funzionamento della biosfera esprimibile come diversità genetica, diversità di specie, diversità paesaggistica e diversità degli ecosistemi.

Tale concetto iniziò ad essere definito in modo ufficiale solo nel corso degli anni '80 del XX secolo. La centralità di questo tema era emersa a livello internazionale sin dai primi anni '70, in occasione della United Nations Conference on the Human Environments svoltasi a Stoccolma nel 1972 ed all'istituzione, nel 1973, dello United Nations Environment Programme, dove viene definito argomento di assoluta priorità la conservazione della natura e delle risorse genetiche (Abbate et al. 2011.).

Nel 1992, in Occasione della Conferenza delle Nazioni Unite, tenutasi a Rio de Janeiro, viene stipulato un documento con l'obiettivo di promuovere la cooperazione scientifica ed internazionale per una migliore comprensione dell'importanza della biodiversità e il suo uso sostenibile.

In Italia, negli ultimi, è cresciuta l'attenzione verso la Biodiversità in genere ed in particolare verso gli endemismi (elementi esclusivi di un determinato territorio), che in termini floristici, sono gli elementi più caratteristici della flora e quindi elementi principi per lo studio della biodiversità nel territorio.

Gli elementi più delicati della biodiversità di un territorio vengono attenzionati dalle Liste Rosse che costituiscono, insieme agli atlanti di distribuzione della flora e della fauna, un importante strumento per la conservazione del patrimonio biologico e per l'individuazione degli aspetti di biodiversità che oggi sono più a rischio.

Nel primo Libro Rosso delle specie vegetali minacciate su tutto il territorio nazionale (Conti et al. 1992) vengono segnalate 458 entità in pericolo, il cui grado di minaccia venne valutato a livello nazionale secondo le 5 categorie codificate dalla International Union Conservation Nature (IUCN). In seguito, nel 1994, queste categorie sono state rielaborate ed incrementate passando da 5 a 8 più 3 sottocategorie per una più puntuale valutazione del grado di pericolo a cui i taxa sono sottoposti.

Due anni dopo, viene pubblicato l'inventario delle specie "a rischio" della flora vascolare nativa della Sicilia (Raimondo et al. 1994), che rappresenta il primo censimento a livello regionale delle entità soggette alla minaccia di estinzione. Vengono presi in considerazione 750 taxa della flora vascolare, di cui ben 307 vengono considerati estinti, danneggiati o vulnerabili e altri 313 vengono valutati "rari" e quindi potenzialmente soggetti a rischio.

Nel 1997 viene pubblicato un primo aggiornamento della lista rossa nazionale (Conti et al. 1997) dove il numero delle entità prese in considerazione a livello nazionale raddoppia salendo oltre 1000. Per la Sicilia vengono presi in considerazione 660 taxa, di cui 354 vengono ritenuti estinti o a rischio (Conti et al. 1997).

Nel 2005, viene pubblicato l'Atlante delle specie a rischio di estinzione (Scoppola & Spampinato 2005) che aggiorna i dati nazionali riferendosi anche alla check-list di Conti et al. (2005).

Un notevole contributo è dovuto alla Società Botanica Italiana onlus che si è attivata proprio allo scopo di colmare le lacune conoscitive relative a piante, funghi e licheni, istituendo e pubblicando periodicamente all'interno dell'Informatore Botanico una rubrica "Schede per una Lista Rossa della Flora vascolare e crittogamica Italiana", con l'intento di ridefinire il rischio di estinzione di tutta la flora Italiana.

Ercole et al. (2016) hanno pubblicato i Manuali per il monitoraggio di specie e habitat di interesse comunitario inserite nella direttiva Habitat (Direttiva 92/43/CEE) in Italia, con lo scopo di elaborare le metodiche e i protocolli operativi ottimali per poter effettuare il monitoraggio in campo richiesto dalla direttiva per le specie vegetali terrestri e di acqua dolce.

Tali manuali rappresentano il risultato del progetto nazionale realizzato in collaborazione tra la Società Botanica Italiana onlus e L'ISPRA che si è sviluppato tra il 2015 ed il 2016 e che si è avvalso della collaborazione di 70 botanici italiani contenute 118 schede che descrivono tecniche e protocolli di monitoraggio per tutte le specie vegetali italiane di interesse comunitario (107 piante vascolari, 10 briofite, 1 lichene).

Nel 2012 è stato lanciato anche il progetto "The Italian Loci Classici Census" (Domina et al. 2012a) con lo scopo di censire i loci classici dei taxa endemici italiani, cioè i luoghi da dove

sono state raccolte per la prima volta le nuove entità endemiche che sono state descritte per il territorio nazionale, essendo essi i più sensibili componenti della flora di un paese, si comportano bene come bioindicatori, in particolare suscettibili ai cambiamenti climatici.

Infine Peruzzi et al. (2015a) hanno pubblicato la monografia dal titolo “*An inventory of the names of vascular plants endemic to Italy, their loci classici and types*”, dove viene presentato e descritto il censimento di 1400 piante endemiche vascolari italiane, riportando per ognuno di essi la pubblicazione originale del nome accettato, i basionimi ed i sinonimi omotipici.

Per quanto riguarda la flora siciliana vi sono diversi taxa enemici e a rischio di estinzione come ad esempio: *Abies nebrodensis* (Lojac.) Mattei, *Anthemis ismelia* Lojac., *Bupleurum elatum* Guss., *Carex panormitana* Guss., *Leontodon siculus* (Guss.) Nyman, *Genista madoniensis* Raimondo, *Ptilostemon greuteri* Raimondo & Domina) e tra questi vi è sicuramente da annoverare *Adenostyles alpina* subsp. *nebrodensis* (Wagenitz & I. Müll.) Greuter.

1.1 LA FAMIGLIA DELLE *ASTERACEAE* BERCHT. & J. PRESL

Le *Asteraceae*, conosciute anche come *Compositae*, rappresentano una delle famiglie di *Angiospermae* con il maggior numero di specie ad oggi descritte ed accettate (circa 24.000), ma con una stima approssimativa di più di 30.000 specie esistenti (Funk et al. 2009), raggruppate in 1600-1700 generi.

Tale abbondanza di specie fa sì che le *Asteraceae* costituiscano circa l'8% di tutte le piante a fiore esistenti (Stevens 2001) e fornisce una buona opportunità per capire l'adattamento su scala globale di un gruppo a radiazione evolutiva recente (Panero & Funk 2008).

La famiglia delle *Asteraceae*, comprende piante dall'abito molto diverso, ma in prevalenza erbaceo e più raramente arboreo. I fiori, di regola ermafroditi, sono raccolti in un capolino avvolto da un involucri di brattee (*squame*); il calice, ridotto, è trasformato nel frutto in pappo (Frangiote-Pallone & Souza de 2014). La corolla è pentamera e può essere *tubulosa*, con i petali ridotti a cinque dentelli o lacinie sovrastanti il tubo, o *ligulata*, con una porzione inferiore tubulosa, al di sopra della quale è inserito un prolungamento nastriforme (*ligula*) spesso terminante con cinque dentelli. Gli stami sono cinque, con i filamenti liberi e le antere saldate in un manicotto circondante lo stilo. L'ovario è infero, uniloculare e con un solo ovulo anatropo; lo stilo è unico e lo stimma è profondamente bifido. Il frutto è una nucula con pericarpo aderente al seme (cipsela).

La suddivisione della famiglia delle *Asteraceae* nelle due tradizionali sottofamiglie si basa sui tipi di fiori presenti nel capolino. La sottofamiglia *Asteroideae* (Tubuliflorae) comprende piante con capolini con solo fiori tubulosi oppure fiori tubulosi al centro e fiori ligulati in periferia; le *Asteroideae*, inoltre, mancano di canali laticiferi. La sottofamiglia *Cichorioideae* (Liguliflorae) è caratterizzata da piante con capolini con solo fiori ligulati dotate di canali laticiferi.

Oltre che il genere *Adenostyles*, la sottofamiglia *Asteroideae* comprende altri generi ampiamente diffusi, fra i quali si possono ricordare, sia per la ricchezza di forme che per l'interesse agronomico *Senecio* L., *Bellis* L., *Calendula* L., *Aster* L., *Anthemis* L., *Artemisia* L., *Achillea* L. ed *Helichrysum* Mill.

1.2. IL GENERE *ADENOSTYLES* CASS.

Adenostyles Cass. (1816), è un genere endemico europeo (Dillenberger & Kadereit, 2012) che, come ipotizzato da Jeffrey (1992), su base morfologica, e confermato da Pelter et al. (2007b), su base molecolare analizzando le relazioni evolutive all'interno della tribù delle *Senecioneae*, fa parte del cosiddetto 'gruppo Quadridentato' insieme ai generi *Caucasalia* B. Nord., *Dolichorrhiza* (Pojark.) Galushko, *Iranecio* B. Nord. e *Pojarkovia* Askerova.

Il genere *Adenostyles* è prevalentemente distribuito in tutto il territorio alpino (Fig. 1), ma il suo areale si estende anche alla Spagna settentrionale, Corsica (Francia) e lungo tutta la catena appenninica in Italia, comprese le montagne della Calabria e della Sicilia, Balcani e, dubitativamente, in Grecia (Palermo et al. 2002; Scafidi et al. 2016).

Esso include piante perenni, a foglie alterne, con margine irregolarmente o regolarmente dentato, le superiori auricolate o non auricolate; infiorescenza corimbosa, con numerosi capolini di piccole dimensioni. Fiori di colore rosa, viola o bianchi, tutti tubulosi ed ermafroditi con antere arrondate alla base e stili cilindrici; squame involucrali in numero di 3-12, in 1(2) serie; ricettacolo nudo, senza scaglie; cipsele sub-erette, con 10 costole; pappo con numerosi peli in 2-3 serie, denticolati.

Le specie di *Adenostyles* presenti in Europa sono: *Adenostyles alpina* (L.) Bluff. & Fingerh., presente lungo tutto l'arco alpino, dai Pirenei ai Balcani, incluse Sicilia e Corsica; *Adenostyles alliariae* (Gouan) A. Kern., presente nelle Alpi, nei Carpazi, sulle Alpi Dinariche, sul versante orientale dei Pirenei, sul massiccio della Sierra de Gredos e in diverse catene montuose più piccole in Europa Centrale; *Adenostyles leucophylla* (Willd.) Rchb., presente sulle Alpi Occidentali. Nella Figura 1 sono rappresentati i loro areali di distribuzione, mentre nella Figura 2 sono mostrati gli habitus delle piante.

In genere, tali specie prediligono luoghi ombrosi e umidi, in ambienti caratteristici come i megaforbieti alpini o boschi di faggio o abete rosso, ma si possono rinvenire anche su pendii franosi, ghiaioni, prati e pascoli alpini montani.

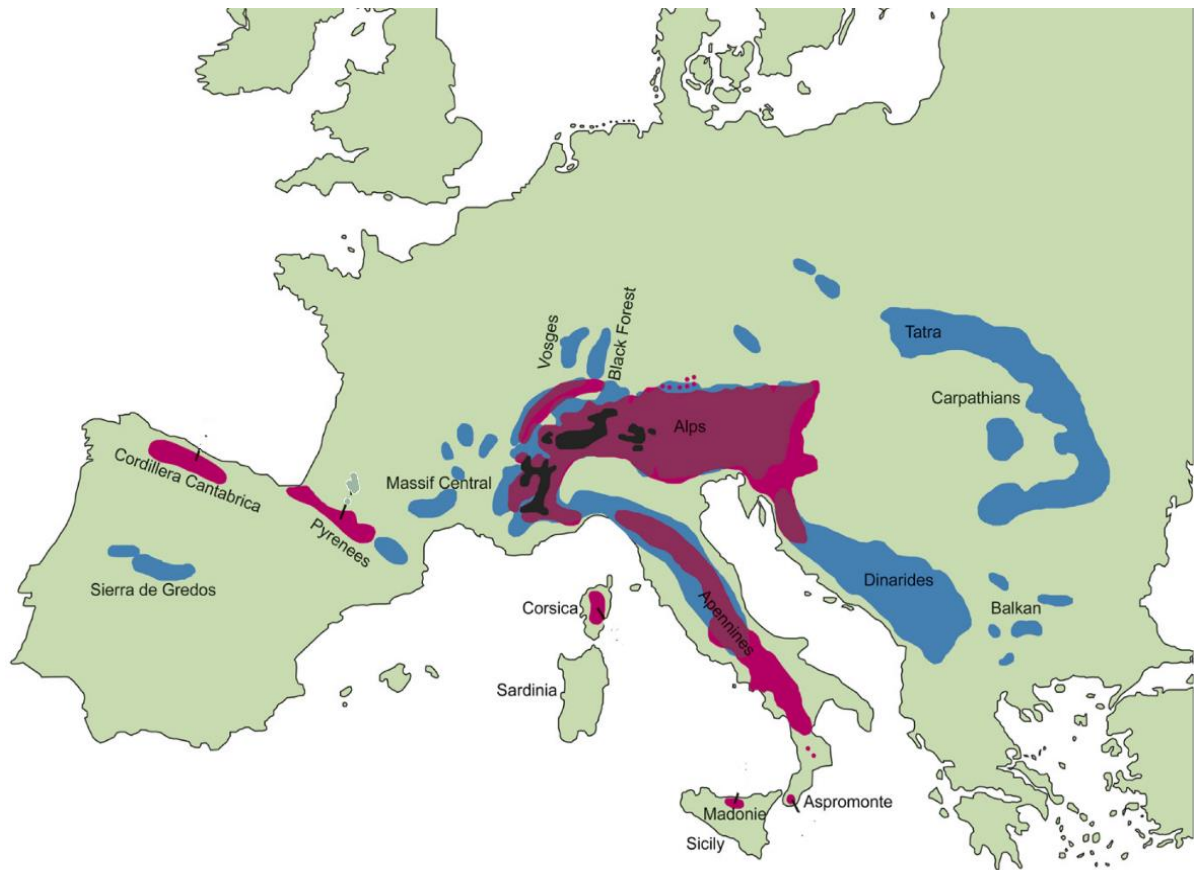


Figura 1. Distribuzione del genere *Adenostyles* in Europa (Meuseul & Jager, 1992): In **MAGENTA** distribuzione di *A. alpina*, in **BLU** distribuzione di *A. alliariae*, in **NERO** distribuzione di *A. leucophylla*.

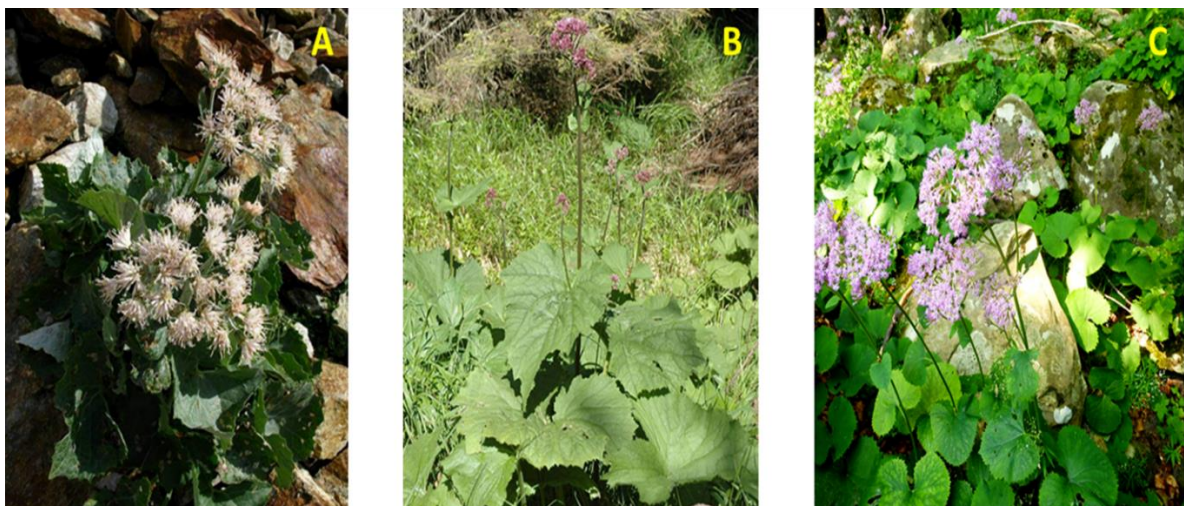


Figura 2. Individui di A) *A. leucophylla*, B) *A. alliariae*, C) *A. alpina*.

1.2.1. IL GRUPPO DI *ADENOSTYLES ALPINA* (L.) BLUFF. & FINGERH.

Il gruppo di *Adenostyles alpina* comprende piante erbacee perenni, rizomatose. Le foglie sono alterne, intere, con lamina da reniforme a cordata, con apice da ottuso ad acuto, presentano un margine regolarmente-irregolarmente dentato, con denti profondi, acuti o ottusi, interamente pubescenti su entrambe le pagine, glabre o pubescenti solo lungo le nervature principali. Le foglie cauline sono, più piccole, picciolate e talvolta presentano due orecchiette alla base del picciolo. Infiorescenza in ampi e densi corimbi terminali di capolini di 3/25 fiori, portati da peduncoli pelosi, con involucri cilindrici, 1-7 × 4-11 mm, da glabro a pubescente e con 3-12 squame lanceolate, lineari o lineari-lanceolate.

I fiori sono attinomorfi, tubulosi, ermafroditi, lunghi 5-11 mm, hanno una corolla cilindrica svasata all'apice terminante in 4-5 lobi, di colore roseo-violetto; 5 stami liberi ed antere arrotondate alla base e saldate tra loro; stilo ghiandoloso, cilindrico, con stimma bifido; ovario infero uniloculare con 2 carpelli.

I frutti sono cipsele striate, brune di 3-11 mm, sormontate da un pappo di peli bianchi.

Il gruppo di *A. alpina* risulta essere critico da un punto di vista tassonomico a causa della sua variabilità fenotipica, infatti in bibliografia sono numerose le varietà e le forme descritte (Fiori 1903, Fiori 1925-29, Wagenitz 1983, Pignatti 1982).

In una recente revisione del gruppo, su base morfologica e molecolare, Dillenberger & Kadereit (2012) riconoscono i seguenti taxa:

- *Adenostyles alpina* (L.) Bluff. & Fingerh. subsp. *alpina*, con areale di distribuzione che comprende le Alpi, le Alpi Dinariche settentrionali, il Massiccio dello Giura e gli Appennini;
- *Adenostyles alpina* subsp. *pyrenaica* (Lange) M. Dillenberger & Kadereit, endemica dei Pirenei e della Codigliera Cantabrica;
- *Adenostyles alpina* subsp. *nebrodensis* (Wagenitz & I. Müll.) Greuter, endemica dei Monti Madonie in Sicilia;
- *Adenostyles alpina* subsp. *macrocephala* (Huter & al.) M. Dillenberger & Kadereit, endemica dell'Aspromonte in Calabria;
- *Adenostyles alpina* subsp. *briquetii* (Gamisans) Tutin, endemica della Corsica.

1.2.2. IL GENERE *ADENOSTYLES* IN ITALIA MERIDIONALE

Così come altri taxa alpini, la colonizzazione del genere *Adenostyles* lungo la catena appenninica è avvenuta probabilmente, durante il periodo glaciale del Quaternario (Dillenberger & Kadereit 2013).

In generale, le entità appenniniche di *Adenostyles*, occupano habitat umidi e ombrosi caratterizzati solitamente dalla presenza di *Fagus Sylvatica* L., sopra 1400 m s.l.m., rappresentando un complesso di taxa strettamente correlati tra loro sia da un punto di vista morfologico che ecologico (Palermo et al. 2002).

In passato questi taxa, sono stati considerate come varietà di *A. alpina*, mentre in tempi più recenti sono state trattate come sottospecie o specie distinte.

In Italia meridionale *Adenostyles* è rappresentato da:

- Secondo **Fiori** (1903, 1925-29):

A. alpina Bl. et Fing

A. alpina var. *glabra* DC..

A. alpina var. *australis* Nyman.

A. alpina var. *australis* f. *auriculata* Fiori

A. alpina var. *macrocephala* Huter, P. et R.

- Secondo **Pignatti** (1982):

A. glabra (Mill.) DC.

A. australis (Ten.) Nyman (incl. *A. nebrodensis* Strobl)

A. orientalis Boiss (= *A. macrocephala* Huter, P. et R.).

- Secondo **Wagenitz** (1983):

A. glabra (Mill.) DC. subsp. *glabra*

A. glabra (Mill.) DC. subsp. *glabra* var. *glabra*

A. glabra subsp. *glabra* var. *australis* (Ten.) Wagenitz

A. glabra subsp. *nebrodensis* (Strobl) Wagenitz & I. Müller

A. alliariae subsp. *macrocephala* (Huter, Porta & Rigo) Wagenitz & I. Müller

- Secondo **Conti et al.** (2005):

A. alliariae (Gouan) A. Kern.

A. alliariae subsp. *macrocephala* (Huter, Porta & Rigo) Wagenitz & I. Müller

A. glabra (Mill.) DC. subsp. *glabra*

A. glabra subsp. *nebrodensis* (Strobl) Wagenitz & I. Müller

- Secondo **Dillenberger & Kadereit** (2012):

A. alpina (L.) Bluff & Fingerh subsp. *alpina*

A. alpina subsp. *nebrodensis* (Wagenitz & I. Müll.) Greuter

A. alpina subsp. *macrocephala* (Huter & al.) M. Dillinberger & Kadereit

Iamónico & Pignatti (2015), su base morfologica, considerano le popolazioni appenniniche, come un taxon separato, afferibile ad *A. australis*, ben differenziabili dalla popolazione siciliana delle Madonie (*A. alpina* subsp. *nebrodensis*) in quanto presentano capolini con 3-8 fiori ed involucri di 3 × 6-8 mm anziché (10-)12-15(-18) fiori, e dalle popolazioni alpine (*A. alpina* subsp. *alpina*) che presentano involucri di 1-2 × 4-5 mm, senza riconoscere *A. alpina* subsp. *macrocephala*.

12.3. IL GENERE *ADENOSTYLES* IN SICILIA

Adeostyles in Sicilia è rappresentato soltanto da *A. alpina* subsp. *nebrodensis* (Wagenitz & I. Müll.) Greuter, taxon endemico puntiforme delle Madonie (PA), confinato in un'unica stazione, a Passo della Botte.

Le problematiche legate a questo taxon sono dovute alla sua rarità nel territorio isolano, di fatti anche se l'unica popolazione di *A. alpina* subsp. *nebrodensis* presente in Sicilia ricade all'interno dell'area protetta del Parco Regionale delle Madonie, il taxon è comunque ritenuto a grave rischio d'estinzione e perciò classificato con CR (Critically Endangered) (Raimondo et al. 2011), a causa dell'areale puntiforme con un unico esemplare conosciuto (Spadaro et al. 2010; Domina et al. 2015b), che vegeta sulle pendici rocciose di una forra umida all'interno della faggeta (Fig. 3; Fig. 4). La popolazione, probabilmente, in passato era ben più numerosa, come testimoniano i diversi exsiccata depositati presso l'*Herbarium Mediterraneum* di

Palermo (PAL) (Fig. 5), e presso i più importanti erbari europei BM, K, P, JE, acronimi secondo Thiers (2016), (Fig. 6).

Le cause della sua estrema rarefazione sono da ricondurre all'azione umana, in quanto intorno agli anni '50, a Passo della Botte è stato costruito un appresamento idrico che ha modificato notevolmente l'ecologia dell'ambiente trasformandolo da un ruscello altomontano ad una forra umida.



Figura 3. L'unico individuo di *A. alpina* subsp. *nebrodensis* a Passo della Botte (Foto di Filippo Scafidi).



Figura 4. Particolare dell'infiorescenza di *A. alpina* subsp. *nebrodensis*. (Foto di Filippo Scafidi).



Figura 5. Campione della fine del XIX secolo di *A. alpina* subsp. *nebrodensis* conservato in PAL.



Figura 6. Campioni del XIX secolo di *A. alpina* subsp. *nebrodensis* conservati in: A) Herbarium BM; B) Herbarium P; C) Herbarium K; D) Herbarium JE.

1.3. SCOPO DEL LAVORO

La presente tesi ha tre obiettivi:

Obiettivo I: monitoraggio in campo del popolamento conosciuto e ricerca di ulteriori popolamenti di *A. alpina* subsp. *nebrodensis* all'interno del territorio delle Madonie e nel restante territorio isolano.

Obiettivo II: studio morfometrico dei taxa presenti nell'Italia meridionale, afferenti al gruppo di *A. alpina*, con particolare attenzione a quelle attribuibili ad *A. australis*, caratterizzate da un elevato grado di polimorfismo inter- e intra-popolazionale (Scafidi & Domina 2016) e costruzione di nuove chiavi analitiche.

La necessità di realizzare questa parte della ricerca nasce dalla discordante delimitazione tassonomica operata dai diversi autori. Nei vari trattamenti tassonomici sono riportate misure discordanti dei principali caratteri morfologici quali: il numero di fiori per capolino, le dimensioni dell'involucro, il numero di brattee, la morfologia del fiore, il tipo di margine fogliare e la presenza o assenza di foglie superiori auricolate.

Obiettivo III: studio filogenetico dei taxa appartenenti al gruppo di *A. alpina*, utilizzando marcatori nucleari e plastidiali.

Al fine di raggiungere questo obiettivo, è stata focalizzata l'attenzione principalmente sui taxa presenti in Italia meridionale, ovvero *A. alpina* subsp. *macrocephala*, *A. alpina* subsp. *nebrodensis* e *A. australis*; quest'ultima non è inclusa nei precedenti studi di filogenesi su *Adenostyles* (Dillenberger & Kadereit 2012).

Le indagini molecolari sono state condotte durante il periodo di stage effettuato all'estero, presso l'Institut für Spezielle Botanik und Botanischer Garten, Johannes Gutenberg-Universität Mainz/Germany, sotto la supervisione del Prof. Joachim W. Kadereit, in collaborazione con il Dott. Markus S. Dillenberger.

A tal proposito, le regioni scelte per le analisi molecolari sono state selezionate in base a studi di filogenesi presenti in letteratura (Baldwin & Markos 1998; Markos & Baldwin 2001; Muir et al. 2001; Shaw et al. 2007).

2. OBIETTIVO I

“DISTRIBUZIONE DI *ADENOSTYLES ALPINA* SUBSP. *NEBRODENSIS*”

2.1. INTRODUZIONE

Adenostyles alpina subsp. *nebrodensis* è stata descritta nel 1844 da Gussone come *A. hybrida*, indicando nel protologo la sua presenza in due località “In elatioribus montosis, ad rivulorum margines in umbrosis; Madonie al passo della botte e all’acque del canale”.

Attualmente non si conosce l’esatta ubicazione sulle Madonie del toponimo “Acque del canale”, anche se orientivamente dovrebbe coincidere con la zona di Vallone Canna, mentre è nota la seconda località “Passo della Botte” (Brullo et al. 2012).

2.2. MATERIALI E METODI

Nelle estati del 2014, 2015 e 2016, sono state effettuate numerose ricerche floristiche nel territorio madonita con lo scopo di a) monitorare in campo nel suo *locus classicus*, le fasi fenologiche della pianta, e b) ricercare altre stazioni. Sono state esplorate le zone di Monte Mufara, Pizzo Antenna, Vallone Canna, Pizzo Antenna Grande, Monte dei Cervi, Monte Daino e Monte S. Salvatore (Fig. 7), alla ricerca di ulteriori popolamenti di *A. alpina* subsp. *nebrodensis* con particolare riguardo alle forre umide all’interno della faggeta che potessero presentare variabili ambientali microstazionali simili a quella dell’unica stazione nota.

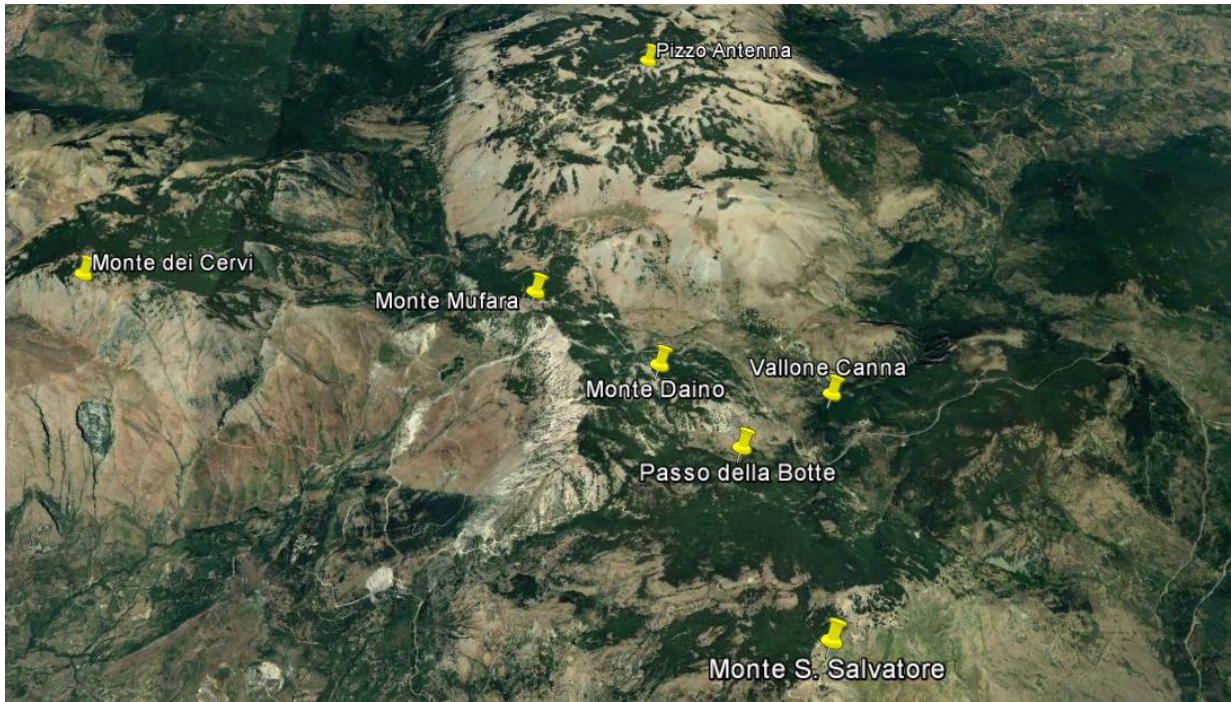


Figura 7. Localizzazione dei siti indagati all'interno del Parco Regionale Madonie.

2.3. RISULTATI

Fenologia: La pianta ha fiorito solo nell'estate del 2014 in un periodo compreso tra giugno-metà luglio, mentre negli anni successivi, ovvero 2015 e 2016 non è stata osservata nessuna fioritura.

La fruttificazione segue la fioritura in un periodo compreso tra metà luglio-metà-agosto (Fig. 8).

GIUGNO						LUGLIO						AGOSTO					
5	10	15	20	25	30	5	10	15	20	25	30	5	10	15	20	25	30
		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■			

Figura 8. Fasi fenologiche osservate in *A. alpina* subsp. *nebrodensis* nel 2014, in giallo viene indicato il periodo di fioritura, mentre in rosso viene indicato il periodo di fruttificazione.

Durante le visite in campo è stato possibile effettuare la raccolta di cipsele e una foglia opportunamente conservata in silica gel. In laboratorio non è stato possibile valutare la germinabilità delle cipsele in quanto tutto il materiale prelevato si presentava con endosperma e embrione non formati (Fig. 9).



Figura 9. Cipsele sterili di *A. alpina* subsp. *nebrodensis*.

Qui di seguito i caratteri ambientali del luogo di crescita.

Ambiente di faggeta all'interno di una forra su suolo calcareo:

Passo della Botte (Contrada Canna, Petralia Sottana, Madonie) (Fig. 10), un unico individuo.

La stazione ricade all'interno di un bioclima Supramediterraneo superiore con Indice di Termicità di (120)-150, mentre l'ombrotipo è di tipo Sub-umido superiore con indice ombrotermico compreso tra 4.8 e 6.0. (Bazan et al. 2015), (Fig. 11).

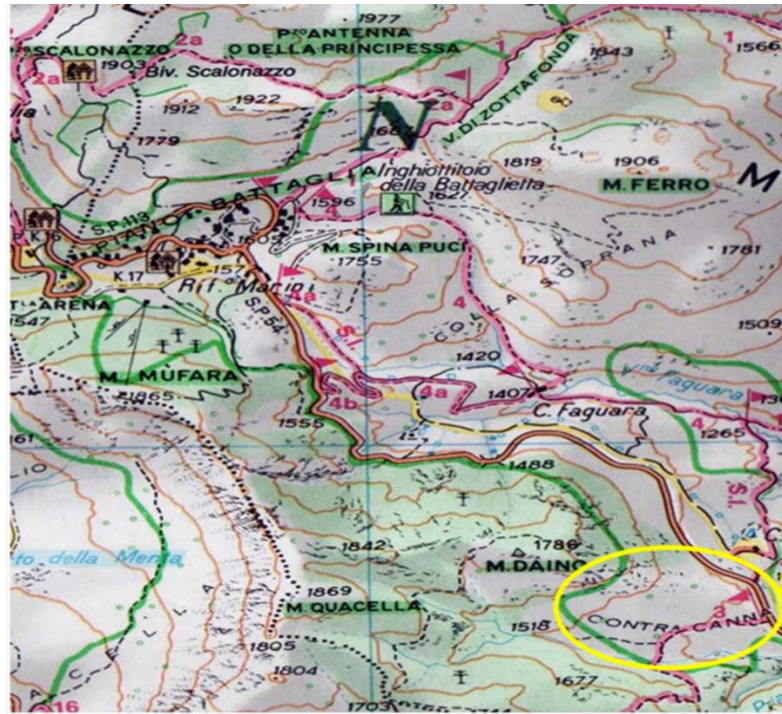


Figura 10. Localizzazione di Passo della Botte (*locus classicus*) sulle Madonie (Sicilia settentrionale).

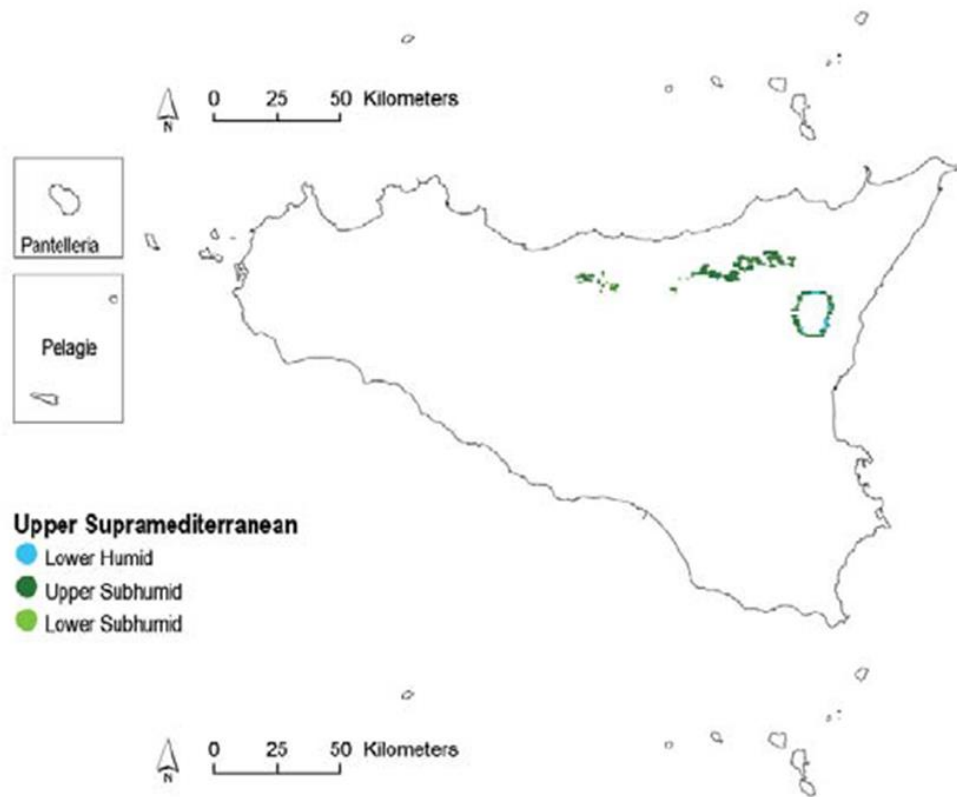


Figura 11. Localizzazione delle aree a Bioclima Supramediterraneo superiore in Sicilia (da Bazan et al. 2015).

Per quanto riguarda la vegetazione, il taxon entra a far parte dell'alleanza *Geranio versicoloris-Fagion Sylvaticae*. Questa alleanza include le faggete endemiche dell'Appennino meridionale e della Sicilia, che penetrano parzialmente nell'Appennino centrale, occupando le stazioni più calde ed aride del piano bioclimatico a termotipo supratemperato (Biondi & Blasi 2013).

In Sicilia, l'alleanza si riscontra nella fascia altimetrica compresa tra 1.300 e 1.900 m s.l.m. ed insiste sia su substrati carbonatici che silicei, comprendente appunto i versanti settentrionali di Monte Mufara, Pizzo Antenna Grande, Monte dei Cervi, Monte Daino e Monte S. Salvatore, che occupano, nel complesso, una superficie di circa 2.300 ha. (Raimondo et al. 2004).

Infine il taxon viene indicato come specie differenziale e caratteristica con *Hieracium madoniense* Raimondo & Di Grist., *Hieracium pignattianum* Raimondo & Di Grist., *Physospermum verticillatum* (Waldst. & Kit.) Vis., *Sorbus graeca* (Spach) Kotschy, dell'associazione endemica delle Madonie *Hieracio madoniensis-Fagetum sylvaticae* (Brullo et al. 2012a).

3. OBIETTIVO II

“INDAGINI MORFOMETRICHE SUL GRUPPO DI *ADENOSTYLES ALPINA* IN ITALIA MERIDIONALE”

3.1 INTRODUZIONE

Negli ultimi 40 anni allo studio della morfologia condotto in modo classico, si è sempre più affiancato lo studio morfometrico su basi statistiche che permette di valutare più variabili contemporaneamente riducendo l'impatto nell'interpretazione tassonomica della soggettività del ricercatore. L'impiego della statistica può aiutare il ricercatore a descrivere i propri dati e a verificare ipotesi sulle possibili relazioni tra diversi gruppi (Fowler & Cohen 1987).

L'analisi statistica multivariata è quell'insieme di metodi statistici usati per analizzare simultaneamente più caratteri. In tutte le analisi statistiche multivariate il materiale grezzo è costituito da un certo numero di caratteri che si vogliono studiare simultaneamente. L'analisi è detta multivariata perchè vi sono più variabili oggetto di studio e non una sola. Tuttavia, gli scopi possono differire alquanto. In alcuni casi l'obiettivo dell'analisi è semplicemente quello di classificare le unità statistiche sulla base di tutte le variabili considerate. L'intento è in questo caso puramente descrittivo e volto a scoprire l'esistenza di eventuali gruppi di unità. In altri casi si è interessati piuttosto a ridurre le dimensioni della variabile multipla considerata in modo da riuscire a semplificare l'interpretazione. Talvolta questo è possibile perchè certe variabili sono fra loro correlate, altre volte perchè esse sono indipendenti una volta eliminato l'effetto di altre (Marchetti 1997).

Fanno parte dell'analisi multivariata molte tecniche diverse come l'analisi delle componenti principali (PCA), l'analisi discriminante (DA), e l'analisi delle coordinate principali (PCoA) può aiutare nell'individuazione sia dei maggiori gruppi di popolazioni, sia delle popolazioni intermedie tra questi.

In particolare, l'analisi delle componenti principali (PCA) è una procedura utile per la ricerca di variabili ipotetiche (componenti) che rappresentano la maggior quantità di varianza in un insieme di dati multidimensionali (Davis 1986; Harper 1999). Di fatti, essendo un “metodo di riduzione dei dati”, permette di evidenziare l'eventuale struttura esistente all'interno di dati

costituiti da numerose variabili. In pratica, partendo dalle variabili originarie vengono estrapolate delle variabili sintetiche non correlate, chiamate componenti principali, la prima delle quali spiega la maggior parte della variazione osservata nei dati e le successive spiegano una quota di volta in volta inferiore e non sovrapposta.

L'analisi discriminante (DA) è un metodo di analisi statistica multivariata che permette di attribuire degli individui a uno di più gruppi. Per giungere ad un criterio ottimale si utilizzano funzioni discriminanti, le quali ricevono come valori variabili che si ritiene abbiano un'importanza per la bontà dell'attribuzione.

L'analisi delle coordinate principali (PCoA) è un metodo per esplorare e visualizzare le somiglianze o le differenze di dati. Si inizia con una matrice di similarità o matrice dissimilarità (= matrice di distanza) e si assegna per ogni elemento una posizione in uno spazio dimensionale-ridotto

3.2. MATERIALI E METODI

Le popolazioni dei tre taxa studiati, putativamente attribuite ad *A. australis*, *A. alpina* subsp. *macrocephala*, *A. alpina* subsp. *nebrodensis* sono state campionate (tenendo conto delle dimensioni delle popolazioni) in Italia meridionale (Tab. 1 e Fig. 12, Fig. 13), e per ognuna di essa sono stati realizzati campioni d'erbario depositati presso l'*Herbarium Mediterraneum Panormitanum* (PAL) e presso l'erbario del Botanical Museum of the University of Mainz (MJG), e alcuni individui sono stati coltivati, in vaso, nell'Orto Botanico di Palermo.

Esclusivamente per *A. alpina* subsp. *nebrodensis*, vista la criticità del taxon, si è scelto di campionare una sola foglia, opportunamente conservata in gel di silice, mentre per le popolazioni di *Adenostyles australis* di Serra del Prete e di Varco Pollino (Basilicata), è stato possibile campionare solo individui sterili, non essendosi osservate fioriture durante il campionamento.

L'identificazione in campo è stata effettuata basandosi su caratteri morfologici presenti in individui maturi.

Per ognuna delle popolazioni analizzate in questo studio e riportate in Tabella 2, sono state effettuate 10 misure di ogni carattere quantitativo su almeno 10 individui differenti, esclusivamente per *A. alpina* subsp. *nebrodensis*, le misurazioni sono state effettuate su campioni d'erbario depositati in PAL, WU, P, K, BM, acronimi secondo Thiers (2016), mentre

le popolazioni di Serra del Prete e di Varco Pollino, non sono state incluse nelle misurazioni per la mancanza di fiori e frutti.

Come indicato da Domina & al. (2016c) sono state impiegate le descrizioni originali per redigere una lista dei caratteri di potenziale uso diagnostico. In totale sono stati rilevati 29 caratteri: 21 quantitativi continui, 5 quantitativi discreti e 3 qualitativi (vedi Elenco). Sono state condotte l'analisi delle componenti principali (PCA), l'analisi discriminante (DA) in accordo con Peruzzi et al. (2015b), Giovino et al. (2015) e Domina et al. (2016c), e infine l'analisi delle coordinate principali (PCoA), per testare le differenze di gruppo (specie e popolazioni).

La PCA è stata basata sui caratteri quantitativi continui, normalizzati su scala logaritmica. La DA, con gli individui assegnati a priori ai 3 presunti taxa, e la PCoA sono state condotte sui caratteri sia quantitativi (continui e discreti) sia qualitativi.

Ogni carattere quantitativo è stato soggetto ad analisi univariata (ANOVA o Kruskal-Wallis test con correzioni per comparazioni multiple, Tukey HSD test e Bonferroni rispettivamente, coefficienti di correlazione di Pearson) usando il software PAST 3.12 (Hammer et al. 2001; Hammer 2016).

La variazione di ciascun carattere quantitativo è stato rappresentato usando i diagrammi degli estremi (box-plots).

Tenuto conto che la pelosità sulla pagina superiore e inferiore della foglia, risulta essere un carattere molto variabile, come riportato da Pignatti (1982) che indica per le popolazioni meridionali la presenza di pelosità ragnatelosa o la presenza di peli stellati stellati, essa è stata indagata tramite l'ausilio di un microscopio elettrico a scansione (SEM) Zeiss EVO LS10 (Catania, Sicilia), dopo aver montato piccole porzioni di lamina fogliare sugli stub metallici con doppio nastro adesivo e rivestito con oro (metallizzazione) per un periodo di 6 minuti nella camera "sputtering".

Elenco dei caratteri morfologici (quantitativi continui, quantitativi discreti e qualitativi) usati per l'analisi morfometrica:

21 Caratteri quantitativi continui:

1. Lunghezza foglia basale (cm)
2. Larghezza foglia basale (cm)
3. Lunghezza lobi foglia basale (mm)
4. Lunghezza foglia caulina inferiore (cm)
5. Larghezza foglia caulina inferiore (cm)

6. Lunghezza foglia caulina superiore (cm)
7. Larghezza foglia caulina superiore (cm)
8. Lunghezza orecchiette (mm)
9. Larghezza orecchiette (mm)
10. Lunghezza involucro (mm)
11. Larghezza involucro (mm)
12. Larghezza brattea (mm)
13. Lunghezza fiore (mm)
14. Lunghezza tubo corolla (mm)
15. Lunghezza lembo senza lobi (mm)
16. Lunghezza lobi della corolla (mm)
17. Lunghezza pappo (mm)
18. Lunghezza cipsela (mm)
19. Larghezza cipsela (mm)
20. Lunghezza peduncolo portante il singolo capolino (mm)
21. Lunghezza peduncolo florale esterno (mm)

5 Caratteri quantitativi discreti:

1. Numero brattee
2. Numero fiori per capolino
3. Numero lobi della corolla
4. Numero capolini totali
5. Numero capolini per peduncolo

3 Caratteri qualitativi:

1. Forma foglia caulina superiore
2. Tomento pagina superiore delle foglie
3. Tomento pagina inferiore delle foglie



Figura 12. Distribuzione geografica delle popolazioni di *Adenostyles* raccolte in Italia meridionale durante il triennio 2014-2016.

Tabella 1. Elenco delle popolazioni di *Adenostyles* campionate in Italia meridionale con riportate le coordinate geografiche della località della di raccolta, l'altitudine, l'esposizione ed il tipo di substrato.

Taxon	Località	Coordinate	Altitudine (m s.l.m.)	Esposizione	Substrato
<i>Adenostyles australis</i>	Basilicata, Mt. Pollino (Varco del Pollino, Parco Nazionale del Pollino), prov. Potenza.	39°56'04.07"N 16°13'04.88"E	1800	N	carbonatico
<i>Adenostyles alpina</i> subsp. <i>macrocephala</i>	Calabria, Mt Botte Donato (Parco Nazionale della Sila), prov. Cosenza	39°17'20.95"N 16°26'10.01"E	1750	N	siliceo
<i>Adenostyles alpina</i> subsp. <i>macrocephala</i>	Calabria, Torrente Telese, Gambarie (Parco Nazionale d'Aspromonte National), prov. Reggio Calabria.	38°10'16.01"N 15°51'40.84"E	1450	N	siliceo
<i>Adenostyles australis</i>	Campania, Mt. Cervati (Parco Nazionale del Cilento), prov. Salerno.	40°17'31.48"N 15°28'35.41"E	1800	N	carbonatico
<i>Adenostyles australis</i>	Campania, Montevergine, prov. Avellino	40°12'34.75"N 15°20'29.11"E	1350	NE	siliceo
<i>Adenostyles australis</i>	Campania, Mt. Terminio (Parco Regionale dei Monti Picentini), prov. Avellino	40°49'59.34"N 14°56'33.55"E	1650	N	carbonatico
<i>Adenostyles australis</i>	Campania, Mt. S. Angelo a Tre Pizzi (Parco Regionale di Monti Lattari), prov. of Napoli.	40°39'26.01"N 14°29'48.26"E	1250	N	carbonatico
<i>Adenostyles australis</i>	Basilicata, Bosco di Chiaromonte (Parco Nazionale del Pollino), prov. Potenza.	39°55'29.93"N 16°11'11.95"E	1600	N	carbonatico
<i>Adenostyles australis</i>	Molise, Monte Campo, prov. Isernia	41°50'48.94"N 14°16'52.62"E	1630	N	carbonatico
<i>Adenostyles australis</i>	Basilicata, Serra del Prete (Parco Nazionale del Pollino), prov. Potenza.	39°55'47.83"N 16°09'36.12"E	1700	N	carbonatico
<i>Adenostyles australis</i>	Campania, Mt. Gelbison (Parco Nazionale del Cilento), prov. Salerno.	40°56'16.48"N 14°43'10.72"E	1400	N	siliceo
<i>A. alpina</i> subsp. <i>nebrodensis</i>	Sicilia, Passo della Botte (Parco Regionale delle Madonie), prov. Palermo	37°51'8.40"N 14° 03'09.53"E	1350	N	carbonatico

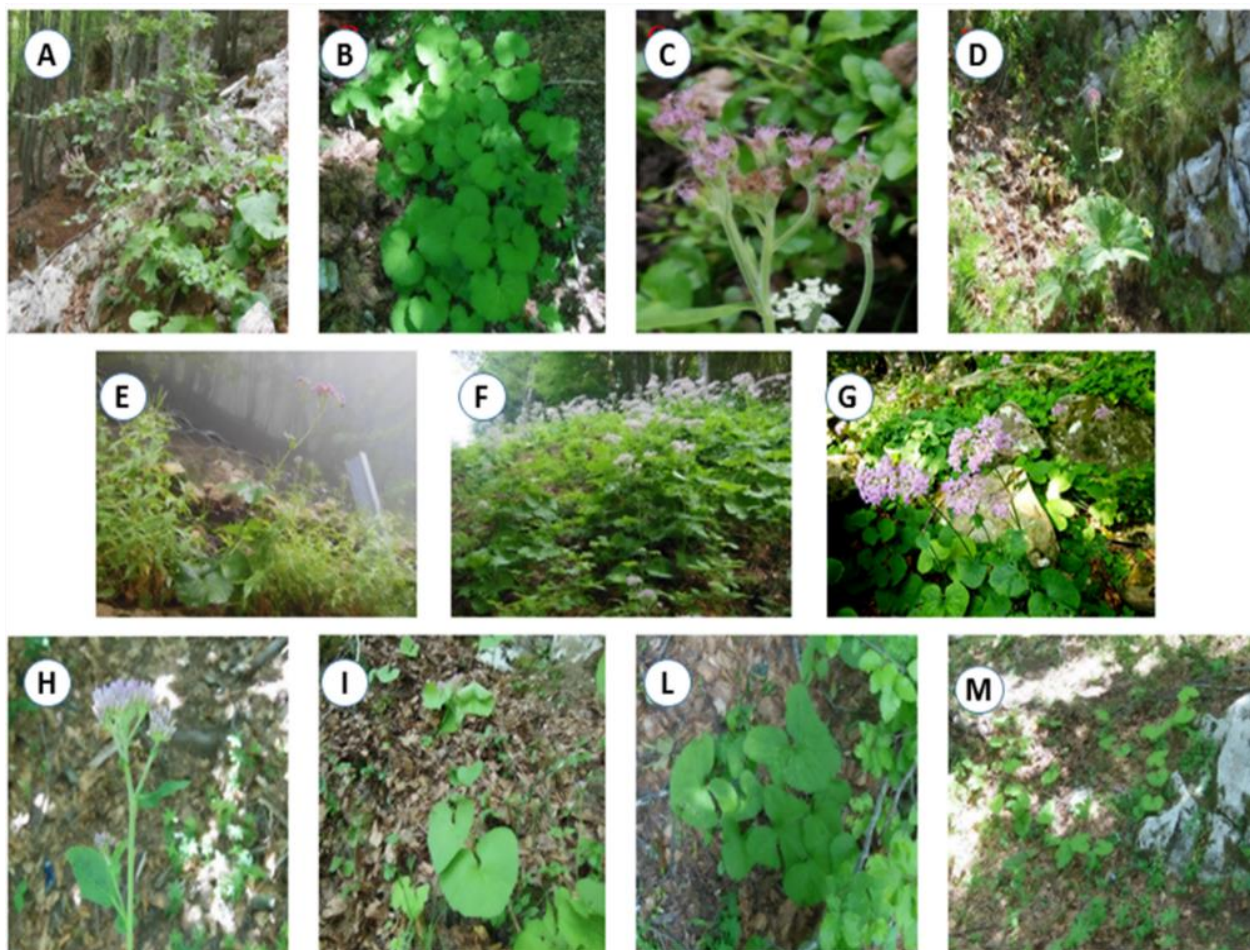


Figura 13. Individui di *Adenostyles* raccolti in Italia meridionale durante il secondo anno di ricerca, dall'alto verso il basso e da sinistra verso destra abbiamo: A) *A. australis*, Bosco di Chiaromonte; Parco Nazionale del Pollino, Basilicata; B) *A. alpina* subsp. *macrocephala*, Aspromonte, Calabria; C) *A. alpina* subsp. *macrocephala*, Sila, Calabria; D) *A. australis*, Mt. Cervati; Campania; E) *A. australis*, Mt. Gelbison; Campania; F) *A. australis*, Montevergine, Campania; G) *A. australis*, Mt. Campo, Molise; H) *A. australis*, Mt. Terminio, Campania; I) *A. australis*, Mt.S'Angelo, Campania; L) *A. australis*, Serra del Prete, Parco Nazionale del Pollino, Basilicata; M) *A. australis*, Varco Pollino, Calabria. (Foto di Filippo Scafidi).

Tabella 2. Elenco delle popolazioni utilizzate nelle analisi morfologiche.

Taxon	Località
<i>Adenostyles alpina</i> subsp. <i>macrocephala</i>	Calabria, Mt Botte Donato
<i>A. alpina</i> subsp. <i>macrocephala</i>	Calabria, Torrente Telese, Gambarie
<i>A. australis</i>	Campania, Mt. Cervati Salerno.
<i>A. australis</i>	Campania, Montevergine
<i>A. australis</i>	Campania, Mt. Terminio
<i>A. australis</i>	Campania, Mt. S. Angelo a Tre Pizzi
<i>A. australis</i>	Basilicata, Bosco di Chiaromonte
<i>A. australis</i>	Molise, Monte Campo
<i>A. australis</i>	Campania, Mt. Gelbison
<i>A. alpina</i> subsp. <i>nebrodensis</i> (Wagenitz & I. Müll.) Greuter	Sicilia, Passo della Botte

3.3. RISULTATI

L'analisi delle componenti principali (PCA) condotta sui caratteri quantitativi continui (Fig. 14), ha discriminato, lungo il primo asse, 3 gruppi principali di popolazioni riconducibili ad *A. australis*, *A. alpina* subsp. *macrocephala* ed *A. alpina* subsp. *nebrodensis*. Quest'ultima viene rappresentata più vicina al gruppo di *A. australis*. Lungo il secondo asse non si discriminano i due gruppi di popolazioni di *A. australis* e le 2 popolazioni di *A. alpina* subsp. *macrocephala* provenienti da Mt. Botte Donato e da Gambarie.

La varianza spiegata dal primo asse è il 74%, mentre per il secondo asse solo il 10%.

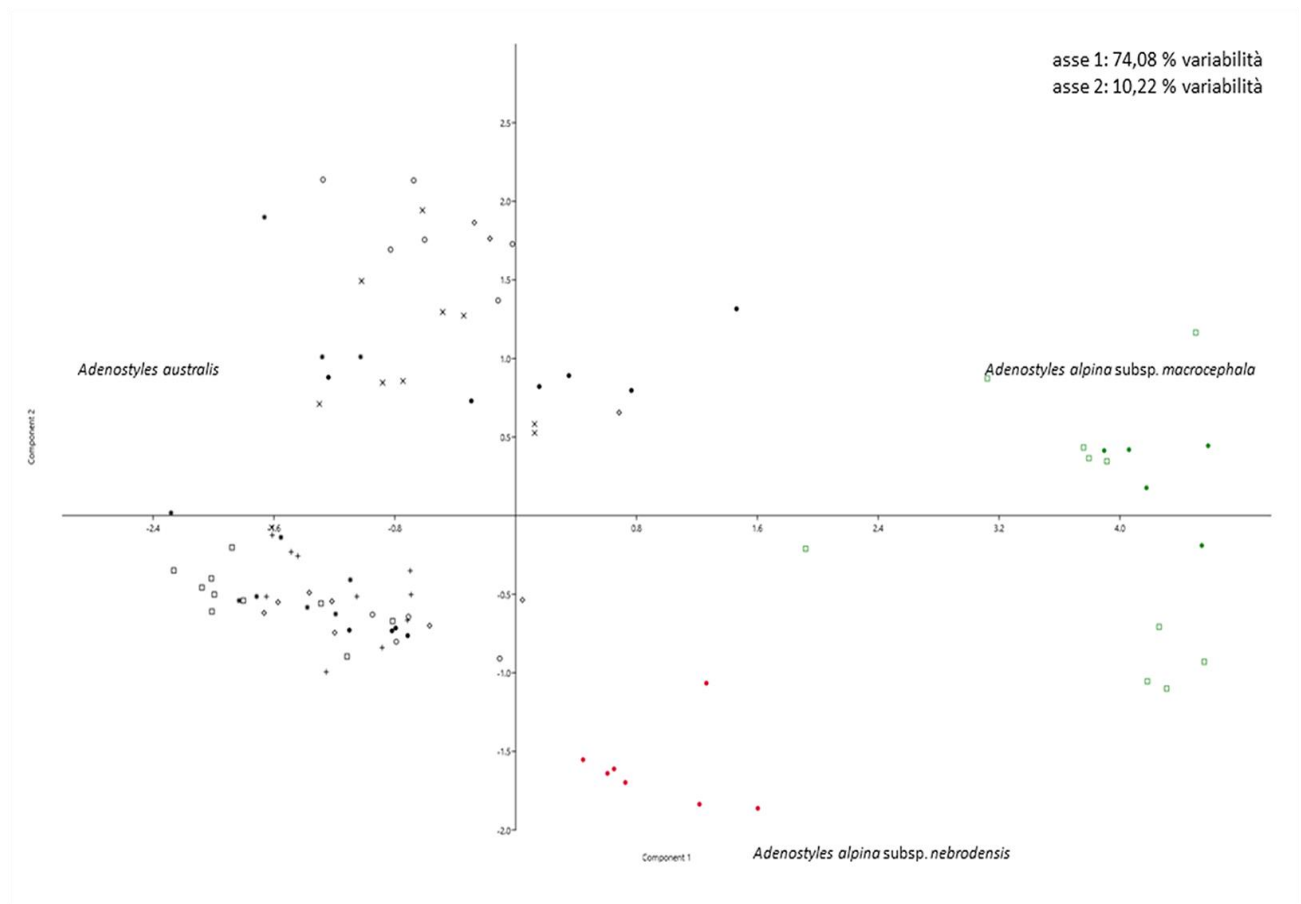


Figura 14. L'analisi delle componenti principali (PCA) ottenuta mediante l'inclusione dei 21 caratteri quantitativi continui analizzati in questo studio.

La DA (Fig. 15) condotta sui caratteri quantitativi e qualitativi (Fig. 16), ha discriminato come l'analisi delle componenti principali (PCA), 3 gruppi riconducibili ad *A. australis*, *A. alpina* subsp. *macrocephala* ed *A. alpina* subsp. *nebrodensis*, e anche con questi strumenti non si discrimina nessuna popolazione afferente sia ad *A. australis* sia ad *A. alpina* subsp. *macrocephala*.

La varianza spiegata dal primo asse è di circa 83%, mentre per il secondo asse solo il 6%.

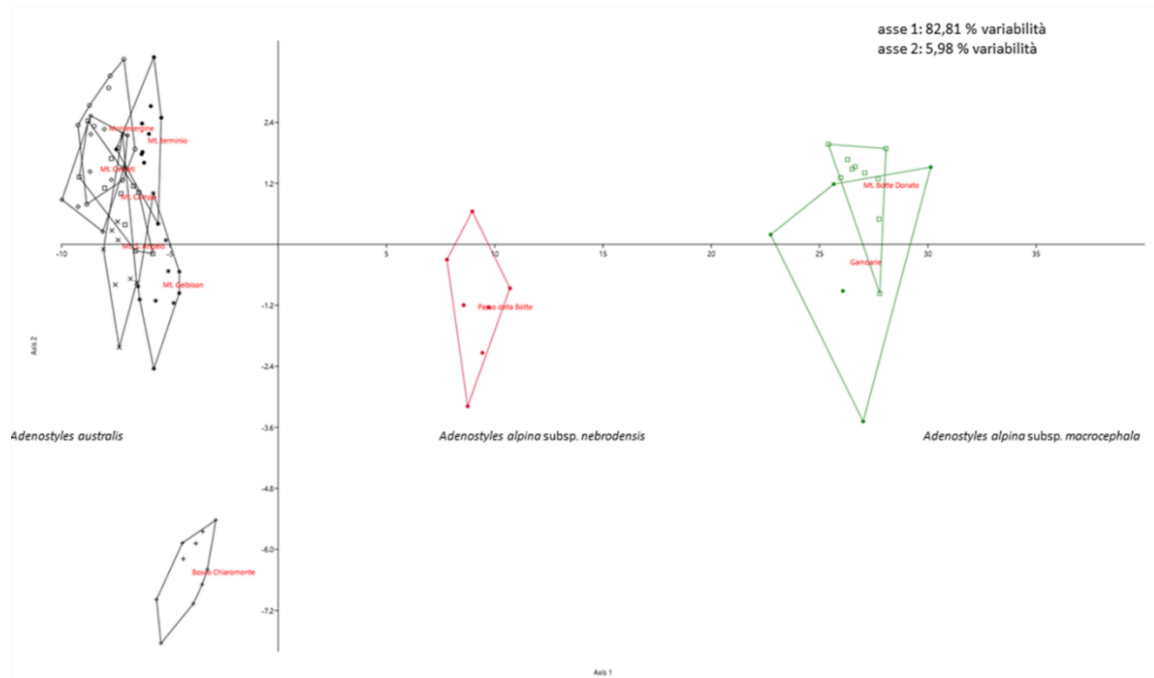


Figura 15. L'Analisi discriminante (DA) condotta sui caratteri quantitativi e qualitativi.

la PCoA condotta sui caratteri quantitativi e qualitativi (Fig.16), ha discriminato come l'analisi delle componenti principali (PCA) e l'analisi discriminante (DA), i 3 gruppi riconducibili ad *A. australis*, *A. alpina* subsp. *macrocephala* ed *A. alpina* subsp. *nebrodensis*, e anche con questa analisi non si discrimina nessuna popolazione afferente sia ad *A. australis* sia ad *A. alpina* subsp. *macrocephala*.

La varianza spiegata dal primo asse è di circa 65%, mentre per il secondo asse circa il 14%.

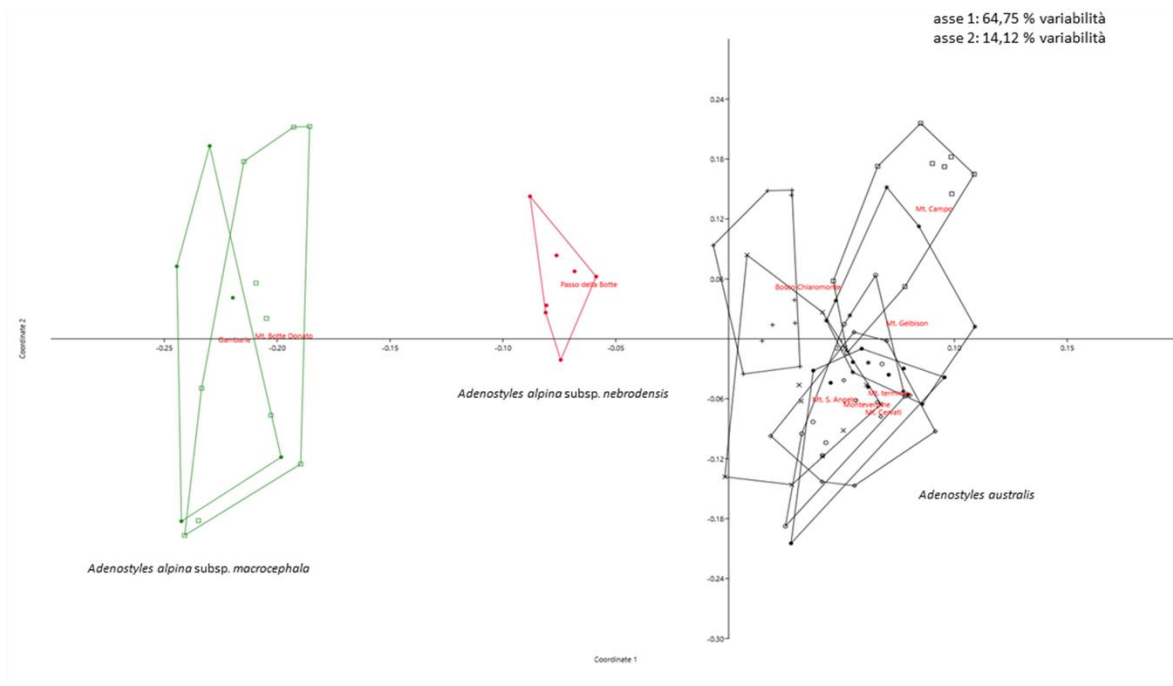


Figura 16. L'analisi delle coordinate principali (PCoA) condotta sui caratteri quantitativi.

I diagrammi degli estremi (box-plots) ottenuti mediante l'analisi di tutti i caratteri quantitativi (da Fig. 17 a Fig. 25) indicano una distinzione tra le tre specie in funzione della lunghezza del peduncolo portante il singolo capolino (Fig. 23A), del numero di capolini per peduncolo (Fig. 25B), della larghezza e lunghezza dell'involucro (Fig. 20A-B), del numero di brattee (Fig. 24A), del numero di fiori (Fig. 24B), della lunghezza del fiore (Fig. 21A), della lunghezza e larghezza della cipsela (Fig. 22B-C) e della lunghezza del pappo (Fig. 25A).

In questi diagrammi non si discriminano le popolazioni di *A. australis*, infatti in tutti i caratteri misurati si registra sempre una sovrapposizione dei valori.

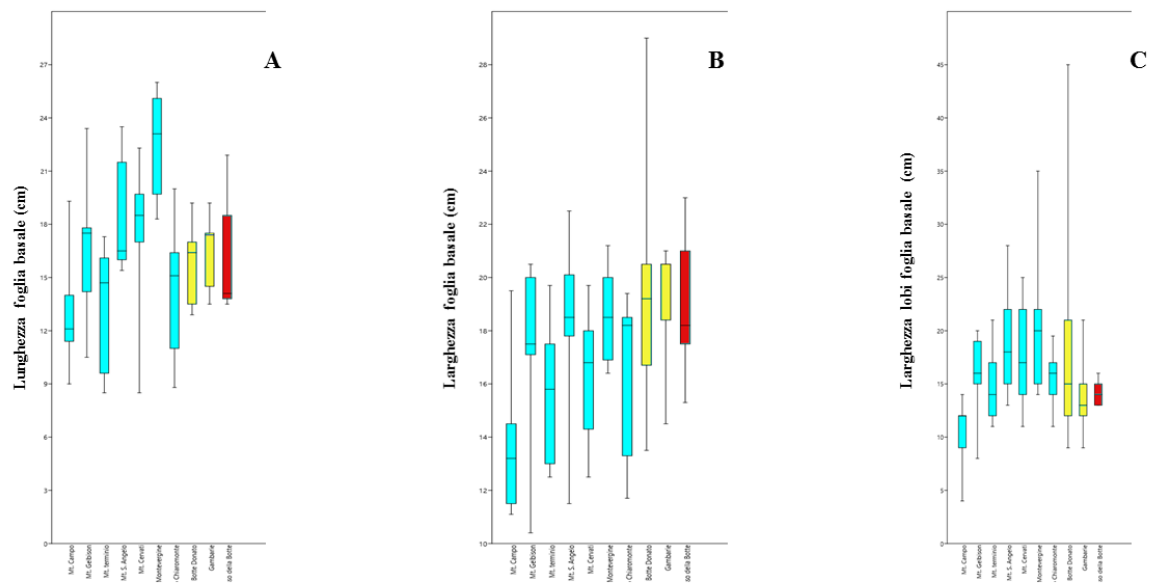


Figura 17. Boxplot: A) Lunghezza foglia basale (cm); B) Larghezza foglia basale (cm); C) Larghezza lobi foglia basale (cm).

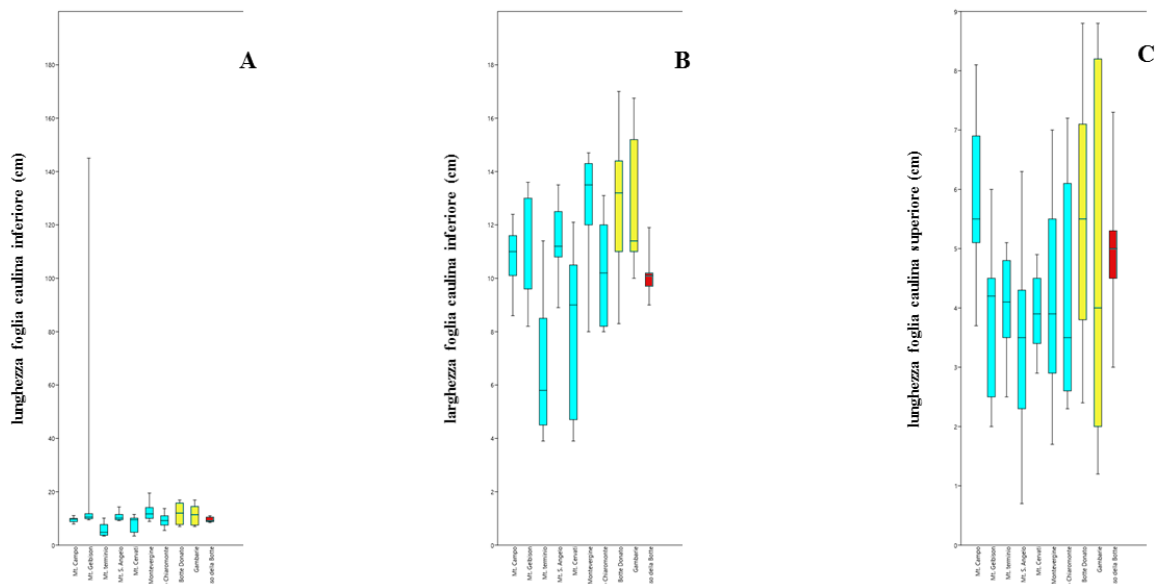


Figura 18. Boxplot: A) Lunghezza foglia caulina inferiore (cm); B) Larghezza foglia caulina inferiore (cm); C) Lunghezza foglia caulina superiore (cm).

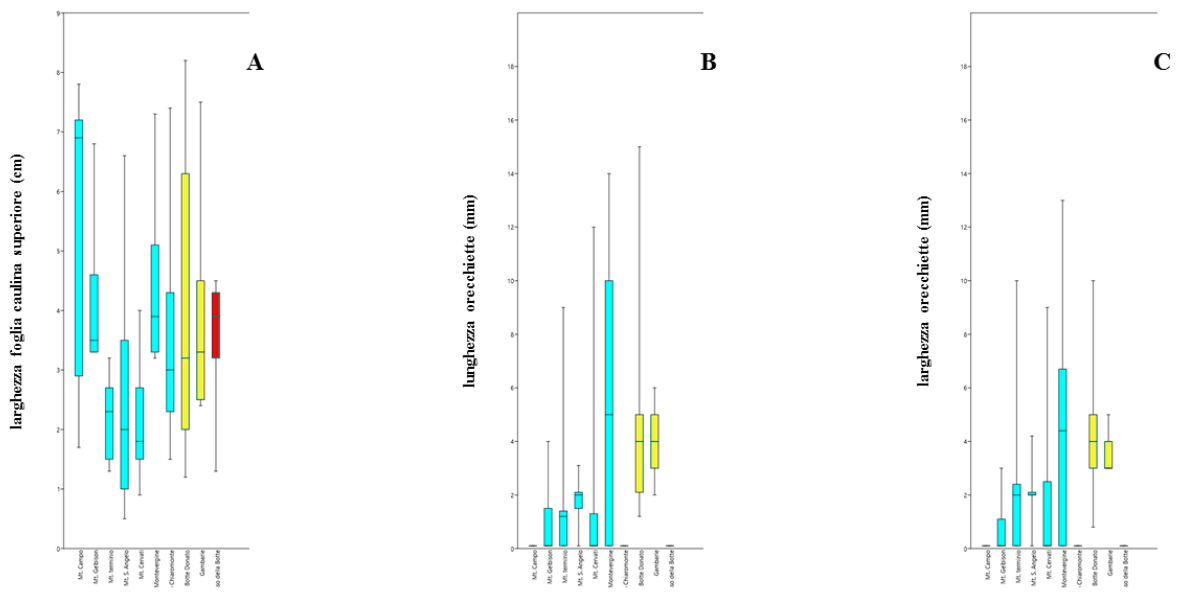


Figura 19. Boxplot: A) Larghezza foglia caulina inferiore (cm); B) Lunghezza orecchiette (mm); C) Larghezza orecchiette (mm).

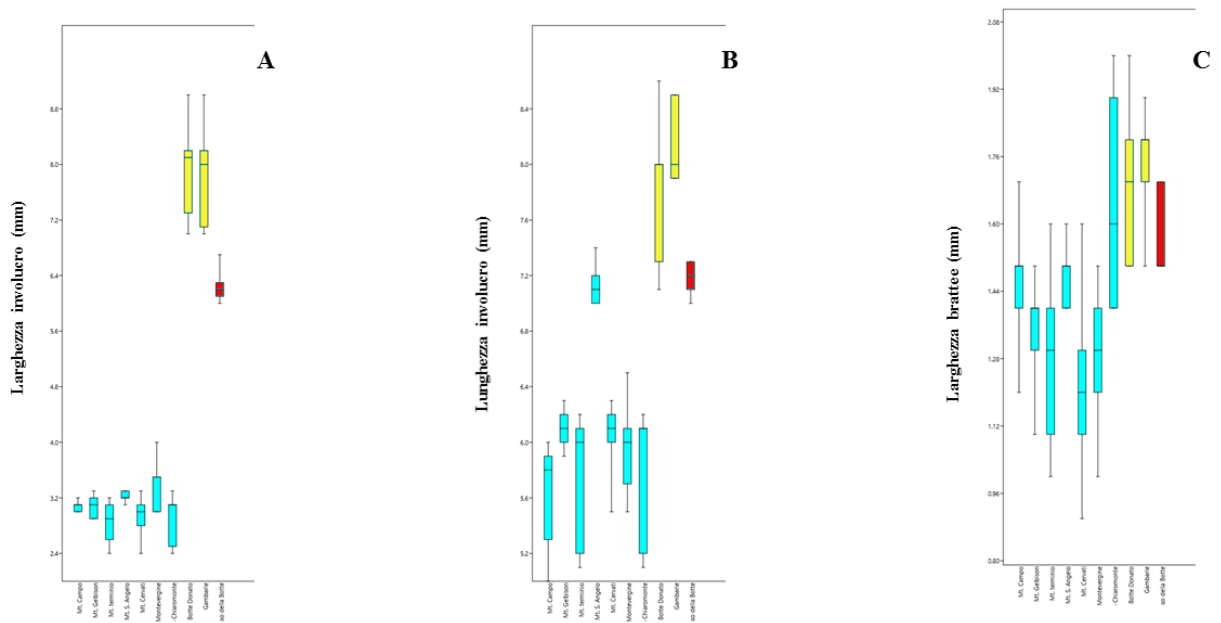


Figura 20. Boxplot: A) Lunghezza involucri (mm); B) Lunghezza involucri (mm); C) Lunghezza brattee (mm).

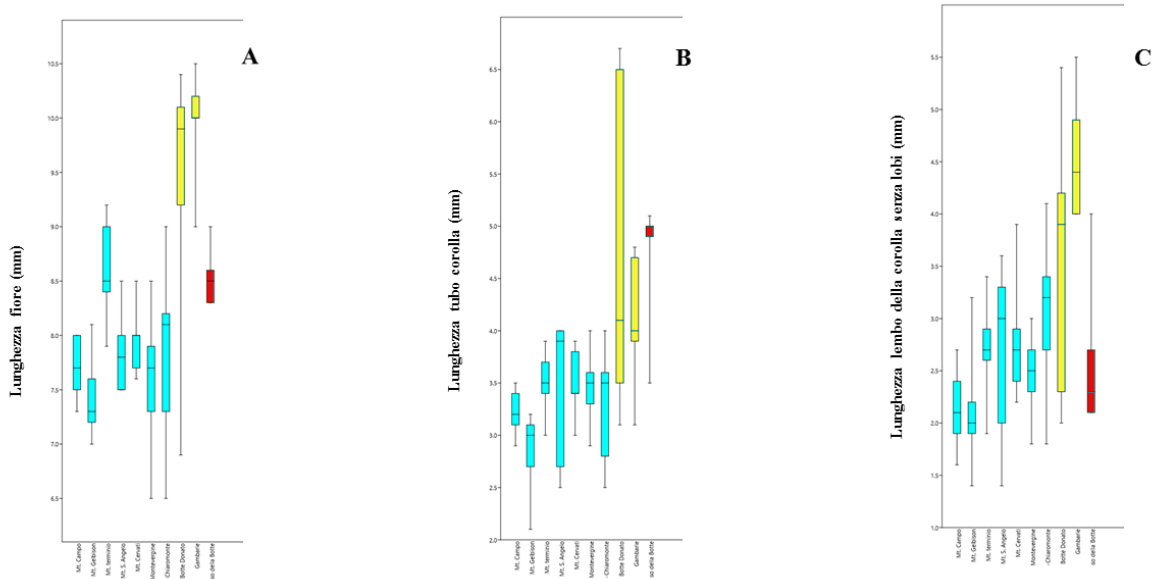


Figura 21. Boxplot: A) Lunghezza fiore (mm); B) Lunghezza tubo della corolla (mm); C) Lunghezza lembo della corolla senza lobi (mm).

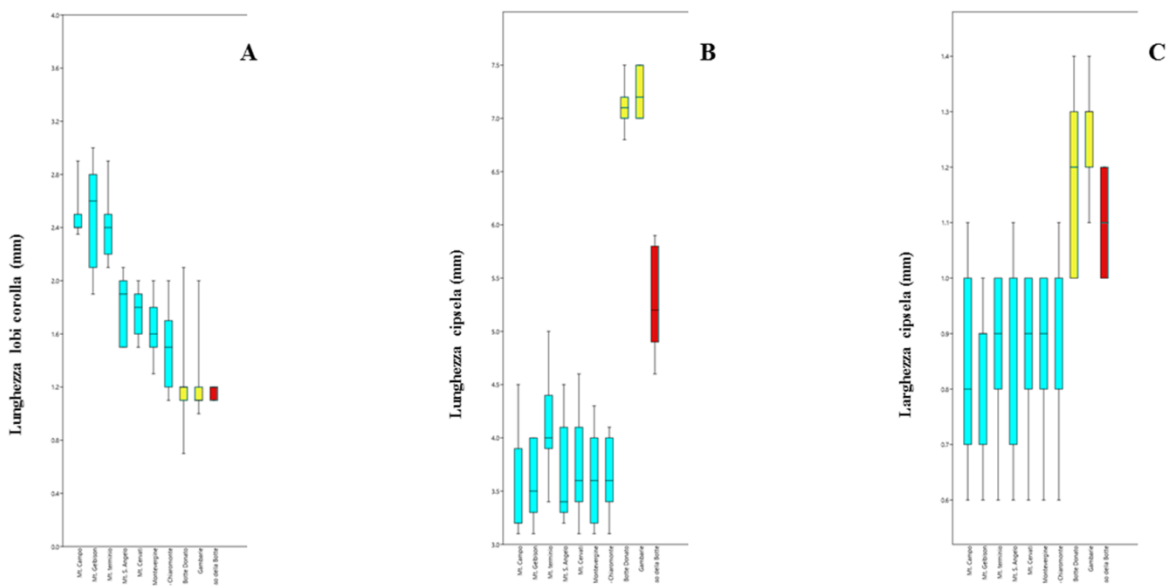


Figura 22. Boxplot: A) Lunghezza lobi della corolla (mm); B) Lunghezza cipsela (mm); C) Lunghezza cipsela (mm).

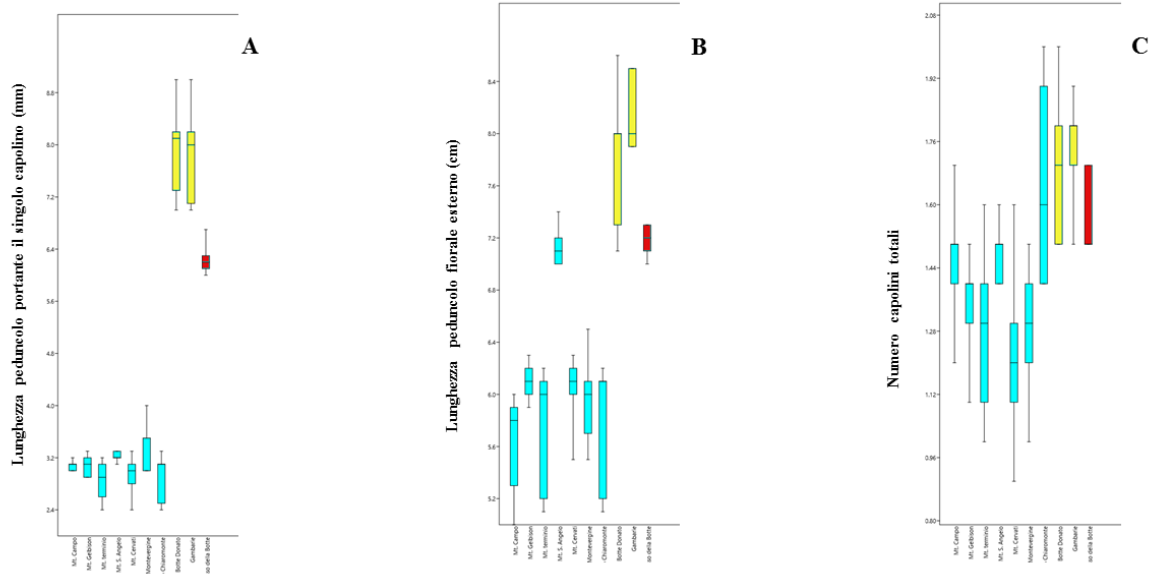


Figura 23. Boxplot: A) Lunghezza peduncolo portante il singolo capolino (mm); B) Lunghezza peduncolo florale esterno (mm); C) Numero capolini totali.

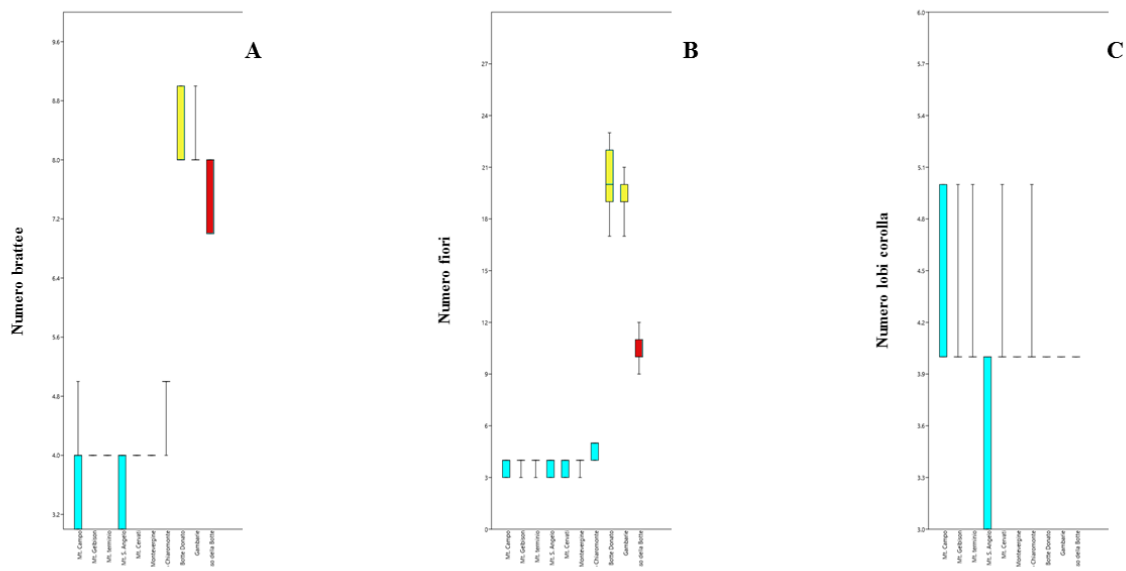


Figura 24. Boxplot: A) Numero brattee; B) Numero fiori; C) Numero lobi della corolla.

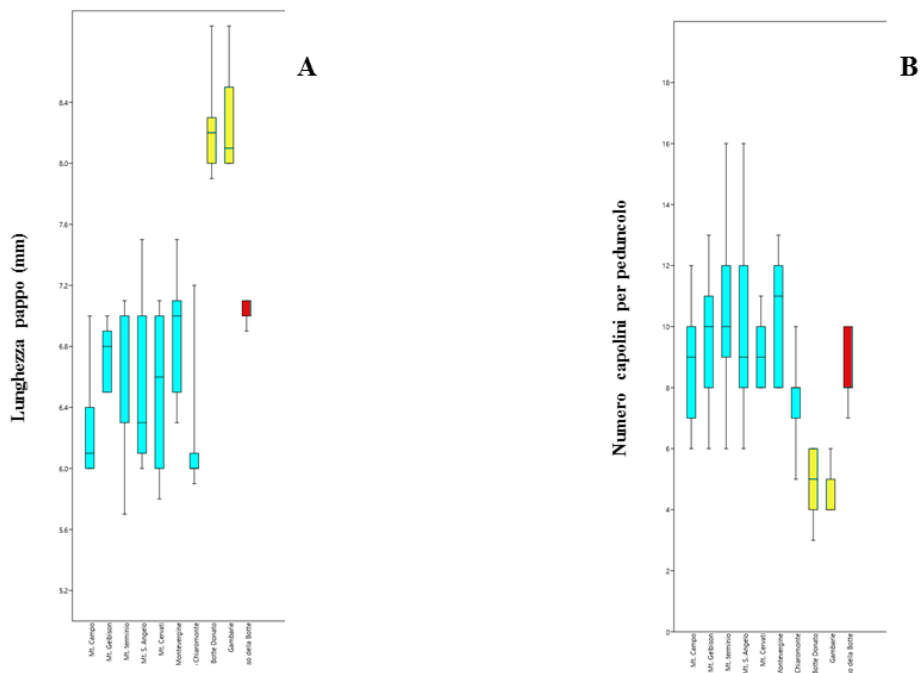


Figura 25. Boxplot: A) Lunghezza pappo; B) Numero capolini per peduncolo.

Le osservazioni al SEM hanno permesso di evidenziare come la tomentosità nella pagina inferiore sia un carattere variabile all'interno delle popolazioni e tra le popolazioni. Infatti, se da un parte le popolazioni di *A. alpina* subsp. *nebrodensis* e *A. alpina* subsp. *macrocephala*, sono caratterizzate da una fitta pubescenza soprattutto in corrispondenza delle nervature fogliari, tale carattere non risulta essere costante nelle popolazioni di *A. australis*, in quanto alcuni individui presentano una fitta pubescenza su tutta la pagina inferiore, altri hanno singoli peli isolati (Fig. 26).

La pagina superiore è completamente glabra in *A. alpina* subsp. *nebrodensis*, pubescente in *A. alpina* subsp. *macrocephala*, glabra o con peli sporadici sull'intera lamina o concentrati lungo le nervature nelle popolazioni di *A. australis* (Fig. 27).

Le osservazioni hanno permesso di accertare, su entrambe le pagine della foglia, la presenza di peli semplici pluricellulari escludendo per tutti i taxa indagati la presenza di peli stellati (Fig. 26-27).

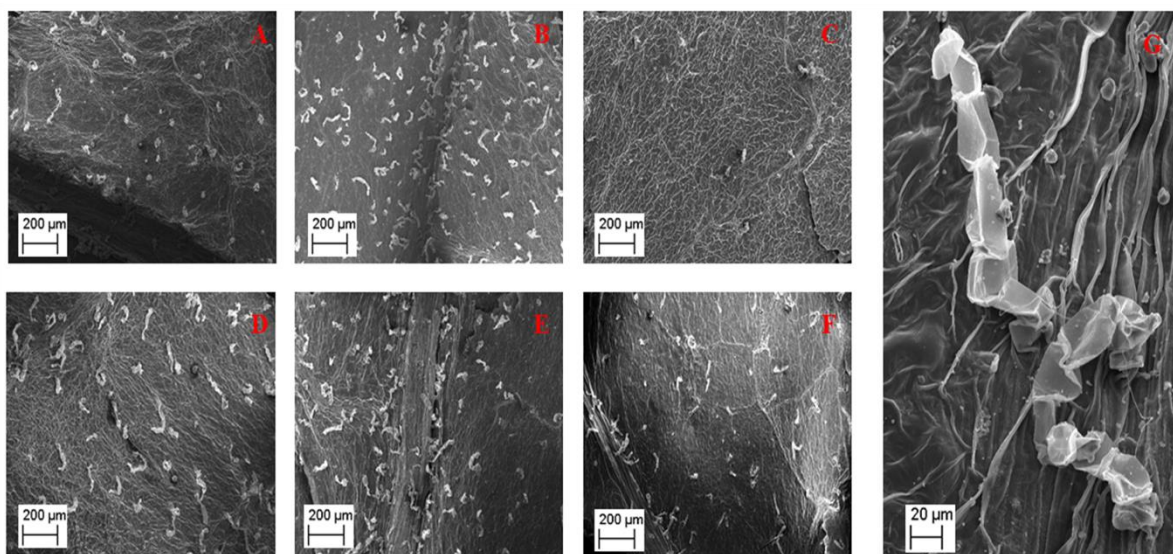


Figura 26. Particolare della pagina inferiore osservata al SEM. A-B-C-D) *A. australis*. E) *A. alpina* subsp. *nebrodensis*. F) *A. alpina* subsp. *macrocephala*. G) Particolare del pelo semplice pluricellulare.

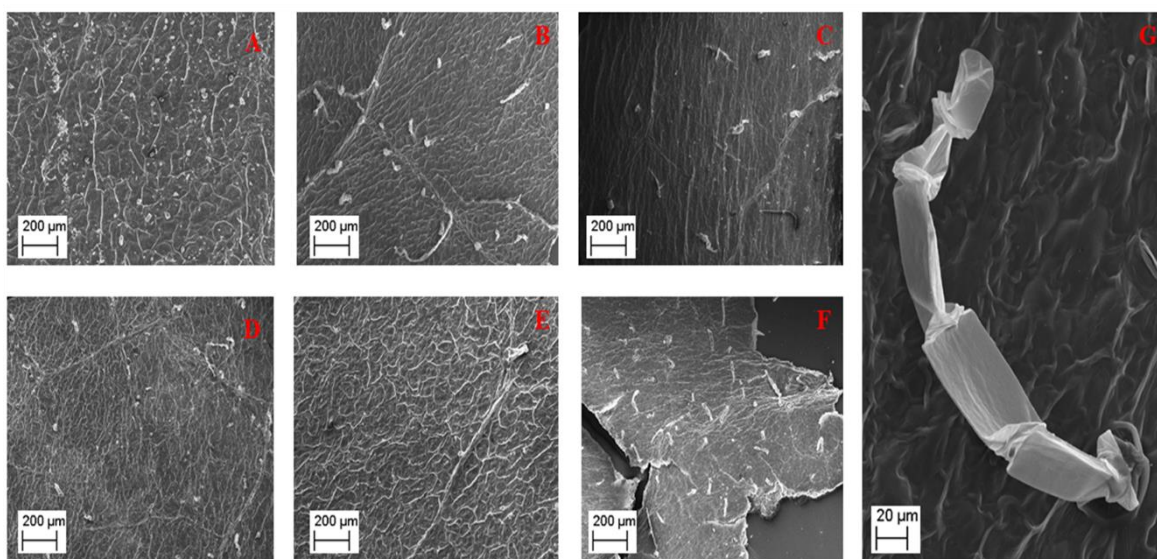


Figura 27. Particolare della pagina superiore osservata al SEM. A-B-C-D) *A. australis*. E) *A. alpina* subsp. *nebrodensis*. F) *A. alpina* subsp. *macrocephala*. G) Particolare del pelo semplice pluricellulare.

4. OBIETTIVO III

“INDAGINE FILOGENETICA SUL GRUPPO DI *A. ALPINA* IN ITALIA MERIDIONALE”

4.1. INTRODUZIONE

La sistematica, definita anche come lo studio della diversità degli organismi viventi e delle relazioni che intercorrono tra loro (Simpson, 1961), è la scienza che studia e classifica tutti gli essere viventi e spesso viene chiamata anche Tassonomia. Tale nome, fu proposto per la prima volta dal botanico svizzero De Candolle, usato, in senso appropriato, per indicare a qualsiasi categoria sistematica.

Un punto da tenere in considerazione è la distinzione tra Tassonomia e Classificazione, di fatti, quest'ultima si limita al semplice riconoscimento o identificazione di un organismo e al suo collocamento in una particolare categoria sistematica predisposta in precedenza dalla Tassonomia (Gerola 1978), che è appunto teoria e pratica di descrivere, identificare e classificare gli organismi (Mayr, 1969), e si occupa della definizione degli individui a differenti livelli.

La filogenesi, invece, è la disciplina che si propone di ricostruire i legami di parentela (filogenetici) tra famiglie, ordini e classi, basati principalmente sullo studio di caratteri morfologici, biochimici e citotassonomici.

Uno degli aspetti più innovativi degli ultimi anni è stato l'applicazione dello studio delle macromolecole biologiche alla risoluzione dei problemi filogenetici. Tale branca viene genericamente definita “Sistematica molecolare” e la componente molecolare si identifica fonamentalmente con lo studio dei tre differenti genomi presenti nella cellula vegetale: quello nucleare, quello plastidiale e quello mitocondriale (Abbate et al. 2011).

Negli anni 90' l'applicazione della reazione di polimerizzazione a catena PCR ha ulteriormente rivoluzionato l'approccio sperimentale e ha ridotto enormemente il tempo necessario per la produzione di dati di sistematica molecolare, rivoluzionando l'approccio a molti problemi di natura biologica. (Mullis et al. 1986; Mullis & Faloona 1987; Mullis 1990).

La PCR è una tecnica che si basa sul principio della replicazione semiconservativa del DNA ed il risultato di questo processo è la formazione di due molecole figlie di DNA a doppia elica, identiche tra loro e composte da un filamento parentale e da un filamento di DNA complementare di nuova sintesi, partendo da un'unica sequenza di DNA.

Per ottenere questi risultati i passaggi della PCR sono i seguenti: denaturazione al calore di uno stampo di DNA che deve essere copiato, appaiamento (annealing) di coppie di oligonucleotidi di sequenza specifica (primer) scelti in modo da essere omologhi a sequenze che si trovano all'interno dello stampo di DNA e allungamento da parte della DNA polimerasi a partire dai primer, per copiare lo stampo di DNA. Nella reazione devono essere presenti i nucleotidi (dNTP) e tutti gli altri elementi di una reazione di polimerasi.

L'enzima che catalizza la polimerizzazione delle catene polinucleotidiche è la Taq polimerasi estratta dal *Thermophilus aquaticus*.

L'impiego della PCR consente quasi sempre di evitare il clonaggio della regione di DNA da analizzare e ha semplificato le procedure di sequenziamento del DNA, rendendo tale approccio il metodo di elezione negli studi di sistematica molecolare. (Abbate et al. 2011).

4.2. MATERIALI E METODI

In totale sono state analizzate 35 sequenze relative ai 5 taxa (Tab. 3) inclusi nelle analisi filogenetiche, con informazioni sui campioni utilizzati, i codici d'identificazione ed il relativo numero di accesso della sequenza EMBL/Genbank.

Dodici di queste, riportate in Appendice, sono state sequenziate per la prima volta da materiale vivo campionato nel sud Italia (Tab. 1, Fig. 12) mentre le rimanenti 23, sono state già pubblicate da Dillenberger & Kadereit (2013).

Tabella 3. Elenco dei campioni delle specie di *Adenostyles* analizzati, con le relative località di provenienza e codice d'identificazione.

Specie	Località di provenienza	Codice d'Identificazione	Origine	Gene- Bank n (ITS,ETS, <i>ndhF-rpl32</i>)
<i>A. alpina</i> subsp. <i>briquetii</i>	Corsica	<i>A. alpina</i> subsp. <i>briquetii</i> 1	Dillenberger & Kadereit (2013)	KC784456, KC784506, KC784651
<i>A. alpina</i> subsp. <i>briquetii</i>	Corsica	<i>A. alpina</i> subsp. <i>briquetii</i> 2	Dillenberger & Kadereit (2013)	KC784457, KC784507, KC784557
<i>A. alpina</i> subsp. <i>briquetii</i>	Corsica	<i>A. alpina</i> subsp. <i>briquetii</i> 3	Dillenberger & Kadereit (2013)	KC784458, KC784508, KC784605

<i>A. alpina</i> subsp. <i>alpina</i>	Hohe Wand, Austria	<i>A. alpina</i> subsp. <i>alpina</i> 1	Dillenberger & Kadereit (2013)	KC784394, KC784442, KC784591
<i>A. alpina</i> subsp. <i>alpina</i>	Alpi Apuane, Italia	<i>A. alpina</i> subsp. <i>alpina</i> 2	Dillenberger & Kadereit (2013)	KC784391, KC784439, KC784588
<i>A. alpina</i> subsp. <i>alpina</i>	Mt. Ventoux, Francia	<i>A. alpina</i> subsp. <i>alpina</i> 3	Dillenberger & Kadereit (2013)	KC784440, KC784490, KC784589,
<i>A. alpina</i> subsp. <i>alpina</i>	Coul du Galibier, Francia	<i>A. alpina</i> subsp. <i>alpina</i> 4	Dillenberger & Kadereit (2013)	KC784453, KC784503, KC784601
<i>A. alpina</i> subsp. <i>alpina</i>	Berchtesgaden Alps, Germania	<i>A. alpina</i> subsp. <i>alpina</i> 5	Dillenberger & Kadereit (2013)	KC784454, KC784504, KC784602
<i>A. alpina</i> subsp. <i>alpina</i>	Lago di Como, Italia	<i>A. alpina</i> subsp. <i>alpina</i> 6	Dillenberger & Kadereit (2013)	KC784463, KC784513, KC784610
<i>A. alpina</i> subsp. <i>alpina</i>	Lanciano, Abruzzo	<i>A. alpina</i> subsp. <i>alpina</i> 7	Dillenberger & Kadereit (2013)	KC784449, KC784499, KC784644
<i>A. alpina</i> subsp. <i>alpina</i>	Alpi Auane, Italia	<i>A. alpina</i> subsp. <i>alpina</i> 8	Dillenberger & Kadereit (2013)	KC784448, KC784498, KC784597
<i>A. alpina</i> subsp. <i>alpina</i>	Berchtesgaden Alps, Germania	<i>A. alpina</i> subsp. <i>alpina</i> 9	Dillenberger & Kadereit (2013)	KC784455, KC784505, KC784603
<i>A. alpina</i> subsp. <i>alpina</i>	Sonnwendstein, Austria	<i>A. alpina</i> subsp. <i>alpina</i> 10	Dillenberger & Kadereit (2013)	KC784443, KC784493, KC784592
<i>A. alpina</i> subsp. <i>alpina</i>	Lago di Garda, Italia	<i>A. alpina</i> subsp. <i>alpina</i> 11	Dillenberger & Kadereit (2013)	KC784444, KC784494, KC784593
<i>A. alpina</i> subsp. <i>alpina</i>	Alpi Marittime, Francia	<i>A. alpina</i> subsp. <i>alpina</i> 12	Dillenberger & Kadereit (2013)	KC784438, KC784488, KC784587
<i>A. alpina</i> subsp. <i>alpina</i>	Karawanks, Austria	<i>A. alpina</i> subsp. <i>alpina</i> 13	Dillenberger & Kadereit (2013)	KC784447, KC784497, KC784596
<i>A. australis</i>	Bosco di Chiaromonte, Italia	<i>A. australis</i> 1	<i>Materiale fresco</i>	
<i>A. australis</i>	Mt. S. Angelo a Tre Pizzi, Italia	<i>A. australis</i> 2	<i>Materiale fresco</i>	
<i>A. australis</i>	Mt. Terminio, Italia	<i>A. australis</i> 3	<i>Materiale fresco</i>	
<i>A. australis</i>	Mt. Cervati, Italia	<i>A. australis</i> 4	<i>Materiale fresco</i>	
<i>A. australis</i>	Varco Pollino, Italia	<i>A. australis</i> 5	<i>Materiale fresco</i>	
<i>A. australis</i>	Montevergine, Italia	<i>A. australis</i> 6	<i>Materiale fresco</i>	
<i>A. australis</i>	Mt. Gelbison, Italia	<i>A. australis</i> 7	<i>Materiale fresco</i>	
<i>A. australis</i>	Monte Campo, Italia	<i>A. australis</i> 8	<i>Materiale fresco</i>	
<i>A. australis</i>	Serra del Prete, Italia	<i>A. australis</i> 9	<i>Materiale fresco</i>	
<i>A. alpina</i> subsp. <i>macrocephala</i>	Gambarie, Italia	<i>A. macrocephala</i> 1		KC784433, KC784483, KC784582,
<i>A. alpina</i> subsp. <i>macrocephala</i>	Gambarie, Italia	<i>A. macrocephala</i> 2	<i>Materiale fresco</i>	
<i>A. alpina</i> subsp. <i>macrocephala</i>	Mt. Botte Donato, Italia	<i>A. macrocephala</i> 3	<i>Materiale fresco</i>	
<i>A. alpina</i> subsp. <i>nebrodensis</i>	Passo della Botte, Sicilia, Italia	<i>A. nebrodensis</i> 1	<i>Materiale fresco</i>	
<i>A. alpina</i> subsp. <i>nebrodensis</i>	Passo della Botte, Sicilia, Italia	<i>A. nebrodensis</i> 2	Dillenberger & Kadereit (2013)	KC784459, KC784509, KC784606
<i>A. alpina</i> subsp. <i>nebrodensis</i>	Passo della Botte, Sicilia, Italia	<i>A. nebrodensis</i> 3	Dillenberger & Kadereit (2013)	KC784460, KC784510, KC784607
<i>A. alpina</i> subsp. <i>pyrenaica</i>	Cordillera Cantabrica, Picos de Europa, Spagna	<i>A. alpina</i> subsp. <i>pyrenaica</i> 1	Dillenberger & Kadereit (2013)	KC784435, KC784485, KC784584
<i>A. alpina</i> subsp. <i>pyrenaica</i>	Pirenei, Francia	<i>A. alpina</i> subsp. <i>pyrenaica</i> 2	Dillenberger & Kadereit (2013)	KC784436, KC784486, KC784585
<i>A. alpina</i> subsp. <i>pyrenaica</i>	Pirenei Occidentali, Francia	<i>A. alpina</i> subsp. <i>pyrenaica</i> 3	Dillenberger & Kadereit (2013)	KC784487, KC784536, KC784632
<i>A. alpina</i> subsp. <i>pyrenaica</i>	Pirenei Occidentali, Francia	<i>A. alpina</i> subsp. <i>pyrenaica</i> 4	Dillenberger & Kadereit (2013)	KC784487, KC784536, KC784600
<i>Iranecio taraxacifolius</i>	Caucaso Minore, Georgia	<i>Iranecio taraxacifolius</i>	Dillenberger & Kadereit (2013)	KC784519, KC784470, KC784615

Il Dna genomico è stato estratto utilizzando il kit Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (Quiagen, Hilden, Germany), con un protocollo opportunamente modificato, al fine di ottimizzare l'estrazione e la qualità del prodotto finale.

Protocollo d'estrazione DNeasy-like Plant DNA

Buffer AP1 – aka Lysis Buffer

10 mM Tris-HCl pH8.0
1 mM EDTA pH 8.0
0.1% SDS
0.1M NaCl
+1X PVP
+10mM DTT
+ RNasi (opzionale; aggiungere ghiaccio prima dell'uso).

Buffer AP2 – aka Protein Precipitation buffer

3M potassium / 5M acetate
made by adding:
60 ml of 5M potassium acetate (98.14 g in 200 ml dH2O)
11.5 ml of glacial acetic acid
28.5 ml dH2O
(no autoclave)

Buffer AP3/E – aka Binding buffer

1M Guanidine Hydrochloride (4.78 g GH in 50 mL 100% EtOH)
(no autoclave)

Buffer AW – aka Ethanol Wash

70% EtOH (no autoclave)

Buffer AE – aka Elution Buffer

TE Buffer
made of:
10 mM Tris-HCl, pH 8.0
1 mM EDTA, pH 8.0

Parte 1: omogenizzazione del tessuto vegetale

1. Una quantità pari a 20 mg di tessuto vegetale fresco proveniente dalle foglie è stato selezionato, prelevato ed inserito in una provetta da 2 ml con 1-2 perle di acciaio inox ed il tessuto vegetale è stato omogenizzato usando il TissueRuptor. A questa quantità sono stati aggiunti 400 µl di Buffer AP1
2. I tubi sono stati inseriti nel set di adattatori dell'omogenizzatore e fissati nei morsetti. I campioni sono stati macinati per 1 min a 30 Hz.
3. Smontaggio e inversione della posizione dei tubi. Macinatura ancora per 1 min a 30 Hz.

Parte 2: Preparazione del DNA

1. Incubazione della miscela per 10 min (minimo) a 65 ° C. Mescolamento 2-3 volte durante l'incubazione per l'inversione del tubo.
2. Aggiunzione di 130 µl di Buffer AP2 al lisato, mescolamento e incubazione per 10 minuti (minimo) sul ghiaccio.
3. Centrifugazione il lisato per 5 min a 14000 rpm.
4. Trasferimento della frazione flusso continuo in una provetta nuova, senza disturbare il pellet. (Circa 450 µl di lisato è tipicamente recuperato).
5. Aggiunzione di 1 volume di Buffer AP3 per eliminare il lisato e mescolare pipettando.
6. Applicazione di 650 µl della miscela, tra cui l'eventuale precipitato, alla colonna di spin che si trova in un tubo di raccolta da 2 ml. Centrifugazione per 1 min a 8000 rpm. Scartamento del flusso continuo. Riutilizzo del tubo di raccolta in una fase successiva.
7. Ripetizione del passaggio 6 con il campione rimanente. Scartamento del flusso continuo.
8. Aggiunzione di 500 µl di Buffer AW alla Spin Colonna e centrifugazione per 1 min a 8000 rpm. Scartamento del flusso continuo e riutilizzo del tubo di raccolta nel passaggio 9.
9. Rimozione con attenzione della Spin Colonna dal tubo di raccolta e suo trasferimento in una provetta di 1,5 o 2 ml e pipetta 100 µl di Buffer AE direttamente sulla membrana. Incubazione per 5 minuti a temperatura ambiente, quindi si centrifugazione a 6000 rpm per 1 minuto.
10. Ripetizione del passaggio 9. Conservazione del prodotto finale a -20 / -80 ° C (a lungo termine) o 4 ° C (a breve termine).

Infine, per valutare integrità e la concentrazione del DNA estratto, è stata effettuata una elettroforesi su gel di agarosio allo 0,8% in Tris-Borato-EDTA (TBE) con l'aggiunta di 1/100.000 del volume di Bromuro di Etidio (10 mg/mL).

Effettuata l'elettroforesi, il gel è stato osservato al transilluminatore (UV) e fotografato (Fig. 28).

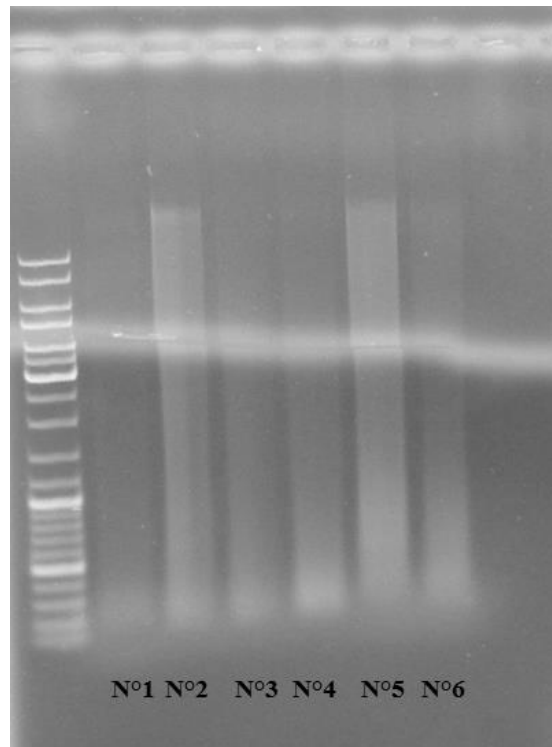


Figura 28. Risultato corsa elettroforetica dopo estazione DNA.

I marcatori molecolari utilizzati in questo studio sono: 2 marcatori nucleari (ITS ed ETS) e 1 marcatore plastidiale (*ndhF-rpl32*). L'amplificazione è stata un termociclature T-Professional (Biometra) utilizzando dei primer riportati in letteratura (Baldwin & Markos, 1998; Markos & Baldwin, 2001; Muir et al.; 2001; Shaw et al., 2007) secondo il protocollo riportato in Tabella 4, che ha inoltre, per ogni reazione di PCR, è stato allestito anche un campione che è servito da "controllo negativo" indicato con le lettere NG.

Le sequenze spaziatrici ITS (*internal transcribed sequence*) appartengono al nucleare e con esso costituiscono una frazione molto abbondante dell'intero genoma.

Essi sono compresi tra unità trascrizionali conservate di DNA ovvero 18 S, 5.8 S e 26 S e in media sono lunghe 600-800 bp (Fig. 29). Tali regioni essendo mediamente variabili e con un indice di conservazione adeguato sono adatte per individuare profili di relazioni filogenetiche in gruppi tassonomici più ristretti, come piccole famiglie e generi (Baldwin et al. 1995; Pelsner et al. 2002a; Steffen et al. 2016).

Le sequenze ETS (*external transcribed sequence*), appartengono alla stessa unità trascrizionale delle sequenze ITS ma sono comprese tra la fine del 26S e l'inizio del successivo 18S e in media sono lunghe circa 450-650 bp (Fig. 29), ed in genere hanno una sequenza notevolmente

conservata, utile per studi filogenetici di varie tribù (Baldwin & Markos 1998; Clevinger & Panero 2000; Markos & Baldwin 2001; Lee et al. 2002).

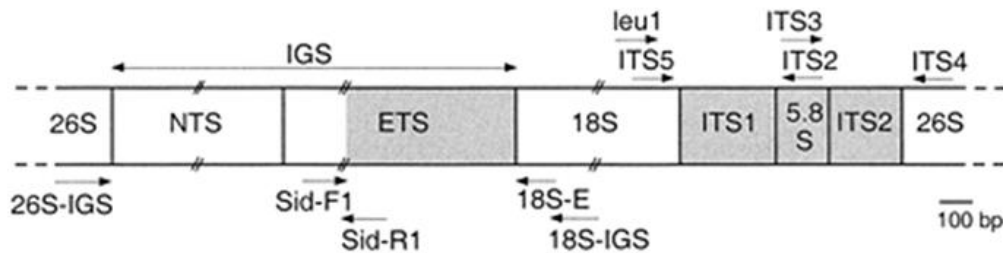


Figura 29. Localizzazione delle regioni ITS e ETS nel DNA ribosomiale (da Andreasen & Baldwin 2001).

Lo spaziatore intergenico *ndhF-rpl32* si trova nella regione SSC (Fig. 30) del genoma cloroplastico, adiacente alla regione *rpl32-trnL^(UAG)* (Fig. 31). Nella discendenza delle fanerogame indagata da Shaw et al. (2007), la lunghezza media di questo spaziatore è stato dimostrato essere di 960 bp ma il suo range può variare da 729 a 1254 bp. Time et al. (2007) hanno anche notato l'elevata variabilità di questo spaziatore in termini di indels e di sostituzioni nelle sequenze di *Lactuca* ed *Helianthus*, ed è così classificato tra le prime 25 divergenti regioni non codificanti. Larghi indels ad esempio sono stati osservati in *Gratiola* (260 bp), *Minuartia* (261 bp) e *Trillium* (596 bp, 178 bp).

Shaw et al. (2007) raccomandano questa regione per studi di basso-livello molecolare, specialmente quando è coamplificato con il marker adiacente *rpl32-trnL*. Insieme, queste due regioni hanno una lunghezza totale di circa 2 Kb.

Basandosi su queste osservazioni lo spaziatore *ndhF-rpl32*, potrebbe rivelarsi utile per studi a livello infragenerico e generico in molti taxa appartenenti alle *Asteraceae*, specialmente se è accoppiato con il più variabile spaziatore *rpl32-trnL*.

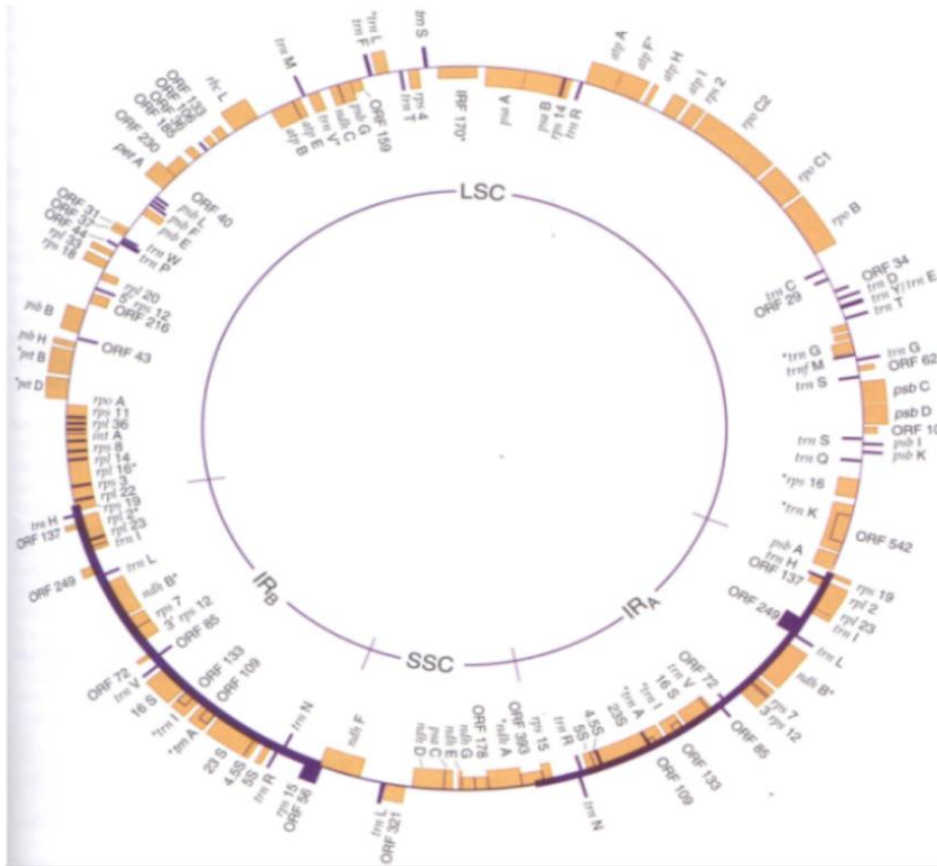


Figura 30. Rappresentazione del genoma plastidiale.

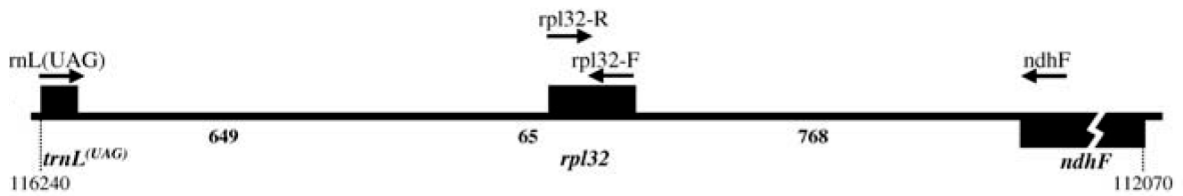


Figura 31. Rappresentazione grafica dello spaziatore intergenico *ndhF-rpl32* (Da Shaw et al. 2007).

Tabella 4. Protocollo della tecnica PCR.

Marker	Sequence dei Primer (5'-3')	Fonte Bibliografica	Ingredienti PCR	Nome Protocollo PCR	PCR Conditions
ITS	18S: CCT TMT CAT YTA GAG GAA GGA G 28S: CCG CTT ATT KAT ATG CTT AAA	Muir et al. (2001) Muir et al. (2001)	MgCl ₂ 0.48 mM Polymerasi 0.04 U/μl dNTPs 0.2 mM Primer 0.8 mM BSA 0.1 mg/ml	GI2-56	Pretrattamento: 94°C, 60s Denaturazione: 94°C, 18s Appaiamento: 52°C, 30s Estensione: 72°C, 60s Post trattamento: 52°C, 78s, 72°C, 8 min Cicli:35
ETS	AST1: CGG AAA GGT GCA TGA GTG GTG T 18S-ETS : ACT TAC ACA TGC ATG GCT TAA TCT	Markos & Baldwin (2001) Baldwin & Markos (1998)	Lo stesso degli ITS	Lo stesso degli ITS	Lo stesso degli ITS
<i>ndhF-rpl32</i>	<i>ndhF</i> : GAA AGG TAT KAT CCA YGM ATA TT <i>rpl32</i> : R CCA ATA TCC CTT YYT TTT CCA A	Shaw et al. (2007) Shaw et al. (2007)	MgCl ₂ 0.48 mM Polymerasi 0.04 U/μl dNTPs 0.2 mM Primer 0.8 mM BSA 0.8 mg/ml	Ramp 50-65	Pretrattamento: 80°C, 5 min Denaturazione: 95°C, 1 min Appaiamento: 50°C, 1 min Ramp: 65°C, 0.3C/s Estensione: 65°C, 4 min Post trattamento: 65°C, 5 min Cicli:35

I prodotti della PCR sono stati poi sottoposti ad elettroforesi su gel d'agarosio all'0,8% in TBE 1X con aggiunta di bromuro di etidio (10 mg/ml). Dopo la corsa elettroforetica il gel è stato visualizzato al transilluminatore al fine di valutare la concentrazione del prodotto di amplificazione e fotografato (Fig. 32)

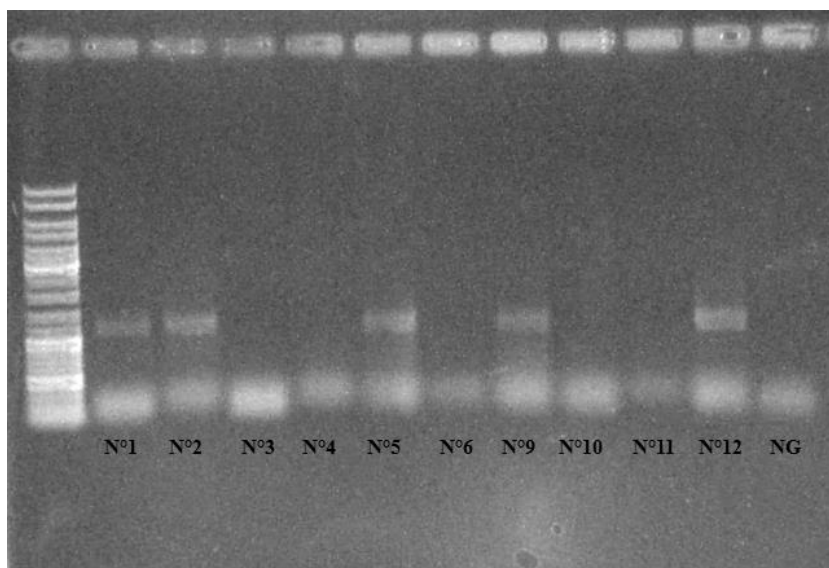


Figura 32. Risultato corsa elettroforetica, amplificazione marker molecolare *ndhF-rpl32*.

I frammenti amplificati sono stati successivamente purificati con ExoSap-IT PCR Clean-Up (Affimetrix, Santa Clara, California, USA) seguendo il seguente protocollo (Fig. 33):

Aggiungere 8 μ l di ExoSap a 25 μ l del prodotto amplificato, incubare il tutto a 15 min a 37 ° C, seguito da un periodo d'inattivazione enzimatica a 80 ° C per un ulteriore 15 min. Così la procedura di pulizia è completata entro 30 min e il prodotto di PCR è pronto per essere utilizzato in qualsiasi altra applicazione come il sequenziamento.

Infine i frammenti purificati sono stati inviati e sottoposti a sequenziamento presso la StarSEQ GmbH (Mainz, Germany).

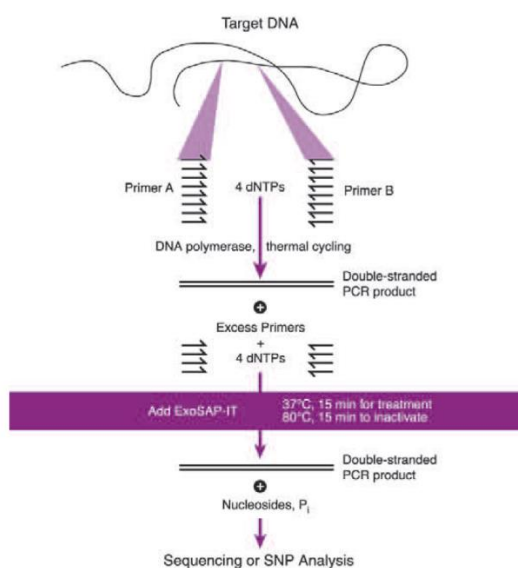


Figura 33. Rappresentazione grafica del protocollo ExoSap-IT PCR Clean-Up.

Gli elettroferogrammi delle sequenze sono stati letti separatamente dal lato forward e da quello reverse e confrontati al fine di ottenere una sequenza consenso e opportunamente modificati automaticamente mediante il software Sequencer 4.1.2 (Gene Codes Corporation, Ann Arbor, Michigan, USA), e manualmente tramite il software MacClade v.4.1 (Maddison & Maddison 2000) ed infine le sequenze ottenute sono state trasformate in matrice.

Successivamente le sequenze ottenute e riportate in sono state confrontate con quelle provenienti da banche dati (GenBank) per verificare l'attendibilità del lavoro svolto.

La matrice è stata poi analizzata ed elaborata mediante il software PAUP * v4.0b10 (Swofford, 2002) per la costruzione degli alberi filogenetici. In particolare, i dati sono stati sottoposti ad analisi euristica applicando il criterio della Massima Parsimonia (MP), che prende in considerazione le combinazioni di alberi che implicano il minor numero di sostituzioni, interpretate come possibili salti evolutivi.

La ricerca euristica è stata effettuata sui 35 campioni analizzati utilizzando l'algoritmo TBR (Three bisection-reconnection) ottenendo gli alberi filogenetici più parsimoniosi.

Da tali è stato ottenuto l'albero di stretto consenso che è stato successivamente sottoposto ad analisi di bootstrap (Falstenstein 1985), al fine di fornirne un supporto statistico.

L'analisi di *bootstrap* è stata calcolata in PAUP* usando 10000 repliche per ogni analisi.

L'albero di stretto consenso è stato visualizzato mediante software FigTree v1.4.2, riportando i relativi valori di *bootstrap*.

Nella costruzione dei cladogrammi per ciascun marcatore analizzato è stato inserito come outgroup *Iranecio taraxacifolius* (M. Bieb.) C. Jeffrey.

4.3. RISULTATI

CLADOGRAMMI ITS, ETS, NUCLEARE TOTALE (ITS+ETS)

Durante la ricerca euristica per il gene ITS, sono stati analizzati 680 caratteri per ciascuno dei 35 campioni analizzati. Di questi 408 caratteri sono risultati costanti, mentre 19 sono risultati non informativi per la ricerca parsimoniosa e solo 2 sono risultati informativi, trattando i gap come mancanza di dati.

Sono state effettuate 10000 repliche per ogni confronto, salvando gli alberi migliori per ogni replica. L'analisi filogenetica di parsimonia ha prodotto un solo albero ad eguale parsimonia (lunghezza = 27; CI (Indice di consistenza) = 0,77; HI (Indice di Omoplasia) = 0,22; escludendo i caratteri non informativi: CI = 0,25; HI = 0,75), successivamente sottoposto ad analisi di *bootstrap*.

I dati della matrice ETS per 35 campioni sono costituiti da 472 caratteri. Di questi 446 sono risultati costanti, mentre 11 sono risultati non informativi per la ricerca parsimoniosa e 15 sono risultati informativi, trattando i gaps come mancanza di dati.

Sono state effettuate 10000 repliche per ogni confronto, salvando gli alberi migliori per ogni replica. L'analisi filogenetica di parsimonia ha prodotto un solo albero ad eguale parsimonia (lunghezza = 32; CI (Indice di consistenza) = 0,84; HI (Indice di Omoplasia) = 0,15; escludendo i caratteri non informativi: CI = 0,76; HI = 0,23), successivamente sottoposto ad analisi di *bootstrap*.

I dati della matrice combina ITS+ETS per i 35 campioni analizzati sono costituiti da da 1152 caratteri. Di questi 1099 sono risultati costanti, mentre 24 sono risultati non informativi per la ricerca parsimoniosa e 29 sono risultati informativi, trattando i gaps come mancanza di dati.

Sono state effettuate 10000 repliche per ogni confronto, salvando gli alberi migliori per ogni replica. L'analisi filogenetica di parsimonia ha prodotto un solo albero ad eguale parsimonia (lunghezza = 68; CI (Indice di consistenza) = 0,79; HI (Indice di Omoplasia) = 0,26; escludendo i caratteri non informativi: CI = 0,68; HI = 0,31), successivamente sottoposto ad analisi di *bootstrap*.

Vengono di seguito riportati gli alberi filogenetici di stretto consenso ottenuti con i relativi valori di bootstrap (Fig. 34; Fig. 35; Fig. 36).

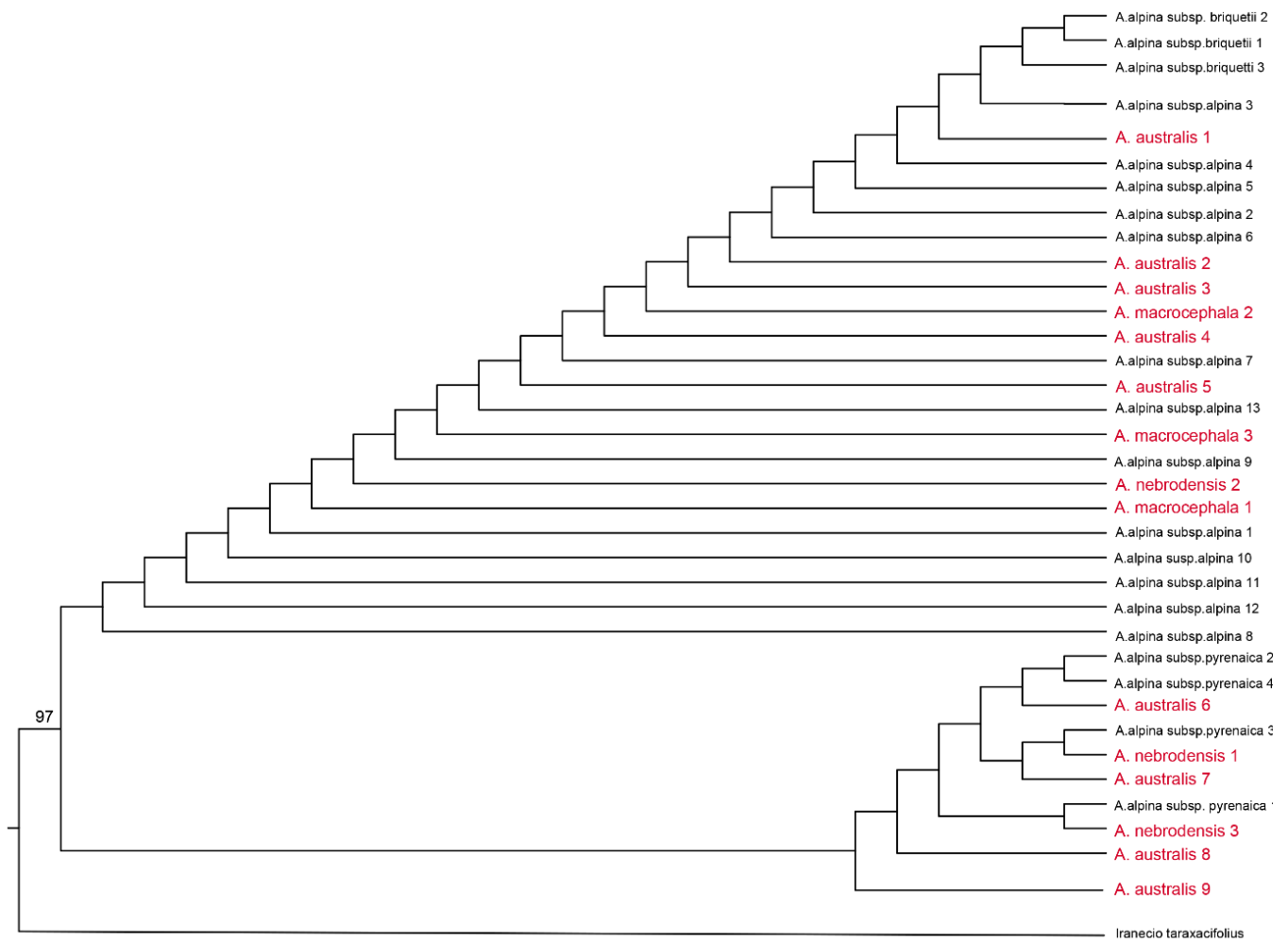


Figura 34. Il cladogramma a Massima Parsimonia (MP) ottenuto dall'analisi del marcatore ITS. I numeri riportati sopra i rami indicano i valori di *bootstrap* al disopra del 50%. I taxa in rosso vengono considerate specie in questione per la classificazione tassonomica.

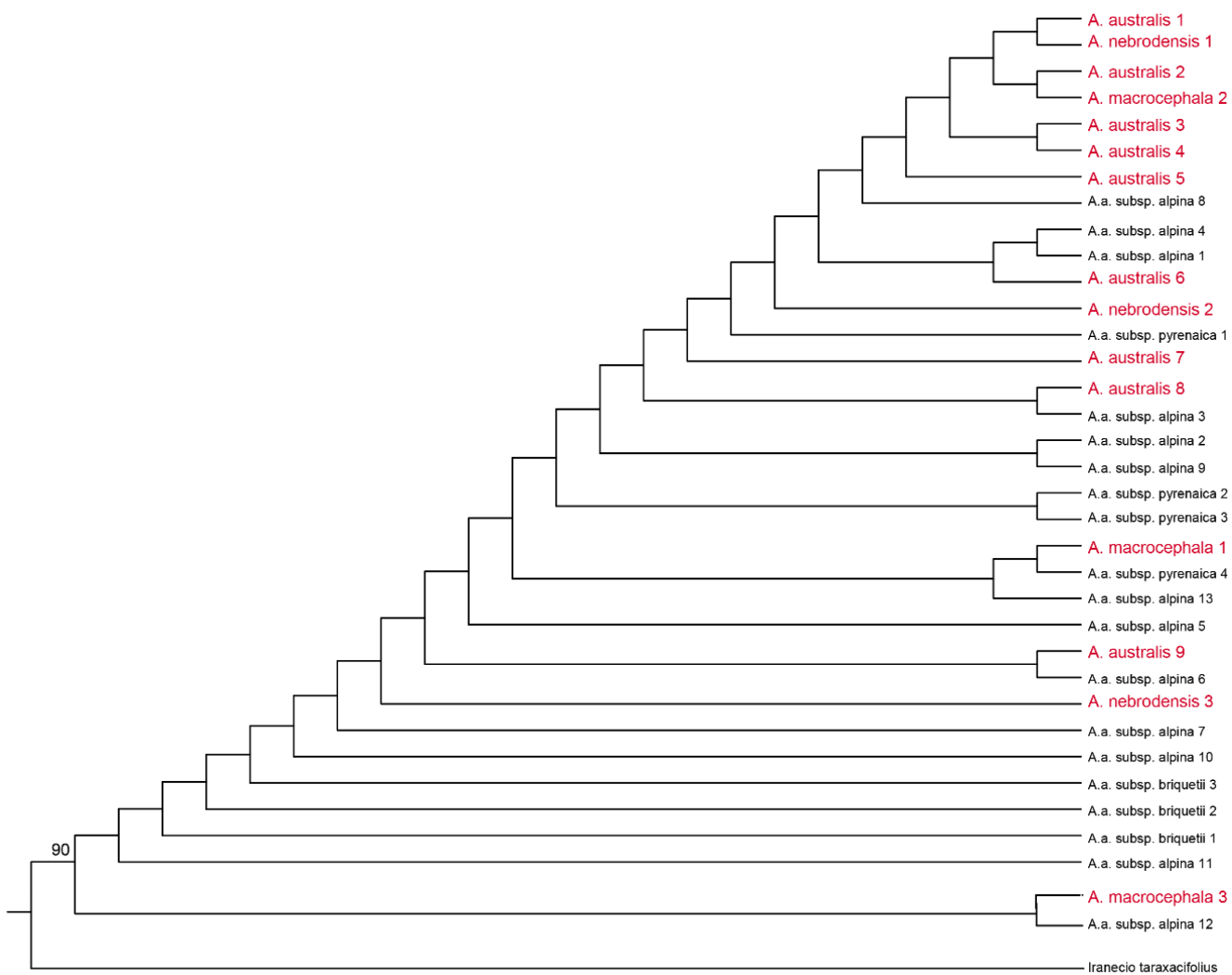


Figura 35. Il cladogramma a Massima Parsimonia (MP) ottenuto dall'analisi del marcatore ETS. I numeri riportati sopra i rami indicano i valori di *bootstrap* al disopra del 50%. I taxa in rosso vengono considerate specie in questione per la classificazione tassonomica.

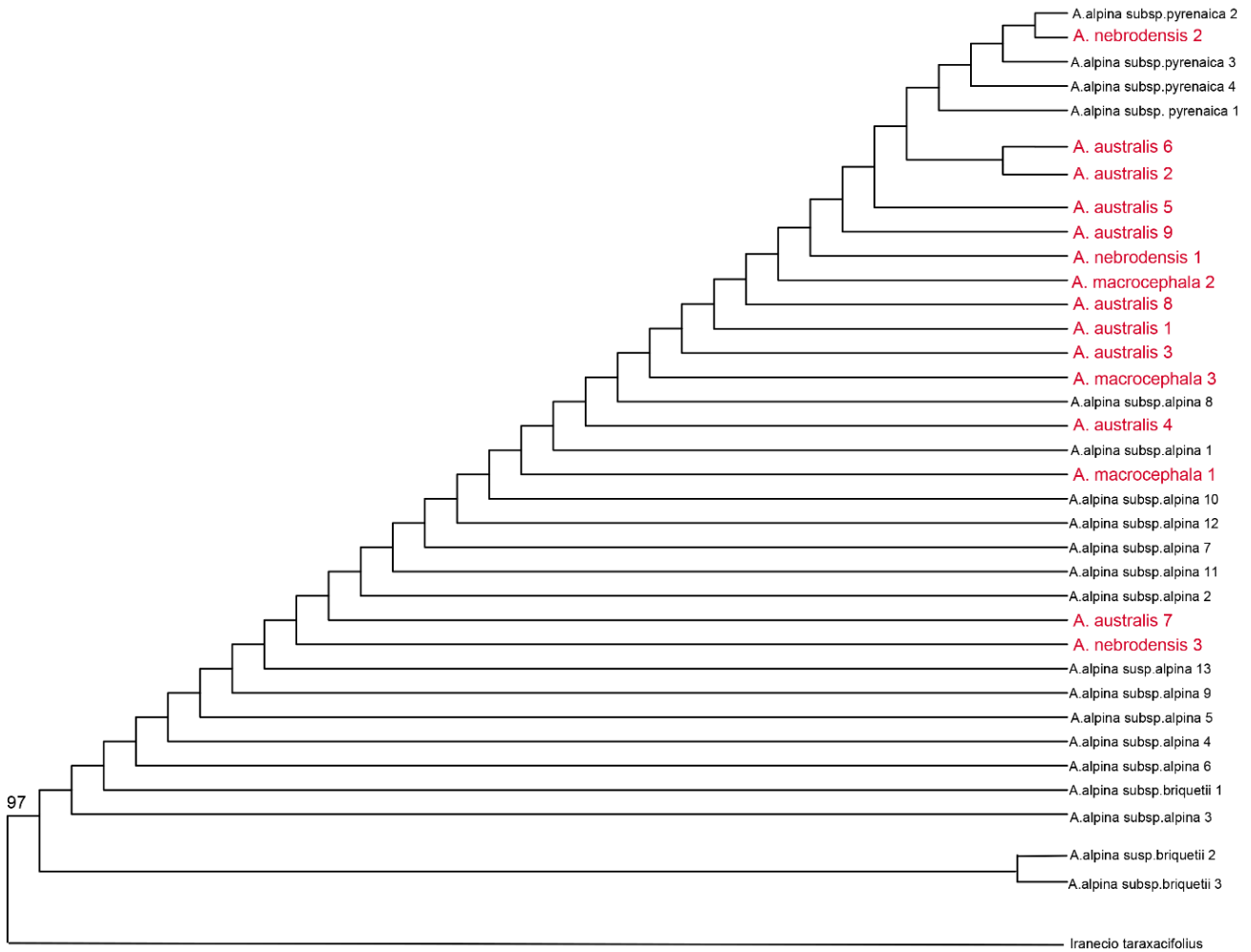


Figura 36. Il cladogramma Nuclerae Totale (ITS+ETS) a Massima Parsimonia (MP). I numeri riportati sopra i rami indicano i valori di *bootstrap* al disopra del 50%. I taxa in rosso vengono considerate specie in questione per la classificazione tassonomica.

L'analisi del cladogramma ITS (Fig. 34) mostra la formazione di un solo clado supportato con valori di BS 97% comprendente tutti i taxa afferenti al gruppo di *A.alpina.*, inclusi i taxa oggetto di questo studio ovvero *A. australis*, *A.alpina* subsp. *nebrodensis* ed *A.alpina* subsp. *macrocephala*.

L'analisi dei cladogrammi ETS (Fig. 35) ed Nuclere Totale (Fig. 36) non aggiungono informazioni utili alla risoluzione della filogenesi di questo gruppo, in quanto presentano una risoluzione paragonabile a quella ottenuta mediante l'utilizzo del marcatore nucleare ITS.

Anche in questi cladogrammi, è visibile un solo grande clado statisticamente ben supportato (ETS BS 90%; ITS+ETS BS 97%) comprendente tutti i taxa del gruppo di *A. alpina*, inclusi i taxa indagati.

CLADOGRAMMA DELLO SPAZIATORE INTERGENICO *ndhF-rpl32*

Durante la ricerca euristica per lo spaziatore intergenico *ndhF-rpl32*, sono stati analizzati 1070 caratteri per ciascuno dei 35 campioni analizzati. Di questi 1055 caratteri sono risultati costanti, mentre 8 sono risultati non informativi per la ricerca parsimoniosa e solo 7 sono risultati informativi, trattando i gaps come mancanza di dati.

Sono state effettuate 10000 repliche per ogni confronto, salvando gli alberi migliori per ogni replica. L'analisi filogenetica di parsimonia ha prodotto un solo albero ad eguale parsimonia (lunghezza = 15; CI (Indice di consistenza) = 1; HI (Indice di Omoplasia) = 0; escludendo i caratteri non informativi: CI = 1; HI = 0), successivamente sottoposto ad analisi di *bootstrap*.

Viene di seguito riportato l'albero filogenetico ottenuto con i relativi valori di *bootstrap* (Fig. 37).

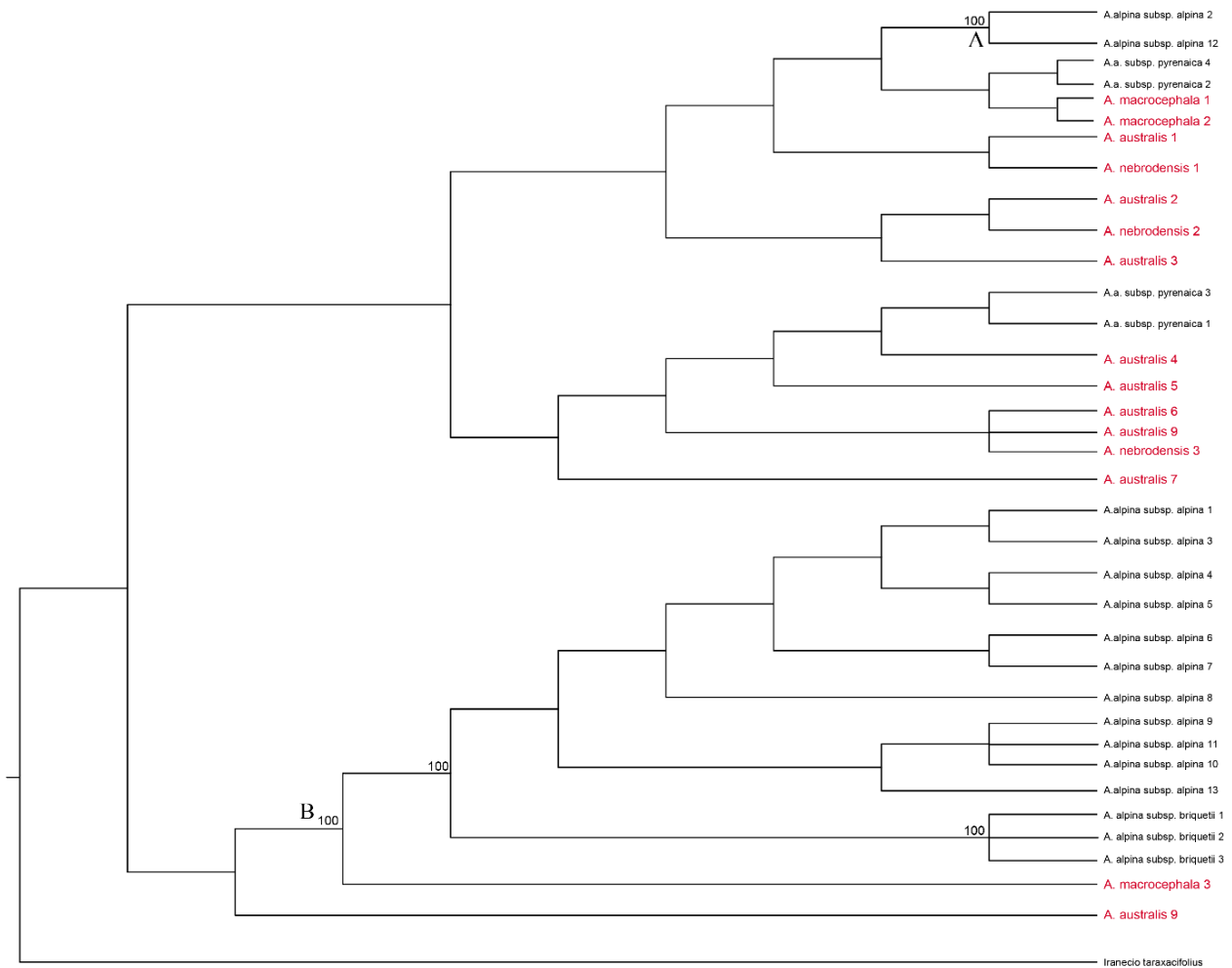


Figura 37. Il cladogramma a Massima Parsimonia (MP) ottenuto mediante l'analisi dello spaziatore intergenico *ndhF-rpl32*. I numeri riportati sopra i rami indicano i valori di *bootstrap* al disopra del 50%. I taxa in rosso vengono considerate specie in questione per la classificazione tassonomica.

L'analisi mostra la formazione di 2 cladi, A e B, statisticamente supportati per valori di *bootstrap* di 100.

All'interno del clado A troviamo 2 campioni di *A. alpina* subsp. *alpina* (2 e 12) provenienti rispettivamente dalle Alpi Apuane (Italia) e dalle Alpi Marittime (Francia).

Il clado B è formato dal gruppo di campioni supplementari di *A. alpina* subsp. *alpina* (1,3-8,10-11 e 13) e dal gruppo dei campioni riconducibili ad *A.alpina* subsp. *briquetii* (1-3) (BS 100%) che si pongono in relazione sister con un campione di *A.alpina* subsp. *macrocephala* (3) proveniente da Botte Donato (Sila).

In particolare all'interno di questo gruppo *A. alpina* subsp. *briquetii* costituisce un ramo monofiletico (BS 100%).

Tramite quest'analisi invece non si è riscontrato un significativo supporto statistico per i campioni afferenti ai taxa indagati (*A.australis*, *A. alpina* subsp. *macrocephala* e *A. alpina* subsp. *nebrodensis*).

CLADOGRAMMA TOTALE (ITS+ETS+*ndhF-rpl32*)

I dati della matrice delle sequenze combinate ITS+ETS+ *ndhF-rpl32* includono 35 campioni e sono costituiti da 2222 caratteri, dei quali 2202 sono costanti, 10 informativi e 10 non informativi. L'analisi di parsimonia ha prodotto 107634 alberi ad eguale parsimonia (lunghezza = 66; CI = 0.30; HI = 0.69; escludendo i caratteri non informativi: CI = 0.17; HI = 0.82).

In questo caso non sono state ricavate informazioni utili alla risoluzione della filogenesi del gruppo, in quanto simili ai risultati ottenuti tramite l'analisi del marcatore *ndhF-rpl32*.

L'analisi mostra la formazione di 2 cladi A e B statisticamente supportati per valori di BS rispettivamente di 54% e 87% (Fig. 38), dove all'interno del clado A il campione di *A. alpina* subsp. *alpina* 11 forma un ramo monofiletico e si pone in posizione basale rispetto a 2 gruppi facilmente distinguibili: il primo comprende il campione di *A. alpina* subsp. *macrocephala* 3 che si pone in relazione sister (monofiletico e supportato per valori di BS di 73 %) con il gruppo comprendente i campioni di *A. alpina* subsp. *alpina* 4,5,6,8,9,10 supportato per valori di BS pari a 97%.

Il secondo gruppo comprende il campione di *A. alpina* subsp. *alpina* 3 (BS pari al 93%) che si pone in relazione sister al gruppo monofiletico per valori di BS pari a 98% comprende i campioni di *A. alpina* subsp. *briquetii* 1,2 e 3.

Nel clado B si nota un'entità monofiletica ben distinta costituita dai campioni di *A. alpina* subsp. *alpina* 2 e 12.

Anche in questo caso non abbiamo riscontrato un valido supporto statistico, tranne nel caso del campione di *A. alpina* subsp. *macrocephala* 3, per tutti gli altri taxa oggetto di questo studio.

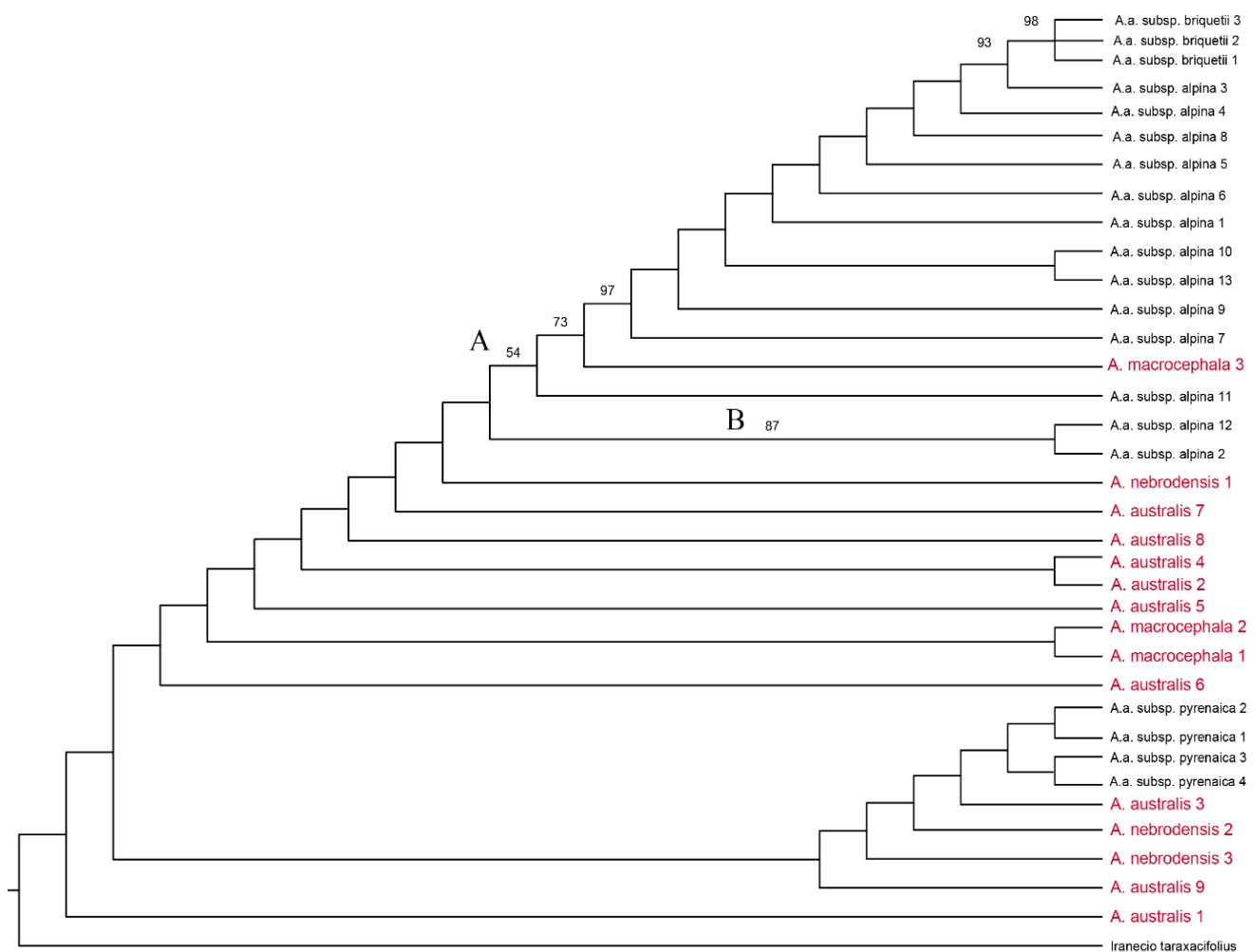


Figura 38. Il cladogramma a Massima Parsimonia (MP) totale (ITS+ETS+*ndhF-rpl32*). I numeri riportati sopra i rami indicano i valori di *bootstrap* al disopra del 50%. I taxa in rosso vengono considerate specie in questione per la classificazione tassonomica.

ANALISI DEGLI APLOTIPI

I metodi filogenetici convenzionali, talvolta, e nello specifico nel mio caso, possono risolvere male i rapporti intraspecifici (Jakob & Blattner 2006), così si è deciso di costruire un Network di aplotipi (metodo utilizzato per valutare le relazioni tra aplotipi mitocondriali all'interno di una popolazione o più popolazioni), utilizzando il metodo della parsimonia statistica (Templeton et al. 1992) e implementato nel software TCS v.1.21 (Clement et al. 2000).

In particolare, con questo metodo viene calcolato il numero di passi mutazionali con cui coppie di aplotipi differiscono, calcolando la probabilità di parsimonia statistica per coppie differenti finché la probabilità supera il 95%, trattando i “gaps” o “indels” come dati mancanti.

L'analisi dell'allineamento delle sequenze (1041 bp) dello spaziatore intergenico *ndhF-rpl32* in TCS senza “outgroup” e visualizzate tramite il software SeaView Version 4 (Gouy et al. 2010), con ‘gaps’ o ‘indels’ trattati come dati mancanti, ha permesso di rilevare 7 aplotipi differenti (Fig. 39) e volendo rappresentare un modello geografico riguardante la loro distribuzione in Europa (Fig. 40) si evince che:

- 1- L'aplotipo **A** è esclusivo della Corsica ed include i campioni afferibili ad *A. alpina* subsp. *briquetii*;
- 2- L'aplotipo **B** si presenta in Francia, nel Nord Italia, Svizzera, Austria e Germania ed include la maggior parte dei campioni di *A. alpina* subsp. *alpina*;
- 3- L'aplotipo **C** è rappresentato da un singolo esemplare proveniente da Monte Botte Donato, Parco Nazionale della Sila (Calabria, Italia meridionale) ed identificato come *A. alpina* subsp. *macrocephala*;
- 4- L'aplotipo **D** è limitato ai Pirenei (Spagna-Francia) ed è esclusivo di *A. alpina* subsp. *pyrenaica*;
- 5- L'aplotipo **E** è rappresentato da due campioni provenienti dal Parco Nazionale dell'Aspromonte (Calabria, Italia meridionale) ed identificati come *A. alpina* subsp. *macrocephala*.,
- 6- L'aplotipo **F** è esclusivo per l'Italia ed include tutti i campioni riconducibili ad *A. australis* ed *A. alpina* subsp. *nebrodensis*;
- 7- L'aplotipo **G** è rappresentato da due esemplari provenienti uno dalle Alpi Apuane (Italia settentrionale) e l'altro dalle Alpi marittime (Francia) ed identificati come *A. alpina* subsp. *alpina*.

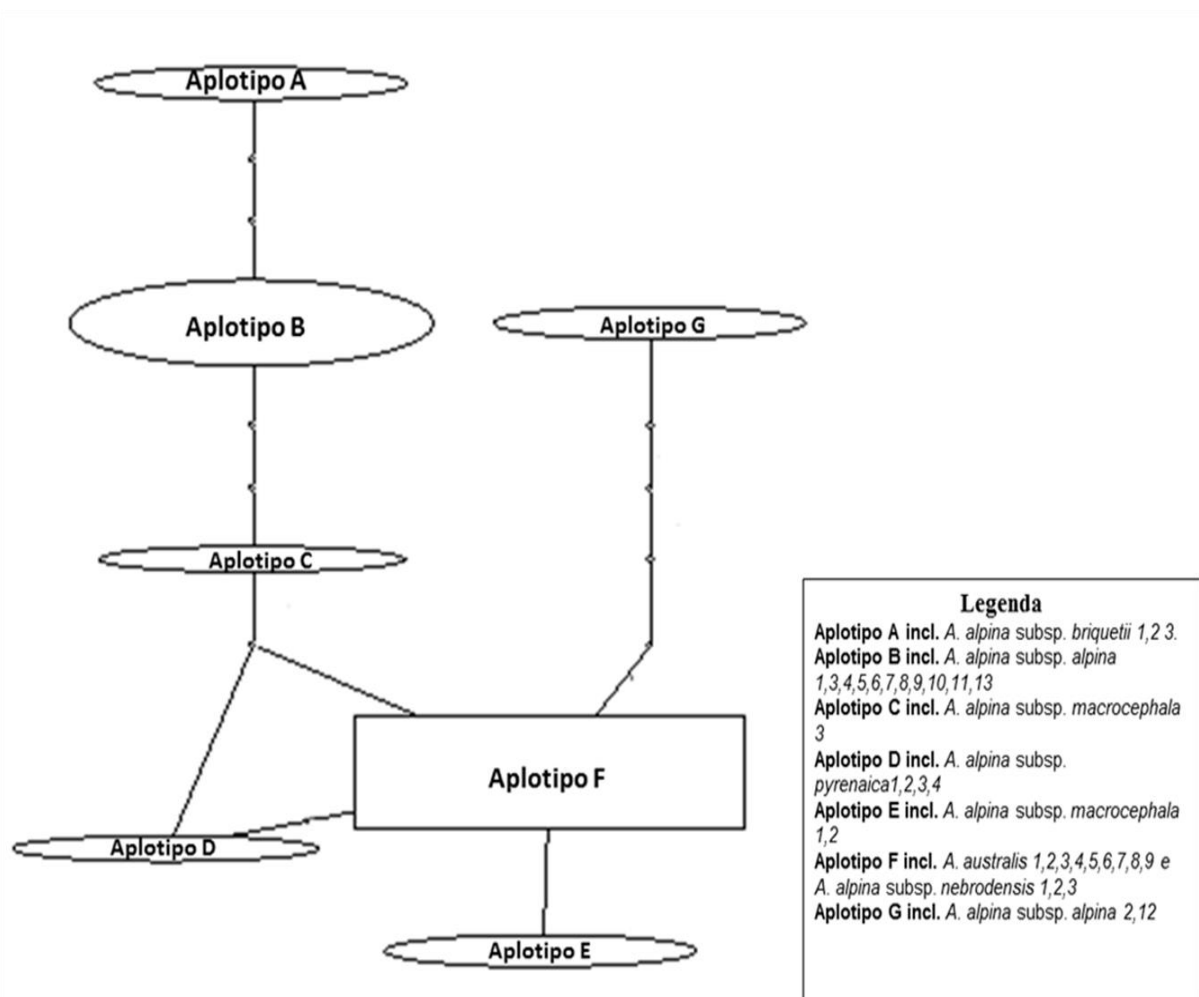


Figura 39. Il network di parsimonia statistica del gruppo di *A. alpina* ottenuto mediante l'analisi dello spaziatore intergenico *ndhF-rpl32*, con indels trattati come dati mancanti. Le forme sono proporzionali al numero di sequenze rappresentante ogni aplotipo.

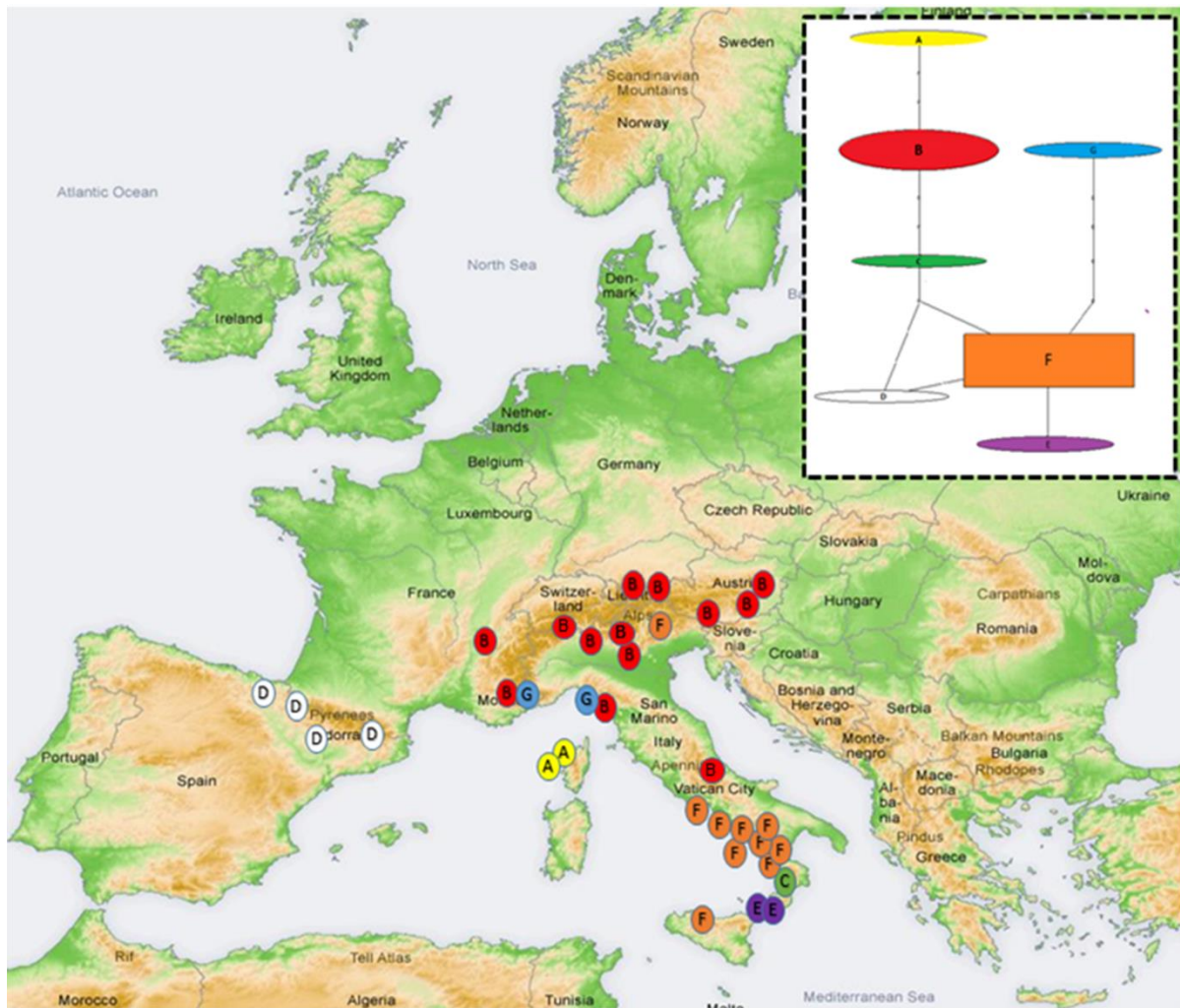


Figura 40. Distribuzione geografica degli aplotipi di *A. alpina* ottenuti mediante l'analisi dello spaziatore intergenico *ndhF-rpl32*.

L'analisi degli aplotipi ottenuti tramite lo studio dello spaziatore intergenico *ndhF-rpl32*, ha permesso di stabilire che:

- Tutte le popolazioni campionate nell'Italia meridionale, riferibili ad *A. australis*, caratterizzate da un elevato grado di polimorfismo inter- e intra-popolazionale, presentano tutte lo stesso aplotipo (Aplotipo F), (Fig. 41A; Fig. 41B; Fig. 41C; Fig. 41D).
- *A. australis* e *A. alpina* subsp. *nebrodensis*, nonostante presentino delle differenze a livello morfologico ovvero: *A. australis* con capolini con 3-8 fiori, dimensioni dell'involucro di 3 × 5-6 mm e un numero di brattee di 3-5, mentre *A. alpina* subsp. *nebrodensis* con capolini con 9-12 fiori, dimensioni dell'involucro di 6 × 7-8 mm e un numero di brattee di 7-8, sono accomunate dallo stesso aplotipo (Aplotipo F), (Fig. 41A; Fig. 41B; Fig. 41C; Fig. 41D).

- Le popolazioni di *A. australis* differiscono dalle popolazioni di *A. alpina* subsp. *alpina* ed in particolare: i campioni di *A. australis* (Aplotipo F) differiscono dai campioni di *A. alpina* subsp. *alpina* 1,3,4,5,6,7,8,9,10,11,13 (Aplotipo B) per un'inserzione di 6 bp in posizione 198 e per uno SNP in posizione 258 (T vs. G) (Fig. 41A; Fig. 41B) e dai campioni di *A. alpina* subsp. *alpina* 2 e 12 (Aplotipo G) per uno SNP in posizione 536 (A vs. T) (Fig. 41D). Queste differenze molecolari, trovano anche un valido supporto morfologico, in quanto le popolazioni di *A. alpina* subsp. *alpina* sono caratterizzate da un involucri di 4-5 × 1-2 mm, capolini con ± 3 fiori e lunghi 6-7 mm, lobi della corolla di 2.5-3.2 mm e cypsele lunghe 3 mm a maturità, mentre le popolazioni di *A. australis* presentano involucri di 6-8 × 2.5-3.3 mm, capolini con 3-8 fiori e lunghi (7-)8-9 mm, lobi della corolla di 1.1-2.9 mm e cypsele lunghe 3.5-4.5 mm a maturità.
- Le popolazioni di *A. alpina* subsp. *macrocephala* rispettivamente provenienti da Monte Botte Donato (Sila, Calabria) e da Gambarie (Aspromonte, Calabria), presentano 2 aplotipi differenti C ed E, ed in particolare le prime differiscono per un'inserzione di 6 bp in posizione 198-203 e per uno SNP in posizione 258 (G vs T) dalle popolazioni dell'Aspromonte (Fig. 41A; Fig. 41B), mentre quest'ultime differiscono dalle popolazioni di Mt. Botte Donato per due diverse inserzioni, la prima di 20 bp in posizione 439-458 e la seconda di 1 sola base localizzata in posizione 506 (Fig. 41C; Fig. 41D). Queste differenze trovate nel DNA plastidico, tuttavia, non sono supportate su base morfologica, in quanto entrambe le popolazioni sia dell'Aspromonte sia della Sila sono riconducibili ad *A. alpina* subsp. *macrocephala* (vedi Fig. 14; Fig. 15; Fig. 16).

Infine, tale analisi, ha permesso di confermare che nonostante vi sia una diversità aplotipica, i tre taxa indagati in questo studio, si confermano molto affini, per quanto riguarda il DNA plastidiale, all'aplotipo tipico di *A. alpina*.

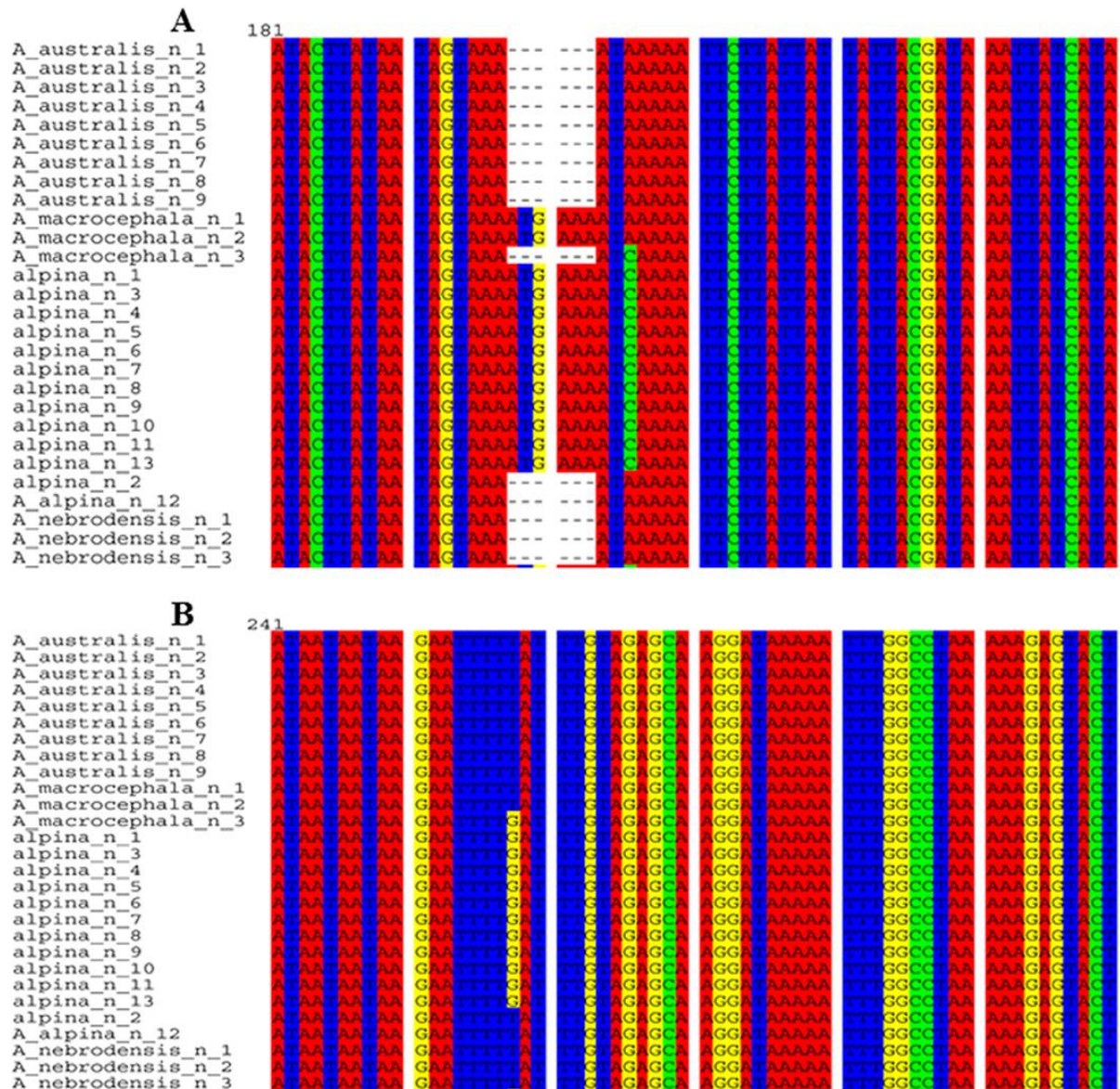


Figura 41. Sequenze allineate dello spaziatore intergenico *ndhF-rpl32* spacer del DNA cloroplastico, i trattini indicano “gaps”.

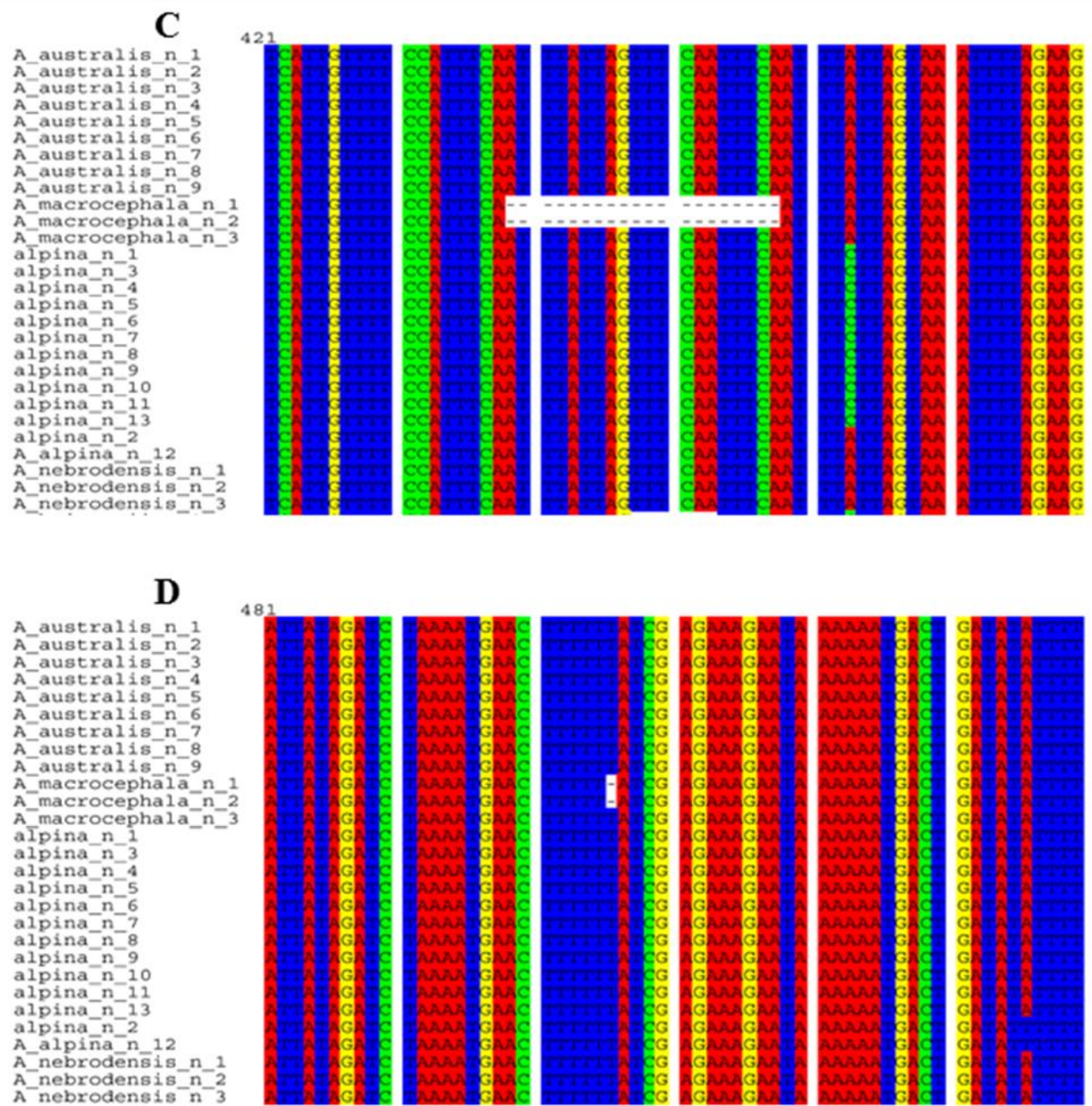


Figura 41. Continua

5. CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Alla luce dei risultati ottenuti, ad oggi è possibile affermare che *A. alpina* subsp. *nebrodensis*, endemica delle Madonie (Sicilia) è fortemente a rischio di estinzione come riportato da Raimondo et al. (2011), essendo rappresentata da un unico individuo.

In questo triennio di ricerca, non sono state trovate nel territorio isolano altre popolazioni, e considerato che l'unico individuo conosciuto non fiorisce regolarmente e che, quando ha fiorito, non ha prodotto cipsele fertili, in futuro sarebbe auspicabile intraprendere delle azioni atte alla conservazione *in situ* ed *ex situ* come:

- il costante monitoraggio in campo;
- studi sulla biologia vegetativa e riproduttiva della pianta e le sue necessità edafo-climatiche;
- stesura di norme da suggerire agli enti di conservazione proposti per la conservazione *in situ* della specie;
- messa a punto di protocolli di moltiplicazione vegetativa utilizzando le più moderne tecniche di “colture in vitro” (micropropagazione, coltura di callo, ecc.), ripartendo dagli esperimenti preliminari effettuati da Lombardo et al. (2013).

Questo studio, in base ai risultati ottenuti su base morfologica e morfometrica, ha permesso di rilevare la presenza di orecchiette nelle foglie cauline superiori anche in *A. australis* (Fig. 42), questa caratteristica è riportata in Fiori (1927) ma viene disattesa nei successivi trattamenti (es. Pignatti 1982; Dillenberger e Kadereit 2013). In *A. alpina* subsp. *nebrodensis* sono stati riscontrati 10–12 fiori per capolino, come indicato in Iamonico e Pignatti (2015), e non 3–6 come indicato in Dillenberger e Kadereit (2012).

Sia la PCA, la DA e la PCoA distinguono bene le popolazioni attribuite ad *A. australis* da quelle attribuite ad *A. alpina* subsp. *macrocephala*. Nella DA e nella PCoA, *A. alpina* subsp. *nebrodensis* si differenzia bene dagli altri due taxa, anche se nella PCA appare complessivamente più legata al gruppo di *A. australis*. La stessa situazione è stata riscontrata per il marcatore plastidiale *ndhF-rpl32*.

Inoltre, è stato possibile con questo studio, estendere l'areale di *A. alpina* subsp. *macrocephala*, ritenuta finora esclusiva dell'Aspromonte da Dillenberger e Kadereit (2012), anche alla Sila (Fig. 43; Fig. 44) ed escludere la presenza *A. alpina* subsp. *alpina* e di *A. alliariae* nell'Italia meridionale. Tutte le segnalazioni precedenti di questi taxa (Fiori 1925-30; Pignatti 1982; Conti et al. 2005; Dillenberger & Kadereit 2012), sono da riferire ad *A. australis*.

Infine in base a dati morfometrici e molecolari è stato possibile confermare che *A. australis* è un taxon endemico italiano, distribuito in tutta l'Italia meridionale, ma la sua presenza non è da escludere anche per il nord e centro Italia e quindi sarebbe auspicabile in futuro estendere anche le analisi morfometriche alle popolazioni di *Adenostyles* presenti in queste aree.

Per quanto riguarda le analisi molecolari, l'analisi della Massima Parsimonia per ogni marcatore molecolare utilizzato in questo studio, non ha permesso di ottenere una chiara risoluzione della filogenesi del gruppo ed in particolare, non chiarisce la posizione dei taxa indagati, ovvero *A. australis*, *A. alpina* subsp. *nebrodensis* ed *A. alpina* subsp. *macrocephala*, in quanto per nessuno di essi, non è stato riscontrato un valido supporto statistico (Fig. 34; Fig. 35; Fig. 36; Fig. 37; Fig. 38), probabilmente dovuto alla poca informatività o alla poca variabilità del tratto genico studiato in relazione ai taxa inclusi nell'analisi.

I risultati ottenuti hanno permesso di rilevare che il gruppo di *A. alpina* mostra una bassa variabilità nucleare per quanto riguarda le regioni nucleari ITS ed ETS, mentre l'analisi degli aplotipi ha permesso di rilevare un certa variabilità nel genoma plastidiale, per quanto riguarda il tratto genico studiato (spaziatore intergenico *ndhF-rpl32*).

Dallo studio dello spaziatore intergenico *ndhF-rpl32* è emersa una indubbia affinità, non sostenuta da evidenze morfologiche, tra le popolazioni afferenti ad *A. australis* ed *A. alpina* subsp. *nebrodensis* che condividono lo stesso aplotipo e potrebbero avere avuto, quindi, un'origine comune, probabilmente dovuta a un evento di dispersione a lunga distanza tra le stazioni più meridionali di *A. australis*, localizzate sul Monte Pollino tra Basilicata e Calabria, e le Madonie (Sicilia), distanziate in linea d'aria di appena 500 Km. Al contrario le popolazioni di *A. alpina* subsp. *macrocephala* provenienti da Mt. Botte Donato (Sila, Calabria) e da Gambarie (Aspromonte, Calabria) mostrano una dubbia diversità aplotipica, riconducibile probabilmente a fenomeni di ibridazione. Infatti Dillenberger & Kadereit (2013) nella ricostruzione della filogenesi del genere *Adenostyles*, ipotizzano, tenendo conto che sono stati riportati molti ibridi in zone di contatto (Alpi) tra *A. leucophylla*, *A. alliariae* e *A. alpina* (Wagenitz 1983), che tutte le popolazioni periferiche del, inclusi i taxa *A. alpina* subsp. *nebrodensis* e *A. alpina* subsp. *macrocephala*, possano avere risentito di un processo di ibridazione che abbia influenzato maggiormente il genoma plastidiale e non quello nucleare, e che tale fenomeno abbia coinvolto i loro "discendenti" dopo l'espansione del genere fuori dalle Alpi.

In base ai risultati ottenuti, appare opportuno ridefinire lo status di *A. australis*, trattato a livello specifico da Iamonico & Pignatti (2015), in quanto in base alle evidenze morfologiche e molecolari ottenute esso è strettamente correlato ad *A. alpina*.

In virtù di queste considerazioni è più appropriato considerare questa taxon come sottospecie di *A. alpina* come già presentato in Greuter (2003).



Figura 42. Particolare delle 2 orecchiette amplessicauli presenti nella foglia caulina superiore in *A. australis*. (Foto di Filippo Scafidi).

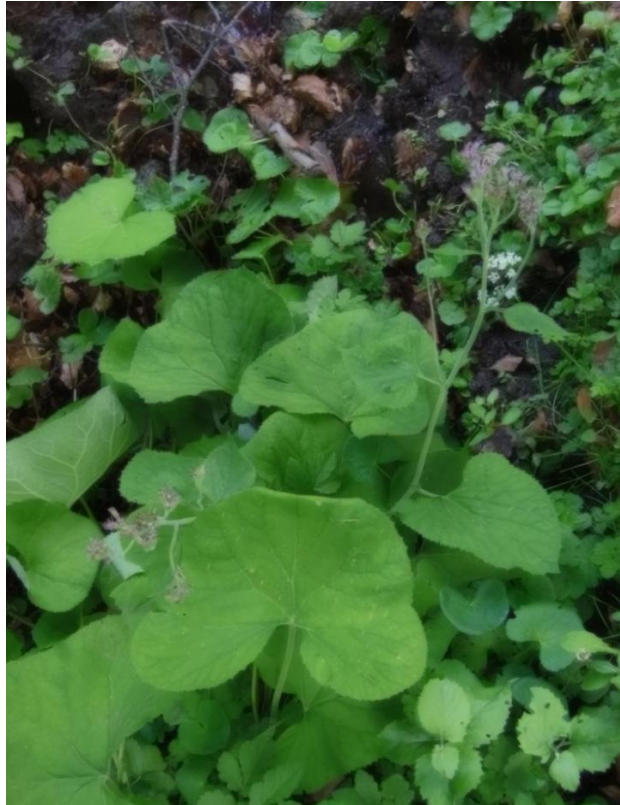


Figura 43. Individuo di *A. alpina* subsp. *macrocephala* a Monte Botte Donato. (Foto di Filippo Scafidi).



Figura 44. Particolare dell'infiorescenza di *A. alpina* subsp. *macrocephala* (Foto di Filippo Scafidi).

6. CHIAVI DICOTOMICHE PER IL RICONOSCIMENTO DEI TAXA DEL GRUPPO DI *A. ALPINA*

Si riportano le chiavi dicotomiche per l'identificazione dei taxa del gruppo di *A. alpina* (le descrizioni di *A. alpina* subsp. *alpina*, *A. alpina* subsp. *briquetii* e *A. alpina* subsp. *pyrenaica*, che esulano dalla presente tesi, sono basate rispettivamente su Pignatti (1982), Gamisans (1973) e Saule (1991):

- 1** Involucro di 4-5(-5.5) × 1-2 mm..... 2
- 2** Scapo e rami dell'infiorescenza pubescenti almeno nella metà superiore; fiori 3-6 in ciascun capolino; corolla con tubo cilindrico più allungato della parte svasata, lobi della corolla di 2.5-3.2 mm *A. alpina* subsp. *alpina*
- 2** Scapo e rami dell'infiorescenza del tutto glabri; fiori (5-)6-12(-19) in ciascun capolino; corolla con tubo più breve (eccezionalmente eguale) della parte svasata, lobi della corolla di 0.7-1.7 mm *A. alpina* subsp. *briquetii*
- 1** Involucro di 5.5-11 × 3-5 mm..... 3
- 3** Foglie cauline superiori con picciolo non allargato o raramente allargato in 2 piccole orecchiette amplessicauli di 1-10 × 1-12 mm; Involucro con 3-8 brattee di 6-8 × 1-1.7(-2) mm, glabre sul dorso; capolini con fiori lunghi 7-8(-9) mm 4
- 4** Capolino con 3-8 fiori; corolla con lobi di 1.1-2.9 mm; Cipsela a maturità di (3-)3.5-4.5 × 0.9-1.2 mm *A. alpina* subsp. *australis*
- 4** Capolino con (9-)10-12(-15) fiori; corolla con lobi di 1-1.7 mm; Cipsela a maturità di (4-)4.5-6 × 1-1.5 mm *A. alpina* subsp. *nebrodensis*
- 3** Foglie cauline superiori con picciolo allargato in 2 ampie orecchiette amplessicauli di 2-20(-30) × 0.8-20(-30) mm; Involucro con (8-)9-10 brattee di 7.5-9 × 1.5-2(-2.2) mm, pubescenti sul dorso; capolini con fiori lunghi (8-)9-15 mm..... 5
- 5** Capolino con 10-15 fiori, lunghi 10-13(-15) mm *A. alpina* subsp. *pyrenaica*
- 5** Capolino con (15-)18-25 fiori, lunghi 9-10 mm *A. alpina* subsp. *macrocephala*

7. SCHEDE DESCRITTIVE DEI TAXA APPARTENENTI AL GRUPPO DI *A. ALPINA*

Adenostyles alpina (L.) Bluff. & Fingerh., in Compendium Florae Germaniae 2: 329. 1825

≡ *Cacalia alpina* L., Species Plantarum 2: 836. 1753;

= *Adenostyles calcarea* Brügger, in Jahresber. Naturforschende Gesellschaft Graubündens 29: 100. 1886;

= *Adenostyles crassifolia* A. Kern., in Schedae ad Floram exsiccatam Austro-Hungaricam. 5: 78. 1888;

= *Adenostyles glabra* (Mill.) DC., in Prodromus Systematis Naturalis Regni Vegetabilis 5: 203. 1836;

= *Adenostyles viridis* Cass., in Cuvier, Dictionnaire des sciences naturelles 1: 60. 1816

= *Cacalia glabra* Mill., in The Gardeners Dictionary ed. 8 No.2. 1768.

Protologo: *Cacalia foliis reniformibus acutis denticulatis.*

Lectotipo: disegnato da Jeffrey in Jarvis (1992) (Herb. Burser X: 155, UPS!) (Fig. 44).

Descrizione: Pianta alta 4-6 dm. Fusto finemente pubescente, cilindrico. Foglie inferiori generalmente con lamina reniforme di 12-14 × 10-11 cm, le cauline inferiori di 10-14 × 6-8 cm, con dentelli ottusi e ± eguali fra loro, glabre di sopra, di sotto finemente pubescenti sui nervi; foglie cauline superiori peduncolate senza orecchiette amplessicauli. Involucro cilindrico (1-2 × 4-5 mm); squame lineari-lanceolate, violette, glabre; capolini ± 3 fiori; fiori violetti di 7-8 mm; corolla con lobi di 2.5-3.2 mm. (Pignatti 1982).

Forma biologica: Emicriptofita scaposa.

Fenologia: Fioritura nei mesi di giugno-luglio. Fruttificazione nel mese di agosto.

Distribuzione ed ecologia: Catene montuose dell'Europa Meridionale, dalla Penisola Iberica, Alpi, ai Balcani. Cresce su pendii franosi, boschi di faggio ed abete rosso su massi consolidati (calacrei) da 300 a 2100 m s.l.m.

Numero cromosomico: $2n=38$ (Lovka et al. 1971).

Specimina visa: Austria: Steiermark, Sonwendstein, summit area next to chapel, 1999-07-09, *Comes H.P.* (MJG 000571); Niederösterreich, Hohe Wand, way from "Hohe Kanzel" to "Hochkogelhaus", beech forest, 1999-07-08, *Comes H.P.* (MJG 000478).

Francia: Ain: Monts-Jura col de la Faucille, 1891-08-08, *Genty P. A.* (PAL 33365); Alpes Maritimes, Colle di Tenda, northern slope, small number of florets, 1999-06-05, *Comes H.P.* (MJG 000481), Col du Galibier, 2010-08-19, *Dillenberger M.S.* (MJG 000492).

Germania: Wettersteinwald, 1919-08-22, *Troll W.* (MJG 000525); Weg von Bad Hindelang, über das Köpfe (1089m) Richtung Wildfräuleinsteine, weiter zur Alm "Willersalpe" (1456m) und zurück nach Bad Hindelang, 2010-07-19, *Uhink C. & Omlor R.* (MJG 000482).

Italia: [Lombardia]: Lombardei, lichter Wald in der La Grigna Gruppe am Comer See, 2012-07-06, *Dillenberger M.S.* (MJG 009788) [Liguria]: Liguria orient. in Mt. Ghifi, "aug.1854", *Caldesi L.* (PAL 26830); [Toscana]: Alpi Apuane, roadside next to Galleria di Tecnica, above Orto Botanico/Rif. Città di Massa, 1999-06-09, *Comes, H.P. s.n.*, (MJG 000480).

Note: Nelle Flore Europee dell'ultimo secolo, questo taxon è chiamato *Adenostyles glabra* (Fournier 1961; Hess et al 1972; Pignatti 1982; Lauber & Wagner 1996; Wisskirchen & Haeupler 1998; Aeschimann et al. 2004; Eggenberg & Möhl 2009; Seybold 2009) o *A. alpina* (Tutin 1976; Rollán 1985; Rameau et al. 1993; Jeanmonod & Gamisans 2007; Fischer et al. 2008; Greuter 2008).

Considerato che il lectotipo di *Cacalia alpina* L., scelto da Jeffrey (in Jarvis 1992) appartiene chiaramente allo stesso taxon di *A. glabra*, *A. alpina* è il nome corretto da utilizzare (Dillenberger & Kadereit 2012).



Figura 44. Lectotipo di *Cacalia alpina* L. (Herb. Burser X: 155, UPS).

Adenostyles alpina subsp. *australis* (Ten.) Greuter in Willdenowia 33: 247. 2003
≡ *Cacalia alpina* var. *australis* Ten., in Sylloge plantarum vascularium florae Neapolitanae 5: 40. 1842;
= *Cacalia macrophylla* Ten., in Sylloge plantarum vascularium florae Neapolitanae: 417. 1831;
≡ *Adenostyles viridis* subsp. *australis* (Ten.) Nyman, in Conspectus Florae Europaeae: 396. 1879;
≡ *Adenostyles alpina* var. *australis* (Ten.) Fiori, in Fiori A., Béguinot A., Flora Analitica d'Italia 3(1): 204-205. 1903;
≡ *Adenostyles alpina* var. *australis* f. *auriculata* Fiori, in Fiori A., Béguinot A., Flora Analitica d'Italia 3(1): 205. 1903 (Fig. 46);
≡ *A. glabra* var. *australis* (Ten.) Wagenitz in Phytion (Horn) 23: 148. 1983;
≡ *Adenostyles australis* (Ten.) Iamonico & Pignatti in Willdenowia 45: 450-451. 2015

Protologo: — var. *B. australis*; foliis radicalibus inferioribusque reniformibus, latioribus quam longis.

Lectotipo: Non disegnato.

Descrizione: Pianta erbacea perenne, rizomatosa, alta 40-60 dm, con fusto eretto, cilindrico, ± farinoso-pubescente per peli semplici ed appressati al fusto, semplice o ramoso-corimbo in alto. Foglie alterne, intere, le inferiori generalmente con lamina reniforme di 8-26 × 11-24 cm, le cauline inferiori, reniformi, di 3-19 × 4-20 cm, a denti acuti ed irregolarmente dentate, finemente pubescenti o con peli sporadici isolati nella pagina inferiore; glabre, pubescenti lungo le nervature o con peli sporadici isolati nella pagina superiore; cartacee; le cauline superiori, cordate, ovato-lanceolate od oblungo-lanceolate di 2-9 × 2-7(8) cm; talvolta con 2 orecchiette amplessicauli, di 1-10 × 1-12 mm. Infiorescenze in ampi e densi corimbi, portati da peduncoli pelosi. Involucro cilindrico, 6-8 × 2.5-3.3 mm; formato da una sola serie di 3-5 brattee, glabre o finemente pubescenti, lanceolate o lineari-lanceolate di 1-2 × 6-8 mm, ciliate all'apice, talora rinforzato da 2 bratteole.

Fiori 3-5(8), roseo-poporini, assai più lunghi dell'involucro, tubulosi, ermafroditi, lunghi 7-8(9) mm, tubo della corolla 2-4 mm, lembo della corolla 1.3-4 mm, 4-5 lobi della corolla lunghi 1.1-2.9 mm; 5 stami liberi e antere arrotondate alla base e saldate tra loro; stilo ghiandoloso, cilindrico con stimma bifido; ovario infero con 2 carpelli.

Cipsela angolosa, bruna, glabra, 3.4-4.5 × 0.9-1.2 mm; pappo di 1-2 serie di peli bianchi, denticolato, lungo 5.4-7.5 mm.

Forma biologica: Emicriptofita scaposa.

Fenologia: Fioritura nei mesi di giugno-luglio. Fruttificazione nel mese di agosto.

Distribuzione ed ecologia: Endemica italiana. Presente in Molise, Campania, Basilicata e Calabria (Fig. 49).

Cresce nelle radure delle faggete su substrato prevalentemente calcareo, raramente su silice o su pendii rocciosi da 1100 a 2200 m s.l.m.

Numero cromosomico: Non conosciuto.

Specimina visa: Italia: [Molise]: Monte Campo, Capracotta, prov. of Campobasso, 2015-07-10, *F. Scafidi* (PAL s.n.); Matese, nella ...?, Julio 1823, *N. Terracciano* (FI 570707);

[Basilicata]: Appennino lucano, Serra del Prete, 2011-08-16, *Klein J.* (MJG 004230); Basilicata, Chiaromonte forest (Pollino National Park), prov. of Potenza, 2015-07-31, *F. Scafidi* (MJG 018195); Basilicata, Mt. Pollino (Varco del Pollino, Pollino National Park), prov. of Potenza, 2015-07-11, *F. Scafidi* (MJG 018174); Basilicata, Mt. Pollino (Varco del Pollino, Pollino National Park), prov. of Potenza, 2015-07-11, *F. Scafidi* (MJG 018191); Basilicata, Mt. Pollino (Varco del Pollino, Pollino National Park), prov. of Potenza, 2015-07-11, *F. Scafidi* (MJG 018190); Basilicata, Mt. Pollino (Varco del Pollino, Pollino National Park), prov. of Potenza, 2015-07-11, *F. Scafidi* (MJG 018192); Basilicata, Chiaromonte forest (Pollino National Park), prov. of Potenza, 2015-07-31, *F. Scafidi* (MJG 018176); Basilicata, Chiaromonte forest (Pollino National Park), prov. of Potenza, 2015-07-31, *F. Scafidi* (MJG 018193); Basilicata, Chiaromonte forest (Pollino National Park), prov. of Potenza, 2015-07-31, *F. Scafidi* (MJG 018194); In humentibus montosis Calabriae: Monte Pollino, Julio 1855, *N. Terracciano* (FI 570710); Lucania – M. Pollino, in silvis ad pendices montis Serra Crispo alt. C. 1800 m., 1929-08-04, *O. Gavioli*, (FI 570702); Lucania – M. Pollino, in silvis ad pendices montis Serra Crispo alt. C. 1800 m., 1929-08-04, *O. Gavioli*, (FI 570702).

[Campania]: Campania, Montevergine, prov. of Avellino, 2015-07-11, *F. Scafidi* (MJG 018188); Campania, Mt. S. Angelo a Tre Pizzi (Regional Park Lattari mountains), prov. of Napoli, 2015-07-07, *F. Scafidi* (MJG 018205); Campania, Mt. Gelbison (Cilento National Park), prov. of Salerno, 2014-07-07, *F. Scafidi* (MJG 018172); Campania, Mt. Cervati (Cilento National Park), prov. of Salerno, 2015-07-09, *F. Scafidi* (MJG 018196); Campania, Mt. Terminio (Regional Park Picentini mountains), prov. of Avellino, 2015-07-08, *F. Scafidi* (MJG 018202); Campania: Monte S. Angelo di Castellamare, 1100-1300 m. in terreno siliceo e umido, 1909-11-28, *G. Bellante?* (FI 570708); In montosis Campaniae: Matese, al Campo dell'Arco presso la grotta, Julio 1821, *N. Terracciano* (FI 570706); Monte Alburno – Da Postiglione a Camp d'Amore Cresta rocciosa a 1450 m., 1939-07-29, *De Philippis A.*, (FI 570705); In humentibus montosis S. Angelo presso l'acqua Santa, Julio 1850,

(FI 570709); Faggete, Monte Polveracchio, esposizione N, m. 900-1000, 1975-07-16, B. Moraldo, (FI 570704).

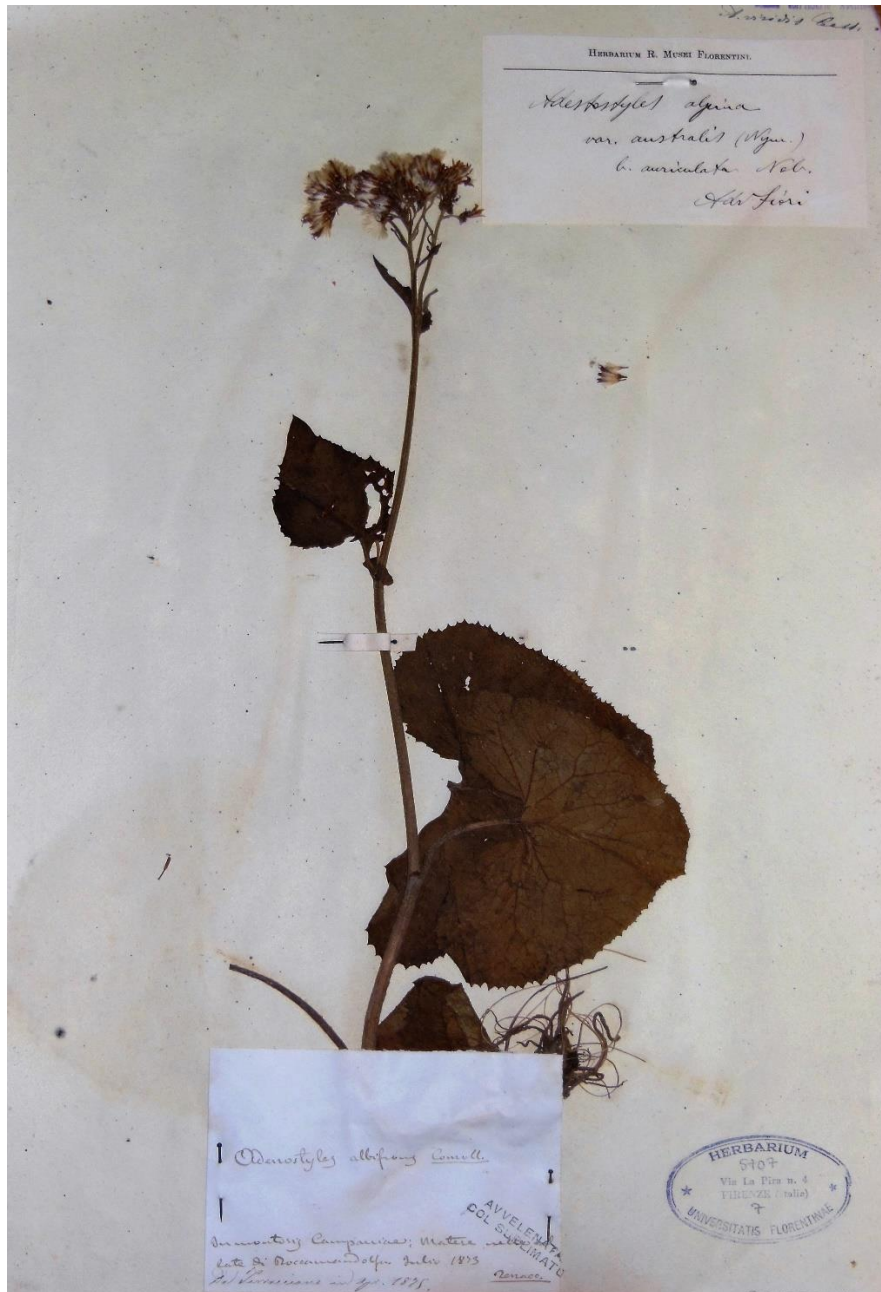


Figura 46. Campione di *Adenostyles alpina* var. *australis* f. *auriculata* Fiori conservato in FI.

Adenostyles alpina subsp. *macrocephala* (Huter, Porta & Rigo) M. Dillenberger & Kadereit in Willdenowia 42:60. 2012

≡ *Adenostyles macrocephala* Huter, Porta & Rigo in Oesterreichische botanische Zeitschrift 56: 110. 1906;

≡ *Adenostyles alliariae* subsp. *macrocephala* (Huter, Porta & Rigo) Wagenitz & I. Müll. in Phytion (Horn) 23: 154. 1983;

≡ *Adenostyles alpina* var. *macrocephala* (Huter, Porta & Rigo) Fiori in Fiori A., Béguinot A., Flora analitica d'Italia 3: 205. 1903.

Protologo: *Rhizoma crassum obliquum; caulis elatus ad m. altus teres subtiliter striatus, brevissime scabride pilosus. Folia triangularia, magna sinu aperto, inferiora longe petiolata (petiolo late auriculato), infra rotundo-lobata apice acuta viridia supra glabra, subtus scabriuscula, argute aequaliter dentata, excepto apice triangulari-acuto; folia caulina decrescentia, ovato lanceolata-lanceolata. Caulis erectus supra ramosus, ramulis cinereo-tomentosis, 1-3 calathia in corymbum coarctata ferentibus. Calathia magna (Homogynis instar) 10-15 mm lg., 5-6 lt., anthodii squamis 8-10 lanceolatis acutis dorso puberulis, 8 mm lg. 2 lat., floribus in calathio 12-15, cum acheniis 15 mm lg.*

Lectotipo: disegnato da Wagenitz. Italien, Calabria occidentalis, Piani di Aspromonte in convalle umbrosa Teles, 1100 m, auf granit, 3 July 1877, *Huter, Porta & Rigo* 450 (WU!), (Fig. 47).

Descrizione: Pianta erbacea perenne, rizomatosa, alta 40-60 dm, con fusto eretto, cilindrico, ± farinoso-pubescente per peli semplici ed appressati al fusto, semplice o ramoso – corimboso in alto. Foglie alterne, intere, le inferiori generalmente con lamina reniforme di 13-20 × 14-30 cm, le cauline inferiori, reniformi, di 7-17 × 10-18 cm, a denti acuti ed irregolarmente dentate, pubescenti nella pagina superiore, pubescenti solo lungo le nervature nella pagina inferiore, coriacee, le cauline superiori, cordate, lanceolate, oblungo-lanceolate o obovate-lanceolate di 1.2-9 × 2-9 cm; sempre con 2 orecchiette amplessicauli, di 2-15 × 0.8-10 mm. Infiorescenze in ampi e densi corimbi, portati da peduncoli pelosi. Involucro cilindrico, 7.1-8.5 × 7-9 mm, formato da una sola serie di 8-9(-10) brattee, pubescenti, lanceolate o lineari-lanceolate di 7.1-8.5 × 1.5-2 mm, ciliate all'apice, talora rinforzato da 2 bratteole.

Fiori (17)19-23(25) roseo-poporini, assai più lunghi dell'involucro, tubulosi, ermafroditi, lunghi (7)8-10 mm, tubo della corolla 3.1-6.7 mm, lembo della corolla (2)2.5-5.5 mm, 4 lobi della corolla lunghi 0.7-2 mm; 5 stami liberi e antere arrotondate alla base e saldate tra loro; stilo ghiandoloso, cilindrico con stimma bifido; ovario infero con 2 carpelli.

Cipsela angolosa, bruna, glabra, 6.5-7.5 × 1-1.4 mm; pappo di 1-2 serie di peli bianchi, denticolato, lungo 8-9 mm.

Forma Biologica: Emicriptofita scaposa.

Fenologia: Fioritura nel mese di luglio ed inizio agosto. Fruttificazione metà Agosto.

Distribuzione ed ecologia: Endemica dei Parchi Nazionali dell'Aspromonte e della Sila. Cresce nelle radure delle faggete su substrato esclusivamente siliceo o lungo torrenti da 1400 a 1900 m s.l.m. (Fig. 49).

Specimina visa: Italia: [Calabria]: Kalabrien, Aspromonte, Tre Limiti, nahe Flussufer, feuchter, schattiger Standort im Wald,, 2010-06-20, *Dillenberger M.S* (MJG 011223); Calabria, Mt Botte Donato (Sila National Park), prov. of Cosenza, 2015-07-12, *F. Scafidi*, (MJG 018207); Calabria, Telese river near Gambarie (Aspromonte National Park), prov. of Reggio Calabria, 2015-07-12, *F. Scafidi*, (MJG 018209); Calabria, Mt Botte Donato (Sila National Park), prov. of Cosenza, 2015-07-12, *F. Scafidi*, (MJG 018208); Calabria, Telese river near Gambarie (Aspromonte National Park), prov. of Reggio Calabria, 2015-07-12, *F. Scafidi*, (MJG 018177); Calabria, Mt Botte Donato (Sila National Park), prov. of Cosenza, 2015-07-12, *F. Scafidi*, (MJG 018178); Calabria, Mt Botte Donato (Sila National Park), prov. of Cosenza, 2015-07-12, *F. Scafidi*, (MJG 018206); Italy. Calabria I occid. Piani di Aspromonte, in covalle umbrosa aquosa torrentis Telesi hand raro - sed rarissime florets. occasione a bestiis laesa. sol. granit. 11-1200 m., 1877-08-03, *Huter R., Porta P. & Rigo G.*, (WU-Kerner 0071554); Calabria: Sila, 1921-08-02, *Fiori A.*, (FI 570711-570712-570713); Calabria: La Sila, M. Curcio, faggeta nei luoghi umidi, 1952-07-28, *Sarfatti G.*, (FI 570715); Calabria: La Sila, Botte Donato, nelle faggete a 1900 m, 1951-10-08, *Sarfatti G.*, (FI 570714); Calabria: La Sila, Camigliatello, nei boschi salendo verso M. Curcio - m. 1300-1600, 1951-07-10, 12, 15, 16, *Sarfatti G. & Contardo A.*, (FI 570716).



Figura 47. Lectotipo di *Adenostyles alpina* subsp. *macrocephala* (Huter & al.) M. Dillenberger & Kadereit conservato in WU.

Adenostyles alpina subsp. *nebrodensis* (Wagenitz & I. Müll.) Greuter in Willdenowia 37: 140. 2007

≡ *Adenostyles glabra* subsp. *nebrodensis* Wagenitz & I. Müll. in Phytion (Horn) 23: 149. 1983;

= *Adenostyles hybrida* Guss., Florae Siculae Synopsis 2(1): 449. 1844;

– *Adenostyles nebrodensis* Strobl in Flora 65: 196. 1882, nom. illeg.

Protologo: *Caules 1-3-pedales: folia caulina et radicalia saepe magis lata quam longa; suprema oblonga, non cordata, subsessilia; petilis sat raro in foliis superioribus auriculatis: bractee setaceae: anthodia tenuia, saepius colorata, subcalyculata; flores purpurascens: pappus albidus; anthodium parum excedens.*

Folia et caule somnino ut in C. alpina Europae septentrionalis; sed anthodia latiora et villosiora, inde etiam flores majores, numerosiores, 5-7, quo caractere ab A. hybrida etiam differre videtur; et praeterea anthodii foliola enervia, latiora, nec in fructu in tubum cylindraceum medio constrictum clausa, ut in A. alpina, sed formam tubuloso-camplanulatum assumunt – C. macrophylla Marsch. Floribus purpureis, et foliis superioribus non lanceolatis quoque aliena; ideoque auctoritate Cl. Dec. l. c. hanc pro A. hybrida recipio, quamvis descriptio cum planta sicula non in omnibus conveniat (Gussone 1844), (Fig. 48).

Lectotipo: disegnato da Brullo et al. (2012). In elatioribus montosis umbrosis in humentibus ad rivulorum marginem, Madonie, all'acqua del Canale, July, Gussone s.n. (NAP).

Descrizione: Pianta erbacea perenne, rizomatosa, alta 40-60 dm, con fusto eretto, cilindrico, ± farinoso-pubescente per peli semplici ed appressati al fusto, semplice o ramoso – corimbo in alto.

Foglie alterne, intere, le inferiori generalmente con lamina reniforme di 13-22 × 15-23 cm, le cauline inferiori, reniformi, di 8-12 × 9-14 cm, a denti acuti ed irregolarmente dentate, glabre nella pagina superiore e finemente pubescente lungo le nervature nella pagina inferiore; cartacee; le cauline superiori, possono essere cordate od oblungo-lanceolate di 3-8 × 3-5(6) cm; talvolta con 2 orecchiette amplessicauli, di 1-2 × 1-2 mm. Infiorescenze in ampi e densi corimbi, portati da peduncoli pelosi. Involucro cilindrico, 7-8 × 6-7 mm; formato da una sola serie di (6)7-8(9) brattee, glabre o finemente pubescenti, lanceolate o lineari-lanceolate di 1.5-1.7 × 7-8 mm, ciliate all'apice, talora rinforzato da 2 bratteole.

Fiori (9)10-12(15) roseo-poporini, assai più lunghi dell'involucro, tubulosi, ermafroditi, lunghi (7.5)8-9mm, tubo della corolla 3.5-5.5 mm, lembo della corolla 2-4 mm, 4-5 lobi della corolla lunghi 1.1-1.5 mm; 5 stami liberi e antere arrotondate alla base e saldate tra loro; stilo ghiandoloso, cilindrico con stimma bifido; ovario infero con 2 carpelli.

Cipsela angolosa, bruna, glabra, 4.5-6 × 1-1.2 mm; pappo di 1-2 serie di peli bianchi, denticolato, lungo 6-7 mm.

Forma biologica: Emicriptofita scaposa.

Fenologia: Fioritura fine Giugno-metà Luglio, fruttificazione metà Luglio-metà Agosto.

Distribuzione ed ecologia: Endemica delle Madonie (Sicilia), un unico individuo localizzato a Passo della Botte (Petralia Sottana). Forra umida all'interno di una faggeta a 1350 m s.l.m. (Fig. 49)

Numero cromosomico: Non conosciuto.

Stato di Conservazione: CR (Criticamente Danneggiata) (Raimondo et al. 2011).

Specimina visa: Italia: [Sicilia]: Sicilia: in regione nemorosa montium Madoniarum, 1874-07-18, *Strobl G.* (FI001886); Prov. Palermo, in regione nemorosa montium Madoniarum, solo calc., 600-1000 m, 1874-07-18, *Strobl G.* (JE 00016916); Sizilien, Madonie, Passo della Botte, 2010-06-17, *Dillenberger M.S.* (MJG 013774); Prov. Palermo, in regione nemorosa montium Madoniarum, solo calc., 600-1000 m, 1874-07-18, *Strobl G.* (WU-Kerner 0071553); Prov. Palermo, in regione nemorosa montium Madoniarum, solo calc., 600-1000 m, 1874-07-18, *Strobl G.* (WU-Kerner 0071907); in elatioribus montosis umbrosis in humentibus ad rivulorum marginem, Madonie, all'acqua del Canale, luglio, *Gussone* (NAP-GUSS); Madonie: Passo della Botte, VII 1985, *Ross* (PAL 85278); In regione nemorosa montium Madoniarum, solo calc., 600-1000 m, 1874-07-18, *Strobl G.* (BM 001025945); In regione nemorosa montium Madoniarum, solo calc., 600-1000 m, 1874-07-18, *Strobl G.* (K 000797430); In rupibus calcareis umbrosis elatis, Madonie Passo della Botte, Junio 1819, Leg. ? (MNHN-P-P02839371).

Note: Come si evince dai dati di letteratura, questo taxon mostra una problematica nomenclaturale abbastanza complessa, essendo citato in letteratura con vari nomi e combinazioni, in parte invalidi o illegittimi. Come già evidenziato da Greuter (2007), il nome legittimo a rango specifico è *Adenostyles hybrida* Guss. mentre a quello sottospecifico è *A. glabra* subsp. *nebrodensis* pubblicato da Wagenitz (1983) (Brullo et al. 2012b).

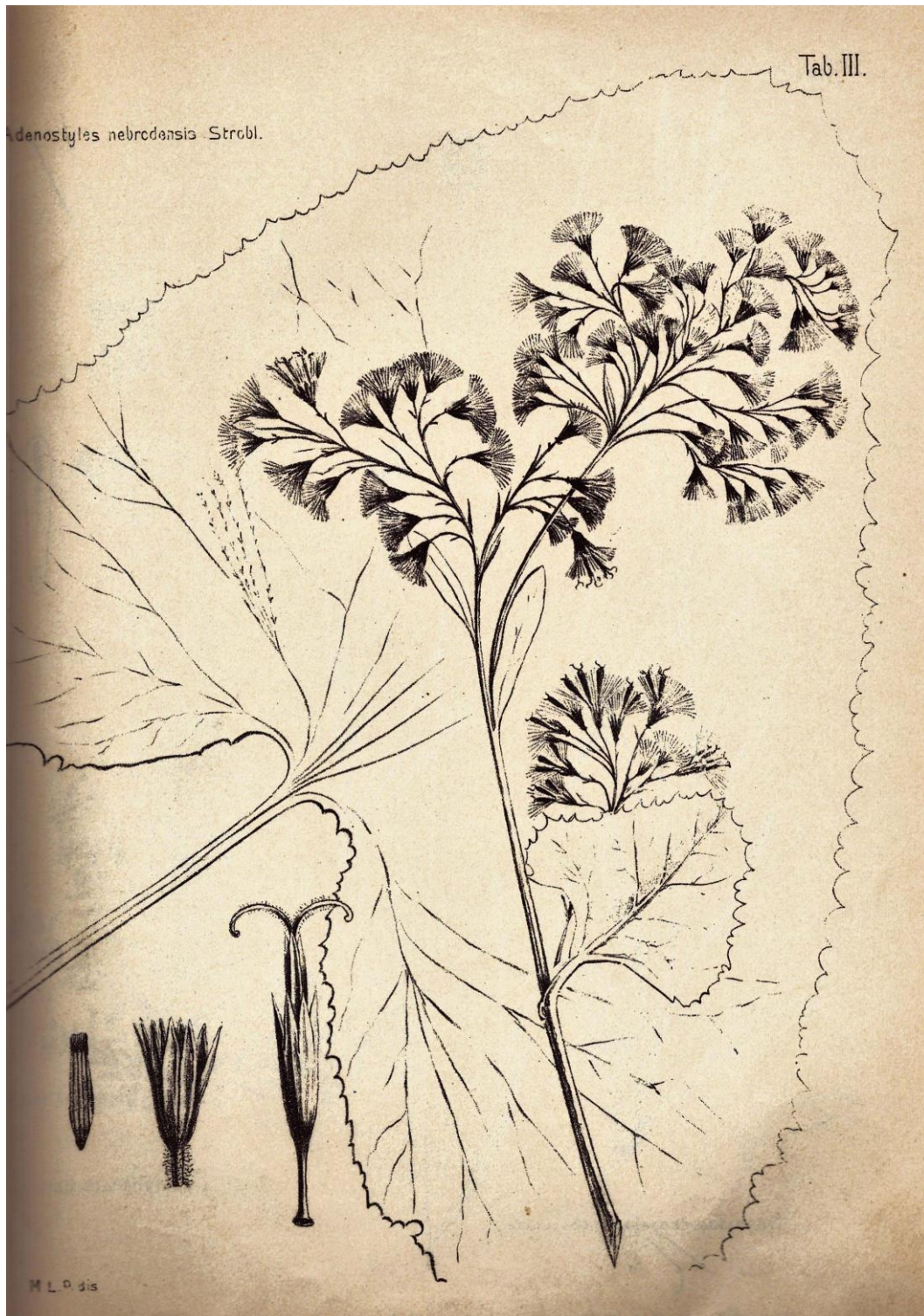


Figura 48. Iconografia di *Adenostyles alpina* subsp. *nebrodensis* (Wagenitz & I. Müll.) Greuter. (Da Lojacono Pojero 1903)



Figura 49. Distribuzione in Italia meridionale di *A. australis*, *A. alpina* subsp. *macrocephala* e *A. alpina* subsp. *nebrodensis*.

Adenostyles alpina subsp. *briquetii* (Gamisan) Tutin in Botanical Journal of the Linnean Society 70: 18. 1975.

≡ *Adenostyles briquetii* Gamisan, in Candollea 28: 75. (1973);

≡ *Cacalia briquetii* (Gamisans) Gamisans, in in Jeanmonod D., Burdet H.M., Compléments au Prodrome de la Flore Corse, Annexe 3: 243. 1993;

≡ *Adenostyles glabra* subsp. *briquetii* (Gamisans) Wagenitz & I. Müll., in Phytion (Horn) 23: 150. 1983;

≡ *Cacalia alpina* subsp. *briquetii* (Gamisans) Kerguelen, in Index synonymique de la Flore de France: XII. 1993.

Protologo: *Ab Adenostyles glabra* (Miller) DC. differt caule et inflorescentiae ramuli somnino glabris (non ± dense pubescentibus), calathiis 4-8(-10) bracteis et (5-)6-12(-19) floribus praeditis (non 3-5 bracteis, 3-6 floribus), corollae tubi parte cylindracea (1.2-3.5 mm longa) quasi semper dilatata (2.3-4 mm longa) brevior (nunquam longior), corollae lobis 0.7-1.7 mm longis (non 2.5-3.2 mm), plerumque nervo medio praeditis.

Olotipo: massif de Bavella, Punta di Fornello, versant SE, près du sommet, anfractuosité de rocher calcaire, 1920 m, 18.7.1967, Gamisans 2441 (fl.), Herbarium Gamisans (G 54387/1!), (Fig. 50).

Descrizione: Pianta alta da 30 a 80 cm. Stelo finemente striato, sempre assolutamente glabro. Foglie della stessa forma e della stessa imensione di *Adenostyles glabra* (Miller) DC., glabre sulle due facce (eccezionalmente qualche raro pelo crespo o ghiandolare stipitato sono presenti sulla faccia inferiore), margini provvisti di ghiandole stipitate e a volte da qualche pelo crespo, le foglie cauline superiori molto brevi o no picciolate, picciolo largo alla base (a volte nei bordi con qualche pelo crespo), mai eccezionalmente auricolato.

Ramusculti portanti calatidi assolutamente glabri, bratte squamose con il margine ciliato-ghiandolare.

Calatidi con (5)6-12(-19) fiori, con 4-8(-10) brattee involucrali, glabre e mai ciliate alla sommità.

Corolla liliacea-porporina, la parte cilindrica del tubo della corolla più corta (1.2-3.5) della parte svasata (2-4 mm), eccezionalmente uguale, mai più lunga, lobi corollini (4) lunghi 0.7-1.7 mm, spesso quasi tutto presentano una nervatura vascolare mediana. Antere lunghe 2-2.5(-3) mm, curvate esternamente con papille emisferiche o con peli a forma di chiglia. Acheni bruni, lunghi 4 mm a maturità. Pappo biancastro con sete denticolate, lungo 4.5-6.5 mm. (Gamisan 1973).

Forma biologica: Emicriptofita scaposa.

Fenologia: Fioritura fine Giugno-metà Agosto, fruttificazione metà Agosto.

Distribuzione ed ecologia: Endemica della Corsica. Forre, boschi umidi e lungo i torrenti da 1250 m. a 2600 m. s.l.m.

Numero cromosomico: $n=19$ (Contandriopoulos 1964).

Stato di Conservazione: Non conosciuto.

Specimina visa: Francia: [Corsica]: France (Corse), Forêt d'Aitone, 1885.7.20, *Reverchon E.* (G 29828/1); France (Corse): Calancha Murata, env. de Zona, Calancha Murata, versant W, 1400 - 1460 m.; 1911.7.11, *Briquet J.*, (G-BU 30324/1).



Figura 50. Olotipo di *A. alpina* subsp. *briquetii* (Gamisans) Tutin conservato in Herbarium Gamisans - G 54387/1.

Adenostyles alpina subsp. *pyrenaica* (Lange) M. Dillenberger & Kadereit in Willdenowia 42: 59. (2012).

≡ *Adenostyles pyrenaica* Lange in Videnskabelige meddelelser fra den Naturhistoriske forening i Kjöbenhavn serie 23: 64. (1861);

≡ *Adenostyles albida* subsp. *pyrenaica* (Lange) Rouy in Flore de France 8: 351 (1903);

≡ *Adenostyles alliariae* subsp. *pyrenaica* (Lange) P. Fourn. in Les Quatre Flores de la France: 994. (1940);

≡ *Cacalia alliariae* subsp. *pyrenaica* (Lange) Kerguélen in Index synonymique de la Flore de France: XII. (1993).

Protologo: *elata, c. 2-pedalis; folia maxima, reniformia, argute, sed subtiliter dentata, utrinque viridia, supra glabriuscula, subtus pilis sparsis crispulis pubescentia, lobis basilaribus rotundatis approximatis sinumque angustum formantibus, petiolus basi auriculatus; corymbus amplus, laxiusculus, foliola peiclini 8-9 lanceolata, fusco-purpurea, glabra, flores 12-14 in quoquis calathis.* (Fig. 51).

Olotipo: Französische Pyrenäen: Vallee de Gourron et Burbe pr. Bagneres de Luchon, 14. VII -3VIII, 1851, J. Lange (C).

Descrizione: Pianta perenne alta fino a 2 m, fusto eretto ramoso, coperto da piccoli peli. Foglie con lamina ampia, cuoriformi, il bordo con grossi denti irregolari, verde e glabre sulla pagina superiore, leggermente pelosa e grigiastra sulla pagina inferiore, lungamente picciolate, le superiori con 2 orecchiette amplessicauli. Capolini con 12-15 fiori, rosei o porporini, involucrio violaceo. Essi formano un ampio corimbo che fiorisce nei mesi di Luglio-Agosto. I frutti sono sormontati da un pappo di peli biancastri con diverse file di setole (Saule 1991).

Forma biologica: Emicriptofita scaposa.

Fenologia: Fioritura Luglio, fruttificazione Agosto.

Distribuzione ed ecologia: Endemica dei Pirenei (Spagna-Francia). Tipica dei megaforbieti, boschi e ambienti umidi, lungo i corsi d'acqua. Dai 1400 m. a 2600 m. s.l.m.

Numero cromosomico: Non conosciuto.

Stato di Conservazione: Non conosciuto.

Specimina visa: Francia: Pyrén. orient. L'Hospitalet, in declivi. vor. occ. mont. Pic. Sabarthe, silv. humid. substr. silic. 2000-2100m, 1944-07-27, *Sleumer H.* (W 1999-0001617); Pyrenäen, Cirque de Gavarnie, 1999-07-27, *Kropf M.* (MJG 000483); Aquitaine, Pyrénées-Atlantiques, Waldweg am Straßenrand, sehr feuchter Wegrand, 2011-08-03, *Dillenberger M.S* (MJG 004233)

Spagna: Cordillera Cantabria, Picos de Europa, Straßenkehre des Puerto de Piedrasluengas, 1999-06-03, *Kropf M.* (MJG 000488); Cordillera Cantabria, Picos de Europa, Bach an Straßenkehre vor dem Puerto de Pandetrave, 1999-08-02, *Kropf M.* (MJG 000484).

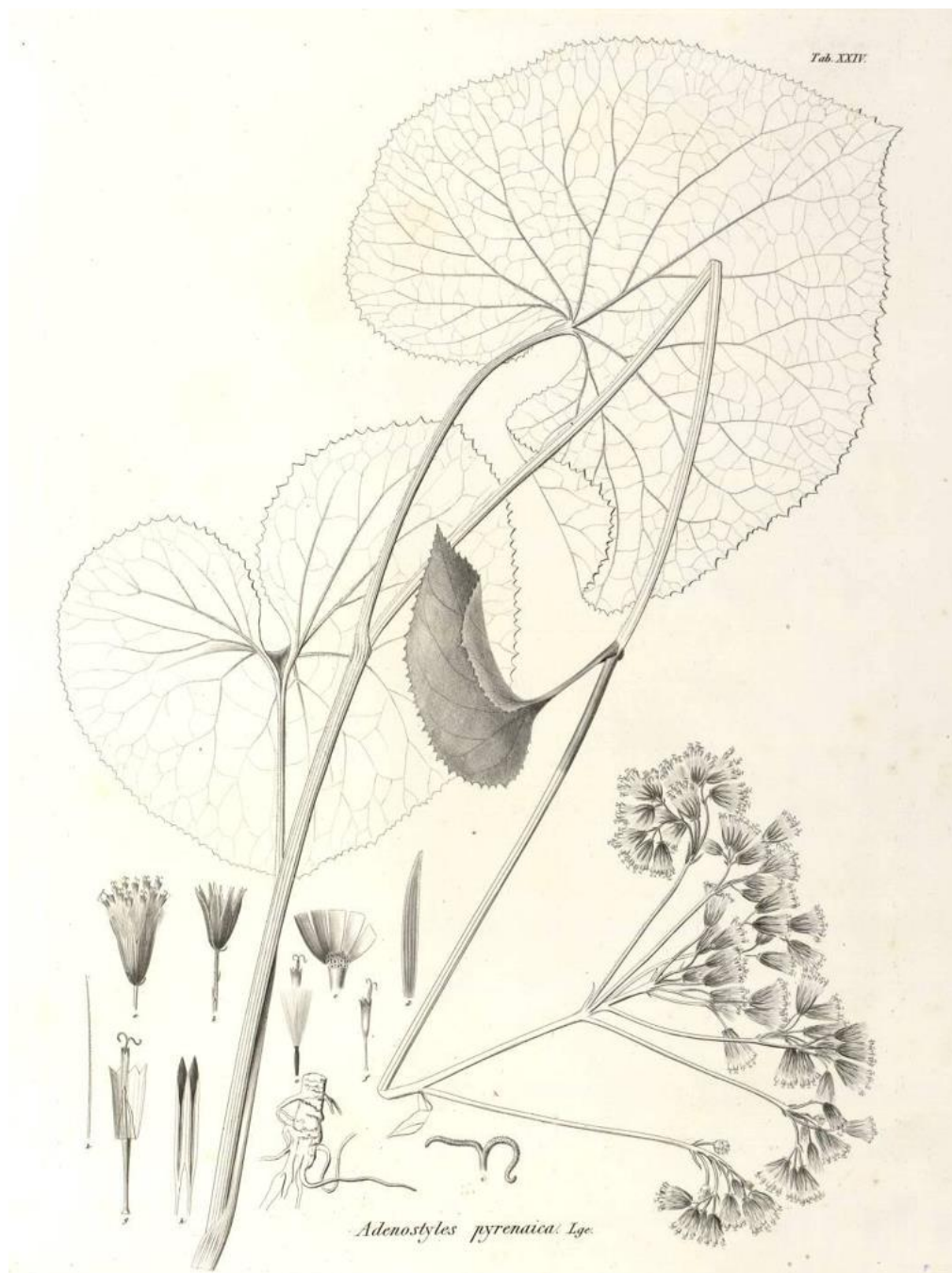


Figura 51. Iconografia di *Adenostyles alpina* subsp. *pyrenaica* (Lange) M. Dillenberger & Kadereit (Da Lange 1865).

8. RINGRAZIAMENTI

L'autore è sinceramente grato alle seguenti persone per il loro aiuto durante la raccolta, attività sul campo, sessioni di laboratorio e suggerimenti generali e consigli ovvero:

Prof. Francesco Maria Raimondo (mentore di questo lavoro), Prof. Pietro Mazzola, Prof. Werner Greuter, Prof., Prof.ssa Cristina Salmeri e il Dott. Emilio Di Gristina.

Un grazie molto speciale va al Prof. Joachim W. Kadereit e al Dott. Markus S. Dillenberger, dell'Institut für Spezielle Botanik und Botanischer Garten, Johannes Gutenberg, Universität Mainz/Germany, per l'ospitalità e per l'aiuto nelle analisi molecolari.

Si ringraziano i fondi di Dottorato dell'Università degli studi di Palermo e della Fondazione Pro Herbarium Mediterraneum, che mi hanno permesso di campionare nell'Italia meridionale e di partecipare a diversi congressi.

Si ringraziano il Dott. Girolamo Fichera dell'Università degli studi di Catania per le osservazioni effettuate al SEM e la Dott.ssa Carmelo Di Liberto dell'Università degli studi di Palermo per la preparazione degli stub metallici.

Ringrazio in particolare il mio amico e compagno di vari escursioni Mariano C., il mio gruppo, e penso di aver trasmesso loro la passione per la botanica ovvero: Vincenzo L., Giuseppe A., Stefano D.M., Lorenzo R., Giuseppe M., Roberta G., Giulia T., Roberta A., Stefania C., Giuseppe O. & Marzia O., per il loro prezioso sostegno e il loro incoraggiamento.

Molte grazie a mia madre, i miei fratelli, la mia ragazza nonché futura moglie Emmanuela, per la sua preziosa pazienza.

Infine UN GRAZIE particolare va a mio padre, oltre che essere padre per me è come un fratello, amico, compagno di avventure, lo ringrazio infinitamente per avermi trasmesso l'amore e la passione Botanica e per tutto l'aiuto che mi ha fornito in questo triennio.

9. BIBLIOGRAFIA

- Abbate G., Acosta A., Baldan A., Basile A., Caporali E., Casadoro G., Cozzolino S., Felicini G.P., Forni C., Giovi E., Maggi O., Mazzuca S., Navazio L., Pasqua G., Perrone C., Selvi F., Signorini M.A., Spada A., Trainotti L. (2011). *Botanica Generale e Diversità Vegetale*. Seconda Edizione, Piccin, Padova.
- Aeschimann D., Lauber K., Moser D. M., Theurillat J.P. (2004). *Flora alpina 2*. Bern. Haupt.
- Baldwin B.G., Markos S. (1998). Phylogenetic Utility of the External Transcribed Spacer (ETS) of 18S-26S rDNA: Congruence of ETS and ITS Trees of *Calycadenia* (*Compositae*). *Molecular phylogenetics and evolution* 10(3): 449-463.
- Andreasen K., Baldwin B.G. (2001). Unequal evolutionary rates between annual and perennial lineages of checker mallows (*Sidalcea*, *Malvaceae*): evidence from 18S-26S rDNA internal and external transcribed spacers. *Molecular Biology and Evolution* 18(6): 936-944.
- 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. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 82: 247-277.
- Bazan G., Marino P., Guarino R., Domina G., Schicchi R. (2015). Bioclimatology and vegetation series in Sicily: a geostatistical approach. *Annales Botanici Fennici* 52: 1-18.
- Biondi E., Blasi C. (2013). Prodrómo della vegetazione d'Italia. Check-list sintassonomica aggiornata di classi, ordini e alleanze presenti in Italia. Società Botanica Italiana Onlus. <http://www.prodroquetia> 11: 3-77.
- Bluff M.J., Fingerhuth C.A. (1825). *Compendium florum germaniae*. Sect. I. Nuremberg, L. Schneg.
- Brullo C., Brullo S., Giusso del Galdo G., Guarino R., Siracusa G., Sciandrello S. (2012a). The Class Querceto-Fagetea Sylvaticae in Sicily: an example of Boreo-Temperate vegetation in the Central Mediterranean Region. *Annali di Botanica* 2: 19-38.
- Brullo C., Brullo S., Giusso del Galdo G., Salmeri C. (2012b). Loci classici di alcuni rari endemismi della flora siciliana. *Flora vascolare d'Italia: studi biosistemati, taxa endemici e loci classici*: 15.
- Cassini H. (1816). L'Adénostyle Blanchatre. Suppl. p. 60 in: Cuvier G. (ed.), *Dictionnaire des sciences naturelles* 1. Paris, Le Normant.

- Clement M., Posada D., Crandall K.A. (2000). TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology* 9:1657-1659.
- Clevinger J.A., Panero J.L. (2000). Phylogenetic analysis of Silphium and subtribe Engelmanniinae (*Asteraceae: Heliantheae*) based on ITS and ETS sequence data. *American Journal of Botany* 87(4): 565-572.
- Contandriopoulos J. (1964). Contribution á l'étude caryologique des Campanulées de Grece. *Bullettin de la Société botanique de France* 111: 222-235.
- Conti F., Manzi A., Pedrotti F. (1992). Libro Rosso delle Piante d'Italia. Ministero dell'Ambiente, Associazione Italiana per il WWF, Società Botanica Italiana. Roma.
- Conti F., Manzi A., Pedrotti F. (1997). Liste Rosse Regionali delle Piante d'Italia. Associazione Italiana per il WWF, Società Botanica Italiana. Camerino.
- Conti F., Abbate G., Alessandrini A., Blasi C. (2005). An Annotated Checklist of the Italian vascular flora: 46. Palombi Editori.
- Davis J.C. (1986). *Statistics and Data Analysis in Geology*. John Wiley & Sons, New York.
- Dillenberger M.S., Kadereit J.W. (2013). The phylogeny of the European high mountain genus *Adenostyles* (*Asteraceae-Senecioneae*) reveals that the edaphic shift coincide with dispersal events. *American Journal of Botany* 100(6): 1171-1183.
- Dillenberger M.S., Kadereit J.W. (2012). Two new combinations in *Adenostyles* (*Asteraceae, Senecioneae*), a conspectus of the genus and key to its species and subspecies. *Willdenowia* 42: 57-61.
- Domina G., Giusso del Galdo G., Gargano D., Labra M., Peccenini S., Peruzzi L., Raimondo F.M. (2012a). The Italian Loci Classici Census. *Taxon* 61(6): 1351-1353.
- Domina G., Bazan G., Campisi P., Greuter W. (2015b). Taxonomy and conservation in Higher Plants and Bryophytes in the Mediterranean Area. *Biodiversity Journal* 6(1): 197-204.
- Domina G., Greuter W, Raimondo F.M. (2016c) A taxonomic reassessment of the *Centaurea busambarensis* complex (*Compositae, Cardueae*), with description of a new species from the Egadi Islands (W Sicily). *Israel Journal of Plant Sciences* (in stampa).
- Eggenberg S., Möhl A. (2009). *Flora vegetativa*. Bern. Haupt.
- Ercole S., Giacanelli V., Bacchetta G., Fenu G., Genovesi P. (2016). Manuali per il monitoraggio di specie e habitat di interesse comunitario (Direttiva 92/43/CEE) in Italia: specie vegetali. ISPRA, Serie Manuali e linee guida, 140/2016.
- Farris J.S. (1970). Estimating phylogenetic trees from distance matrices. *American Nature* 106: 645-668.

- Felsenstein J. (1985) Confidence limits on phylogenies with a molecular clock. *Systematic Zoology* 34: 152-161.
- Felsenstein J. (1981). Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach. *Journal of Molecular Evolution* 17: 368–376.
- Fitch W.M. (1971). Toward defining the course of evolution: minimum change for a specific tree topology. *Systematic Zoology* 20: 406-416.
- Fiori A. (1925-29). *Flora Analitica d'Italia*. Vol 2: 582-583. Edagricole, Bologna.
- Fiori A. (1903) 4. *Compositae*. In Fiori A. & Beguinot A., *Flora analitica d'Italia* 3: 204-205. Padova. Tipografia del Seminario.
- Fischer M. A., Oswald K., Adler W. (2008). *Exkursionsflora für Österreich, Liechtenstein und Südtirol*. Linz: Biologiezentrum der Oberösterreichischen Landesmuseen.
- Fournier P. (1961). *Les quatre flores de la France* 2. Strassbourg: Levrault & Paris: Lechevalier.
- Fowler J., Cohen L. (1987). *Statistics for ornithologists*. British Trust for Ornithology, Tring.
- Frangiote-Pallone S., de Souza L.A. (2014). Pappus and cypsela ontogeny in *Asteraceae*: structural considerations of the tribal category. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 85(1): 62-77.
- Funk V.A., Susanna A., Stuessy T.F., Robinson H. (2009). Classification of *Compositae*. Chapter 11 in *Systematics, Evolution, and Biogeography of Compositae*, Vienna, International Association for Plant Taxonomy (IAPT).
- Gamisans J. (1973). *Adenostyles briquetii*. *Candollea* 28: 75-78.
- Gerola F.M. (1978). *Biologia Vegetale*. Casa editrice Utet. Torino.
- Giovino A., Domina G., Bazan G, Campisi P, Scibetta S. (2015) Taxonomy and conservation of *Pancratium maritimum* (Amaryllidaceae) and relatives in the Central Mediterranean. *Acta Botanica Gallica* 162: 289-299.
- Gouy M., Guindon S., Gascuel O. (2010). SeaView version 4: a multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building. *Molecular biology and evolution* 27(2): 221-224.
- Greuter W. (2003). The Euro+Med treatment of *Senecioneae* and the minor *Compositae* tribes - generic concepts and required new names, with an addendum to *Cardueae*. *Willdenowia* 33: 247.
- Greuter W. (2007). *Adenostyles alpina* subsp. *nebrodensis*. In: Greuter W., Raab-Straube E. von (ed.): *Euro+Med Notulae*, 3 [Notulae ad floram euro-mediterraneam pertinentes 25], *Willdenowia* 37: 139-189.

- Greuter W. (2008). Med-Checklist 2. Palermo.OPTIMA.
- Gussone G. (1844). *Florae siculae synopsis* 2(1): 449-450. Napoli.Tramater.
- Hammer Ø (2016). “PAST 3.12”. Available from: <http://folk.uio.no/ohammer/past> (Last accessed 2 August 2016).
- Hammer Ø, Harper D.A.T., Ryan P.D. (2001). PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. *Paleontologia Electronica* 4: 1-9.
- Harper D.A.T. (1999). *Numerical Palaeobiology*. John Wiley & Sons, New York.
- Heß H. E., Landolt E., Hirzel R. (1972). *Flora der Schweiz* 3. Basel. Birkhäuser.
- Huter R. (1906). *Herbar Studien*. Österr. Bot. Z. 56: 110-119.
- Iamónico D., Pignatti S. (2015). *Adenostyles australis* (Ten.) Iamónico & Pignatti, comb. & stat. nov. (*Compositae*). In: von Raab-Straube E, Raus T. (Eds.), *Euro Med- Checklist notulae* 5. *Willenowia* 45: 450-451.
- Jakob S.S., Blattner F.R. (2006). A chloroplast genealogy of *Hordeum* (*Poaceae*): long term persisting haplotypes, incomplete lineage sorting, regional extinction, and the consequences for phylogenetic inference. *Molecular Biology and Evolution* 23(8): 1602-1612.
- Jarvis C. E. (1992). Seventy-two proposals for the conservation of types of selected Linnaean generic names, the report of subcommittee 3C on the lectotypification of Linnaean generic names. *Taxon* 41: 552-583.
- Jeffrey C. (1992). Notes on *Compositae*, VI: The tribe *Senecioneae* (*Compositae*) in the Mascarene Islands with an annotated world check-list of the genera of the tribe. *Kew Bulletin* 47: 49-109.
- Jeanmonod D., Gamisans J. (2007). *Flora Corsica*. Aix-en-Provence. Édisud.
- Kingman J.F.C. (1982). On the genealogy of large populations. *Journal of Applied Probability* 19: 27-43.
- Kluge A.G., Farris J.S. (1969). Quantitative phyletics and the evolution of anurans. *Systematic Zoology* 18: 1-32.
- Lange J. (1865). *Adenostyles pyrenaica* Lange. *Descriptio iconibus illustrata plantarum nivarum* 2: tab. 24.
- Lauber K., Wagner G. (1996). *Flora helvetica*. Bern. Haupt.
- Lee J., Baldwin B.G., Gottlieb L.D. (2002). Phylogeny of *Stephanomeria* and related genera (*Compositae-Lactuceae*) based on analysis of 18S–26S nuclear rDNA ITS and ETS sequences. *American Journal of Botany* 89(1): 160-168.
- Lojacono Pojero M. (1903). *Adenostyles nebrodensis* Strobl. *Flora Sicula* 2(1): Tab. III.

- Lombardo G., Raimondo F.M., Spadaro V. (2013). Formazione di callo in *Adenostyles alpina* subsp. *nebrodensis* (Asteraceae). 108° Congresso della Società Botanica Italiana onlus: 76. 18-20 Settembre, Baselga di Pinè, Trento.
- Lovka M., Susnik F., Löve A., Löve D. (1971). IOPB Chromosome number reports XXXIV. *Taxon* 20(5/6): 788-791.
- Maddison D.R., Maddison W.P. (2000). MacClade 4.0: analysis of phylogeny and character evolution. Sinauer Assoc., Sunderland.
- Markos S., Baldwin B.G. (2001). Higher-level relationships and major lineages of *Lessingia* (Compositae, Astereae) based on nuclear rDNA internal and external transcribed spacer (ITS and ETS) sequences. *Systematic Botany* 26(1): 168-183.
- Marchetti G.M. (1997). Introduzione all'analisi statistica dei dati multivariati. Dipartimento di statistica. Università di Firenze.
- Mayr E., Ashlock P.D. (1969). Principles of systematic zoology.
- McGrady-Steed J., Harris J.M., Morin P.J. (1997). Biodiversity regulates ecosystem predictability. *Nature* 390: 162-165.
- Meusel H., Jäger E.J., Weinert E., Rauschert S. (1992). Vergleichende Chorologie der zentraleuropäischen Flora-Fischer.
- Muir G., Fleming C.C., Schlötterer C. (2001). Three divergent rDNA clusters predate the species divergence in *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Quercus robur* L. *Molecular Biology and Evolution* 18(2): 112-119.
- Mullis K.B., Faloona F.A. (1987). Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods in enzymology* 155: 335.
- Mullis K.B. (1990). The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Scientific American* 262(4): 56-61.
- Mullis K.B., Faloona F.A., Scharf S., Saiki R.K., Horn G., Erlich H.A. (1986). Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 51: 263.
- Naem S., Li S. (1997). Biodiversity enhances ecosystems reliability. *Nature* 390: 507-509.
- Nei M. (1987). Molecular evolutionary genetics. Columbia University Press, New York, New York, USA.
- Nordenstam B. (2007). Tribe *Senecioneae*. The families and genera of vascular plants 8: 208-241.
- Olden J.D., Douglas M.E., Douglas M.R. (2005). The human dimension of biotic homogenization. *Conservation Biology* 19: 2036-2038.

- Palermo A.M., Pellegrino G., Noce M.E., Bernardo L., Musacchio A. (2002). Patterns of genetic variability in populations of *Adenostyles* Cass. Complex (*Asteraceae*) along the Apennine chain. Italy, *Delpinoa* 44: 103-114.
- Pamilo P., Nei M. (1988). Relationships between gene trees and species trees. *Molecular Biology and Evolution* 5: 568-583.
- Panero J.L., Funk V.A. (2007). New Infraclass taxa in *Asteraceae*. *Phytologia* 89: 356-360.
- Pattengale N.D., Alipour M., Bininda-Emonds O.R.P., Moret B.M.E., Stamatakis A. (2009). How Many Bootstrap Replicates Are Necessary? *Research in Computational Molecular Biology* 5541: 184-200.
- Pelser P.B., Gravendeel B., van der Meijden R. (2002a). Tackling speciose genera: species composition and phylogenetic position of *Senecio* sect. *Jacobaea* (*Asteraceae*) based on plastid and nrDNA sequences. *American Journal of Botany* 89(6): 929-939.
- Pelser P.B., Nordestam B., Kadereit J.W., Watson L.E. (2007b). An ITS phylogeny of tribe *Senecioneae* (*Asteraceae*) and a new delimitation of *Senecio* L. *Taxon* 56: 1077-1104.
- Peruzzi L., Domina G., Bartolucci F., Galasso G., Peccenini S., Raimondo F.M., Albano A., Alessandrini A., Banfi E., Barberis G., Bernardo L., Bovio M., Brullo S., Brundu G., Brunu A., Camarda I., Carta L., Conti F., Croce A., Iamónico D., Iberite M., Iiriti G., Longo D., Marsili S., Medagli P., Pistarino A., Salmeri C., Santangelo A., Scassellati E., Selvi F., Soldano A., Stinca A., Villani M., Wagensommer R.P., Passalacqua N.G. (2015a) An inventory of the names of vascular plants endemic to Italy, their loci classici and types. *Phytotaxa* 196(1): 1-217.
- Peruzzi L., Astuti G, Carta A, Roma-Marzio F, Dolci D, Caldararo F, Bartolucci F, Bernardo L (2015b). Nomenclature, morphometry, karyology and SEM cypselae analysis of *Carduus brutius* (*Asteraceae*) and its relatives. *Phytotaxa* 202: 237-249.
- Pignatti S. (1982). *Flora d'Italia*. Vol. 3: 14-16. Edagricole, Bologna.
- Raimondo F.M., Gianguzzi L., Ilardi V. (1994). Inventario delle specie "a rischio" nella Flora vascolare nativa della Sicilia. *Quaderni di Botanica Ambientale ed Applicata* 3(1992): 65-132.
- Raimondo F.M., Bazan G., Troia A. (2011). Taxa a rischio nella flora vascolare della Sicilia. *Biogeographia* 30: 229-239.
- Raimondo F.M., Schicchi R., Surano N. (2004). Carta del Paesaggio e della Biodiversità vegetale del Parco delle Madonie (Sicilia). *Naturalista Siciliano* 28(1): 71-137.
- Rameau J. C., Mansion D., Dumé G. (1993). *Flore forestière française 2*. Paris: Institut pour le développement forestier.

- Rollán M. G. (1985). Claves de la flora de España (Península y Baleares) 1. Madrid. Mundi-Prensa.
- Saule M. (1991). La grande flore illustrée des Pyrénées: 566. Toulouse. Editions Milan.
- Scafidi F., Dillenberger M.S., Raimondo F.M., Domina G. (2016). Morphological, karyological and molecular analysis of the *Adenostyles alpina* group in southern Italy: Preliminary Data. 111° Congresso della Società Botanica Italiana - III International Plant Science Conference. Roma.
- Scafidi F., Domina G. (2016). Indagini morfometriche sul genere *Adenostyles* (Asteraceae) nell'Italia meridionale. In: Minilavori della Riunione scientifica del gruppo per la Floristica, Sistematica ed Evoluzione. 21-22 Ottobre 2016, Roma. Domina G., Peruzzi L. (eds.).
- Scoppola A., Spampinato G. (2005). Atlante delle specie a rischio di estinzione (CD-Rom). Ministero dell'Ambiente D.P.N, Società Botanica Italiana, Università della Tuscia, Università di Roma La Sapienza.
- Secretariat of the Convention on Biological Diversity. (2001). Handbook of the convention on biological diversity. Earthscan.
- Seybold S. (2009). Flora von Deutschland und angrenzender Länder. Wiebelsheim. Quelle & Meyer.
- Shaw J., Lickey E.B., Schilling E.E., Small R.L. (2007). Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: the tortoise and the hare III. American journal of botany 94(3): 275-288.
- Simpson G.G. (1961). Principles of animal taxonomy No. 20. Columbia University Press.
- Spadaro V., Bazan G., Raimondo F.M. (2010). Riassunti 105° Congresso della Società Botanica Italiana, Milano: 113.
- Stamatakis A. (2006). RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. Bioinformatics 22(21): 2688-2690.
- Stamatakis A. (2008). A Rapid Bootstrap Algorithm for the RAxML Web Servers. Systematic Biology 57(5): 758-771.
- Steffen S., Dillenberger M.S., Kadereit J.W. (2016). Of dwarfs and giants: phylogeny of the *Petasites*-clade (*Asteraceae*-*Senecioneae*) and evolution of miniaturization in arctic-alpine environments. Plant Systematics and Evolution 302(5): 545-559.
- Stevens P.F. (2001). Angiosperm Phylogeny Website. Version 12, July 2012 [and more or less continuously updated since]. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. (Accessed August 27, 2016)

- Strobl G. (1878). Flora der Nebroden. mit Bezug auf die Flora ganz Siciliens. Vol.2: 244-245.
- Swofford D.L. (2002). PAUP*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods) version 4. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Templeton A.R., Crandall K.A., Sing C.F. (1992). A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. Cladogram estimation. *Genetics* 132: 619-633.
- Tenore M. (1842). *Cacalia alpina* var. *australis*. *Sylloge plantarum vascularium florum Neapolitanae* 5: 40.
- Thiers, B. (2016). Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated 602 staff. Available from: <http://sweetgum.nybg.org/ih/> (accessed 17 October 2016).
- Timme R.E., Kuehl J.V., Boore J.L., Jansen R.K. (2007). A comparative analysis of the *Lactuca* and *Helianthus* (*Asteraceae*) plastid genomes: identification of divergent regions and categorization of shared repeats. *American Journal of Botany* 94(3): 302-312.
- Tutin T.G. (1976). *Adenostyles* Cass. P. 189 in: Tutin T.G., Heywood V.H., Burges N.A., Moore D.M., Valentine D.H., Walters S.M., Webb D.A. (ed.), *Flora europaea* 4: 189. Cambridge: Cambridge University.
- Wagenitz G. (1983). Die Gattung *Adenostyles* Cass. In *Phyton: Annales Rei Botanicae* 23: 141-159.
- Wisskirchen R., Haeupler H. (1998). Standardliste der Farn-und Blütenpflanzen Deutschlands 2. Stuttgart. Ulmer.

10. APPENDICE

Sequenze ottenute dall'analisi del marcatore nucleare ITS:

[1] A_australis_n_1

GATATGCTTAAACTCAGCGGGTAGTCCCGCCTGACCTGGGGTTCGCGGTCAAAGCATCGTACAAGACGAC
ACATTAGGGTCATTGGAGAGATCTTCCTTACTCCTTAGAACACACGACTCGATAAGAGGGTCTTGTC
CCACCACTAATCGTGCGTCCATCGAAGGGGACTCTTATTTAGCCAACCGCACCTTAGGAACGGGAGAC
CAATCTCCGCCCCCATTACAACATCCCCATGAAAGGGTGTGTGGAGGGCGACGCGATGTGTGACGCCC
AGGCAGACGTGCCCTCGACCAAAAAGGCTTCGGGCGCAACTTGC GTTCAAAAACCTCGATGGTTCACGGGA
TTCTGCAATTCACACCAAGTATCGCATTTTGTACGTTCTTCATCGATGCGTGAGCCGAGATATCCGTT
GCCGAGAGTCGTTGTGATTATAAAGAAGCTGGATACCTTGCAATCACC GCGAACGATGAAACAAGATAC
AAGCCCTTCTTAAGTTTATTTTTCCTTGGCACATGCCGTGCCGGGGGTGTGTTGATTTGCCAATGTAACA
TCCTTAGGACCCAAAGGGCTTACCAAAGACGCACATCAACGTGGCATCCAAAGAATCAGACACGAGCCC
AATACCAAGGACACCAAATTGTTGTTACATGTTACGGGTGTTCTGCTAAGCAGGTTTCGACAATGAT
CCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTACGACTTCTCCTTCCTCTAA

[2] A_australis_n_2

GATATGCTTAAACTCAGCGGGTAGTCCCGCCTGACCTGGGGTTCGCGGTCAAAGCATCGTACAAGACGAC
ACATTAGGGTCATTGGAGAGATCTTCCTTACTCCTTAGAACACACGACTCGATAAGAGGGTCTTGTC
CCACCACTAATCGTGCGTCCATCGAAGGGGACTCTTATTTAGCCAACCGCACCTTAGGAACGGGAGAC
CAATCTCCGCCCCCATTACAACATCCCCATGAAAGGGTGTGTGGAGGGCGACGCGATGTGTGACGCCC
AGGCAGACGTGCCCTCGACCAAAAAGGCTTCGGGCGCAACTTGC GTTCAAAAACCTCGATGGTTCACGGGA
TTCTGCAATTCACACCAAGTATCGCATTTTGTACGTTCTTCATCGATGCGTGAGCCGAGATATCCGTT
GCCGAGAGTCGTTGTGATTATAAAGAAGCTGGATACCTTGCAATCACC GCGAACGATGAAACAAGATAC
AAGCCCTTCTTAAGTTTATTTTTCCTTGGCACATGCCGTGCCGGGGGTGTGTTGATTTGCCAATGTAACA
TCCTTAGGACCCAAAGGGCTTACCAAAGACGCACATCAACGTGGCATCCAAAGAATCAGACACGAGCCC
AATACCAAGGACACCAAATTGTTGTTACATGTTACGGGTGTTCTGCTAAGCAGGTTTCGACAATGAT
CCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTACGACTTCTCCTTCCTCTAA

[3] A_australis_n_3

GATATGCTTAAACTCAGCGGGTAGTCCCGCCTGACCTGGGGTTCGCGGTCAAAGCATCGTACAAGACGAC
ACATTAGGGTCATTGGAGAGATCTTCCTTACTCCTTAGAACACACGACTCGATAAGAGGGTCTTGTC
CCACCACTAATCGTGCGTCCATCGAAGGGGACTCTTATTTAGCCAACCGCACCTTAGGAACGGGAGAC
CAATCTCCGCCCCCATTACAACATCCCCATGAAAGGGTGTGTGGAGGGCGACGCGATGTGTGACGCCC
AGGCAGACGTGCCCTCGACCAAAAAGGCTTCGGGCGCAACTTGC GTTCAAAAACCTCGATGGTTCACGGGA
TTCTGCAATTCACACCAAGTATCGCATTTTGTACGTTCTTCATCGATGCGTGAGCCGAGATATCCGTT
GCCGAGAGTCGTTGTGATTATAAAGAAGCTGGATACCTTGCAATCACC GCGAACGATGAAACAAGATAC
AAGCCCTTCTTAAGTTTATTTTTCCTTGGCACATGCCGTGCCGGGGGTGTGTTGATTTGCCAATGTAACA
TCCTTAGGACCCAAAGGGCTTACCAAAGACGCACATCAACGTGGCATCCAAAGAATCAGACACGAGCCC
AATACCAAGGACACCAAATTGTTGTTACATGTTACGGGTGTTCTGCTAAGCAGGTTTCGACAATGAT
CCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTACGACTTCTCCTTCCTCTAA

[4] A_australis_n_4

GATATGCTTAAACTCAGCGGGTAGTCCCGCCTGACCTGGGGTTCGCGGTCAAAGCATCGTACAAGACGAC
ACATTAGGGTCATTGGAGAGATCTTCCTTACTCCTTAGAACACACGACTCGATAAGAGGGTCTTGTC
CCACCACTAATCGTGCGTCCATCGAAGGGGACTCTTATTTAGCCAACCGCACCTTAGGAACGGGAGAC
CAATCTCCGCCCCCATTACAACATCCCCATGAAAGGGTGTGTGGAGGGCGACGCGATGTGTGACGCCC
AGGCAGACGTGCCCTCGACCAAAAAGGCTTCGGGCGCAACTTGC GTTCAAAAACCTCGATGGTTCACGGGA
TTCTGCAATTCACACCAAGTATCGCATTTTGTACGTTCTTCATCGATGCGTGAGCCGAGATATCCGTT
GCCGAGAGTCGTTGTGATTATAAAGAAGCTGGATACCTTGCAATCACC GCGAACGATGAAACAAGATAC
AAGCCCTTCTTAAGTTTATTTTTCCTTGGCACATGCCGTGCCGGGGGTGTGTTGATTTGCCAATGTAACA
TCCTTAGGACCCAAAGGGCTTACCAAAGACGCACATCAACGTGGCATCCAAAGAATCAGACACGAGCCC
AATACCAAGGACACCAAATTGTTGTTACATGTTACGGGTGTTCTGCTAAGCAGGTTTCGACAATGAT
CCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTACGACTTCTCCTTCCTCTAA

[5] A_australis_n_5

GATATGCTTAAACTCAGCGGGTAGTCCCGCCTGACCTGGGGTTCGCGGTCAAAGCATCGTACAAGACGAC
ACATTAGGGTCATTGGAGAGATCTTCCTTACTCCTTAGAACACACGACTCGATAAGAGGGTCTTGTC
CCACCACTAATCGTGCGTCCATCGAAGGGGACTCTTATTTAGCCAACCGCACCTTAGGAACGGGAGAC

CAATCTCCGCCCCATTACAACATCCCCATGAAAGGGTGTGTGGAGGGCGACGCGATGTGTGACGCCC
AGGCAGACGTGCCCTCGACCAAAAAGGCTTCGGGCGCAACTTGC GTTCAAAAAC TCGATGGTTCACGGGA
TTCTGCAATTCACACCAAGTATCGCATTTTGTACGTTCTTCATCGATGCGTGAGCCGAGATATCCGTT
GCCGAGAGTCGTTGTGATTATAAAGAAGCTGGATACCTTGCAATCACCGCGAACGATGAAACAAGATAC
AAGCCCTTCTTAAGTTTATTTTTCCTTGGCACATGCCGTGCCGGGGGTGTGTGATTTGCCAATGTAACA
TCCTTAGGACCCAAAAGGGCTTACCAAAGACGCACATCAACGTGGCATCCAAAGAATCAGACACGAGCCC
AATACCAAGGACACCAAATTGTTGTTACATGTTACGGGTGTTCTGCTAAGCAGGTTTCGACAATGAT
CCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTACGACTTCTCCTTCTCTAA

[6] *A_australis_n_6*

GATATGCTTAAACTCAGCGGGTAGTCCCGCCTGACCTGGGGTTCGCGGTCAAAGCATCGTACAAGACGAC
ACATTAGGGTCATTGGAGAGATCTTCCTTACTCCTTAGAACACACGACTCGATAAGAGGGTCTTGTCAA
CCACCCTAATCGTGCGTCCATCGAAGGGGACTCTTATTTTAGCCAACCGCACCTTAGGAACGGGAGAC
CAATCTCCGCCCCATTACAACATCCCCATGAAAGGGTGTGTGGAGGGCGACGCGATGTGTGACGCCC
AGGCAGACGTGCCCTCGACCAAAAAGGCTTCGGGCGCAACTTGC GTTCAAAAAC TCGATGGTTCACGGGA
TTCTGCAATTCACACCAAGTATCGCATTTTGTACGTTCTTCATCGATGCGTGAGCCGAGATATCCGTT
GCCGAGAGTCGTTGTGATTATAAAGAAGCTGGATACCTTGCAATCACCGCGAACGATGAAACAAGATAC
AAGCCCTTCTTAAGTTTATTTTTCCTTGGCACATGCCGTGCCGGGGGTGTGTGATTTGCCAATGTAACA
TCCTTAGGACCCAAAAGGGCTTACCAAAGACGCACATCAACGTGGCATCCAAAGAATCAGACACGAGCCC
AATACCAAGGACACCAAATTGTTGTTACATGTTACGGGTGTTCTGCTAAGCAGGTTTCGACAATGAT
CCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTACGACTTCTCCTTCTCTAA

[7] *A_australis_n_7*

GATATGCTTAAACTCAGCGGGTAGTCCCGCCTGACCTGGGGTTCGCGGTCAAAGCATCGTACAAGACGAC
ACATTAGGGTCATTGGAGAGATCTTCCTTACTCCTTAGAACACACGACTCGATAAGAGGGTCTTGTCAA
CCACCCTAATCGTGCGTCCATCGAAGGGGACTCTTATTTTAGCCAACCGCACCTTAGGAACGGGAGAC
CAATCTCCGCCCCATTACAACATCCCCATGAAAGGGTGTGTGGAGGGCGACGCGATGTGTGACGCCC
AGGCAGACGTGCCCTCGACCAAAAAGGCTTCGGGCGCAACTTGC GTTCAAAAAC TCGATGGTTCACGGGA
TTCTGCAATTCACACCAAGTATCGCATTTTGTACGTTCTTCATCGATGCGTGAGCCGAGATATCCGTT
GCCGAGAGTCGTTGTGATTATAAAGAAGCTGGATACCTTGCAATCACCGCGAACGATGAAACAAGATAC
AAGCCCTTCTTAAGTTTATTTTTCCTTGGCACATGCCGTGCCGGGGGTGTGTGATTTGCCAATGTAACA
TCCTTAGGACCCAAAAGGGCTTACCAAAGACGCACATCAACGTGGCATCCAAAGAATCAGACACGAGCCC
AATACCAAGGACACCAAATTGTTGTTACATGTTACGGGTGTTCTGCTAAGCAGGTTTCGACAATGAT
CCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTACGACTTCTCCTTCTCTAA

[8] *A_australis_n_8*

GATATGCTTAAACTCAGCGGGTAGTCCCGCCTGACCTGGGGTTCGCGGTCAAAGCATCGTACAAGACGAC
ACATTAGGGTCATTGGAGAGATCTTCCTTACTCCTTAGAACACACGACTCGATAAGAGGGTCTTGTCAA
CCACCCTAATCGTGCGTCCATCGAAGGGGACTCTTATTTTAGCCAACCGCACCTTAGGAACGGGAGAC
CAATCTCCGCCCCATTACAACATCCCCATGAAAGGGTGTGTGGAGGGCGACGCGATGTGTGACGCCC
AGGCAGACGTGCCCTCGACCAAAAAGGCTTCGGGCGCAACTTGC GTTCAAAAAC TCGATGGTTCACGGGA
TTCTGCAATTCACACCAAGTATCGCATTTTGTACGTTCTTCATCGATGCGTGAGCCGAGATATCCGTT
GCCGAGAGTCGTTGTGATTATAAAGAAGCTGGATACCTTGCAATCACCGCGAACGATGAAACAAGATAC
AAGCCCTTCTTAAGTTTATTTTTCCTTGGCACATGCCGTGCCGGGGGTGTGTGATTTGCCAATGTAACA
TCCTTAGGACCCAAAAGGGCTTACCAAAGACGCACATCAACGTGGCATCCAAAGAATCAGACACGAGCCC
AATACCAAGGACACCAAATTGTTGTTACATGTTACGGGTGTTCTGCTAAGCAGGTTTCGACAATGAT
CCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTACGACTTCTCCTTCTCTAA

[9] *A_australis_n_9*

GATATGCTTAAACTCAGCGGGTAGTCCCGCCTGACCTGGGGTTCGCGGTCAAAGCATCGTACAAGACGAC
ACATTAGGGTCATTGGAGAGATCTTCCTTACTCCTTAGAACACACGACTCGATAAGAGGGTCTTGTCAA
CCACCCTAATCGTGCGTCCATCGAAGGGGACTCTTATTTTAGCCAACCGCACCTTAGGAACGGGAGAC
CAATCTCCGCCCCATTACAACATCCCCATGAAAGGGTGTGTGGAGGGCGACGCGATGTGTGACGCCC
AGGCAGACGTGCCCTCGACCAAAAAGGCTTCGGGCGCAACTTGC GTTCAAAAAC TCGATGGTTCACGGGA
TTCTGCAATTCACACCAAGTATCGCATTTTGTACGTTCTTCATCGATGCGTGAGCCGAGATATCCGTT
GCCGAGAGTCGTTGTGATTATAAAGAAGCTGGATACCTTGCAATCACCGCGAACGATGAAACAAGATAC
AAGCCCTTCTTAAGTTTATTTTTCCTTGGCACATGCCGTGCCGGGGGTGTGTGATTTGCCAATGTAACA
TCCTTAGGACCCAAAAGGGCTTACCAAAGACGCACATCAACGTGGCATCCAAAGAATCAGACACGAGCCC
AATACCAAGGACACCAAATTGTTGTTACATGTTACGGGTGTTCTGCTAAGCAGGTTTCGACAATGAT
CCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTACGACTTCTCCTTCTCTAA

[10] *A_alpina_subsp_macrocephala_n_2*
GATATGCTTAAACTCAGCGGGTAGTCCCGCCTGACCTGGGGTTCGCGGTCAAAGCATCGTACAAGACGAC
ACATTAGGGTCATTGGAGAGATCTTCCTTACTCCTTAGAACACACGACTCGATAAGAGGGTCTTGTCAA
CCACCCTAATCRTGCGTCCRTCGAAGGGGACTCTTATTTTAGCCAACCGCACCTTAGGAACGGGAGAC
CAATCTCCGCCCCATTACAACATCCCCATGAAAGGGTGTGTGGAGGGCGACGCGATGTGTGACGCC
AGGCAGACGTGCCCTCGACCAAAAAGGCTTCGGGCGCAACTTGCCTTCAAAAACCTCGATGGTTCACGGGA
TTCTGCAATTCACACCAAGTATCGCATTTTGTACGTTCTTCATCGATGCGTGAGCCGAGATATCCGTT
GCCGAGAGTCGTTGTGATTATAAAGAAGCTGGATACCTTGCAATCACCGCGAACGATGAAACAAGATAC
AAGCCCTTCTTAAGTTTATTTTTCCTTGGCACATGCCGTGCCGGGGTGTGTTGATTTGCCAATGTAACA
TCCTTAGGACCCAAAGGGCTTACCAAGACGCACATCAACGTGGCATCCAAAGAATCAGACACGAGCCC
AATACCAAGGACACCAATTGTTGTTACATGTTACGCGGTGCTTCTGCTAAGCAGGTTTCGACAATGAT
CCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTACGACTTCTCCTTCCWCTAA

[11] *A_alpina_subsp_macrocephala_n_2*
GATATGCTTAAACTCAGCGGGTAGTCCCGCCTGACCTGGGGTTCGCGGTCAAAGCATCGTACAAGACGAC
ACATTAGGGTCWTTGGAGAGATCTTCCTTACTCCTTAGAACACACGACTCRATAAGAGGGTCTTGTCAA
CCACCCTAATCGTGYGTCCRTCRAAGGGGACTCTTATTTTAGCCAACCGCACCTTAVGAACGGGAGAC
CAATCTCCGCCCCATTACAACATCCCCATGAAARGGTGTGTGGAGGGCGACGCGATGTGTGACGCC
AGGCAGACGTGCCCTCGACCAAAAAGGCTTCGGGCGCAACTTGCCTTCAAAAACCTCGATGGTTCACGGGA
TTCTGCAATTCACACCAAGTATCGCATTTTGTACGTTCTTCATCGATGCGTGAGCCGAGATATCCGTT
GCCGAGAGTCGTTGTGATTATAAAGAAGCTKGATACCTTGCAATCACCGCGAACGATGAAACAAGATAC
AAGCCCTTCTTAAGTTTATTTTTCCTTGGCACATGCCGTGCCGGGGTGTGTTGATTTGCCAATGTRACA
TCCTTAGGACCCAAAGGGCTTACCAADGAYGCACATCAACGTGGYATCCAAAGAATCAGACAMGAGCCC
AATACCAAGGACACCAATTGTTGTTACATGTTACRGGTCTTCTGCTAAGCAGGTTTCGACAATGAT
CCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTACGACTTCTCCTTCCCTCTAA

[12] *A_alpina_subsp_nebrodensis_n_1*
GATATGCTTAAACTCAGCGGGTAGTCCCGCCTGACCTGGGGTTCGCGGTCAAAGCATCGTACAAGACGAC
ACATTAGGGTCATTGGAGAGATCTTCCTTACTCCTTAGAACACACGACTCGATAAGAGGGTCTTGTCAA
CCACCCTAATCGTGCCTCCATCGAAGGGGACTCTTATTTTAGCCAACCGCACCTTAGGAACGGGAGAC
CAATCTCCGCCCCATTACAACATCCCCATGAAAGGGTGTGTGGAGGGCGACGCGATGTGTGACSCC
AGGCAGACGTGCCCTCGACCAAAAAGGCTTCGGGCGCAACTTGCCTTCAAAAACCTCGATGGTTCACGGGA
TTCTGCAATTCACACCAAGTATCGCATTTTGTACGTTCTTCATCGATGCGTGAGCCGAGATATCCGTT
GCCGAGAGTCGTTGTGATTATAAAGAAGCTGGATACCTTGCAATCACCGCGAACGATGAAACAAGATAC
AAGCCCTTCTTAAGTTTATTTTTCCTTGGCACATGCCGTGCCGGGGTGTGTTGATTTGCCAATGTAACA
TCCTTAGGACCCAAAGGGCTTACCAAGACGCACATCAACGTGGCATCCAAAGAATCAGACACGAGCCC
AATACCAAGGACACCAATTGTTGTTACATGTTACGCGGTGCTTCTGCTAAGCAGGTTTCGACAATGAT
CCTTCCGCAGGTTACCTACGGAAACCTTGTACGACTTCTCCTWCCWCTAA

Sequenze ottenute dall'analisi del marcatore nucleare ETS:

[1] *A_australis_n_1*
CATGAGTGGTGTGTTGGTTTGTACGGGTGGTTGGCTCTTTGCTTGCGCAACAACCTTCCATCTGGCATA
CTCCTCAATTATGCGTCAAGGCTTGTATCGCCTTGGATGTATTGCGGGTTTCTTGTATTTACATACCCAA
TTGCTGGTATTGTTTTGGTTGATTGAAGTCCCTTTTCATCTTGTGTTGCTGTTGTGATGCATGATGAAC
CTTGAAGCGGTCTCTATGTTCCATCATGTTGATGCAATGCATTGATGTTGTGGCCATTGAGTGTGTC
CTGGTATCCTTGATACGGAACATTATGTGGGCATGGGGTCTCTCATGACTCTTGTGTTTGTCTTGTAA
GTGTTCTTTGAA-
CGACGGTTCATGCGCGCTAGGCTCGTACCTGCGCGATGTTCTTTGTCAAAGAGGAATGCTACCTGGTT
GATCCTGCCAGTAGTCATATGCTTGTCTCAAAGATTAAGCCATGC

[2] *A_australis_n_2*
CATGAGTGGTGTGTTGGTTTGTACGGGTGGTTGGCTCTTTGCTTGCGCAACAACCTTCCATCTGGCATA
CTCCTCAATTATGCGTCAAGGCTTGTATCGCCTTGGATGTATTGCGGGTTTCTTGTATTTACATACCCAA
TTGCTGGTATTGTTTTGGTTGATTGAAGTCCCTTTTCATCTTGTGTTGCTGTTGTGATGCATGATGAAC
CTTGAAGCGGTCTCTATGTTCCATCATGTTGATGCAATGCATTGATGTTGTGGCCATTGAGTGTGTC
CTGGTATCCTTGATACGGAACATTATGTGGGCATGGGGTCTCTCATGACTCTTGTGTTTGTCTTGTAA
GTGTTCTTTGAA-

CGACGGTTCATGCGCGCCTAGGCTCGTACCTGCGCGATGTTCTTTGTCAAAGAGGAATGCTACCTGGTT
GATCCTGCCAGTAGTCATATGCTTGTCTCAAAGATTAAGCCATGC

[3] *A_australis_n_3*

CATGAGTGGTGTGTTGGTTTGTACGGGTGGTGGCTCTTTGCTTGCGCAACAACCTCCATCTGGCATA
CTCCTCAATTATGCGTCAAGGCTTGTATCGCCTTGGATGTATTGCGGGTTTCTTGTATTTCATAACCCAA
TTGCTGGTATTGTTTTGGTTGATTGAAGTCCCTTTTCATCTTGTGTTGCTGTTGTGATGCATGATGAAC
CTTGAAGCGGTCTCTATGTTCCATCATGTTGATGCAAATGCATTGATGTTGTGGCCCATTGAGTGTTC
CTGGTATCCTTGATACGGAACATTATGTGGGCATGGGGTCTCTCATGACTCTTGTGTTTTGTCCTTGTTAA
GTGTTCTTTGAA-

CGACGGTTCATGCGCGCCTAGGCTCGTACCTGCGCGATGTTCTTTGTCAAAGAGGAATGCTACCTGGTT
GATCCTGCCAGTAGTCATATGCTTGTCTCAAAGATTAAGCCATGC

[4] *A_australis_n_4*

CATGAGTGGTGTGTTGGTTTGTACGGGTGGTGGCTCTTTGCTTGCGCAACAACCTCCATCTGGCATA
CTCCTCAATTATGCGTCAAGGCTTGTATCGCCTTGGATGTATTGCGGGTTTCTTGTATTTCATAACCCAA
TTGCTGGTATTGTTTTGGTTGATTGAAGTCCCTTTTCATCTTGTGTTGCTGTTGTGATGCATGATGAAC
CTTGAAGCGGTCTCTATGTTCCATCATGTTGATGCAAATGCATTGATGTTGTGGCCCATTGAGTGTTC
CTGGTATCCTTGATACGGAACATTATGTGGGCATGGGGTCTCTCATGACTCTTGTGTTTTGTCCTTGTTAA
GTGTTCTTTGAA-

CGACGGTTCATGCGCGCCTAGGCTCGTACCTGCGCGATGTTCTTTGTCAAAGAGGAATGCTACCTGGTT
GATCCTGCCAGTAGTCATATGCTTGTCTCAAAGATTAAGCCATGC

[5] *A_australis_n_5*

CATGAGTGGTGTGTTGGTTTGTACGGGTGGTGGCTCTTTGCTTGCGCAACAACCTCCATCTGGCATA
CTCCTCAATTATGCGTCAAGGCTTGTATCGCCTTGGATGTATTGCGGGTTTCTTGTATTTCATAACCCAA
TTGCTGGTATTGTTTTGGTTGATTGAAGTCCCTTTTCATCTTGTGTTGCTGTTGTGATGCATGATGAAC
CTTGAAGCGGTCTCTATGTTCCATCATGTTGATGCAAATGCATTGATGTTGTGGCCCATTGAGTGTTC
CTGGTATCCTTGATACGGAACATTATGTGGGCATGGGGTCTCTCATGACTCTTGTGTTTTGTCCTTGTTAA
GTGTTCTTTGAA-

CGACGGTTCATGCGCGCCTAGGCTCGTACCTGCGCGATGTTCTTTGTCAAAGAGGAATGCTACCTGGTT
GATCCTGCCAGTAGTCATATGCTTGTCTCAAAGATTAAGCCATGC

[6] *A_australis_n_6*

CATGAGTGGTGTGTTGGTTTGTACGGGTGGTGGCTCTTTGCTTGCGCAACAACCTCCATCTGGCATA
CTCCTCAATTATGCGTCAAGGCTTGTATCGCCTTGGATGTATTGCGGGTTTCTTGTATTTCATAACCCAA
TTGCTGGTATTGTTTTGGTTGATTGAAGTCCCTTTTCATCTTGTGTTGCTGTTGTGATGCATGATGAAC
CTTGAAGCGGTCTCTATGTTCCATCATGTTGATGCAAATGCATTGATGTTGTGGCCCATTGAGTGTTC
CTGGTATCCTTGATACGGAACATTATGTGGGCATGGGGTCTCTCATGACTCTTGTGTTTTGTCCTTGTTAA
GTGTTCTTTGAA-

CGACGGTTCATGCGCGCCTAGGCTCGTACCTGCGCGATGTTCTTTGTCAAAGAGGAATGCTACCTGGTT
GATCCTGCCAGTAGTCATATGCTTGTCTCAAAGATTAAGCCATGC

[7] *A_australis_n_7*

CATGAGTGGTGTGTTGGTTTGTACGGGTGGTGGCTCTTTGCTTGCGCAACAACCTCCATCTGGCATA
CTCCTCAATTATGCGTCAAGGCTTGTATCGCCTTGGATGTATTGCGGGTTTCTTGTATTTCATAACCCAA
TTGCTGGTATTGTTTTGGTTGATTGAAGTCCCTTTTCATCTTGTGTTGCTGTTGTGATGCATGATGAAC
CTTGAAGCGGTCTCTATGTTCCATCATGTTGATGCAAATGCATTGATGTTGTGGCCCATTGAGTGTTC
CTGGTATCCTTGATACGGAACATTATGTGGGCATGGGGTCTCTCATGACTCTTGTGTTTTGTCCTTGTTAA
GTGTTCTTTGAA-

CGACGGTTCATGCGCGCCTAGGCTCGTACCTGCGCGATGTTCTTTGTCAAAGAGGAATGCTACCTGGTT
GATCCTGCCAGTAGTCATATGCTTGTCTCAAAGATTAAGCCATGC

[8] *A_australis_n_8*

CATGAGTGGTGTGTTGGTTTGTACGGGTGGTGGCTCTTTGCTTGCGCAACAACCTCCATCTGGCATA
CTCCTCAATTATGCGTCAAGGCTTGTATCGCCTTGGATGTATTGCGGGTTTCTTGTATTTCATAACCCAA
TTGCTGGTATTGTTTTGGTTGATTGAAGTCCCTTTTCATCTTGTGTTGCTGTTGTGATGCATGATGAAC
CTTGAAGCGGTCTCTATGTTCCATCATGTTGATGCAAATGCATTGATGTTGTGGCCCATTGAGTGTTC
CTGGTATCCTTGATACGGAACATTATGTGGGCATGGGGTCTCTCATGACTCTTGTGTTTTGTCCTTGTTAA
GTGTTCTTTGAA-

CGACGGTTCATGCGCGCCTAGGCTCGTACCTGCGCGATGTTCTTTGTCAAAGAGGAATGCTACCTGGTT
GATCCTGCCAGTAGTCATATGCTTGTCTCAAAGATTAAGCCATGC

[9] A_australis_n_9

CATGAGTGGTGTGGTTGGTTTACGGGTGGTGGCTCTTTGCTTGCGCAACAACCTCCATCTGGCATACTCCTCAATTATGCGTCAAGGCTTGTATCGCCTTGGATGTATTGCGGGTTTCTTGTATTTACATACCCAA TTGCTGGTATTGTTTTGGTTGATTGAAGTCCCTTTTCATCTTGTGTTGCTGTTGTGATGCATGATGAAC CTTGAAGCGGTCTCTATGTTCCATCATGTTGATGCAAATGCATTGATGTTGTGGCCCATTGAGTGTGTC CTGGTATCCTTGATACGGAACATTATGTGGGCATGGGGTCTCTCATGACTCTTGTGTTTTGTCCTTGTTAA GTGTTCTTTGAA-

CGACGGTTCATGCGCGCCTAGGCTCGTACCTGCGCGATGTTCTTTGTCAAAGAGGAATGCTACCTGGTT GATCCTGCCAGTAGTCATATGCTTGTCTCAAAGATTAAGCCATGC

[10] A_alpina_subsp_macrocephala_n_2

CATGAGTGGTGTGGTTGGTTTACGGGTGGTGGCTCTTTGCTTGCGCAACAACCTCCATCTGGCATACTCCTCAATTATGCGTCAAGGCTTGTATCGCCTTGGATGTATTGCGGGTTTCTTGTATTTACATACCCAA TTGCTGGTATTGTTTTGGTTGATTGAAGTCCCTTTTCATCTTGTGTTGCTGTTGTGATGCATGATGAAC CTTGAAGCGGTCTCTATGTTCCATCATGTTGATGCAAATGCATTGATGTTGTGGCCCATTGAGTGTGTC CTGGTATCCTTGATACGGAACATTATGTGGGCATGGGGTCTCTCATGACTCTTGTGTTTTGTCCTTGTTAA GTGTTCTTTGAA-

CGACGGTTCATGCGCGCCTAGGCTCGTACCTGCGCGATGTTCTTTGTCAAAGAGGAATGCTACCTGGTT GATCCTGCCAGTAGTCATATGCTTGTCTCAAAGATTAAGCCATGC

[11] A_alpina_subsp_macrocephala_n_3

AAGGCTTGTATCGCCTTGGATGTATTGCGGGTTTCYTGTATTKCATAACCMAATTGYTGGTATTGTTTTG GTTGATYGAAGTCCCTTTTCATCTTGTGTTGCTGTTGTGATGCATGATGAACCTTGAAGYGGTCTCTAT GTTCCATCATGTTGATGCAAATGCATTGATGTTGTGGCCCATTGAGTGTGCTGTTGCTGTTGATGCATGATGAAC GAACATTATGTGGGCATGGGGTCTCTCRTGACTCTTGTGTTTTGTCCKTGTTRAGTGTTCCTTTGAA-----

[12] A_alpina_subsp_nebrodensis_n_1

CATGAGTGGTGTGGTTGGTTTACGGGTGGTGGCTCTTTGCTTGCGCAACAACCTCCATCTGGCATACTCCTCAATTATGCGTCAAGGCTTGTATCGCCTTGGATGTATTGCGGGTTTCTTGTATTTACATACCCAA TTGCTGGTATTGTTTTGGTTGATTGAAGTCCCTTTTCATCTTGTGTTGCTGTTGTGATGCATGATGAAC CTTGAAGCGGTCTCTATGTTCCATCATGTTGATGCAAATGCATTGATGTTGTGGCCCATTGAGTGTGTC CTGGTATCCTTGATACGGAACATTATGTGGGCATGGGGTCTCTCATGACTCTTGTGTTTTGTCCTTGTTAA GTGTTCTTTGAA-

CGACGGTTCATGCGCGCCTAGGCTCGTACCTGCGCGATGTTCTTTGTCAAAGAGGAATGCTACCTGGTT GATCCTGCCAGTAGTCATATGCTTGTCTCAAAGATTAAGCCATGC

Sequenze ottenute dall'analisi dello spaziatore integenerico *ndhF-rpl32*:

[1] A_australis_n_1

GTTTCCGATTACCGGATTTTACCTCTTTTCGAAAAAGTCAATAAAAAATCAATATATGCACTAACTTAT TTAATAATTTTAGATTAGTATTTATTCTCAGTCTTTTCAAATCGTTCAAATATTCAAAACAAGAAGTT ATAATTGGTCAAATGATATGATCAAGCGACATATAAAAACAAATACTTATAATAGTAAA----- ATAAAAATTCTTATTATTATTACGATAAAATTATCATAATAATAAAGAATTTTTTATTGTAGAGCAAG GATAAAAAATTTGGCCTAAAAAGAGTACTTGTGCTGATATGAATTATAGGATTAACCTAAGGTCATCGGT CTAATGAAATAAAAACTCTTCATTTTAGTTAGTTTATTTCAACTCATTAACCTAATTCATTAACCTAATTC ATTATGGGATTCATTGTTTTCCATTTCAATTTATTAGTTTCAATTTCAATTTATTAGTAAATTTTAGAA GATTATAGATCTAAAATGAACTTTTTTATCGAGAAAGAATAAAAAATGACTGATATATTTT TTATCAAACCACGTAGCCTTTAACAGATTTATTACTAGTCTCACTCGAATTTTAAAATTGAATTTAGGT GTATTTTTTATCAAACTAAAAACTCAATTTATTAAGCAAAAGTTTACAAGCCTTTGAAGTATTTTAT TACATGTAATAAAGTATAGAATAACAAAAATAAAAGTCTTTTAGGTTTTTATCGATTTTATTAAGTT TGATTGATTTGATTTCTATGCCATAGCAGATTTCAAAGATATAACTTTGAGAGATAAACAACGAGAACT AAGAGTTCCAAACGAAAAATTTAGGTTTTACGAATAGTGTATGGAATCAAATTTTGTATTTGGAGT AATTTTGTATTTGATCCAAATTTACGGATCTTTGACATATCTATATTTCTTTTTTTTTTTAGAACT

TATTTAGAGAAAAAATAGATAATGAATAAGAAATAATAATTTGTTTTGAACAATAGATGTCTTTTACACA
TCCAACATAACAATGAGTAACTTCTTCATTTTAAAATGGCAGTTCCAAAAAACGTA-

[2] *A_australis_n_2*

GTTTCCGATTCACCGGATTTTACCTCTTTTCGAAAAAGTCAATAAAAAATCAATATATGCACTAACTTAT
TTAATAATTTTAGATTAGTATTTATTCTCAGTCTTTTCAAATCGTTCAAATATTCAAACAAGAAGTT
ATAATTGGTCAAATGATATGATCAAGCGACATATAAAAACAAATACTTATAATAGTAAA-----
ATAAAAAATTCTTATTATTATTACGATAAATTATCATAATAATAAAGAATTTTTTATTTGTAGAGCAAG
GATAAAAAATTTGGCCTAAAAAGAGTACTTGATGCTGATATGAATTATAGGATTAAGGTTCATCGGT
CTAATGAAATAAAAACTCTTCATTTTAGTTAGTTTATTTCAACTCATTAACATAATTCATTAACATAATC
ATTATGGGATTCATTGTTTTCCATTTCAATTTATTAGTTTCAATTTCAATTTATTAGTAAATTTTAGAA
GATTATAGATCTAAAATGAACCTTTTTTATCGAGAAAGAATAAAAAATGACTGATATATTTTTTATCAAAA
CCACGTAGCCTTTAACAGATTTATTACTAGTCTCACTCGAATTTTAAAATGAAATTTAGGTGTATTTTT
TATCAAACTAAAAACTCAATTTATTAAGCAAAGTTTACAAGCCTTTGAAGTATTTTATTACATGTA
AATAAAGTATAGAATAACAAAAATAAAAGTCTTTTAGGTTTTTATCGATTTTATTAAGTTTGATTGAT
TTGATTTCTATGCCATAGCAGATTCTAAAGATATAACTTTGAGAGATAAACAACGAGAATAAGAGTTC
CAAACGAAAAAATTTAGGTTTTACGAATAGTGTATGGAATCAAATTTTGTATTTGGAGTAATTTTTG
ATTTTGATCCAAATTTACGGATCTTTGACATATCTATATTTCTTTTTTTTTTTAGAACTTATTTAGA
GAAAAAATAGATAATGAATAAGAATAATAATTTGTTTTGAACAATAGATGTCTTTCACATCCAACATA
TAACAATGAGTAACTTCTTCATTTTAAAATGGCAGTTCCAAAAAACGTA-

[3] *A_australis_n_3*

GTTTCCGATTCACCGGATTTTACCTCTTTTCGAAAAAGTCAATAAAAAATCAATATATGCACTAACTTAT
TTAATAATTTTAGATTAGTATTTATTCTCAGTCTTTTCAAATCGTTCAAATATTCAAACAAGAAGTT
ATAATTGGTCAAATGATATGATCAAGCGACATATAAAAACAAATACTTATAATAGTAAA-----
ATAAAAAATTCTTATTATTATTACGATAAATTATCATAATAATAAAGAATTTTTTATTTGTAGAGCAAG
GATAAAAAATTTGGCCTAAAAAGAGTACTTGATGCTGATATGAATTATAGGATTAAGGTTCATCGGT
CTAATGAAATAAAAACTCTTCATTTTAGTTAGTTTATTTCAACTCATTAACATAATTCATTAACATAATC
ATTATGGGATTCATTGTTTTCCATTTCAATTTATTAGTTTCAATTTCAATTTATTAGTAAATTTTAGAA
GATTATAGATCTAAAATGAACCTTTTTTATCGAGAAAGAATAAAAAATGACTGATATATTTTTTATCAAAA
CCACGTAGCCTTTAACAGATTTATTACTAGTCTCACTCGAATTTTAAAATGAAATTTAGGTGTATTTTT
TATCAAACTAAAAACTCAATTTATTAAGCAAAGTTTACAAGCCTTTGAAGTATTTTATTACATGTA
AATAAAGTATAGAATAACAAAAATAAAAGTCTTTTAGGTTTTTATCGATTTTATTAAGTTTGATTGAT
TTGATTTCTATGCCATAGCAGATTCTAAAGATATAACTTTGAGAGATAAACAACGAGAATAAGAGTTC
CAAACGAAAAAATTTAGGTTTTACGAATAGTGTATGGAATCAAATTTTGTATTTGGAGTAATTTTTG
ATTTTGATCCAAATTTACGGATCTTTGACATATCTATATTTCTTTTTTTTTTTAGAACTTATTTAGA
GAAAAAATAGATAATGAATAAGAATAATAATTTGTTTTGAACAATAGATGTCTTTCACATCCAACATA
TAACAATGAGTAACTTCTTCATTTTAAAATGGCAGTTCCAAAAAACGTA-

[4] *A_australis_n_4*

GTTTCCGATTCACCGGATTTTACCTCTTTTCGAAAAAGTCAATAAAAAATCAATATATGCACTAACTTAT
TTAATAATTTTAGATTAGTATTTATTCTCAGTCTTTTCAAATCGTTCAAATATTCAAACAAGAAGTT
ATAATTGGTCAAATGATATGATCAAGCGACATATAAAAACAAATACTTATAATAGTAAA-----
ATAAAAAATTCTTATTATTATTACGATAAATTATCATAATAATAAAGAATTTTTTATTTGTAGAGCAAG
GATAAAAAATTTGGCCTAAAAAGAGTACTTGATGCTGATATGAATTATAGGATTAAGGTTCATCGGT
CTAATGAAATAAAAACTCTTCATTTTAGTTAGTTTATTTCAACTCATTAACATAATTCATTAACATAATC
ATTATGGGATTCATTGTTTTCCATTTCAATTTATTAGTTTCAATTTCAATTTATTAGTAAATTTTAGAA
GATTATAGATCTAAAATGAACCTTTTTTATCGAGAAAGAATAAAAAATGACTGATATATTTTTTATCAAAA
CCACGTAGCCTTTAACAGATTTATTACTAGTCTCACTCGAATTTTAAAATGAAATTTAGGTGTATTTTT
TATCAAACTAAAAACTCAATTTATTAAGCAAAGTTTACAAGCCTTTGAAGTATTTTATTACATGTA
AATAAAGTATAGAATAACAAAAATAAAAGTCTTTTAGGTTTTTATCGATTTTATTAAGTTTGATTGAT
TTGATTTCTATGCCATAGCAGATTCTAAAGATATAACTTTGAGAGATAAACAACGAGAATAAGAGTTC
CAAACGAAAAAATTTAGGTTTTACGAATAGTGTATGGAATCAAATTTTGTATTTGGAGTAATTTTTG
ATTTTGATCCAAATTTACGGATCTTTGACATATCTATATTTCTTTTTTTTTTTAGAACTTATTTAGAG
AAAAAATAGATAATGAATAAGAATAATAATTTGTTTTGAACAATAGATGTCTTTCACATCCAACATA
ACATCCAACATAACAATGAGTAACTTCTTCATTTTAAAATGGCAGTTCCAAAAAACGTA-

[5] *A_australis_n_5*

GTTTCCGATTCACCGGATTTTACCTCTTTTCGAAAAAGTCAATAAAAAATCAATATATGCACTAACTTAT
TTAATAATTTTAGATTAGTATTTATTCTCAGTCTTTTCAAATCGTTCAAATATTCAAACAAGAAGTT

ATAATTGGTCAAATGATATGATCAAGCGACATATAAAAAACAAATACTTATAATAGTAAA-----
ATAAAAATTCTTATTATTATTACGATAAAATTATCATAATAATAAAGAATTTTTTATTTGTAGAGCAAG
GATAAAAATTTGGCCTAAAAAGAGTACTTTGATGCTGATATGAATTATAGGATTAACCTAAGGTCATCGGT
CTAATGAAATAAAAACTCTTCATTTTAGTTAGTTTATTTCAACTCATTAACCTAATTCATTAACCTAATTC
ATTATGGGATTCATTGTTTTCCATTTCAATTTATTAGTTTCAATTTCAATTTATTAGTAAATTTTAGAA
GATTATAGATCTAAAATGAACTTTTTTATCGAGAAAGAATAAAAAATGACTGATATATTTTTTATCAAA
CCACGTAGCCTTTAACAGATTTATTACTAGTCTCACTCGAATTTTTAAAATTTGAATTTAGGTGTATTTTT
TATCAAACTAAAAACTCAATTTATTAAGCAAAAGTTTACAAGCCTTTGAAGTATTTTATTACATGTA
AATAAAGTATAGAATAACAAAAATAAAAGTCTTTTAGGTTTTTATCGATTTTATTAAGTTTGATTGAT
TTGATTTCTATGCCATAGCAGATTCTAAAGATATAACTTTGAGAGATAAACAACGAGAACCTAAGAGTTC
CAAACGAAAAAATTTAGGTTTTACGAATAGTGTATGGAATCAAATTTTTGTTATTTGGAGTAATTTTTG
ATTTTGATCCAAATTTACGGATCTTTGACATATCTATATTTCTTTTTTTTTTAGAATCTTATTTAGAG
AAAAAATAGATAATGAATAAGAAATAATAATTTGTTTTGAACAATAGATGTCTTTACATCCAACCTAT
ACAATGAGTAACTTCTTCATTTTAAAATGGCAGTTCCAAAAAACGTA-

[6] *A_australis_n_6*

GTTTCCGATTCACCGGATTTTACCTCTTTGAAAAAGTCAATAAAAAATCAATATATGCACTAACTTAT
TTAATAATTTTAGATTAGTATTTATTCTCAGTCTTTTCAAATCGTTCAAATATTCAAACAAGAAGTT
ATAATTGGTCAAATGATATGATCAAGCGACATATAAAAAACAAATACTTATAATAGTAAA-----
ATAAAAATTCTTATTATTATTACGATAAAATTATCATAATAATAAAGAATTTTTTATTTGTAGAGCAAG
GATAAAAATTTGGCCTAAAAAGAGTACTTTGATGCTGATATGAATTATAGGATTAACCTAAGGTCATCGGT
CTAATGAAATAAAAACTCTTCATTTTAGTTAGTTTATTTCAACTCATTAACCTAATTCATTAACCTAATTC
ATTATGGGATTCATTGTTTTCCATTTCAATTTATTAGTTTCAATTTCAATTTATTAGTAAATTTTAGAA
GATTATAGATCTAAAATGAACTTTTTTATCGAGAAAGAATAAAAAATGACTGATATATTTTTTATCAAA
CCACGTAGCCTTTAACAGATTTATTACTAGTCTCACTCGAATTTTTAAAATTTGAATTTAGGTGTATTTTT
TATCAAACTAAAAACTCAATTTATTAAGCAAAAGTTTACAAGCCTTTGAAGTATTTTATTACATGTA
AATAAAGTATAGAATAACAAAAATAAAAGTCTTTTAGGTTTTTATCGATTTTATTAAGTTTGATTGAT
TTGATTTCTATGCCATAGCAGATTCTAAAGATATAACTTTGAGAGATAAACAACGAGAACCTAAGAGTTC
CAAACGAAAAAATTTAGGTTTTACGAATAGTGTATGGAATCAAATTTTTGTTATTTGGAGTAATTTTTG
ATTTTGATCCAAATTTACGGATCTTTGACATATCTATATTTCTTTTTTTTTTAGAATCTTATTTAGAG
AAAAAATAGATAATGAATAAGAAATAATAATTTGTTTTGAACAATAGATGTCTTTACATCCAACCTAT
ACAATGAGTAACTTCTTCATTTTAAAATGGCAGTTCCAAAAAACGTA-

[7] *A_australis_n_7*

GTTTCCGATTCACCGGATTTTACCTCTTTGAAAAAGTCAATAAAAAATCAATATATGCACTAACTTAT
TTAATAATTTTAGATTAGTATTTATTCTCAGTCTTTTCAAATCGTTCAAATATTCAAACAAGAAGTT
ATAATTGGTCAAATGATATGATCAAGCGACATATAAAAAACAAATACTTATAATAGTAAA-----
ATAAAAATTCTTATTATTATTACGATAAAATTATCATAATAATAAAGAATTTTTTATTTGTAGAGCAAG
GATAAAAATTTGGCCTAAAAAGAGTACTTTGATGCTGATATGAATTATAGGATTAACCTAAGGTCATCGGT
CTAATGAAATAAAAACTCTTCATTTTAGTTAGTTTATTTCAACTCATTAACCTAATTCATTAACCTAATTC
ATTATGGGATTCATTGTTTTCCATTTCAATTTATTAGTTTCAATTTCAATTTATTAGTAAATTTTAGAA
GATTATAGATCTAAAATGAACTTTTTTATCGAGAAAGAATAAAAAATGACTGATATATTTTTTATCAAA
CCACGTAGCCTTTAACAGATTTATTACTAGTCTCACTCGAATTTTTAAAATTTGAATTTAGGTGTATTTTT
TATCAAACTAAAAACTCAATTTATTAAGCAAAAGTTTACAAGCCTTTGAAGTATTTTATTACATGTA
AATAAAGTATAGAATAACAAAAATAAAAGTCTTTTAGGTTTTTATCGATTTTATTAAGTTTGATTGAT
TTGATTTCTATGCCATAGCAGATTCTAAAGATATAACTTTGAGAGATAAACAACGAGAACCTAAGAGTTC
CAAACGAAAAAATTTAGGTTTTACGAATAGTGTATGGAATCAAATTTTTGTTATTTGGAGTAATTTTTG
ATTTTGATCCAAATTTACGGATCTTTGACATATCTATATTTCTTTTTTTTTTAGAATCTTATTTAGAG
AAAAAATAGATAATGAATAAGAAATAATAATTTGTTTTGAACAATAGATGTCTTTACATCCAACCTAT
ACATCCAACCTATAACAATGAGTAACTTCTTCATTTTAAAATGGCAGTTCCAAAAAACGTA-

[8] *A_australis_n_8*

GTTTCCGATTCACCGGATTTTACCTCTTTGAAAAAGTCAATAAAAAATCAATATATGCACTAACTTAT
TTAATAATTTTAGATTAGTATTTATTCTCAGTCTTTTCAAATCGTTCAAATATTCAAACAAGAAGTT
ATAATTGGTCAAATGATATGATCAAGCGACATATAAAAAACAAATACTTATAATAGTAAA-----
ATAAAAATTCTTATTATTATTACGATAAAATTATCATAATAATAAAGAATTTTTTATTTGTAGAGCAAG
GATAAAAATTTGGCCTAAAAAGAGTACTTTGATGCTGATATGAATTATAGGATTAACCTAAGGTCATCGGT
CTAATGAAATAAAAACTCTTCATTTTAGTTAGTTTATTTCAACTCATTAACCTAATTCATTAACCTAATTC
ATTATGGGATTCATTGTTTTCCATTTCAATTTATTAGTTTCAATTTCAATTTATTAGTAAATTTTAGAA

GATTATAGATCTAAAATGAACTTTTTTATCGAGAAAGAATAAAAAATGACTGATATATTTTTTATCAAA
CCACGTAGCCTTTAACAGATTTATTACTAGTCTCACTCGAATTTTAAAATGAAATTTAGGTGTATTTTT
TATCAAACTAAAAACTCAATTTATTAAGCAAAGTTTACAAGCCTTTGAAGTATTTTATTACATGTA
AATAAAGTATAGAATAACAAAAATAAAAGTCTTTTAGGTTTTTATCGATTTTATTAAGTTTGATTGAT
TTGATTTCTATGCCATAGCAGATTCTAAAGATATAACTTTGAGAGATAAAACAACGAGAATAAGAGTTC
CAAACGAAAAAATTTAGGTTTTACGAATAGTGTATGGAATCAAATTTTGTATTTGGAGTAATTTTTG
ATTTTGATCCAAAATTTACGGATCTTTGACATATCTATATTTCTTTTTTTTTTGAATCTTATTTAGAG
AAAAAATAGATAATGAATAAGAAATAATAATTTGTTTTGAACAATAGATGTCTTTC
ACATCCAATAACAATGAGTAACTTCTTCATTTTAAAATGGCAGTTCCAAAAAACGTA-

[9] *A_australis_n_9*

GTTTCCGATTCACCGGATTTTACCTCTTTTCGAAAAAGTCAATAAAAAATCAATATATGCACTAACTTAT
TTAATAATTTTAGATTAGTATTTATTCTCAGTCTTTTCAAATCGTTCAAATATTCAAACAAGAAGTT
ATAATTGGTCAAATGATATGATCAAGCGACATATAAAAACAAATACTTATAATAGTAAA-----
ATAAAAATTCTTATTATTATTACGATAAATTATCATAATAATAAAGAATTTTTATTGTAGAGCAAG
GATAAAAATTTGGCCTAAAAAGAGTACTTGATGCTGATATGAATTATAGGATTAATAAGGTCATCGGT
CTAATGAAATAAAAACTCTTCATTTTAGTTAGTTTATTTCAACTCATTAACTAATTCATTAATAATTC
ATTATGGGATTCATTGTTTTCCATTTCAATTTATTAGTTTCAATTTCAATTTATTAGTAAATTTTAGAA
GATTATAGATCTAAAATGAACTTTTTTATCGAGAAAGAATAAAAAATGACTGATATATTTTTTATCAAA
CCACGTAGCCTTTAACAGATTTATTACTAGTCTCACTCGAATTTTAAAATGAAATTTAGGTGTATTTTT
TATCAAACTAAAAACTCAATTTATTAAGCAAAGTTTACAAGCCTTTGAAGTATTTTATTACATGTA
AATAAAGTATAGAATAACAAAAATAAAAGTCTTTTAGGTTTTTATCGATTTTATTAAGTTTGATTGAT
TTGATTTCTATGCCATAGCAGATTCTAAAGATATAACTTTGAGAGATAAAACAACGAGAATAAGAGTTC
CAAACGAAAAAATTTAGGTTTTACGAATAGTGTATGGAATCAAATTTTGTATTTGGAGTAATTTTTG
ATTTTGATCCAAAATTTACGGATCTTTGACATATCTATATTTCTTTTTTTTTTGAATCTTATTTAGAG
AAAAAATAGATAATGAATAAGAAATAATAATTTGTTTTGAACAATAGATGTCTTTC
ACATCCAATAACAATGAGTAACTTCTTCATTTTAAAATGGCAGTTCCAAAAAACGTA-

[11] *A_alpina_subsp_macrocephala_n_2*

GTTTCCGATTCACCGGATTTTACCTCTTTTCGAAAAAGTCAATAAAAAATCAATATATGCACTAACTTAT
TTAATAATTTTAGATTAGTATTTATTCTCAGTCTTTTCAAATCGTTCAAATATTCAAACAAGAAGTT
ATAATTGGTCAAATGATATGATCAAGCGACATATAAAAACAAATACTTATAATAGTAAAATGAAAATAA
AAATTCCTTATTATTATTACGATAAATTATCATAATAATAAAGAATTTTTATTGTAGAGCAAGGATA
AAAATTTGGCCTAAAAAGAGTACTTGATGCTGATATGAATTATAGGATTAATAAGGTCATCGGTCTAA
TGAAATAAAAACTCTTCATTTTAGTTAGTTTATTTCAACTCATTAACTAATTCATTAATAATTCATTA
TGGGATTCATTGTTTTCCATTTCA-----

ATTTATTAGTAAAATTTAGAAATTATAGATCTAAAATGAACTTTTTTATCGAGAAAGAATAAAAAATGA
CTGATATATTTTTTATCAAACCACGTAGCCTTTAACAGATTTATTACTAGTCTCACTCGAATTTTAAAA
TTGAATTTAGGTGTATTTTTTATCAAACTAAAAACTCAATTTATTAAGCAAAGTTTACAAGCCTTT
GAAGTATTTTATTACATGTAATAAAGTATAGAATAACAAAAATAAAAGTCTTTTAGGTTTTTTATCGA
TTTTATTAAGTTTGATTGATTTGATTTCTATGCC-----

[12] *A_alpina_subsp_macrocephala_n_3*

GTTTCCGATTCACCGGATTTTACCTCTTTTCGAAAAAGTCAATAAAAAATCAATATATGCACTAACTTAT
TTAATAATTTTAGATTAGTATTTATTCTCAGTCTTTTCAAATCGTTCAAATATTCAAACAAGAAGTT
ATAATTGGTCAAATGATATGATCAAGCGACATATAAAAACAAATACTTATAATAGTAAA-----
ATCAAAATTCTTATTATTATTACGATAAATTATCATAATAATAAAGAATTTTGTATTTGTAGAGCAAG
GATAAAAATTTGGCCTAAAAAGAGTACTTGATGCTGATATGAATTATAGGATTAATAAGGTCATCGGT
CTAATGAAATAAAAACTCTTCATTTTAGTTAGTTTATTTCAACTCATTAACTAATTCATTAATAATTC
ATTATGGGATTCATTGTTTTCCATTTCAATTTATTAGTTTCAATTTCAATTTATTAGTAAATTTTAGAA
GATTATAGATCTAAAATGAACTTTTTTATCGAGAAAGAATAAAAAATGACTGATATATTTTTTATCAAA
CCACGTAGCCTTTAACAGATTTATTACTAGTCTCACTCGAATTTTAAAATGAAATTTAGGTGTATTTTT
TATCAAACTAAAAACTCAATTTATTAAGCAAAGTTTACAAGCCTTTGAAGTATTTTATTACATGTA
AATAAAGTATAGAATAACAAAAATAAAAGTCTTTTAGGTTTTTATCGATTTTATTAAGTTTGATTGAT

TTGATTTCTATGCCATAGCAGATTCTAAAGATATAACTTTGAGAGATAAAACAACGAGAACTAAGAGTTC
CAAACGAAAAAATTTAGGTTTTACGAATAGTGTATGGAATCAAATTTTGTATTGGAGTAATTTTG
ATTTGATCCAAATTTACGGATCTTTGACATATCTATATTTCTTTTTTTTTTAGAATCTTATTTAGAG
AAAAAATAGATAATGAATAAGAAATAATAATTTGTTTTGAACAATAGATGTCTTTC
ACATCCAACTATAACAATGAGTAACTTCTTCATTTTAAAATGGCAGTTCCAAAAAACGT
[26] *A_alpina_subsp_nebrodensis_n_1*
GTTTCCGATTACCGGATTTTACCTCTTTGAAAAAGTCAATAAAAAATCAATATATGCACTAACTTAT
TTAATAATTTTAGATTAGTATTTATTCTCAGTCTTTTCAAATCGTTCAAATATTCAAACAAGAAGTT
ATAATTGGTCAAATGATATGATCAAGCGACATATAAAAACAAATACTTATAATAGTAAA-----
ATAAAAAATTCTTATTATTATTACGATAAATTATCATAATAATAAAGAATTTTTATTGTAGAGCAAG
GATAAAAAATTTGGCCTAAAAAGAGTACTTGATGCTGATATGAATTATAGGATTAAGGTCATCGGT
CTAATGAAATAAAAACTCTTCATTTTAGTTAGTTTATTTCAACTCATTAACTAATTCATTAACTAATTC
ATTATGGGATTCATTGTTTTCCATTTCAATTTATTAGTTTCAATTTCAATTTATTAGTAAATTTTAGAA
GATTATAGATCTAAAATGAACTTTTTTATCGAGAAAGAATAAAAAATGACTGATATATTTTTTATCAA
CCACGTAGCCTTTAACAGATTTATTACTAGTCTCACTCGAATTTTAAAATGAAATTTAGGTGTATTTTT
TATCAAACTAAAAAATCAATTTATTAAGCAAAAGTTTACAAGCCTTTGAAGTATTTATTACATGTA
AATAAAGTATAGAATAACAAAAATAAAAGTCTTTTAGGTTTTTATCGATTTTATTAAGTTTGATTGAT
TTGATTTCTATGCCATAGCAGATTCTAAAGATATAACTTTGAGAGATAAAACAACGAGAACTAAGAGTTC
CAAACGAAAAAATTTAGGTTTTACGAATAGTGTATGGAATCAAATTTTGTATTGGAGTAATTTTG
ATTTGATCCAAATTTACGGATCTTTGACATATCTATATTTCTTTTTTTTTTAGAATCTTATTTAGA
GAAAAAATAGATAATGAATAAGAAATAATAATTTGTTTTGAACAATAGATGTCTTTCACATCCAATA
TAACAATGAGTAACTTCTTCATTTTAAAATGGCAGTTCCAAAAAACGTA-